



Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών
(HELLENIC SOCIETY FOR BIOLOGICAL SCIENCES)

33^ο Επιστημονικό Συνέδριο

33rd ANNUAL CONFERENCE

ΠΡΑΚΤΙΚΑ-PROCEEDINGS

Έδεσσα, 19-21 Μαΐου 2011
Edessa, May 19-21, 2011

*Το συνέδριο αφιερώνεται στη μνήμη του καθηγητή
Γεωργίου Θηραίου*

ΑΘΗΝΩΝ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΠΑΤΡΩΝ

ΥΠΟ ΤΗΝ ΑΙΓΙΔΑ ΤΩΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΩΝ:

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

**33^ο ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
33rd ANNUAL CONFERENCE**

ΠΡΑΚΤΙΚΑ PROCEEDINGS

**Το 33^ο Επιστημονικό Συνέδριο αφιερώνεται στη μνήμη του
Καθηγητή Γεωργίου Θηραίου**

19–21 Μαΐου 2011

May 19-21, 2011

**ΕΔΕΣΣΑ
EDESSA**

ΕΚΔΟΤΗΣ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Πρόεδρος: Καθηγήτρια Αντιγόνη Λάζου
Γραμματεία: Επίκουρη Καθηγήτρια Αλέκα Στάικου
Διεύθυνση: Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας
Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Πανεπιστημιούπολη 54 124 ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ.
Τηλ. 2310-998344, 998381 Fax: 2310-998331

E-mails

Πρόεδρος: Α. Λάζου (lazou@bio.auth.gr)
Αντιπρόεδρος: Λ.Χ. Μαργαρίτης (lmargar@biol.uoa.gr) Γεν.
Γραμματέας: Α. Στάϊκου (astaikou@bio.auth.gr)
Ειδ. Γραμματέας: Ι.Δ. Λεονάρδος (ileonard@cc.uoi.gr)
Ταμίας: Σ.Κ. Μανώλης (smanol@biol.uoa.gr)
Μέλη: Σ. Τσάκας (stsakas@upatras.gr)
Α. Τσίκληρας (tsikliras@uth.gr)

Πληροφορίες: eebe-2008@biol.uoa.gr

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

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2011

ΧΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

ΚΟΙΝΩΦΕΛΕΣ ΙΔΡΥΜΑ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Σ. ΩΝΑΣΗΣ

DIOPHAR A.E.

ALMI TANKERS S.A.

ΑΝΤΙΣΕΛ- ΑΦΟΙ Α. ΣΕΛΙΔΗ Α.Ε.

BIOANALYTICA- BIOTECHNOLOGY & ANALYTICAL SYSTEMS

BIOLINE SCIENTIFIC- ΑΦΟΙ ΝΤΟΥΡΟΥ-Ε. ΔΕΜΑΓΚΟΣ

BIOSURE R & T CELL Co.

ION PLUS-Σ. ΓΚΟΥΝΤΡΟΜΙΧΟΣ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΕΚΔΟΣΕΙΣ Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ

BIOSOLUTIONS LTD

**Διοικητικό Συμβούλιο ΕΕΒΕ (2010-2012)
Hellenic Society for Biological Sciences Board**

Πρόεδρος:Αντιγόνη Λάζου

Αντιπρόεδρος:Λουκάς Χ. Μαργαρίτης

Γενικός Γραμματέας:Αλέκα Στάικου

Ειδικός Γραμματέας:Ιωάννης Λεονάρδος

Ταμίας:Σωτήρης Κ. Μανώλης

Μέλη:Σωτήρης Τσάκας

Θανάσης Τσίκληρας

**Οργανωτική Επιτροπή
(Organizing Committee)**

Ισίδωρος Μπέης

Λουκάς Μαργαρίτης

Αντιγόνη Λάζου

Σωτήρης Μανώλης

Κατερίνα Γαϊτανάκη

Ευστράτιος Βαλάκος

Βασίλειος Μιχαϊλίδης

Σύλβια Παπαβασιλείου

ΑΦΙΕΡΩΜΑ ΣΤΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗ ΓΙΩΡΓΟ ΘΗΡΑΙΟ

Κεραυνός εν αιθρία ήταν η είδηση αργά το απόγευμα της 20ης Γενάρη 2011 για τον άδικο χαμό του Γιώργου Θηραίου.

Γεννήθηκε στην Αθήνα στις 16 Νοεμβρίου 1951.

Το έτος 1974 του απονέμεται το Πτυχίο Βιολογίας από το νεοσύστατο τότε Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών (αρ. μητρώου 53), ενώ στη



συνέχεια επιλέγεται από τον Καθηγητή Φώτη Καφάτο για εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής στο εργαστήριό του στο Πανεπιστήμιο Harvard, Cambridge, MA, USA, απ' όπου του απονέμεται το Διδακτορικό Δίπλωμα το έτος 1980.

Συνεχίζει ως Μεταδιδακτορικός Ερευνητής στο ίδιο Πανεπιστήμιο από το 1980 μέχρι το 1984. Το έργο του κατά τη 10ετία 1974-1984 στο Πανεπιστήμιο Harvard είναι προσανατολισμένο στη

Μοριακή Βιολογία της Χοριογένεσης των Δίπτερων Εντόμων και ειδικότερα στη μοριακή ανάλυση της έκφρασης και ρύθμισης των γονιδίων του χορίου στον πρότυπο οργανισμό *Drosophila melanogaster* και στη μοριακή γενετική του ζυμομήκντα με έμφαση στην απομόνωση γονιδίων που εμπλέκονται στη ρύθμιση της βιοσύνθεσης αμινοξέων.

Το 1984 επιστρέφει στην Ελλάδα και εκλέγεται σε θέση ερευνητή Γ' βαθμίδας στο Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (IMBB) του Ιδρύματος Τεχνολογίας και Έρευνας (ΙΤΕ) στο Ηράκλειο της Κρήτης όπου και αναπτύσσει ερευνητικό πρόγραμμα στο ζυμομήκντα μαζί με τη Δέσποινα Αλεξανδράκη.

Το 1987 εκλέγεται σε θέση Επίκουρου Καθηγητή στο Βιολογικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Κρήτης την οποία όμως ουδέποτε απεδέχθη. Προτίμησε να δραστηριοποιηθεί και να εκφράσει τις επιστημονικές του ανησυχίες και τα οράματά του στο IMBB ως αυτοδύναμος Ερευνητής και από το 1992 μέχρι το 2009 ως Διευθυντής. Το 1995 εκλέγεται σε θέση Καθηγητή στο ίδιο Τμήμα Βιολογίας την οποία επίσης δεν έκανε αποδεκτή κάτι που ίσως ήταν

χαρακτηριστικό του ελεύθερου και αντι-συμβατικού πνεύματος που τον διακατείχε.

Για σχεδόν δύο δεκαετίες (1992-2009) συνεργαζόμενος με πολλούς καταξιωμένους Έλληνες Επιστήμονες, πρωτοστατεί σε μια σειρά επαναστατικών ανακαλύψεων που αφορούν κυρίως:

(α) στους μεταφραστικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς ενός μοναδικού βιολογικού συστήματος, αυτό του *Saccharomyces cerevisiae*, και ειδικότερα στα μοριακά μονοπάτια έκφρασης του GCN4 γονιδίου, που αποδεικνύονται σημαντικοί για μια σειρά διαφορετικών φυσιολογικών διαδικασιών, όπως η ομοιόσταση, η ανοσολογική απάντηση, η συμπεριφορά, η μάθηση και η μνήμη.

(β) στο ρόλο του συν-ενεργοποιητή της μεταγραφής Gcn5, έρευνα η οποία και συνέβαλλε καταλυτικά στη διάνοιξη νέων αντιλήψεων και πεδίων στο χώρο της επιγενετικής ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης.

(γ) στους μηχανισμούς γονιδιακής έκφρασης μέσω συγκρότησης διατεταγμένων και συγχρονισμένων πρωτεϊνικών συμπλόκων που ελέγχουν τη μεταγραφική έναρξη.

(δ) στις διαδικασίες ανακατασκευής και αναδιοργάνωσης της πυρηνικής χρωματίνης.

Το έτος 1999 παντρεύεται τη Βιολόγο (τόρα Ερευνήτρια Γ' στο ΙΙΒΕΑΑ) Πόπη Συντιχάκη με την οποία το 2004 αποκτά ένα γιό, τον Αλέξανδρο.

Το 2010 εκλέγεται σε θέση Γενικού Διευθυντή στο Ίδρυμα ΙατροΒιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ), όπου δραστηριοποιείται μαζί με τους Δημήτρη Θάνο και Αργύρη Ευστρατιάδη στη χάραξη της ερευνητικής πολιτικής και των στρατηγικών κατευθύνσεων του Ιδρύματος, ενώ το ερευνητικό του ενδιαφέρον εστιάζεται στους μηχανισμούς διαφοροποίησης βλαστικών κυττάρων, στα μονοπάτια αποδιαφοροποίησης σωματικών κυττάρων, καθώς και στη στοχαστική ρύθμιση της μεταγραφής των ευκαρυωτικών γονιδίων.

Το κενό που άφησε ο Γιώργος Θηραΐος πρωτίστως στην οικογένειά του αλλά και στην Ελληνική Επιστημονική κοινότητα είναι μεγάλο. Η χώρα μας έχασε έναν οραματιστή που με τις διαλέξεις του σε συνέδρια, σε ημερίδες, σε μεταπτυχιακά μαθήματα επετύγχανε το ακατόρθωτο, να συνθέσει δηλαδή τις

μέχρι τώρα γνώσεις μας στο χώρο της Βιολογίας και να προχωρήσει σε προτάσεις για την καλύτερη κατανόηση της λειτουργίας των κυττάρων. Ο Γιώργος διακρινόταν πάντα για την ευγένεια και το ήπιο του χαρακτήρα του, για την καλοσύνη του και για την απaráμιλλη επιστημονική οξυδέρκειά του. Όσοι τον έχουμε ζήσει από κοντά είτε ως δάσκαλοί του είτε ως συνεργάτες και φίλοι του δύσκολα μπορούμε να πιστέψουμε αυτό που συνέβη.

Ως ελάχιστο φόρο τιμής προς το Γιώργο Θηραίο, η **Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών αφιερώνει το 33^ο Συνέδριό της στη μνήμη** του και ο Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής διατηρεί ειδική ιστοσελίδα που περιέχει αποσπάσματα από τις πρόσφατες διαλέξεις του στο δικτυακό τόπο:

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

13 Απριλίου 2011

Λουκάς Χ. Μαργαρίτης, Ομ. Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Δημήτρης Θάνος, Πρόεδρος Επιστημονικού Συμβουλίου ΙΙΒΕΑΑ

Δημήτρης Ι. Στραβοπόδης, Επ. Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

**ΧΑΙΡΕΤΙΣΜΟΣ
ΤΟΥ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ
Καθηγητή Ι.Α. Μπέη**

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Το 33^ο ετήσιο επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών διοργανώνεται φέτος στην Έδεσσα, από 19 μέχρι 21 Μαΐου 2011. Η Έδεσσα επιλέχθηκε ως τόπος διεξαγωγής του Συνεδρίου, γιατί αφενός μεν διαθέτει την απαιτούμενη υποδομή και αφετέρου έχει φυσικές ομορφιές οι οποίες κάνουν τη διαμονή ελκυστική. Το συνέδριο αποτελεί χώρο συνάντησης φοιτητών (προ- και μεταπτυχιακών) από όλα τα Τμήματα Βιολογίας, αλλά κι από Τμήματα συναφών γνωστικών αντικειμένων. Και φαίνεται ότι πραγματικά υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον των φοιτητών γιατί κάθε χρόνο ο αριθμός των συμμετεχόντων (με ερευνητική δουλειά ή όχι) αυξάνεται.

Οι φετινές συμμετοχές με προφορικές ομιλίες και αναρτημένες ανακοινώσεις έφτασαν τον αριθμό 171. Γι' αυτό κατά την άποψή μας έχει συμβάλει σε σημαντικό βαθμό η νέα μορφή που έχει πάρει το συνέδριο και η ανάγκη βήματος παρουσίασης των εργασιών που πραγματοποιούνται στα διάφορα συναφή με την Βιολογία, Πανεπιστημιακά Τμήματα αλλά και Ερευνητικά Κέντρα. Αν κάποιος παρακολουθήσει τη σχετική θεματολογία και τις συμμετοχές των 32 συνεδρίων που έχει διοργανώσει μέχρι σήμερα η Ε.Ε.Β.Ε. θα διαπιστώσει την αλματώδη πρόοδο των Βιολογικών Επιστημών στη χώρα μας και τη δημιουργία πολλών ερευνητικών ομάδων, γεγονός που δεν μπορεί να περάσει απαρατήρητο.

Όπως αναφέρθηκε ήδη, το 1979, πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Βιολογίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης το 1^ο Συνέδριο στο οποίο παρουσιάστηκαν μόλις 41 εργασίες. Στην επόμενη δεκαετία (1980-1989) ο αριθμός των εργασιών που παρουσιάστηκαν ήταν περίπου 630, με ένα μέσο όρο 70 εργασίες/έτος. Τη δεκαετία του '90 (1990-1999) στα δέκα συνέδρια παρουσιάστηκαν 1400 εργασίες, δηλαδή ο μέσος όρος διπλασιάστηκε και έφτασε τις 140 εργασίες/έτος. Στα 10 συνέδρια που έχουν διοργανωθεί στην προηγούμενη δεκαετία (2000-2010), παρουσιάστηκαν 1954 εργασίες, ήτοι ο

μέσος όρος έφτασε τις 195 εργασίες /έτος. Η νέα δεκαετία που ξεκινά (2011-2019) υπόσχεται ακόμη μεγαλύτερη αύξηση των συμμετοχών.

Επειδή έχει υπάρξει ένας τεράστιος όγκος παρουσιάσεων είτε προφορικών είτε αναρτώμενων ανακοινώσεων, πέρυσι το Δ.Σ. σε συνεργασία με την Ο.Ε. του 32^{ου} Συνεδρίου αποφάσισε να διανείμει μαζί με τα ΠΡΑΚΤΙΚΑ και ένα DVD, το οποίο περιέχει σε αρχεία *pdf τα Πρακτικά των 30 προηγούμενων Συνεδρίων. Τα ψηφιοποιημένα Πρακτικά μπορεί να τα βρει κάποιος στην ιστοσελίδα της Ε.Ε.Β.Ε. (<http://www.eebe.gr>), μαζί με τα Πρακτικά των 31^{ου} και 32^{ου} Συνεδρίου.

Από φέτος, τα πρακτικά του συνεδρίου δίδονται σε ηλεκτρονική μορφή (CD) που επιμελήθηκε ο Αν. Καθηγητής του Τμήματος Βιολογίας του Ε.Κ.Π.Α. κ. Ευστράτιος Βαλάκος. Στη μορφή αυτή, πέραν των περιλήψεων των ανακοινώσεων (σε μορφή pdf), είναι εφικτή η άμεση σύνδεση του ονόματος του κάθε συγγραφέα με τις περιλήψεις των ανακοινώσεών του.

Από αυτά που έχουμε μέχρι σήμερα επιτύχει, είμαστε υποχρεωμένοι να διατηρήσουμε αμείωτο το ενδιαφέρον συμμετοχής και είναι σίγουρο ότι το Δ.Σ. της Ε.Ε.Β.Ε. θα προσπαθήσει με όλες του τις δυνάμεις για το καλύτερο δυνατό. Ακόμη μια σημαντική καινοτομία αποτελεί η προφορική (5λεπτη) παρουσίαση των αναρτημένων ανακοινώσεων, έτσι ώστε να δίνεται η δέουσα προσοχή σε σημαντικές ερευνητικές προσπάθειες. Οι προφορικές ομιλίες έχουν περιοριστεί και φέτος έχουμε 12 προσκεκλημένους ερευνητές και μέλη ΔΕΠ που θα μας παρουσιάσουν ανασκοπήσεις της ερευνητικής τους δουλειάς, τόσο σε θέματα αιχμής όσο και γενικότερου ενδιαφέροντος, που ελπίζουμε ότι θα αποτελέσουν το δέλεαρ για τους προπτυχιακούς φοιτητές και φοιτήτριες που παρακολουθούν κάθε χρόνο το συνέδριο αυτό.

Το Συνέδριο αρχίζει την Πέμπτη 19 Μαΐου στις 12 το μεσημέρι με τις εγγραφές των συνέδρων και την ανάρτηση των posters. Η 1^η συνεδρία έχει προγραμματιστεί για τις 6 μμ το απόγευμα και οι συνεδρίες ολοκληρώνονται το Σάββατο 21 Μαΐου στις 21:30. Το συνέδριο θα πραγματοποιηθεί στο Κανναβουργείο του Δήμου Έδεσσας.

Το 33^ο Επιστημονικό Συνέδριο της ΕΕΒΕ είναι αφιερωμένο στη μνήμη του **Καθηγητή Γεωργίου Θηραίου**.

Εκ μέρους της Οργανωτικής Επιτροπής θα ήθελα να ευχαριστήσω το Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, το Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, το Πανεπιστήμιο Πατρών, το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, υπό την αιγίδα των οποίων διεξάγεται το συνέδριο, καθώς επίσης τον Δήμο Έδεσσας και τους Χορηγούς που στήριξαν οικονομικά αυτή την

προσπάθεια. Τέλος θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στο μέλος της Ο.Ε. Δρ. Σύλβια Παπαβασιλείου, η οποία με ιδιαίτερη αφοσίωση έφερε σε πέρας έναν τεράστιο φόρτο εργασίας.

Σας ευχόμαστε καλή διαμονή στην πανέμορφη Έδεσσα και καλή επιτυχία σε όλους εκείνους που θα παρουσιάσουν τη δουλειά τους.

Έδεσσα Μάιος 2011

Καθηγητής Ισίδωρος Δ. Μπέης

***Η Οργανωτική Επιτροπή δεν φέρει ευθύνη για το περιεχόμενο των
περιλήψεων.
The Organizing Committee has no responsibility for the content
of the abstracts.***

*Οι εργασίες έχουν ταξινομηθεί αλφαβητικά με βάση το όνομα του
πρώτου συγγραφέα, γραμμένο στην ελληνική γλώσσα.*

*Papers have been arranged alphabetically according to the
Hellenic-written name of the first author.*

Επιμέλεια Έκδοσης Πρακτικών

Ευστράτιος Δ. Βαλάκος
Κατερίνα Γαϊτανάκη
Σύλβια Παπαβασιλείου

**Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου
Τμήμα Βιολογίας
Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών**

Η ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗΣ Α ΣΤΟΥΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΥΣ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΟΥΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ

Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης, Καραδήμου Γλυκερία, Παντερής Εμμανουήλ,
Ελευθερίου Π. Ελευθέριος

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη, e-mail: iadamaki@bio.auth.gr

Προγενέστερα πειράματα έχουν δείξει ότι η δισφαινόλη Α (BPA, bisphenol A) παρεμβαίνει στη συγκρότηση και αποσυγκρότηση των μικροσωληνίσκων. Η BPA εμφανίζει μεγάλη συγγένεια με τα διμερή της α/β σωληνίνης, προσδένεται σε αυτά και δημιουργεί σπειροειδείς δομές. Ωστόσο, τα συγκεκριμένα πειράματα έχουν πραγματοποιηθεί σε *in vitro* συστήματα. Ένα αρκετά δυναμικό *in vivo* σύστημα, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της επίδρασης της BPA στους μικροσωληνίσκους, είναι το περιφερειακό δίκτυο μικροσωληνίσκων των μεσοφασικών φυτικών κυττάρων. Μελετήθηκε η επίδραση της BPA στους περιφερειακούς μικροσωληνίσκους των φυτών *Triticum turgidum* (σιτάρι), *Allium cepa* (κρεμμύδι), *Lolium rigidum* (ήρα), *Pisum sativum* (μπιζέλι) και *Gossypium hirsutum* (βαμβάκι). Παρατηρήθηκε ότι μετά από επίδραση BPA τα περιφερειακά συστήματα μικροσωληνίσκων των φυτών *Allium cepa* και *Pisum sativum* αντικαθίστανται από ένα δίκτυο δακτυλιωτών σπειροειδών δομών, ενώ αντίθετα το περιφερειακό δίκτυο των *Triticum turgidum*, *Lolium rigidum* και *Gossypium hirsutum* εμφανίζεται κατακερματισμένο. Μελέτη με ανοσοσθήμανση της ακετυλιωμένης α -σωληνίνης έδειξε ότι έντονα ακετυλιωμένοι περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι υπάρχουν στα είδη *Triticum turgidum*, *Lolium rigidum* και *Gossypium hirsutum*, ενώ στα είδη *Allium cepa* και *Pisum sativum* έχουν χαμηλό βαθμό ακετυλίωσης. Το παραπάνω επιβεβαιώθηκε και με ανοσοαποτύπωση κατά Western ακετυλιωμένης α -σωληνίνης. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διαφορά της απόκρισης των περιφερειακών μικροσωληνίσκων στην BPA ανάμεσα στα διαφορετικά φυτικά είδη που μελετήθηκαν, σχετίζεται με το διαφορετικό βαθμό ακετυλίωσής τους.

THE TOXIC EFFECT OF BISPHENOL A ON THE CORTICAL MICROTUBULES OF VARIOUS PLANT SPECIES

**Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis, Karadimou Glykeria, Panteris Emmanuel,
Eleftheriou P. Eleftherios**

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24
Thessaloniki, e-mail: iadamaki@bio.auth.gr

Previous experiments have shown that bisphenol A (BPA) interfered with microtubule assembly and disassembly. BPA exhibits high affinity to α/β tubulin dimers, binds to them and forms spiral structures. However, these experiments were conducted on *in vitro* systems. A dynamic *in vivo* system suitable for studying the BPA effect on microtubules is the cortical array of interphase plant cells. The effect of BPA was examined on the cortical microtubules of the plants *Triticum turgidum* (wheat), *Allium cepa* (onion), *Lolium rigidum* (ryegrass), *Pisum sativum* (pea) and *Gossypium hirsutum* (cotton). After BPA treatment, the cortical microtubules of *Allium cepa* and *Pisum sativum* were substituted by an array of annular/spiral tubulin structures. Oppositely, the cortical microtubules of *Triticum turgidum*, *Lolium rigidum* and *Gossypium hirsutum* appeared fragmented. Immunolocalization of acetylated α -tubulin by both fluorescence microscopy and Western-blotting revealed that the microtubules of *Triticum turgidum*, *Lolium rigidum* and *Gossypium hirsutum* were highly acetylated, while those of *Allium cepa* and *Pisum sativum* appeared slightly acetylated. According to the above observations, it can be concluded that the difference of cortical microtubule response to BPA in the species studied is correlated to the degree of tubulin acetylation.

ΟΙ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΟΙ ΤΟΥ ΓΥΜΝΟΣΠΕΡΜΟΥ *Abies cephalonica* ΕΠΗΡΕΑΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΑ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α

Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης, Πωπέρ Μάρκος, Παντερής Εμμανουήλ,
Ελευθερίου Π. Ελευθέριος

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη, e-mail: iadamaki@bio.auth.gr

Η δισφαινόλη Α (BPA, bisphenol A) επηρεάζει τη μίτωση και μείωση των ζωικών κυττάρων επάγοντας τον πολλαπλασιασμό των κεντροσωματίων και δημιουργώντας πολυπολικές ατράκτους. Η δράση της αυτή έχει συσχετιστεί με ανευπλοειδίες. Στα φυτά η γνώση για την επίδραση που μπορεί να έχει η BPA στη μιτωτική συσκευή είναι στοιχειώδης και περιορίζεται σε μερικά καλλιεργούμενα φυτά υδροπονικής καλλιέργειας, όπου έχει δειχθεί ότι η BPA προκαλεί σημαντική αύξηση του αριθμού των μικροπυρήνων μετά από μακρόχρονη έκθεση. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση 100 mg/L BPA στους μικροσωληνίσκους των μεριστωματικών κυττάρων της ρίζας του γυμνόσπερμου φυτού *Abies cephalonica* (κεφαλληνιακή ελάτη) για 3, 6 και 12 h. Παρατηρήθηκε ότι οι μεσοφασικοί περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι κατακερματίζονται, η ωρίμανση της προ-προφασικής ζώνης καθυστερεί, ενώ οι πόλοι της προφασικής ατράκτου είτε πολλαπλασιάζονται είτε χαρακτηρίζονται από έντονη συσσώρευση μικροσωληνίσκων. Προκειμένου να διαπιστωθεί εάν η πυρήνωση μικροσωληνίσκων στους πόλους της προφασικής ατράκτου γίνεται εντονότερη παρουσία BPA, οι μικροσωληνίσκοι αρχικά αποδιοργανώθηκαν με επίδραση ορυζαλίνης και στη συνέχεια τα φυτάρια ανέκαμψαν παρουσία και απουσία BPA. Παρατηρήθηκε ότι η BPA ενισχύει την πυρήνωση μικροσωληνίσκων στους πόλους της προφασικής ατράκτου. Οι μεταφασικές άτρακτοι εμφανίζονται και αυτές πολυπολικές, ενώ πολλές φορές παρουσιάζουν άτυπες συγκλίσεις στους πόλους, οι οποίες διατηρούνται και στην ανάφαση. Η οργάνωση του φραγμοπλάστη χαρακτηρίζεται από επιμηκυσμένους μικροσωληνίσκους, οι οποίοι συχνά διατηρούν συνδέσεις με τον πυρήνα. Τα παραπάνω δεδομένα αναδεικνύουν την υψηλή τοξικότητα της BPA στα φυτά και ενισχύουν περαιτέρω την άποψη ότι οι πόλοι της προφασικής ατράκτου στα γυμνόσπερμα εμφανίζουν κεντροσωματικές ιδιότητες.

**THE MICROTUBULES OF THE GYMNOSPERM *Abies cephalonica*
ARE AFFECTED BY THE INHIBITOR BISPHENOL A**

***Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis, Pauper Marc, Panteris Emmanuel, Eleftheriou P.
Eleftherios***

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

Bisphenol A (BPA) affects mitosis and meiosis in animal cells, inducing the multiplication of centrosomes and producing multipolar spindles. Its effect has been related with aneuploidy. In plants, the knowledge regarding the putative effects of BPA on the mitotic apparatus is rudimental and is limited to a few cultivated plants grown hydroponically, where it was shown that BPA increased markedly the number of micronuclei after prolonged exposure. In the present study the effects of 100 mg/L BPA for 3, 6 and 12 hours on the microtubules of the root meristematic cells of the gymnosperm plant *Abies cephalonica* (fir of Cephallonia) were investigated. It was observed that the cortical microtubules of interphase cells became fragmented, the maturation of pre-prophase band of microtubules was delayed, while the poles of the prophase spindle either increased in number or were characterized by intense microtubule clustery. In order to determine whether microtubule nucleation at the poles of the prophase spindle was enhanced by BPA, the microtubules were first disorganized with oryzalin and then the seedlings recovered in the presence or absence of BPA. It was shown that BPA enhances microtubule nucleation at the poles of the prophase spindle. Metaphase spindles appeared multipolar, while they frequently showed atypical polar convergences, which were also retained in anaphase. Phragmoplast organization was characterized by elongated microtubules, which frequently retained connections with the nucleus. These data demonstrate the high toxicity of BPA to plants and further support the view that the poles of the prophase spindle in gymnosperms display centrosomal characteristics.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ER α ΚΑΙ ER β
ΣΤΟ ΠΑΧΥ ΕΝΤΕΡΟ ΕΠΙΜΥΩΝ ΜΕΤΑ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ
ΣΟΥΣΑΜΙΟΥ ΚΑΙ ΦΛΟΙΟΥ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

Λουίζα Αϊδινίδου, Αθανάσιος Ι Παπαδόπουλος

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων-Τομέας Ζωολογίας- Τμήμα Βιολογίας ΣΘΕ

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝ/ΜΙΟ ΘΕΣ/ΝΙΚΗΣ

Καρπός σουσαμιού καθώς και φλοιός (30%) χορηγήθηκαν μέσω διατροφής σε θηλυκούς επίμυες (Wistar), με στόχο τη διερεύνηση των επιπτώσεων της συγκεκριμένης διατροφής στην έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων ER α και ER β στο παχύ έντερο. Για να διερευνηθεί και να περιοριστεί η επίπτωση του οίστρου στην έκφραση των υποδοχέων μία ομάδα πειραματόζωων υποβλήθηκε σε ωοθηκεκτομή πριν την χορήγηση της δίαιτας.

Με την τεχνική της ανοσοαποτύπωσης (western blotting) παρατηρήθηκε ότι χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης σε φλοιό και σουσάμι προκαλεί μείωση της πρωτεΐνης του ER α στα πειραματόζωα, και πριν αλλά και μετά την ωοθηκεκτομή. Με την τεχνική της qRT-PCR διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα του mRNA και των δύο υποδοχέων μειώνονται είτε έχει προηγηθεί ωοθηκεκτομή είτε όχι. Χορήγηση σουσαμιού οδηγεί σε μεγαλύτερη μείωση για τον υποδοχέα ER β και στις δύο κατηγορίες πειραματόζωων. Οι μεταβολές αυτές που προκαλούνται εξαιτίας της διατροφής οδηγούν σε βελτίωση της αναλογίας ER α /ER β προς όφελος του ER β , ιδιαίτερα στην περίπτωση της χορήγησης φλοιού, παρατήρηση που σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία προσφέρει καλύτερη προστασία του ιστού έναντι πιθανής καρκινογένεσης

**EXPRESSION OF OESTROGEN RECEPTORS ER α AND ER β IN
THE COLON OF WISTAR RATS AFTER SUPPLYING A DIET
REACH IN SESAME AND PERISPERM**

Louiza Aidinidou, Athanasios I Papadopoulos

*Labrt Animal Physiology-Dept. of Zoology, School of Biology, Faculty of Science
ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI*

Sesame as well as perisperm at a concentration of 30% was supplied with normal diet to female Wistar rats in order to investigate its effect on the expression of oestrogen receptors ER α and ER β in the colon. Ovariectomy was performed to one group in order to investigate and eliminate the effect of estrus on the expression of the receptors.

Both, sesame and perisperm caused a significant reduction of the expression of ER α as judged by means of Western Blotting. The levels of mRNA quoting for the receptors were also reduced as judged by means of qRT-PCR, in both cases, prior or after ovariectomy. The ratio however of ER α /ER β was changed in favor to ER β indicating a beneficial effect of the diet towards possible carcinogenesis, particularly in the case of perisperm according to the international literature.

**IN VITRO ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΚΕΡΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ DNA ΑΠΟ ΤΗ
ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ALL-TRANS ΡΕΤΙΝΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΣΤΕΡΟΕΙΔΙΚΟΥ ΑΝΑΛΟΓΟΥ ΤΟΥ ΕΑ-4**

R. Alakhras¹, Γ. Στεφάνου¹, Ν.Α. Δημόπουλος¹, Σ.Σ. Νικολαρόπουλος²

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

²Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα

Σε προηγούμενη ερευνά μας έχουμε δείξει ότι το all-*trans* ρετινοϊκό οξύ (ATRA) το οποίο χρησιμοποιείται στη θεραπεία της οξείας προμυελογενούς λευχαιμίας καθώς και το στεροειδικό αναλόγο του ΕΑ-4 εμφανίζουν γονιδιοτοξική δράση σε ανθρώπινα λεμφοκύτταρα και σε κύτταρα ποντικού C₂C₁₂. Μειώνουν το ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων με συσσώρευση αυτών κατά την ανάφαση-τελόφαση, δημιουργούν πυρηνοπλασματικές γέφυρες, προκαλούν ανώμαλο κεντροσωματικό πολλαπλασιασμό, επηρεάζουν το χρωμοσωματικό προσανατολισμό κατά τη μετάφαση, και επάγουν τη δημιουργία μικροπυρήνων και πολυπυρήνωσης [1]. Η δημιουργία πολυπυρήνων κυττάρων πιθανόν προκαλείται από μεγάλου βαθμού θραύση του DNA, η οποία οδηγεί σε αποτυχία της κυτταροκίνησης. Επομένως είναι ενδιαφέρον να αξιολογήσουμε τον κερματισμό του DNA από το ATRA συγκριτικά με το ΕΑ-4. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήσαμε τη μέθοδο ηλεκτροφόρησης μοναδιαίων κυττάρων σε ουδέτερες συνθήκες (SCGE) σε κύτταρα ποντικού C₂C₁₂ και σε ανθρώπινα λευχαιμικά κύτταρα HL-60 σε συγκεντρώσεις 10⁻⁵ and 10⁻⁴ M. Εκτιμήθηκαν οι παράγοντες tail length, % DNA in tail, tail moment, and olive tail moment που αποκαλύπτουν θραύση του DNA. Φαίνεται ότι και οι δύο ενώσεις προκαλούν έξοδο του DNA από τον πυρήνα λόγω δίκλωνων ρηγμάτων σε αυτό, με το ΕΑ-4 να εμφανίζει ισχυρότερη δράση και στα δύο κυτταρικά συστήματα που πραγματοποιήθηκε η μελέτη. Τα προαναφερθέντα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν προηγούμενα ευρήματά μας και σε συνδυασμό με αυτά αποκαλύπτουν το μηχανισμό μέσω του οποίου το ρετινοϊκό οξύ ασκεί τη γονιδιοτοξική του δράση.

[1]. R.S. Alakhras, G. Stephanou, N.A. Demopoulos and S.S. Nikolaropoulos (2011) Genotoxicity of all-*trans* retinoic acid (ATRA) and its steroidal analogue EA-4 in human lymphocytes and mouse cells *in vitro*, Cancer Lett., doi:10.1016/j.canlet.2011.02.010

**IN VITRO INVESTIGATION ON DNA FRAGMENTATION INDUCED
BY ALL-TRANS RETINOIC ACID AND ITS STEROIDAL
ANALOGUE EA-4**

R. Alakhras¹, G. Stephanou¹, N.A. Demopoulos¹, S.S. Nikolaropoulos²

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

² Department of Pharmacy, University of Patras, 265 00 Patras, Greece

Our previous research has shown that all-*trans* retinoic acid (ATRA) which is used in the treatment of acute promyelocytic leukemia, and its steroidal analogue EA-4 are cytotoxic and genotoxic in human lymphocytes and C₂C₁₂ mouse cells. They reduce cellular proliferation rate and induce micronucleation. They also affect metaphase chromosome orientation as well as centrosome duplication, accumulate cells in ana-telophase, which exert micronucleation, abnormal centrosome number, nucleoplasmic bridges and multinucleation. [1]. Evidence show that multinucleation is likely caused by severe DNA fragmentation, which may also induce cytokinesis failure. Hence it would be of interest to evaluate DNA damaging potential of ATRA in comparison to EA-4. To achieve this target, neutral Single Cell Gel Electrophoresis (SCGE assay-Comet assay) was performed in two different cell systems, C₂C₁₂ mouse cells and HL-60 human leukemic cells. Four parameters were analyzed, tail length, % DNA in tail, tail moment, and olive tail moment, which reveal DNA fragmentation. Cells were treated by the studied compounds (ATRA and EA-4) at two different concentrations (10⁻⁵ and 10⁻⁴ M) and the experiments were repeated at least three times in duplicate slides. Both compounds provoke DNA migration due to double strand DNA fragmentation in both cell systems, EA-4 being the stronger inducer. The presented results in combination with our previous findings clarify the mechanism by which retinoic acid exert its genotoxic activity.

[1]. R.S. Alakhras, G. Stephanou, N.A. Demopoulos and S.S. Nikolaropoulos (2011) Genotoxicity of all-*trans* retinoic acid (ATRA) and its steroidal analogue EA-4 in human lymphocytes and mouse cells *in vitro*, Cancer Lett., doi:10.1016/j.canlet.2011.02.010

ΣΥΛΛΗΨΕΙΣ ΠΑΡΑΚΤΙΑΣ ΑΛΙΕΙΑΣ ΣΤΟ ΜΑΛΙΑΚΟ ΚΟΛΠΟ

¹ Αλεξίου Κ., ^{1,2} Τσίκληρας Α.

¹Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος, ²
Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη
Email: tsikliras@uth.gr

Η σύσταση και η βιομάζα των αλιευμάτων των παράκτιων σκαφών καταγράφεται σε περιορισμένο βαθμό στις ελληνικές θάλασσες, ειδικότερα δε τα δεδομένα που αφορούν συλλήψεις ανά αλιευτικό εργαλείο. Η συγκέντρωση τέτοιων δεδομένων είναι ιδιαίτερα σημαντική για το Μαλιακό Κόλπο, όπου έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα μαζικών θανάτων ψαριών εξαιτίας της ρύπανσης. Συνεπώς, τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως σημείο αναφοράς, καθώς καταγράφηκαν οι συλλήψεις σε βιομάζα ανά σκάφος ανά ημέρα αλιείας (kg/d), ενώ υπολογίστηκε και η αλιευτική προσπάθεια ως η αλιευόμενη βιομάζα ανά 1000 m διχτυού (kg/1000m). Αναλύθηκαν τα αλιεύματα από 65 διχτυάρικα σκάφη σε έξι λιμάνια (Γλύφα, Καμμένα Βούρλα, Μώλος, Πελασγία, Ράχες) του Μαλιακού Κόλπου (Οκτώβριος 2010-Φεβρουάριος 2011) σε εβδομαδιαία βάση, και συνολικά καταγράφηκαν 42 είδη από τα οποία τα 40 ήταν ψάρια και τα 2 κεφαλόποδα. Όλα τα σκάφη χρησιμοποιούσαν απλά δίχτυα με μήκος από 100 έως 990 m (μέσο μήκος 700 m περίπου), ύψος (άλτος) από 2 έως 5 m και άνοιγμα ματιού από 20 έως 28 mm (από κόμπο σε κόμπο). Αν και οι συλλήψεις ανά είδος παρουσίασαν έντονες μηνιαίες διακυμάνσεις αλλά και διαφορές μεταξύ των σκαφών, τα κυριότερα είδη σε απόλυτη αλιευόμενη βιομάζα ήταν η τσιπούρα *Sparus aurata* (39 kg), ο κέφαλος *Mugil cephalus* (32 kg), το λαβράκι *Dicentrarchus labrax* (27,5 kg), το μυζινάρι *Liza aurata* (24 kg), το μουςμούλι *Pagellus acarne* (24 kg), το κοκκάλι *Caranx* spp. (23 kg), και ο μπακαλιάρος *Merluccius merluccius* (22,5 kg). Η αλιευόμενη βιομάζα ανά σκάφος ανά ημέρα κυμάνθηκε από 1,5 έως 12 kg/d (μέση βιομάζα $\pm$ SD=5,8 $\pm$ 2,49 kg/d). Οι περιπτώσεις μηδενικών ημερήσιων συλλήψεων (n=2) και αλιείας 18 kg γαύρου *Engraulis encrasicolus* και σαρδέλας *Sardina pilchardus* (n=1) θεωρήθηκαν ακραίες και εξαιρέθηκαν από την ανάλυση. Η αλιευόμενη βιομάζα ανά 1000 m διχτυού ανά σκάφος κυμάνθηκε από 3,75 έως 33,3 kg/1000 m (μέση βιομάζα $\pm$ SD=9,5 $\pm$ 9,46 kg/1000 m). Τέλος, η μέση μηνιαία αλιευόμενη βιομάζα ανά 1000 m διχτυού, η οποία διέφερε μεταξύ των μηνών, κυμάνθηκε από 7,09 (Ιανουάριος) έως 14,52 kg/1000 m (Οκτώβριος).

SMALL SCALE FISHERY CATCHES IN MALIAKOS GULF

¹Alexiou K., ^{1,2} Tsikliras A.

¹Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly, Volos, ²Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki. Email: tsikliras@uth.gr

Small-scale coastal fisheries catch composition and species biomass are not routinely recorded in the Greek Seas, especially so the catches per fishing gear. Gathering such datasets is particularly important for Maliakos Gulf, where pollution induced fish mass mortalities have been observed in the past. Consequently, the results of the present study can be used as a reference point in the future as the catches in biomass per boat per day (kg/d) were recorded and the fishing effort was calculated in biomass per 1000 m of net (kg/1000 m). The catches of 65 small-scale netters were analyzed across six landing ports (Glyfa, Kamena Vourla, Molos, Pelasgia, Raches) of Maliakos Gulf, on a weekly basis, from October 2010 to February 2011. Overall, 42 species were recorded, of which 40 were fish and 2 cephalopods. All boats were fishing with gill-nets, which ranged from 100 to 990 m in length (mean length= ca. 700 m), from 2 to 5 m in height and had a mesh size ranging between 22 and 28 mm bar length. Although the catches per species fluctuated monthly and among vessels, the main, in terms of total biomass, species caught were the gilthead seabream *Sparus aurata* (39 kg), the flathead grey-mullet *Mugil cephalus* (32 kg), the European seabass *Dicentrarchus labrax* (27.5 kg), the golden grey-mullet *Liza aurata* (24 kg), the axillary seabream *Pagellus acarne* (24 kg), *Caranx* spp. (23 kg), and the European hake *Merluccius merluccius* (22.5 kg). Landed biomass per vessel per day ranged between 1.5 and 12 kg/d (mean biomass $\pm$ SD=5.8 $\pm$ 2.49 kg/d). The cases of zero catches per day (n=2) and those of fishing 18 kg of anchovy *Engraulis encrasicolus* and sardine *Sardina pilchardus* (n=1) were considered outliers and excluded from the analysis. Biomass per 1000 m of gill-net per vessel ranged between 3.75 and 33.3 kg/1000 m (mean biomass $\pm$ SD=9.5 $\pm$ 9.46 kg/1000 m). Finally, the mean monthly landed biomass per 1000 m of gill-net, which varied among months, ranged from 7.09 (January) to 14.52 kg/1000 m (October).

**ΟΙ ΠΑΝΙΔΕΣ ΤΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΚΑΙ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ANNELIDA,
APLACOPHORA, MONOPLACOPHORA ΚΑΙ SCAPHOPODA (MOLLUSCA)
ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΘΑΛΑΣΣΩΝ ΚΑΙ ΟΙ ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ
ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΙΣ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΣ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ**

Αναστασίου Θ.¹, Χριστοδούλου Μ.¹, Αρβανιτίδης Χ.² & Α. Κούκουρας¹

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη. ²ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. Κρήτης,
Πρώην Αμερικανική Βάση Γουρνών, 71003, Ηράκλειο Κρήτης

Μετά από λεπτομερή ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας, δημιουργήθηκαν ελεγμένοι κατάλογοι των Annelida (Polychaeta, Oligochaeta, Hirudinomorpha) και 3 ομάδων των Mollusca (Aplacophora, Monoplacophora, Scaphopoda) που είναι γνωστά μέχρι σήμερα από τον ελλαδικό, χερσαίο και θαλάσσιο χώρο. Όλα τα είδη που έχουν καταγραφεί, καταχωρήθηκαν σε μια βάση δεδομένων μαζί με τη σχετική πρώτη βιβλιογραφική αναφορά τους από τον ελλαδικό χώρο. Η βάση δεδομένων ονομάζεται “Ελληνική Βιοποικιλότητα” και είναι προσβάσιμη στη διαδικτυακή διεύθυνση: <http://greek-biodiversity.web.auth.gr>.

Από τα χερσαία και λιμνοποτάμια ενδιαιτήματα της Ελλάδας έχουν αναφερθεί 128 είδη Oligochaeta, που αντιστοιχούν στο 13,14% του συνολικού αριθμού των ειδών της Ευρώπης (974) και 22 είδη Hirudinomorpha που αντιστοιχούν στο 22,68% του συνόλου των ευρωπαϊκών ειδών (97). Από τα θαλάσσια ενδιαιτήματα της Ελλάδας έχουν αναφερθεί 4 είδη Hirudinomorpha που αποτελούν το 40,0% του συνολικού αριθμού των μεσογειακών ειδών (10) και 753 είδη Polychaeta που αντιστοιχούν στο 68,64% του συνολικού αριθμού των ειδών που είναι γνωστά από τη Μεσόγειο (1097). Επίσης, έχουν βρεθεί 7 είδη Aplacophora που αποτελούν το 16,67% του συνόλου των μεσογειακών ειδών (42) και 12 είδη Scaphopoda που αντιστοιχούν στο 40,0% του συνόλου (30). Από τα 2 είδη Monoplacophora που έχουν βρεθεί στη Μεσόγειο δεν υπάρχουν αναφορές για την παρουσία τους στον ελλαδικό θαλάσσιο χώρο.

Ο μικρός αριθμός ειδών Oligochaeta και Hirudinomorpha που βρέθηκαν στα χερσαία και λιμνοποτάμια ενδιαιτήματα της Ελλάδας μπορεί να αποδοθεί στις ανεπαρκείς δειγματοληπτικές προσπάθειες, εξαιτίας της έλλειψης εξειδικευμένων Ζωολόγων, που δεν επιτρέπουν την απόκτηση μιας πλήρους εικόνας για τη ζωογεωγραφική κατανομή των ομάδων αυτών. Αντίθετα, ο υψηλός αριθμός ειδών Polychaeta, Aplacophora και Scaphopoda που έχει βρεθεί στις ελληνικές θάλασσες μπορεί να αποδοθεί στις εντατικές δειγματοληπτικές προσπάθειες και μελέτες, στην άμεση επικοινωνία τους με την δυτική λεκάνη της Μεσογείου και στην υψηλή ποικιλότητα των ενδιαιτημάτων τους.

**THE FAUNAS OF TERRESTRIAL AND MARINE ANNELIDA,
APLACOPHORA, MONOPLACOPHORA AND SCAPHOPODA
(MOLLUSCA) OF GREECE AND GREEK SEAS AND COMPARISON
WITH THE RESPECTIVE ONE OF EUROPE AND THE
MEDITERRANEAN SEA**

Anastasiou T.¹, Christodoulou M.¹, Arvanitidis Ch.² & A. Koukouras²

¹Department of Zoology, School of Biology, A.U.TH., 541 24 Thessaloniki.

²H.C.M.R., Former US Base at Gournes, Heraklion, 71 003, Crete

After a detailed review of the relevant literature, a checklist of the Annelida (Polychaeta, Oligochaeta, Hirudinomorpha) and of 3 groups of the Mollusca (Aplacophora, Monoplacophora, Scaphopoda) known to date from Greece was created. Every species that has been recorded was registered in a database along with the relevant publication reporting it for the first time from Greece. The database is called "Greek Biodiversity" and is available in the internet address: <http://greek-biodiversity.web.auth.gr>.

One hundred and twenty eight (128) oligochaete species have been recorded from the terrestrial, limnic and riverine habitats of Greece that correspond to 13.14% of the total number of species known from Europe (974), together with twenty two (22) Hirudinomorpha species that correspond to 22.68% of the total number of the reported European species (97). From the marine habitats of Greece, 4 Hirudinomorpha species that comprises 40.0% of the total number of the Mediterranean species (10) and 753 Polychaeta species that correspond to the 68.64% of the total number of species that are known from the Mediterranean Sea (1097) are found. Additionally, 7 Aplacophora species comprising 16.67% of the total Mediterranean species (42) and 12 Scaphopoda species corresponding to 40.0% of the total species number known from the Mediterranean (30) have been recorded. Two Monoplacophora species have been reported from the Mediterranean Sea, but neither of them has been recorded until now from Greece.

The low number of Oligochaeta and Hirudinomorpha species found in terrestrial, limnic and riverine habitats of Greece can be attributed to the inadequate sampling efforts due to the lack of specialist zoologists and do not permit the acquisition of a complete picture for the zoogeographical distribution of these groups. On the contrary, the high number of Polychaeta, Aplacophora and Scaphopoda species found in the Greek seas can be attributed to the intensive sampling efforts and studies, to the direct communication of the Greek seas with the western basin of the Mediterranean Sea and to the high habitat variability found in them.

IN VIVO ΔΙΑΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΤΥΡΟΣΙΝΗΣ SYK ΣΕ ΩΡΙΜΑ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΩΡΙΜΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΠΟΝΤΙΚΙΩΝ

Αναστασοπούλου Β.^{1,2}, Hobeika E.², Levit E.², Leicht D.², Τσιτσιλώνη Ο.¹, Reth M.²

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, ²Dept. of Molecular Immunology, Faculty of Biology, University of Freiburg and Max-Planck Institute for Immunobiology, D-79108 Freiburg, Germany

Η κινάση τυροσίνης SYK εμπλέκεται σε διάφορες ανοσολογικές διεργασίες, όπως την αναγνώριση παθογόνων από την έμφυτη ανοσία, την κυτταρική προσκόλληση και τη σηματοδότηση μέσω υποδοχέων. *In vivo* διαγραφή της SYK στα Β κύτταρα συμβαίνει μετά από χορήγηση Tamoxifen σε ποντίκια (*Mus musculus*) που φέρουν ένα γονίδιο SYK με δύο πλευρικές *loxP* θέσεις και ένα γονίδιο *mb-1*, του οποίου το ένα αλληλόμορφο έχει αντικατασταθεί με ένα CreER^{T2} αλληλόμορφο, ώστε η Cre ρεκομπινάση να εκφράζεται μόνο στα Β κύτταρα κάτω από τον έλεγχο του *mb-1* υποκινητή. Η παρουσία Tamoxifen επιτρέπει της Cre στον πυρήνα, όπου προωθεί τον ανασυνδυασμό του DNA στις *loxP* θέσεις. Η μελέτη διεξήχθη στο μυελό των οστών, το σπλήνα, τους λεμφαδένες και τις πλάκες του Peyer. Ο ανοσοφαινότυπος των Β κυττάρων μετά τη χορήγηση Tamoxifen προσδιορίστηκε με κυτταρομετρία ροής. Η απουσία της SYK επιβεβαιώθηκε με RT PCR, ανάλυση κατά Western και ενδοκυτταρική χρώση. Οδήγησε σε απουσία της διάχυτης ζώνης στο σπλήνα, παρεμπόδιση της ανάπτυξης των Β κυττάρων στο μυελό των οστών μετά από αρκετές δόσεις Tamoxifen και συνεπακόλουθη απουσία ανώριμων Β κυττάρων στο σπλήνα. Οι υπόλοιποι υποπληθυσμοί Β κυττάρων εμφανίζονται κανονικά στα διάφορα όργανα, ενώ όλα τα Β κύτταρα εκφράζουν φυσιολογικά επίπεδα BCR. Για τη μελέτη της λειτουργίας των SYK-ανεπαρκών Β κυττάρων, τα κύτταρα απομονώθηκαν είτε με μαγνητικό διαχωρισμό (MACS) είτε με FACS. Διέγερση τους με αντι-IgM και αντι-kappa, δεν οδήγησε σε αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca²⁺. *Ex vivo* διέγερσή τους μέσω του BCR με αντι-IgM, αντι-RP105 και αντι-CD38, δεν οδήγησε σε ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Αντίθετα, έκθεση σε αντι-CD40, IL-4, LPS και TLR συνδέτες ενεργοποίησε τα κύτταρα. Αξίζει να σημειωθεί, ότι τα SYK-ανεπαρκή Β κύτταρα ανιχνεύονται στον οργανισμό μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα.

CONDITIONAL *IN VIVO* DELETION OF SYK IN MATURE B CELLS IN MATURE MURINE MODELS

Anastasopoulou V.^{1,2}, Hobeika E.², Levit E.², Leicht D.², Tsitsilonis O.¹, Reth M.

²¹Dept. of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, ²Dept. of Molecular Immunology, Faculty of Biology, University of Freiburg and Max-Planck Institute for Immunobiology, D-79108 Freiburg, Germany

Spleen tyrosine kinase (SYK) is involved in diverse biological processes in the immune system, such as in innate pathogen recognition, cell adhesion and receptor signaling of immune cells. *In vivo* deletion of SYK in B cells occurs upon treatment with Tamoxifen of mice (*Mus musculus*) carrying a SYK gene flanked by *loxP* sites and a *mb-1* gene where one allele of the *mb-1* locus is replaced by a CreER^{T2} allele. In this system, Cre recombinase is expressed only in B cells under the *mb-1* promoter. Tamoxifen allows the translocation of Cre to the nucleus where it is able to promote the recombination of floxed DNA. Analysis was carried out in bone marrow, which is a primary lymphoid organ, and in secondary lymphoid organs such as spleen, lymph nodes and Peyer's patches. The immunophenotype of B cells after administration of Tamoxifen was determined by flow cytometric analysis. The absence of SYK was confirmed by RT PCR, Western Blot analysis and intracellular staining. After deletion of SYK, the spleen lacks marginal zone B cells, which are important in early antigen recognition. Furthermore, after prolonged treatment with Tamoxifen, blocking of B cell development in bone marrow and absence of immature B cells in spleen were noticed. The remaining B cell subsets appeared normal in all lymphoid organs studied. Mature B cells lacking SYK expressed the same levels of BCR as the wild type B cells. To study the functionality of SYK deficient B cells, the cells were isolated by magnetic sorting (MACS depletion) and FACSort separation and were analysed *ex vivo*. Stimulation with anti-IgM F(ab')₂ and anti-kappa F(ab')₂ cross-linking antibodies, led to defect in intracellular Ca²⁺ mobilization. *Ex vivo* stimulation of the cells *via* their BCR with anti-IgM F(ab')₂, anti-RP105 and anti-CD38 did not lead to their activation (CD86 expression) and proliferation. However, exposure to anti-CD40, IL-4, LPS and TLR stimuli activated the cells. Surprisingly, mature B cells which do not express SYK, were still detected after a long period of time.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΛΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ PURKAIT ΣΕ ΣΥΓΧΡΟΝΟ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ (The Athens Collection)

Αναστοπούλου Ι., Ηλιόπουλος Κ., και Σ.Κ. Μανώλης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα*

**Research Centre in Evolutionary Anthropology and Palaeoecology, School of Natural
Sciences and Psychology, Liverpool John Moores University, Byrom Street, Liverpool
L3 3AF, U.K.*

E-mail: smanol@biol.uoa.gr; C.Eliopoulos@ljmu.ac.uk

Η ύπαρξη φυλετικού διμορφισμού σε επιμέρους στοιχεία του ανθρώπινου σκελετού επιτρέπει τον προσδιορισμό του φύλου και συμβάλει σημαντικά στην ταυτοποίηση αγνώστων ατόμων. Παραδοσιακά, για τον ασφαλή προσδιορισμό του φύλου χρησιμοποιούνται η πύελος και το κρανίο. Συχνά όμως αυτά δεν είναι διαθέσιμα κι έτσι καταφεύγουμε σε άλλες μεθόδους. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη του φυλετικού διμορφισμού στο ανώτερο τμήμα του μηριαίου οστού και ο προσδιορισμός του φύλου. Στη περιοχή της κεφαλής και των τροχαντήρων του μηριαίου προσδιορίστηκαν 3 σημεία που σχηματίζουν το επονομαζόμενο τρίγωνο Purkait. Το δείγμα που μελετήθηκε αριθμεί 203 άτομα (112 άνδρες και 91 γυναίκες) που προέρχονται από τη Σύγχρονη Σκελετική Συλλογή Αναφοράς (The Athens Collection) του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου (ΕΚΠΑ). Τα βιομετρικά δεδομένα αναλύθηκαν με Discriminant Analysis και προέκυψαν εξισώσεις για τον προσδιορισμό του φύλου, οι οποίες έδωσαν συνολικό ποσοστό σωστού προσδιορισμού 78,3%. Για το δεξιό μηριαίο και το αριστερό τα ποσοστά είναι 77,8% και 75,9% αντίστοιχα. Τα ποσοστά επιτυχίας συγκρινόμενα με εκείνα του Purkait (2005) είναι χαμηλότερα (86,4% σωστή ταξινόμηση συνολικά) (86,50% άνδρες και 86,30% γυναίκες). Στην εργασία των Brown et al (2007) τα αποτελέσματα εφαρμογής της παραπάνω μεθόδου στην Terry Collection (ΗΠΑ) έδωσαν σωστή ταξινόμηση για τους άνδρες 84,00%, για τις γυναίκες 90,00%. Η μελέτη του φυλετικού διμορφισμού (ΦΔ) στους πληθυσμούς Ελλήνων, Ινδών, Ευρωπαίων- και Αφρικανών-Αμερικανών έδωσε ενδιαφέρουσες παρατηρήσεις. Η διάμετρος AB στο ελληνικό δείγμα εμφανίζει τον χαμηλότερο βαθμό ΦΔ ενώ η AC τον υψηλότερο. Στους τρεις άλλους η διάμετρος BC εμφανίζει τον μεγαλύτερο βαθμό ΦΔ. Πιθανολογούμε ότι η ανατομία του μηριαίου οστού των Ελλήνων, αποτελεί μια σημαντική αιτία που η μέθοδος Purkait δεν δίνει υψηλά ποσοστά σωστής ταξινόμησης, και δεν μπορούμε να την εφαρμόσουμε.

**TESTING THE PURKAIT'S METHOD IN A MODERN GREEK
HUMAN SKELETAL POPULATION (The Athens Collection)**

*Anastopoulou I., Eliopoulos C. *, and S.K. Manolis*

*Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece,*

**Research Centre in Evolutionary Anthropology and Palaeoecology, School of Natural
Sciences and Psychology, Liverpool John Moores University, Byrom Street, Liverpool
L3 3AF, U.K.*

E-mail: smanol@biol.uoa.gr; C.Eliopoulos@ljmu.ac.uk

The existence of sexual dimorphism in individual elements of the human skeleton allows the sex determination and considerably contributes to the identification of unidentified remains. Traditionally, the pelvis and the skull are used for the secure sex determination. Sometimes they are not available, so we are led to alternative methods. The aim of this work is to study the sexual dimorphism to the proximal portion of the femur and the sex determination. In the area of the femur head and the trochanters were determined 3 points, which form the so-called Purkait triangle. The studied sample comprises 203 individuals (112 males and 91 females) from the Modern Human Skeletal Reference Collection (The Athens Collection) of the Dept of Animal & Human Physiology (National & Kapodistrian University of Athens). The biometric data were analyzed by Discriminant Analysis and equations were generated for sex determination, which gave an overall correct classification of 78.3%. For the right and the left femur the percentages are respectively 77.8% and 75.9%. Correct classification percentages compared to those of Purkait (2005) are lower (86.4% total correct classification) (86.50% for males and 86.30% for females). In the work of Brown et al (2007), the results of the application of the method on the Terry Collection (USA) gave correct determination of 84.00% and 90.00% for males and females respectively. The study of sexual dimorphism (SD) in populations of Greeks, Indians, European- and African-Americans gave interesting remarks. The AB diameter in the Greek sample shows the lowest degree of SD while the AC diameter shows the highest. In the rest three population samples, the BC diameter shows the highest degree of SD. We assume that the femur anatomy of the Greeks is the major cause that the Purkait method does not give high rates of correct classification and thus we cannot apply this method to the Greek population.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ *Zymomonas mobilis* ΕΝΑΝΤΙ ΑΛΛΩΝ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ**

Ανδρεά Αθηνά και Κατερίνα Μ. Παππά.

Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας,, Τμήμα Βιολογίας,, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, Τ.Κ.15701

Το *Zymomonas mobilis* είναι δυνητικά αναερόβιο α-πρωτεοβακτήριο που παράγει αιθανόλη ως τελικό προϊόν μεταβολισμού του άνθρακα. Στο πλαίσιο εφαρμογών του σε μεικτές βιοαποικοδομήσεις με άλλους μικρο-οργανισμούς, ενδιαφέρει η διερεύνηση της τοξικότητάς του. Δεδομένα του εργαστηρίου μας καταδεικνύουν την ανταγωνιστική δράση του *Z. mobilis* έναντι α- και γ-πρωτεοβακτηρίων και έναντι μυκήτων, η οποία φέρεται ως ανεξάρτητη της παραγωγής αιθανόλης. Χαρακτηριστικά, η ανταγωνιστική δράση του *Z. mobilis* έναντι μελών των *Rhizobiaceae* (α-πρωτεοβακτηρίων) είναι ιδιαίτερα έντονη και πιθανόν επαγωγίμη: εκδηλώνεται σε όψιμη φάση ανάπτυξης των βακτηρίων σε στερεές καλλιέργειες και ανομοιογενώς - εντείνεται σε περιοχές υψηλής πυκνότητας κυττάρων ή αποκλεισμού διάχυσης (diffusion barriers). Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η έκλυση της πιθανής ανταγωνιστικής ουσίας σε συνθήκες αεροβίωσης-αναεροβίωσης καθώς και η θερμοευαισθησία ή η πτητικότητα της. Σε γενετικό επίπεδο, επιτελέστηκε χημική μεταλλαξογένεση του *Z. mobilis* CP4 με το μεταλλαξογόνο MNNG (*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine), η οποία οδήγησε στην απομόνωση μεταλλαγμένων φαινοτύπων που εμφανίζουν υστέρηση στην εκδήλωση της ανταγωνιστικότητας έναντι του *A. tumefaciens* - ως οργανισμού-στόχου σε βιοδοκιμασίες - σε ποσοστό 1,4% επί συνόλου εκατοντάδων αποικιών ελεγμένων ξεχωριστά. Τα πειράματα μεταλλαξογένεσης επεκτείνονται αυτήν την εποχή με τη δημιουργία βιβλιοθήκης Tn5-ενθέσεων. Τέλος, *in silico* ανάλυση διαφορετικών γονιδιωμάτων στελεχών του *Z. mobilis* ανέδειξε την παρουσία υποψηφίων γονιδίων που πιθανόν να ευθύνονται για τοξικό φαινότυπο, όπως πλασμιδιακών ζευγών τοξινών - αντιτοξινών, RTD τοξινών ή αντιμικροβιακών παρεμποδιστών (π.χ. φαιναζίνης) και κυρίως γονιδίου παραγωγής κολισίνης τύπου V, συντηρημένου και κοινά οργανωμένου ανάμεσα στα διαφορετικά στελέχη που εξετάστηκαν. Απενεργοποίηση επιλεγμένων γονιδίων από τα τελευταία αποτελεί τον επόμενο άμεσο στόχο στην παρούσα έρευνα.

STUDY OF THE ANTAGONISM EXHIBITED BY THE ETHANOL - PRODUCING BACTERIUM *Zymomonas mobilis* AGAINST OTHER MICROORGANISMS

Andrea Athina and Katherine M. Pappas K.M.

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

Zymomonas mobilis is a facultatively anaerobic α -proteobacterium that produces ethanol as major fermentation product. Its toxicity against other microorganisms is of particular interest considering its emerging role in bioethanol production and its desirable participation in consolidated bioprocessing. According to our findings, *Z. mobilis* is particularly antagonistic against species of the α - and γ -proteobacteria and of fungi, and this seems to be irrespective of the presence of ethanol *per se*. The antagonism against other α -proteobacteria, and in particular members of *Rhizobiaceae*, is intense and probably inducible: it appears to be culture phase- and density-dependent and seems stronger close to diffusion barriers, at solid cultures overlain with the susceptible organisms. Parameters playing role in the production and release of the putative antagonistic compound and preliminary evidence as to its nature were examined, i.e. its activity at aerobic vs. anaerobic growth, its heat stability and volatility. From a genetic perspective, chemical mutagenesis of *Z. mobilis* CP4 was carried out using MNNG (*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine). A mutant library was constructed and screened for strains lacking the ability to inhibit growth of *A. tumefaciens*, when laid over colonies grown individually in microtiter plate wells. Out of hundreds of colonies examined, conditional mutants that delayed (but did not abolish) *A. tumefaciens* inhibition were isolated at a rate of 1.4%. In the same direction, a Tn5-insertion library is currently under construction. Finally, an *in silico* analysis of the genomes of different *Z. mobilis* strains that are so far sequenced was conducted, in order to detect toxicity-related genes. Indeed, genes coding for plasmid toxin-antitoxin systems, RTD toxins or antimicrobial agents (phenazine) were found, as also a gene coding for the production of colicin V. The sequence and organization of the latter is highly conserved among *Z. mobilis* strains examined. Inactivation of this or other toxicity-related genes and study of the resulting phenotypes are to be performed in the immediate future.

**Η ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗ ΑΣΚΕΙ ΤΙΣ ΑΝΤΙΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΕΣ ΤΗΣ
ΔΡΑΣΕΙΣ ΕΠΙΔΡΩΝΤΑΣ ΣΤΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΦΑΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΤΑ ΗΤΒ-43 ΚΑΙ CCL-138 ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ
ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ**

**Ανεστόπουλος Ιωάννης¹, Ζώης Χρήστος², Κουκουράκης Μιχαήλ², Παναγιωτίδης
Μιχαήλ^{3,4}, Παππά Αγλαΐα^{1#}.**

¹Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα; ²Τμήμα Ακτινοθεραπείας, Ιατρική Σχολή, Αλεξανδρούπολη, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Ελλάδα; ³Τμήμα Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα; ⁴Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Nevada, Reno, Nevada, USA

#Επικοινωνία: apappa@mbg.duth.gr

Η silibinin αποτελεί το σημαντικότερο ενεργό συστατικό της sylimarín, μείγματος τουλάχιστον επτά φλαβονολιγνάνων και ενός φλαβονοειδούς που εξάγεται από το φυτό *Silibum marianum* L. Gaerth. Στη παρούσα εργασία εξετάστηκαν οι αντικαρκινικές ιδιότητες της ουσίας σε προκλινικά μοντέλα καρκίνου της στοματικής κοιλότητας. Η silibinin έδειξε σημαντική κατασταλτική δράση στον πολλαπλασιασμό των ΗΤΒ-34 (φαρυγγικό πλακώδες καρκίνωμα) και CCL-138 (μεταστατικό φαρυγγικό πλακώδες καρκίνωμα) κυττάρων, σε συνθήκες παρουσίας ή απουσίας ορού στο θρεπτικό μέσο. Στην τελευταία περίπτωση, η silibinin παρουσίασε μεγαλύτερη κατασταλτική δράση, που συνοδεύτηκε από σημαντική μείωση (μεγαλύτερη του 50%) των τιμών EC₅₀, γεγονός που μας οδήγησε να διερευνήσουμε την ενδεχόμενη συμμετοχή του αυτοφαγικού μονοπατιού. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις silibinin, παρατηρήθηκε ανοδική ρύθμιση των πρωτεϊνών LC3-I, LC3-II, και p62/SQSTM1 (δείκτες αυτοφαγίας), ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις η silibinin προκάλεσε απόπτωση, καθώς παρατηρήθηκε ενεργοποίηση της σχάσης της poly(ADP-ribose) polymerase (PARP). Επίσης, η silibinin προκάλεσε δόσο-εξαρτώμενη αύξηση των υδατικών υπεροξειδίων σε κύτταρα CCL-138, υποδεικνύοντας ότι ασκεί τις αντιπολλαπλασιαστικές της ικανότητες εν μέρει μέσω ενός εξαρτώμενου από τις ROS μονοπατιού. Οι παρατηρήσεις αυτές θα ενισχύσουν την κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών που εμπλέκονται στην αντικαρκινική δράση της ουσίας, συνεισφέροντας στην πρόοδο νέων θεραπευτικών οδών στη θεραπεία του καρκίνου της στοματικής κοιλότητας.

SILIBININ EXERTS ITS ANTIPROLIFERATIVE ACTIONS BY AFFECTING THE AUTOPHAGIC AND APOPTOTIC PATHWAYS IN HUMAN SQUAMOUS CARCINOMA HTB-43 AND CCL-138 CELLS

Anestopoulos Ioannis^{1*}, Zois Christos², Koukourakis Michail², Panayiotidis Mihalīs^{3,4} and Pappa Aglaia^{1#}.

¹Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece; ²Department of Radiation Oncology, Medical School, , Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece; ³Department of Pathology, Medical School, University of Ioannina, Ioannina, Greece; ⁴School of Community Health Sciences, University of Nevada, Reno, Nevada, USA. #Correspondance: apappa@mbg.duth.gr

Silibinin is the major active constituent of silymarin, a mixture of at least seven flavonolignans and one flavonoid extracted from the plant *Silybum marianum* L. Gaerth. In the current study, we have aimed to investigate into its anticarcinogenic potential in preclinical models of oral cancer. Silibinin showed significant inhibitory effect on proliferation of HTB-43 (pharyngeal squamous carcinoma) and CCL-138 (metastatic pharyngeal squamous carcinoma) cells cultured in media in the presence or absence of serum. In the latter case, silibinin exerted a more significant inhibitory effect accompanied with substantial reduction (more than 50%) in EC₅₀ values, which led us to investigate into the potential involvement of the autophagic pathway. At its lower concentrations, impairment of autophagy was confirmed by up-regulation of LC3-I, LC3-II and p62/SQSTM1 (autophagy markers), while at higher concentrations it induced apoptosis observed by activation of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) cleavage. Also, silibinin generated a dose-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) and aqueous peroxides content in CCL-138 cells suggesting that it may exert its antiproliferative actions partly through a ROS-dependent pathway. These observations will enhance our understanding of the underlying mechanism(s) involved in the anticarcinogenic role of this compound and thus could potentially contribute to the advancement of novel therapeutic avenues in the treatment of oral cancer.

**ΡΟΛΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΜΕΤΑΤΡΕΠΤΙΚΟΥ
ΕΝΖΥΜΟΥ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΤΑΣΙΝΗΣ (ACE) ΚΑΙ ΜΤΗFR ΣΤΗΝ
ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΑΝΕΥΡΥΣΜΑΤΟΣ ΑΟΡΤΗΣ
ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΟΥΒΩΝΟΚΗΛΗΣ**

*Αντωνίου Γ.⁽¹⁾⁽²⁾, Πατέρα Σ.⁽³⁾, Λαζαρίδης Μ.⁽²⁾, Σιμόπουλος Κ.⁽¹⁾, Γιαννούκας Α.⁽⁴⁾,
Βελετζά Σ.⁽³⁾*

*⁽¹⁾ 2^η Χειρουργική Κλινική ⁽²⁾ Αγγειοχειρουργική Κλινική, ⁽³⁾ Εργαστήριο Ιατρικής
Βιολογίας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Ιατρικής, ⁽⁴⁾ Αγγειοχειρουργική
Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.*

Εισαγωγή: Υπάρχουν αρκετά κλινικά στοιχεία που συνδέουν το ανεύρυσμα κοιλιακής αορτής και τη βουβωνοκήλη ανάγοντας τις νόσους αυτές σε μια κοινή παθογένεια. Λείπουν, ωστόσο, γενετικές μελέτες συσχέτισης, που να δείχνουν ένα κοινό γενετικό υπόστρωμα. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει εάν ο πολυμορφισμός insertion/deletion (I/D) του γονιδίου του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (ACE) και ο πολυμορφισμός C677T της αναγωγάσης του τετραϋδροφολικού οξέως (MTHFR) σχετίζονται αιτιοπαθογενετικά με το ανεύρυσμα και την κήλη.

Μέθοδος: Διενεργήθηκε μια μελέτη ελέγχου σε 264 άτομα : 65 ασθενείς με ανεύρυσμα κοιλιακής αορτής, 91 ασθενείς με βουβωνοκήλη, 19 ασθενείς με αορτικό ανεύρυσμα και συνυπάρχουσα βουβωνοκήλη και 89 υγιείς μάρτυρες. Γενοτυπική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) σε δύο στάδια.

Αποτελέσματα: Η γενοτυπική κατανομή του πολυμορφισμού του ACE ήταν ίδια στις ομάδες των ασθενών. Δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα των αλληλομόρφων μεταξύ των υπό μελέτη ομάδων. Ωστόσο παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα κατανομής των γενοτύπων I/D & D/D μεταξύ ασθενών με ανεύρυσμα και/ή βουβωνοκήλη και υγιών μαρτύρων. Τέλος δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στη γενοτυπική κατανομή του πολυμορφισμού της MTHFR και στη συχνότητα των αντίστοιχων αλληλομόρφων μεταξύ ασθενών και μαρτύρων.

Συμπεράσματα: Η ετεροζυγωτία I/D του ACE συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ανευρύσματος ή/και βουβωνοκήλης. Ο πολυμορφισμός C677T στο MTHFR δε βρέθηκε να συνδέει γενετικά τις δύο νόσους. Περαιτέρω μελέτες γενετικής συσχέτισης θα μπορούσαν να δώσουν περισσότερες πληροφορίες για έναν πιθανό γενετικό σύνδεσμο των νόσων αυτών.

**THE ROLE OF ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME
GENOTYPES (ACE) OR MTHFR IN THE PATHOGENESIS OF
ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM AND INGUINAL HERNIA**

**Antoniou G.⁽¹⁾⁽²⁾, Patera S.⁽³⁾, Lazaridis M.⁽²⁾, Simopoulos K.⁽¹⁾, Giannoukas A.⁽⁴⁾,
Veletza S.⁽³⁾**

*⁽¹⁾ 2nd Clinic of Surgery, ⁽²⁾ Clinic of Vascular Surgery, ⁽³⁾ Dept. of Medical Biology,
Democritus University of Thrace, Division of Medicine ⁽⁴⁾ Clinic of Vascular Surgery,
Thessaly Medical School*

Background. Sufficient clinical evidence exists to correlate abdominal aortic aneurysm and inguinal hernia to a common pathology. However, genetic studies of correlation that show a common genetic background are rising. The objective of the present study was to establish whether the insertion/deletion (I/D) polymorphism of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) and polymorphism C677T of MTHFR are risk factors predisposing to aneurysm and hernia.

Materials and Methods. A case-control study was conducted in 264 subjects: 65 patients with abdominal aortic aneurysm, 91 patients with inguinal hernia, 19 patients with both aortic aneurysm and inguinal hernia and 89 controls were investigated for the ACE I/D polymorphism and polymorphism MTHFR C677T. DNA was extracted from whole blood and genotype analysis was performed using a two stage polymerase chain reaction technique.

Results. The groups were matched for gender, age and frequency of hypertension. The genotype distribution was similar among the aneurysm, aneurysm plus hernia and hernia groups. However, significant differences in I/D and D/D polymorphisms were identified between patients with aneurysm and/or hernia and control individuals ($p < 0.05$). No differences in the frequencies of the alleles among the study populations were detected. No differences were observed concerning the genotype distribution of the polymorphism MTHFR and the frequency of the alleles between patients and control.

Conclusions. Disturbances in ACE genotype distribution provide the first indication for the genetic association of aortic aneurysm and inguinal hernia. The polymorphism in MTHFR did not indicate any genetic connection of the two diseases. Further larger case control studies are required to consolidate the potential common genetic basis of the two conditions.

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΑ ΧΗΜΕΙΟΠΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ MELPHALAN-
OXALIPLATIN ΣΕ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΠΑΧΕΩΣ
ΕΝΤΕΡΟΥ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ**

Αποστόλου Π.¹, Τολούδη Μ.¹, Χατζηγιάννου Μ.¹, Παπασωτηρίου Ι.^{1,2}

¹Κέντρο Έρευνας Γενετικής του Καρκίνου (R.G.C.C. Ltd),

Μ. Αλεξάνδρου 115, 53070 Φιλώτας, Φλώρινα

*² Uniklinikum, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Onkologie-Hämatologie
Abteilung, Halle (Saale), Deutschland*

Η Melphalan είναι ευρέως διαδεδομένο χημειοθεραπευτικό, το οποίο συγκαταλέγεται στην οικογένεια των “nitrogen mustards alkylating agents”. Η Oxaliplatin, είναι ένα επίσης χημειοθεραπευτικό, παράγωγο πλατίνας, το οποίο συγκαταλέγεται στους αλκυλιωτικούς παράγοντες, καθώς έχει παρόμοιο μηχανισμό δράσης, ωστόσο δεν εμφανίζει αλκυλομάδα. Σκοπός της παρούσας εργασίας, είναι να προσδιοριστεί η προγνωστική αξία κυτταρικών μεθοδολογιών για την ανταπόκριση στα χημειοθεραπευτικά Melphalan-Oxaliplatin σε νεοπλάσματα μαστού και παχέως εντέρου, δεδομένου ότι βιβλιογραφικά και πειραματικά δεδομένα έχουν επισημάνει την εμφάνιση ανθεκτικότητας στα παραπάνω. Για την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινες τυποποιημένες καρκινικές σειρές από την Ευρωπαϊκή κολεκτίβα κυτταρικών σειρών (HPA-ECACC), που αντιπροσωπεύουν νεοπλάσματα παχέως εντέρου και μαστού. Οι δοκιμές που εκτελέστηκαν για την διαπίστωση ανταπόκρισης ή μη στα παραπάνω χημειοθεραπευτικά, ήταν η ηλεκτροφόρηση σε επίπεδο ενός κυττάρου (Single Cell Gel Electrophoresis-COMET Assay). Τα αποτελέσματα του COMET assay έδειξαν σαφή λειτουργική δράση των δύο ουσιών με στατιστικά αξιόπιστες μετρήσεις και στους δύο τύπους νεοπλασμάτων. Επίσης διαπιστώθηκε πως το χημειοθεραπευτικό oxaliplatin, έχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα απ’ ότι η melphalan στα νεοπλάσματα παχέως εντέρου. Με τη συγκεκριμένη κυτταρική μεθοδολογία (COMET Assay), είναι εφικτό να προσδιοριστεί η ανταπόκριση στα συγκεκριμένα χημειοθεραπευτικά, αλλά και σε όσα έχουν τον ίδιο μηχανισμό δράσης. Είναι μια μεθοδολογία που παρέχει τάχιστα αποτελέσματα, αξιόπιστα και με ελάχιστες απαιτήσεις. Ωστόσο, είναι αναγκαίο, τέτοιες μελέτες να πραγματοποιηθούν σε μεγαλύτερη έκταση και εύρος νεοπλασμάτων, ούτως ώστε να αξιολογηθούν και να τελειοποιηθούν.

**ADJUSTMENT OF A CELLULAR BASED METHODOLOGY TO
PREDICT RESPONSE TO MELPHALAN- OXALIPLATIN IN BREAST
AND COLON CANCER**

Apostolou P.¹, Toloudi M.¹, Chatziioannou M.¹, Papasotiriou I.¹

¹Research Genetic Cancer Center Ltd (R.G.C.C. Ltd),

115 M.Alexandrou str, 53070 Filotas, Florina

*² Uniklinikum, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Onkologie-Hämatologie
Abteilung, Halle (Saale), Deutschland*

Melphalan is a widely used chemotherapy drug, which belongs to the family of "nitrogen mustards alkylating agents". Oxaliplatin, is also a platinum-based chemotherapy drug, which is among the alkylating agents, because it has a similar mechanism of action, however, is not actually in alkylating group. The purpose of this study is to determine the predictive value of cellular methodologies that respond to chemotherapy with Melphalan-Oxaliplatin in breast and colorectal cancer, based on the literature and experimental data, which have pointed out the emergence of resistance to the above drugs. For the realization of this study established human cancer cell lines have been used, provided by European Collection of Cell Culture (HPA-ECACC). Especially, have been used cell lines that represent breast and colon cancer. In order to detect the effect or not of the above chemotherapy drugs, single cell gel electrophoresis (COMET Assay) has been used. The COMET-assay results pointed out a significant effect to both compounds with statistical evaluation in both types of tumors. Also, it has been observed that oxaliplatin is more effective than melphalan in colon cancer cell lines. Considering the above data, by using this cellular based method (COMET Assay), it is possible to predict the response of individual patients to each drug, which have the same mechanism of action. It is a methodology that provides quick, reliable results, with minimum requirements. However, such studies are necessary to be made to a greater range of tumors in order to be refined.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΟΛΥΒΔΟΥ ΣΕ ΣΥΜΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ
ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΘΗΛΥΚΩΝ ΜΥΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ
ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΩΝ
ΤΟΥΣ ΠΕΡΙΟΧΩΝ**

Αυγουστάτος Δ., Φερλέμη Α.Β., Κοκκόσης Α., Κυριακού Ε.Ι., Τσούμας Δ.,
Λιναρδάκη Ζ., Μαργαρίτη Μ.*

*Εργ. Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών **
Παρ. διευθ. Εργ. Φαρμακογν. & Χημ. Φυσ. Προϊόντ., Τμ. Φαρμακευτ., Π. Πατρών

Η επίδραση του μολύβδου (Pb) έχει συσχετισθεί με ψυχολογικές ασθένειες κάποιες εκ των οποίων υποδεικνύουν φυλοεξάρτηση (1). Σε προηγούμενη εργασία μας είχε παρατηρηθεί ότι η χορήγηση του μολύβδου επηρέασε τη διαδικασία της μνήμης/μάθησης και την ενεργότητα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ολικού εγκεφάλου ενηλίκων αρσενικών μυών (ένζυμο που συμμετέχει στο μεταβολισμό της ACh η οποία αποτελεί νευροδιαβιβαστή σημαντικό σε συμπεριφερικές διαδικασίες). Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η περεταίρω διερεύνηση της ανωτέρω επίδρασης σε σχέση με τη δοσολογία χορήγησης (500 ppm και 250 ppm $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ /ημέρα στο πόσιμο νερό για 4 εβδομάδες), τις συμπεριφερικές διεργασίες άγχος/φόβος, καταθλιπτική τάση και την ενεργότητα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) επιμέρους εγκεφαλικών περιοχών (φλοιός, παρεγκεφαλίδα, μεσεγκέφαλος) τόσο σε αρσενικούς όσο και σε θηλυκούς ενήλικες μύες. Η αγχώδης συμπεριφορά μελετήθηκε με τη δοκιμασία του θιγμοτακτισμού, ενώ η μελέτη της καταθλιπτικής τάσης έγινε με τη δοκιμασία της εξαναγκασμένης κολύμβησης. Η ενεργότητα της AChE (διαλυτές σε άλας (SS) και απορρυπαντικό (DS) ισομορφές) προσδιορίστηκε με τη χρωματομετρική μέθοδο του Ellman. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση και των δυο δόσεων του Pb επέφερε σημαντικές επιμέρους αλλαγές σε όλους τους συμπεριφερικούς δείκτες που εξετάστηκαν. Επίσης, διαφορετική ήταν η επίδραση του μετάλλου στην ενεργότητα και των δυο ισομορφών της AChE (SS, DS) ανάλογα με την εγκεφαλική περιοχή και το φύλο. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ιστοειδική και φυλοεξαρτώμενη δράση του Pb στις υπό μελέτη παραμέτρους που χρήζουν περεταίρω διερεύνηση.

1. AC Soeiro et al. Behavioral effects induced by subchronic exposure to Pb and their reversion are concentration and gender dependent. *Hum Exp Toxicol*. 2007 26: 733

**EFFECT OF LEAD ON BEHAVIOURAL PARAMETERS OF ADULT
MALE AND FEMALE MICE AND ACETYLCHOLINESTERASE
ACTIVITY OF THEIR BRAIN REGIONS**

***Avgoustatos D., Ferlemi A.V.*, Kokkosis A., Kyriakou E.I., Tsoumas D., Linardaki Z.,
Margariti M.***

*Lab. of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras
Present Address. Lab. of Pharmacognosy & Chemistry of Natural Products,
Department of Pharmacy, University of Patras.*

The effect of lead (Pb) has been correlated with psychological disorders which indicate gender-dependence (1). Our previous studies showed that administration of lead affected learning/memory process and acetylcholinesterase (AChE) activity of whole brain of adult male mice (an enzyme that metabolizes the neurotransmitter acetylcholine, which is involved in several behavioural procedures). The aim of the present study was to further evaluate the above effect in regard to the administered dosage (500 ppm and 250 ppm $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2/\text{day}$ in drinking water for 4 weeks), the behavioural processes of anxiety/fear, depression-like state and acetylcholinesterase activity (AChE) of individual brain regions (cerebral cortex, cerebellum, midbrain), in both male and female adult mice. Anxiety-like behaviour was assessed by using thigmotaxis test, whereas depression-like behaviour was studied by using forced-swimming test. AChE activity (salt-soluble (SS) and detergent-soluble (DS) isoforms) was measured by Ellman's colorimetric method. The results showed that administration of both doses of Pb induced significant partial changes in all behavioural parameters tested. Differential effects of metal on the activity of both isoforms (SS, DS) of AChE were also observed depending on the brain area and gender. Conclusively, our results suggest a tissue-specific and gender-dependent action of Pb on the studied parameters, requiring further investigation.

1. AC Soeiro et al. Behavioral effects induced by subchronic exposure to Pb and their reversion are concentration and gender dependent. *Hum Exp Toxicol.* 2007 26: 733

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΙΧΘΥΟΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΛΙΜΝΑΙΑ
ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ CEN (2005).
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΒΟΛΒΗ**

Χάιδω Αυτζή, Όλγα Πετρίκη, Δήμητρα Μπόμπορη
ΑΠΘ, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Θ 134, 54124 Θεσσαλονίκη
E-mails: chaftzi@bio.auth.gr; opetrikiki@bio.auth.gr; bobori@bio.auth.gr

Σκοπός της έρευνας ήταν η εφαρμογή της μεθοδολογίας που έχει προταθεί για την εκτίμηση των ιχθυοκοινοτήτων λιμναίων οικοσυστημάτων στο πλαίσιο εφαρμογής της Οδηγίας 2000/60/ΕΚ, στη λίμνη Βόλβη (Νοέμβριος 2009). Χρησιμοποιήθηκαν βενθικά απλάδια δίχτυα τύπου Nordic (30 m x 1,5 m, μήκος x ύψος) με πολλαπλά διαμετρήματα ματιών (5-55 mm, από κόμπο σε κόμπο) όπως προτείνεται από το ευρωπαϊκό πρότυπο προδιαγραφών CEN (2005). Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν και πελαγικά δίχτυα (27,5 m x 6 m, μήκος x ύψος; 6,25-55 mm, από κόμπο σε κόμπο). Η αλιευτική προσπάθεια που πραγματοποιήθηκε καθορίστηκε με βάση την έκταση (68 km²) και το μέγιστο βάθος (21 m) της λίμνης. Για τη χρήση του βενθικού τύπου διχτυών έγινε διάκριση σε ζώνες βάθους τριών μέτρων ενώ για τα πελαγικού τύπου η διάκριση ήταν ανά έξι μέτρα. Σε κάθε ζώνη βάθους ο αριθμός των διχτυών που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ανάλογος της επιφάνειάς της. Το αλίευμα αναγνωρίστηκε σε επίπεδο είδους και καταγράφηκε το ολικό μήκος (TL, mm) και βάρος (W, g) κάθε ατόμου. Έγινε εκτίμηση της σχετικής αφθονίας και της σύλληψης ανά μονάδα αλιευτικής προσπάθειας (100 m² επιφάνειας διχτυού) με βάση τον αριθμό (NPUE) και το βάρος (WPUE) των ατόμων. Καταγράφηκε η παρουσία 11 ειδών, τα οποία ανήκαν σε 4 οικογένειες, με πιο άφθονη την οικογένεια των Cyprinidae (72,7%). Στα βενθικού τύπου δίχτυα πιάστηκε το σύνολο των ειδών (11 είδη; 100%) σε σχέση με τα πελαγικά (7 είδη; 63,6%). Στις συλλήψεις με τα βενθικά δίχτυα οι υψηλότερες τιμές NPUE καταγράφηκαν στη ζώνη βάθους 0-3 m (324,4 άτομα/100 m²) και οι υψηλότερες τιμές WPUE στη ζώνη βάθους 3-6 m (3056 g/100 m²). Στα πελαγικά δίχτυα οι υψηλότερες NPUE και WPUE τιμές υπολογίστηκαν στη ζώνη βάθους 0-6 m (167,3 άτομα/100 m² και 1310 g/100 m² αντίστοιχα). Τέλος, ο έλεγχος κορεσμού των διχτυών που έγινε με βάση το δίχτυ με άνοιγμα ματιού 19 mm επιβεβαίωσε ότι ο συγκεκριμένος τύπος διχτυών μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε εύτροφα λιμναία συστήματα όπως αυτό της λίμνης Βόλβης.

**ASSESSMENT OF FISH COMMUNITIES IN LAKE
ECOSYSTEMS ACCORDING TO CEN (2005). A CASE STUDY IN
LAKE VOLVI**

Chaido Aftzi, Olga Petriki, Dimitra Bobori

*Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Laboratory of Ichthyology,
POBox 134, 54124 Thessaloniki, Greece*

E-mails: chaftzi@bio.auth.gr, opetriki@bio.auth.gr, bobori@bio.auth.gr

The aim of the research was the application of the methodology proposed for the estimation of fish communities in lake ecosystems according to the Directive 2000/60/EC. Sampling took place in lake Volvi during November 2009. Benthic (Nordic type) nets (30 m x 1.5 m, length x height) with multiple mesh sizes (5-55 mm, from knot-to-knot) were used, as proposed by CEN (2005). Moreover, pelagic nets (27.5 m x 6 m, length x height; 6.25-55 mm, knot-to-knot) were also used. Sampling effort was based on lake's surface area (68 km²) and its maximum depth (21 m). Benthic nets were placed in strata of three meters depth while pelagic nets in strata of six meters. In each stratum the number of nets used was proportional to the upper area. Fish were identified to species level and total length (TL, mm) and weight (W, g) for each individual were recorded. The catch per unit of effort was expressed as number (NPUE) and weight (WPUE) of individuals caught per 100 m² of net surface. Eleven species, which belonged to 4 families, were caught. Cyprinidae was the most abundant family (72.7%). Benthic nets caught all species, while pelagic ones only 7 species (63.6%). The highest NPUE and WPUE values (324.4 individuals/100 m² and 3056 g/100 m² respectively) were recorded in depths of 0-3 m 3-6 m respectively with benthic nets. Pelagic nets caught the higher NPUE and WPUE values in depths of 0-6 m (167.3 individuals/100 m² and 1310 g/100 m² respectively). Finally, the saturation control of nets based on the net of 19 mm mesh size confirmed that the particular type of nets can be also used in eutrophic lake ecosystems as is Lake Volvi.

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ
ΚΙΝΑΣΗΣ CK2 ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ *CERATITIS CAPITATA*
ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΤΡΕΣ**

**Andrea Baier^a, Ροδάνθη Ανράκη^b, Ryszard Szyska^a και Σοφία Κουγιανού-
Κουτσούκου^b**

^a*Department of Molecular Biology, Institute of Biotechnology, The John Paul II
Catholic University of Lublin, Al. Krasnicka 102, 20-718 Lublin, Poland*

^b*Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,
Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15701*

Η Πρωτεϊνική Κινάση CK2 είναι μια πλειοτροπική κινάση που αποτελείται από δύο καταλυτικές (α και/ή α') και δύο ρυθμιστικές (β) υπομονάδες και φωσφορυλιώνει θέσεις σερίνης / θρεονίνης. Η CK2 κινάση εμπλέκεται σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες όπως ο μετασχηματισμός, η ρύθμιση της μορφολογίας και κινητικότητας των κυττάρων, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου, η εμβρυογένεση, ο πολλαπλασιασμός, ο κίρκαδικός ρυθμός και η απόπτωση. Παρουσιάζουμε εδώ τον χαρακτηρισμό απομονωμένων, ανασυνδυασμένων CcCK2α και CcCK2β υπομονάδων της Μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata*, ενός από τα σημαντικότερα οικονομικά είδη εντόμων φρούτων στον κόσμο. Το cDNA της όξινης ριβοσωμικής πρωτεΐνης CcP1 της *C. capitata* κλωνοποιήθηκε σε φορέα pRSET, η πρωτεΐνη υπερεκφράσθηκε σε κύτταρα *Escherichia coli* BL21 (DE3) και απομονώθηκε με χρωματογραφία συγγένειας. Η ανασυνδυασμένη CcP1 πρωτεΐνη φωσφορυλιώνεται από την ελεύθερη καταλυτική CcCK2α υπομονάδα και το ολοένζυμο, όπως δείχθηκε σε δοκιμασία κινάσης. Η φωσφορυλίωση αυτή τροποποιείται από την παρουσία τυπικών ρυθμιστών της CK2, όπως η ηπαρίνη, η σπερμίνη και το TBBt. Ακόμη, το cDNA της Cu/Zn υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) της *C. capitata* κλωνοποιήθηκε και υπερεκφράσθηκε σε κύτταρα *E. coli* BL21 (DE3) cells. Το ένζυμο διαθέτει τη χαρακτηριστική ενεργότητα και λειτουργία ως αναστολέας της CcCK2. Επειδή στον άνθρωπο η CK2 εμπλέκεται σε πολλούς καρκίνους, αναλύσαμε την ενεργότητα της CcCK2 σε συνθήκες στρες, σε σχέση με τη θερμοκρασία και το χρόνο. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αντίστοιχα της ανθρώπινης κινάσης.

Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από το Πανεπιστήμιο Αθηνών και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ, 70/4/7803 στην Σ.Κ.)

CHARACTERIZATION OF RECOMBINANT PROTEIN KINASE CK2 OF THE MEDITERRANEAN FLY *CERATITIS CAPITATA* AND ANALYSIS AT STRESS CONDITIONS

**Andrea Baier^a, Rodanthi Lyraki^b, Ryszard Szyszka^a and Sophia Kouyanou-
Koutsoukou^b**

^aDepartment of Molecular Biology, Institute of Biotechnology, The John Paul II
Catholic University of Lublin, Al. Krasnicka 102, 20-718 Lublin, Poland ^bUniversity of
Athens, Faculty of Biology, Department of Genetics and Biotechnology,
Panepistimiopolis, Athens 15701

Protein kinase CK2 is a pleiotropic kinase composed of two catalytic (α and/or α') and two regulatory (β) subunits that phosphorylates serine/threonine sites. CK2 is involved in several cellular responses such as transformation, regulation of cell morphology and mobility, the cell cycle control, embryogenesis, differentiation, proliferation, circadian rhythm, and apoptosis. We present here the characterization of purified recombinant CcCK2 α and CcCK2 β subunits from the Mediterranean fly *Ceratitis capitata*, one of the most economically important fruit fly species in the world. The cDNA for the acidic ribosomal protein CcP1 of *C. capitata* was cloned into pRSET vector, the protein was overexpressed in *Escherichia coli* BL21 (DE3) cells and purified by affinity chromatography. As verified, the substrate undergoes phosphorylation mediated by the free catalytic CcCK2 α and the holoenzyme. This phosphorylation is altered in the presence of typical CK2 modulators, like heparin, spermine and TBBt. Additionally, the Cu/Zn dependent superoxide dismutase (SOD) was cloned and overexpressed in *E. coli* BL21 (DE3) cells. The enzyme possesses its characteristic activity and function as inhibitor of CK2. Since in human CK2 is involved in many cancers we analyzed the CcCK2 activity dependent from temperature and time which could be assumed as stress condition. We compared our results with human CK2.

This work was supported by the University of Athens and the Special Account for Research Grants of Athens University (SARG, 70/4/7803 to SK)

ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΚΑΣΤΡΟΥ ΤΟΥ ΠΑΛΑΜΗΔΙΟΥ

Βαλλή Άννα-Θαλασσινή¹ και Ιατρού Γρηγόρης¹

¹ Τομέας Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα.

Στην εργασία αυτή γίνεται καταγραφή και αξιολόγηση της χλωρίδας του Κάστρου του Παλαμηδιού και η συσχέτισή της με ιστορικές και σύγχρονες ανθρώπινες δραστηριότητες. Από γεωλογική άποψη, στην περιοχή μελέτης επικρατούν ασβεστόλιθοι, φλύσχης αδιαίρετος, καθώς και παλιοί και νέοι κώνοι κορημάτων (αλλουβιακά ριπίδια) και πλευρικά κορήματα, ενώ το κλίμα της περιοχής χαρακτηρίζεται ως έντονα Μεσογειακό, ημίξηρο με ψυχρό Χειμώνα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, στο κάστρο του Παλαμηδιού φύονται 285 taxa (είδη και υποείδη), εκ των οποίων τα 239 καταγράφηκαν από τις επιτόπιες συλλογές κατά τη διεξαγωγή της παρούσας εργασίας, ενώ τα 46 αναφέρονται μόνο στη βιβλιογραφία. Κυριαρχούν οι οικογένειες Asteraceae και Fabaceae από τα Δικότυλα και Poaceae από τα Μονοκότυλα φυτά. Το μεγάλο ποσοστό των ψυχανθών οφείλεται στην έντονη παρουσία του ανθρώπου στην περιοχή. Η χλωρίδα του κάστρου παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς, παρά τις ανθρώπινες δραστηριότητες, διατηρεί 12 ελληνικά ενδημικά taxa. Όπως και στο κάστρο της Μονεμβασίας, τα ενδημικά taxa φαίνεται να συνυπάρχουν πολύ καλά με τον άνθρωπο. Ωστόσο, οι ανθρώπινες δραστηριότητες έχουν διαμορφώσει τη σύνθεση της χλωρίδας, καθώς το 7,8% των taxa, που αντιπροσωπεύονται στην περιοχή μελέτης, είναι αλλόχθονα.

CONTRIBUTION TO THE FLORA OF PALAMIDI CASTLE

Valli Anna-Thalassini¹ and Iatrou Gregoris¹

¹ Section of Plant Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Patras, 26 500, Greece.

In the present study we record, evaluate and correlate the flora of the castle of Palamidi with historical and contemporary human activities. The study area is geologically characterized by limestones, undivided flysh and old and new cones of scree and lateral scree, while the climate is intensely mediterranean and semiarid with cold winter. According to the results, 285 taxa (species and subspecies) are reported in the castle of Palamidi, 239 of them were recorded from site collections during this study, while 46 are referred from bibliographical data. The majority of the plants belong to the families Asteraceae and Fabaceae (Dicotyledoneae) and Poaceae (Monocotyledoneae). The high percentage of legumes is due to the intense human activity in the region. Despite human activities, the castle's flora is of particular interest since it includes 12 Greek endemic taxa. Similar to the castle's flora that have the same human effect, such as in the castle of Monemvasia, the endemic taxa appear to coexist well with humans. However, the activities of the latter have influenced the composition of the flora, and as a result the 7.8% of the taxa represented in the study area is alien.

**ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ
ΙΧΘΥΟΠΑΝΙΔΑΣ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ
ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΟΔΗΓΙΑ – ΠΛΑΙΣΙΟ 2000/60 ΣΤΗ
ΛΙΜΝΗ ΜΕΓΑΛΗ ΠΡΕΣΠΑ**

**Θωμάς Θ. Βαρβέρης, Ιωάννης Ε. Μπατζάκας, Δήμητρα Μπόμπορη, Δρόσος
Κουτσούμπας & Χαράλαμπος Δημητριάδης.**

Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστήμων της Θάλασσας, Τ. Κ. 81100, Μυτιλήνη,
msurmuletus@hotmail.com jbatzakas@marine.aegean.gr

Στην εργασία δίνονται πληροφορίες για τα πρότυπα ποικιλότητας της ιχθυοπανίδας της λίμνης Μεγάλη Πρέσπα και γίνεται μια αποτίμηση της οικολογικής κατάστασης της λίμνης με βάση την Οδηγία Πλαίσιο περί υδάτων 2000/60 ΕΕ. Παράλληλα γίνεται μια σύγκριση των πληθυσμών της ιχθυοπανίδας στον συγκεκριμένο υγρότοπο με αυτούς της Λίμνης Μικρή Πρέσπα.

Συνολικά καταγράφηκαν οχτώ (8) είδη οστειχθύνων, τα οποία έχουν αναφερθεί και σε προηγούμενες έρευνες στην περιοχή. Κυρίαρχα είδη είναι τα *Alburnus belvica* και *Rutilus prespensis*, κυρίως λόγω της μικρής τροφικής επικάλυψης (25%). Τα πρότυπα ποικιλότητας της ιχθυοπανίδας στην Μεγάλη Πρέσπα παρουσιάζουν χωρική διαφοροποίηση, με τα σημεία που γειτνιάζουν με την Μικρή Πρέσπα να εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές. Διαφοροποιήσεις εντοπίστηκαν και στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά ειδών μεταξύ της ιχθυοπανίδας που εξαπλώνεται στη Μεγάλη και την Μικρή Πρέσπα αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας αποτελούν μια βάση για την μελλοντική ανάπτυξη ενός πολυμετρικού ιχθυοδείκτη που θα μπορεί αποτελεσματικά να αξιοποιηθεί για την εφαρμογή ολοκληρωμένων διαχειριστικών σχεδίων για την διατήρηση ή και αποκατάσταση των υδάτινων σωμάτων που δεν επιτυγχάνουν την καλή οικολογική κατάσταση με βάση τα δεδομένα που θέτει η Οδηγία Πλαίσιο περί υδάτων 2000/60 αναφορικά με την ιχθυοπανίδα.

**CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE DIVERSITY OF
ICHTHYOFAUNA STANDARDS AND ASSESSMENT OF
ECOLOGICAL STATUS UNDER THE WATER FRAME DIRECTIVE -
2000/60 FOR THE LAKE MEGALI PRESPIA.**

***Thomas Varveris, Ioannis E. Batzidakis, Dimitra Bobori, Drosos Koutsoubas &
Charalabos Dimitriadis***

*University of the Aegean, Dept. of Marine Sciences, 81100 Mytilene,,
msurmuletus@hotmail.com jbatzidakis@marine.aegean.gr,*

This research is aiming to indicate important information about the patterns of diversity of the ichthyofauna referring to the lake Megali Prespa. Furthermore, there is an evaluation of ecological situation of lake with respect of the water Framework Directive 2000/60 EU. Moreover, there is a comparison between the populations of the ichthyofauna in this significant wetland with those of the lake Mikri Prespa.

Consequently, eight different species of osteichthyes are verified which have been previously documented from other researches of the same area. The dominant species in the area are the *Alburnus belvica* and *Rutilus prespensis* probably because of their similarities in feeding habits that are approximately up to 25 % respectively. The patterns of diversities of ichthyofauna present several territorial differences, to the stations that are neighbor to Mikri Prespa, in terms of greater biodiversity values. Several differences have been detected also at the morphometric characteristics of the species with respect of ichthyofauna that are expanding both in Megali and Mikri Prespa.

The results of this research could be used in the creation of a multimetric indicator for fishes and could also use sufficiently the application of the incorporated management policies for the sustainment or the rehabilitation of the water bodies that fail to meet good ecological condition, based upon the data that have been established by the water Framework Directive 2000/60 EU for the ichthyofauna.

**ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΤΟΥ
ΜΠΑΡΜΠΟΥΝΙΟΥ, *Mullus surmuletus* (RED MULLET), ΣΤΗΝ
ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΝΑΤΟΛΙΚΑ ΤΗΣ ΝΗΣΟΥ ΛΕΣΒΟΥ**

Θωμάς Βαρβέρης, Ιωάννης Ε. Μπατζάκας

Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστήμων της Θάλασσας, Τ. Κ. 81100, Μυτιλήνη,
msurmuletus@hotmail.com, jbatzakas@marine.aegean.gr,

Στην παρούσα εργασία, για την μελέτη των διατροφικών συνηθειών του *Mullus surmuletus* (Linnaeus 1758) (μπαρμπούνι), συλλέχθηκαν στομαχικά περιεχόμενα από 746 άτομα του είδους, τα οποία συγκεντρώθηκαν με την βοήθεια μηχανότρατας της εμπορικής αλιείας, η οποία ήταν εξοπλισμένη με δίχτυ παραδοσιακού Ελληνικού τύπου. Η δειγματοληψία λάμβανε χώρα, την πρώτη εβδομάδα κάθε μήνα για το χρονικό διάστημα από τον Οκτώβριο του 2003, έως τον Μάιο του 2004. Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν στην περιοχή νότιο – ανατολικά της νήσου Λέσβου, κοντά στην πόλη της Μυτιλήνης.

Από την μελέτη των οργανισμών που βρέθηκαν και αναγνωρίστηκαν για κάθε μήνα, προκύπτει ότι το *M. surmuletus* τρέφεται κυρίως με Δεκάποδα, Αμφίποδα, λοιπά Αρθρόποδα, Πολύχατους, Κεφαλόποδα και Ψάρια. Η σειρά προτίμησης δεν παραμένει σταθερή σε κάθε μήνα, αλλά μεταβαλλόταν συνεχώς, τόσο μεταξύ των ομάδων που αναφέρθηκαν, όσο και μεταξύ οργανισμών που ανήκουν ακόμα και στην ίδια οικογένεια.. Η σειρά προτίμησης όμως δεν εξαρτάται μόνο από την παράμετρο του χρόνου, φαίνεται να επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από το φύλο και το μέγεθος του κάθε ψαριού.

Οι οργανισμοί που αναγνωρίστηκαν και κυριαρχούν στα στομαχικά περιεχόμενα του *M. surmuletus* στην συγκεκριμένη εργασία, παρατηρήθηκαν και σε μελέτες από άλλους ερευνητές τόσο στον ελλαδικό χώρο (Labropoulou *et.al.* 1997), όσο και σε άλλες χώρες της Μεσογείου (Ben-Eliahu & Golani 1990, Golani & Galil 1991, Golani 1994).

FEEDING HABITS OF THE RED MULLET, *Mullus surmuletus*, IN THE COASTAL WATERS, EAST FROM THE ISLAND OF LESVOS.

Thomas Varveris, Ioannis E. Batjakas

Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστήμων της Θάλασσας, Τ. Κ. 81100, Μυτιλήνη,
msurmuletus@hotmail.com, ibatjakas@marine.aegean.gr

In this study, of the feeding habits of the *Mullus surmuletus* (Linnaeus 1758) (Striped red mullet), stomach content samples were collected from 746 fishes that caught by trawler merchant fishery, which has used the traditional Greek net. The collection has taken place at the first week of every month from October 2003 until May 2004. All the samples were collected from the south-east region of the island of Lesbos, close to the city of Mytilini.

Overall, from the study of prey organisms was recognized for each month, it resulted that the *M. surmuletus* preyed mainly on crustaceans (decapods, amphipods), whereas other arthropods, polychaetes, cephalopods and fishes constituted secondary prey items. The order of preference does not remain the same for each month, but it is altered continuously, not only between the taxonomic orders that were reported, but also between prey species that belong even in the same family. Nevertheless, it seems evident that the order of preference is influenced not only from time, but also to a large extent from the sex and the size of each fish.

The prey organisms that were identified in the stomach content of *M. surmuletus* in this particular study were also observed by other researchers in Greek (Labropoulou, et.al, 1997; Vassilopoulou & Papaconstantinou 1982), and Mediterranean waters (Ben-Eliahu & Golani, 1990; Golani & Galil, 1991; Golani, 1994).

ΜΕΛΕΤΗ ΟΔΩΝ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ PI3K/AKT ΚΑΙ MAPK ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

*Ι. Βαρδάκη, Π. Τσιώλη, Η. Χαντζηανδρέου, Α. Τσέργα, Σ. Σακελλαρίου, Ε. Πάλλιου,
Ι. Παπασιδέρη, Ε. Πατσούρης, Α. Σαέττα..*

Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Εισαγωγή: Η απορύθμιση των μονοπατιών των PI3K/AKT και MAPK που παίζουν ρόλο στη μετάδοση μηνυμάτων για την κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση, λόγω μεταλλαγών στα γονίδια EGFR, K-RAS, B-RAF και PIK3CA, αποτελεί σημαντικό γεγονός στην καρκινογένεση και εμπλέκεται στην ανάπτυξη όγκων του πνεύμονα. **Σκοπός:** Η αναζήτηση μεταλλαγών στα εξόνια 18, 19, 20, 21 του EGFR, 20 του PIK3CA, 15 του B-RAF, καθώς και στα κωδικόνια 12 και 13 του K-RAS και η συσχέτιση τους με τα κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά. **Υλικά-μέθοδοι:** Εξετάστηκαν 48 περιστατικά (βιοψίες και δείγματα) ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (NSCLC), αδenoκαρκινώματα =42, πλακώδη καρκινώματα =6 και 1 αδιαφοροποίητο καρκίνωμα. Σε 30 πραγματοποιήθηκε απομόνωση των καρκινικών κυττάρων με την χρήση Laser. Εφαρμόστηκαν οι τεχνικές High Resolution Melting analysis, αλληλούχιση, Πυρο-αλληλούχιση. Τέλος τα επίπεδα έκφρασης των p-AKT, p-mTOR και p70S6K μελετήθηκαν με την εφαρμογή ανοσοϊστοχημείας (μέθοδος ABC) σε 13 δείγματα με επαρκή ιστό. **Αποτελέσματα:** Στα περιστατικά που μελετήθηκαν παρατηρήθηκαν μεταλλαγές του EGFR, σε ποσοστό 14%, του K-RAS σε ποσοστό 12%, του B-RAF σε ποσοστό 6% ενώ δεν παρατηρήθηκαν μεταλλαγές του PIK3CA. Δεν παρατηρήθηκαν μεταλλαγές στα πλακώδη καρκινώματα.. Παρατηρήθηκε έκφραση των p-AKT, p-mTOR και p-p70S6K στα δείγματα που μελετήθηκαν. **Συμπεράσματα:** Η παρουσία μεταλλαγών σε όλα τα μελετηθέντα γονίδια, εκτός του PIK3CA, καθιστά σημαντική τη αξιολόγηση τους ως πιθανούς βιολογικούς δείκτες (biomarkers) για εξατομικευμένη στοχευμένη θεραπεία των ασθενών με NSCLC καθώς και αποτελεσματικότητα των χρησιμοποιούμενων φαρμάκων (EGFR TKIs).

ANALYSIS OF PI3K/AKT AND MAPK PATHWAYS IN LUNG CANCER

***I.Vardaki, P.Tsioli, H.Chatziadreou, A.Tserga, , S.Sakellariou,, E.Palliou,,
I.Papasideri,, E.Patsouris A.Saetta***

*A' Department of Pathology, Medical School, National and Kapodistrian of Athens,
Greece*

Introduction: Deregulation of PI3K/AKT and MAPK signaling pathways due to mutations in EGFR, K-RAS, B-RAF or PIK3CA genes, is associated with lung cancer tumorigenesis. **Aim:** Mutational analysis of exons 18, 19, 20, 21 of EGFR gene, 20 of PIK3CA gene, 15 of B-RAF gene and in codons 12 and 13 of K-RAS gene and their correlation with clinicopathological characteristics.

Materials and methods: We analyzed 49 cases (surgical specimens or biopsies) of non-small cell lung cancer (NSCLC), classified as adenocarcinomas =42, squamous carcinoma =6, the rest NSCLC, using High Resolution Melting analysis, sequencing or Pyro-sequencing. In 30 biopsies tumor cells were isolated by laser microdissection (LCM) for DNA extraction. The expression levels of p-AKT, p-mTOR and p-p70S6K were examined as well by immunochemistry (ABC method), in 13 samples with available tissue.

Results: EGFR mutations were observed in 14% of the cases, K-RAS mutations in 12%, B-RAF mutations in 6%. No mutations were observed in PIK3CA gene.

No mutations were observed in squamous carcinomas. p-AKT, p-mTOR and p-p70S6K were expressed in the examined cases. **Conclusions:** Currently NSCLC patients are stratified according to their EGFR status for individualized anticancer therapy (EGFR TKIs). The presence of mutations in K-ras, B-raf genes suggests their possible role as potential targets for novel therapeutic approaches as well as biomarkers for the efficiency of targeted therapies (EGFR TKIs).

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΠΕΝΤΕ SNPs ΣΤΟΝ ΚΙΝΔΥΝΟ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

**Βαρθολομαίου Ε.¹, Πράττης Ι.¹, Μακρή Σ.¹, Παντζαρτζή Χ.¹, Κρικώνης Κ.²,
Δροσοπούλου Ε.¹, Μωϋσίδης Κ.³, Ιωαννίδης Ε.³ και Σκούρας Ζ.Γ.¹**

¹ Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε.,
Α.Π.Θ., 54124 Θεσσαλονίκη

² Τομέας Στατιστικής και Επιχειρησιακής Έρευνας, Τμήμα Μαθηματικών, Σ.Θ.Ε.,
Α.Π.Θ., 54124 Θεσσαλονίκη

³ Β' Ουρολογική Πανεπιστημιακή Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, 56429,
Περιφερειακή οδός, Νέα Ευκαρπία Θεσσαλονίκη

Ο καρκίνος του προστάτη είναι ο συχνότερος μη δερματικός τύπος καρκίνου στους άνδρες των ανεπτυγμένων χωρών. Η μεγάλη ηλικία, η καταγωγή και το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του προστάτη ή του μαστού είναι αποδεδειγμένοι παράγοντες κινδύνου. Αναλύσεις ολικού γονιδιώματος έχουν συσχετίσει, επίσης, σημαντικό αριθμό SNPs με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη σε διάφορους πληθυσμούς. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η συσχέτιση των SNPs rs1447295, rs16901979 και rs6983267 (χρωμοσωματική περιοχή 8q24), rs4430796 (χρωμοσωματική περιοχή 17q12) και rs1859962 (χρωμοσωματική περιοχή 17q24.3) με την εμφάνιση της ασθένειας σε δείγμα πληθυσμού από τη Βόρεια Ελλάδα. Για το σκοπό αυτό, απομονώθηκε ολικό γονιδιωματικό DNA από περιφερικό αίμα 157 ασθενών με καρκίνο του προστάτη και 128 υγιών ατόμων. Η γενοτύπηση των SNPs πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο PCR-RFLPs και ακολούθησε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων με το στατιστικό πακέτο SPSS. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε συσχέτιση του γενοτύπου TT του SNP rs4430796 με την εμφάνιση της ασθένειας στον πληθυσμό της Β. Ελλάδας που μελετήθηκε. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αυξημένη συχνότητα των γενοτύπων GT/GG του SNP rs6983267 στους ασθενείς με καταγωγή από το γεωγραφικό διαμέρισμα της Μακεδονίας. Η ανάλυση περισσότερων δειγμάτων κρίνεται σκόπιμη για περαιτέρω υποστήριξη των αποτελεσμάτων.

EVALUATION OF FIVE SNPs IN PROSTATE CANCER RISK IN A GREEK POPULATION

Vartholomaïou E.¹, Prattis I.¹, Makri S.¹, Pantzartzi C.¹, Krikonis K.², Drosopoulou E.¹, Moisidis K.³, Ioannidis E.³ & Scouras Z.G.¹

¹ *Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, GR-54124,*

² *Department of Statistics and Operations Research, School of Mathematics, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, GR-54124,*

³ *Department of Urology, General Hospital of Thessaloniki Papageorgiou, GR-56429, Ring Road, Nea Efkarpia*

Prostate cancer is the most common non-skin cancer among men in most western populations. Advancing age, race and family history of prostate or breast cancer are the only established risk factors. Recently, genome-wide association studies have identified variants in several chromosomal regions that are associated with high risk of prostate cancer in different populations. The aim of the present study was the investigation of the association of the SNPs rs1447295, rs16901979 and rs6983267 (chromosomal region 8q24), rs4430796 (17q12) and rs6983267 (17q24.3) with prostate cancer risk in Northern Greece population. Whole genomic DNA was isolated from peripheral blood samples of 157 prostate cancer patients and 128 control subjects. SNP genotyping was performed by PCR-RFLPs and the results were statistically analyzed by SPSS. Our results suggest that the TT genotype of SNP rs4430796 is associated with prostate cancer emergence in the population studied. Additionally, a statistically significant increased frequency of genotypes GT/GG of SNP rs6983267 in patients with ancestry from the geographic region of Macedonia was observed. Additional research is needed, in order to further substantiate our findings.

**ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΑ
ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΑ ΝΕΡΑ ΕΝΤΟΣ ΤΗΣ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΟΜΕΝΗΣ
ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΕΘΝΙΚΟΥ ΠΑΡΚΟΥ ΛΙΜΝΩΝ ΚΟΡΩΝΕΙΑΣ –
ΒΟΛΒΗΣ ΚΑΙ ΜΑΚΕΔΟΝΙΚΩΝ ΤΕΜΠΩΝ**

Ανθή Βαφειάδου¹, Ευαγγελία Κάρτα¹, Δήμητρα Μπόμπορη^{1,2}

*¹ Φορέας Διαχείρισης λιμνών Κορώνειας-Βόλβης, Σ. Τσακάλη 21, 572 00 Λαγκαδάς,
Θεσσαλονίκη*

*² ΑΠΘ, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Θ 134, 54124 Θεσσαλονίκη
E-mail: vafeiadou@foreaskv.gr, bobori@bio.auth.gr*

Η παρακολούθηση αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα εργαλεία άσκησης διαχείρισης και αποβλέπει στην επίτευξη των ειδικών στόχων και μακροπρόθεσμα του γενικού σκοπού κήρυξης μιας περιοχής ως «προστατευόμενη». Στο πλαίσιο αυτό, ο Φορέας Διαχείρισης του Εθνικού Πάρκου των λιμνών Κορώνειας – Βόλβης και Μακεδονικών Τεμπών υλοποιεί ένα πρόγραμμα παρακολούθησης βιοτικών και αβιοτικών παραμέτρων στην προστατευόμενη περιοχή αρμοδιότητάς του, που αποσκοπεί στη συλλογή πληροφοριών και την άμεση τροφοδότηση της ηλεκτρονικής βάσης δεδομένων του φορέα, ώστε να είναι δυνατή η αξιολόγηση επίτευξης των ειδικών στόχων της διαχείρισης και ο επαναπροσδιορισμός και/ή τροποποίηση των μέτρων διαχείρισης όποτε απαιτείται. Ειδικότερα, σε ότι αφορά στην παρακολούθηση της ποιότητας των επιφανειακών υδάτων εντός της προστατευόμενης περιοχής ο Φορέας διενεργεί μηνιαίες μετρήσεις ορισμένων φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού σε 29 θέσεις δειγματοληψιών που καλύπτουν τα σημαντικότερα ρέματα και τις παρόχθιες περιοχές των λιμνών Κορώνειας και Βόλβης. Εδώ, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα παρακολούθησης για την περίοδο 2009 - 2010. Οι τιμές pH και διαλυμένου οξυγόνου (DO, mg/l) που καταγράφηκαν κυμάνθηκαν εντός των ορίων που προτείνονται από την Οδηγία 2006/44/EK για τη διαβίωση των κυπρινοειδών. Τιμές DO κοντά ή και κάτω από το κατώτατο όριο των 5,0 mg/l καταγράφηκαν περιστασιακά στο Ρήγιο ποταμό (5 mg/l) και στη λίμνη Βόλβη σε βάθος 6 m (3,8 mg/l). Οι μέσες ετήσιες τιμές αγωγιμότητας και τα δύο έτη παρακολούθησης υπερέβησαν το όριο των 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ στις εκβολές των ρεμάτων Καβαλαρίου (2368 και 1511 $\mu\text{S}/\text{cm}$), Μπογδάνα (2232 και 1014 $\mu\text{S}/\text{cm}$) καθώς και στις ακτές Ανάληψης (3006 και 2727 $\mu\text{S}/\text{cm}$) και Βασιλουδίου (2499 $\mu\text{S}/\text{cm}$) της λίμνης Κορώνειας.

MONITORING OF PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS IN THE SURFACE WATERS OF THE NATIONAL PARK OF LAKES KORONEIA-VOLVI AND MACEDONIAN TEMPE

Anthi Vafeiadou¹, Eyagelia Karta¹, Dimitra Bobori^{1,2}

*¹Management Authority of Lakes Koronia-Volvi, S. Tsakali 21, 57200 Lagadas,
Thessaloniki*

*²Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Laboratory of Ichthyology,
POBox 134, 54124 Thessaloniki, Greece*

E-mails: vafeidou@foreaskv.gr, bobori@bio.auth.gr

Monitoring programs are considered important tools for conservation management, aiming at the achievement of the specific objectives of conservation and the overall aim of declaring an area as 'protected'. In this context, the Management Authority of lakes Koronia and Volvi implements a monitoring program of abiotic and biotic parameters in the protected area of the National Park. The resulted data of this monitoring program will contribute to the assessment of the current status of the protected elements, constituting a critical tool for further evaluation and/or revision of the management measures already undertaken. With regard to the monitoring of the abiotic parameters, the Management Authority carries out monthly measurements of certain physical and chemical parameters of surface waters from 29 locations, covering the major streams and the littoral zone of the two lakes. Here, we present the results for the period 2009-2010. Dissolved oxygen (DO, mg/l) and pH values were within the limits proposed by Directive 2006/44/EC for the survival of cyprinid species. DO values close or lower than the threshold of 5.0 mg/l were recorded occasionally at Richios river (5mg/l) and Lake Volvi (3.8 mg/l) at six meters depth. Mean annual conductivity values exceeded the proposed limit of 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ at Kavalari (2368 and 1511 $\mu\text{S}/\text{cm}$) and Bogdanas streams (2232 and 1014 $\mu\text{S}/\text{cm}$), as well as at Analipsi (3006 and 2727 $\mu\text{S}/\text{cm}$) and Vasiloudi (2499 $\mu\text{S}/\text{cm}$) costs of Lake Koronia.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΙΚΩΝ ΕΞΙΣΩΣΕΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΥΛΟΥ ΣΕ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ

Βικάτου Ε., Μεσσήνη Μ., Μουρίκη Μ., Κοΐλιας Χρ. *, & Σ.Κ. Μανώλης

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα

**Τμήμα Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος Αργάλεω Αττικής*

E-mail: smanol@biol.uoa.gr; ckoilias@teiath.gr

Τα σκελετικά κατάλοιπα αποτελούν σημαντική πηγή πληροφοριών για τη μελέτη της ανθρώπινης ποικιλομορφίας. Η χρησιμότητα των αρχαιολογικών σκελετών είναι ιδιαίτερα σημαντική σχετικά με την ποικιλομορφία σε ένα συγκεκριμένο πληθυσμό και σε μια σειρά θεμάτων στα οποία το φύλο και η ηλικία μπορεί να είναι παράγοντες με σημαντική επιρροή. Ο προσδιορισμός του φύλου σε άγνωστα σκελετικά υπολείμματα, από βιολογική άποψη, αποτελεί ένα πρόβλημα που αντιμετωπίζουν οι ανθρωπολόγοι σε ολόκληρο τον κόσμο και είναι γενικά μια δύσκολη διαδικασία. Το πρόβλημα δημιουργείται από την αντίφαση μεταξύ της διακριτής ταξινόμησης σύμφωνα με το γενετικό φυλοκαθορισμό και των συνεχών μεταβατικών σταδίων των φαινοτυπικών φυλετικών χαρακτήρων. Σε αυτή την εργασία παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα της εφαρμογής διαχωριστικών εξισώσεων που έχουν προέλθει από την βιομετρική ανάλυση των των σκελετών της σύγχρονης σκελετικής συλλογής αναφοράς (The Athens Collection) του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου (ΕΚΠΑ), σε αρχαιολογικό σκελετικό υλικό. Η εφαρμογή των εξισώσεων από τις μετρήσεις του άνω άκρου (Charisi et al, 2011) σε αρχαιολογικό υλικό από τις ανασκαφές του προαστιακού σιδηροδρόμου στην Αρχαία Κόρινθο και την Αγία Τριάδα Θήβας, όπου έχουμε μεμονωμένες ταφές και δυνατότητα προσδιορισμού του φύλου από πύελο και κρανίο, μας επιτρέπει να υπολογίσουμε το ποσοστό σωστού προσδιορισμού από τα οστά του άνω άκρου. Από την εφαρμογή των εξισώσεων του βραχιονίου προκύπτει ποσοστό σωστού προσδιορισμού για την Αρχαία Κόρινθο 84,20% και για την Αγία Τριάδα Θήβας, 82,35%. Για την κερκίδα τα αποτελέσματα είναι τα ακόλουθα: Αρχαία Κόρινθος 78,26 % και Αγία Τριάδα Θήβας μόλις 60,00%. Τέλος για την ωλένη έχουμε Αρχαία Κόρινθος 86,67% και Αγία Τριάδα Θήβας 70,60%. Συνολικά για την Αρχαία Κόρινθο το ποσοστό σωστού προσδιορισμού φθάνει το 90,00% για τα αρρενα ενώ τα θηλυκά είναι μόλις 64,30%. Στην Αγία Τριάδα Θήβας τα αντίστοιχα συνολικά ποσοστά είναι 100,0% για τα αρρενα και 60.00% για τα θήλεα. Τα αποτελέσματα υποστηρίζουν ότι οι διαχωριστικές εξισώσεις του άνω άκρου σύγχρονου ελληνικού πληθυσμού μπορούν να εφαρμοστούν, με επιφύλαξη και συμπληρωματικά, σε αρχαιολογικό σκελετικό υλικό δίνοντας αρκετά ικανοποιητικά ποσοστά σωστού προσδιορισμού του φύλου.

APPLICATION OF THE DISCRIMINANT EQUATIONS FOR SEXING IN ARCHEOLOGICAL SKELETAL POPULATIONS

Vikato E., Messini M., Mouriki M., Koiliakos Chr. *, & S.K. Manolis

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

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

E-mails: smanol@biol.uoa.gr ; ckoiliakos@teiath.gr

Skeletal remains are an important source of information when it comes to examining human diversity. Archeological skeletons can be particularly useful for studying the diversity of a specific population and also for cases where sex and age could be factors of great importance. Sex determination on non-identified skeletal remains, from a biological point of view, is a problem anthropologists all around the world have to deal with and is generally considered a tedious procedure. This problem occurs due to contradiction between the distinctive assortment according to sexual determination and the continuous transitive stages of the phenotypical sexual characteristics. This current work presents the results of the usage of the discriminant equations, derived from the biometrical analysis of the skeletons of the Athens Collection of the department of Animal & Human Physiology (NKUA), on archeological skeletal samples. The above discriminant equations, using the measurements of the arm bones (Charisi et al, 2011), were applied on archeological sample found at the excavations of the suburban railway in Ancient Corinth and from Aghia Triada in Thebes, where individual burials were surfaced and thus sex determination based on the pelvis and the cranium, so as to calculate the percentage of the correct sex determination according to the arm bones. The sex determination based on the humerus-derived equations have an accuracy of 84,20% for Ancient Corinth and 82,35% for Aghia Triada, Thebes. The results for the radius-based equations are the following: Ancient Corinth 78,26% and Aghia Triada, Thebes only 60,00%. Finally, the results based on the ulna-derived equations are the following: Ancient Corinth 86,67% and Aghia Triada, Thebes 70,60%. Overall, sex determination accuracy in Ancient Corinth reaches up to 90,00% for males whereas for females it only 64,30%. The corresponding total results for Aghia Triada, Thebes are 100% accuracy for males and 60,00% for females. The data generated by the present investigation suggest that the discriminant equations of the arm bones of the Modern Greek skeletal collection could be used with caution and in conjunction with other, in archaeological skeletal material giving satisfactory percentages of correct sex determination.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΛΔΕΥΔΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ 3A1 (ALDH3A1)
ΣΤΑ MCF-7 ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ
ΣΥΝΔΕΕΤΑΙ ΜΕ ΧΗΜΕΙΟΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΟΜΕΝΗ
ΑΠΟ ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΜΕΝΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ**

Βουλγαρίδου Γεωργία-Περσεφόνη, Κοζιρίδου Μαγδαληνή*, Μάντζο Θεοδώρα,
Παναγιωτίδης Γιώργιος-Δημήτριος και Παππά Αγλαΐα[#]*

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Αλεξανδρούπολη 68100 *Ισοδύναμη συνεισφορά. [#] Αλληλογραφία:*

apappa@mbg.duth.gr

Από την οικογένεια των αλδεϋδικών αφυδρογονασών (ALDHs), τα μέλη ALDH1A1, ALDH1B1, ALDH3A1 έχουν ενοχοποιηθεί στη καρκινογένεση με υπερέκφραση σε διάφορους τύπους καρκίνου, όπου και έχει αναφερθεί ότι κατέχουν το ρόλο δεικτών καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Μία από τις χαρακτηρισμένες ιδιότητες των καρκινικών βλαστικών κυττάρων είναι και η χημειοανθεκτικότητα. Η έκφραση των αλδεϋδικών αφυδρογονασών σε καρκίνους έχει συσχετιστεί με χημειοανθεκτικότητα και πλεονέκτημα επιβίωσης επίσης, χωρίς όμως ο ρόλος τους στη χημειοανθεκτικότητα ή στη βλαστικότητα να είναι πλήρως αποσαφηνισμένος. Στη παρούσα εργασία, μελετήθηκε ο ρόλος της ALDH3A1 στη χημειοανθεκτικότητα των MCF-7 κυττάρων. Δημιουργήσαμε κύτταρα MCF-7 τα οποία υπερεκφράζουν την ALDH3A1 και τα συγκρίναμε με MCF-7 κύτταρα-μάρτυρες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η έκφραση της ALDH3A1 προσδίδει αντοχή στο κυτταρικό στρες που προκαλείται από διάφορους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες που χαρακτηρίζονται από διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης, όπως είναι το κυκλοφωσφαμίδιο, η ετοποσίδη, η δοξορουμβικίνη και η 5-φλουουρακίλη. Οι παρατηρήσεις μας για την χημειοανθεκτικότητα των ALDH3A1-MCF-7 κυττάρων επεκτάθηκαν και μετά από επίδραση με H₂O₂ και γ-ακτινοβολία, υποστηρίζοντας έναν φαινότυπο ευρύτερης αντοχής. Παράλληλα, έχουμε παρατηρήσει καθυστερημένη κυτταρική αύξηση στα ALDH3A1-MCF-7 κύτταρα, που πιθανώς να συνδέεται με τροποποιημένη αποπτωτική απάντηση. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ενδεχομένως να φωτίσουν το ρόλο της ALDH3A1 στη χημειοανθεκτικότητα καρκινικών τύπων όπου υπερεκφράζεται.

**EXPRESSION OF ALDEHYDE DEHYDROGENASE (ALDH3A1) IN
MCF-7 HUMAN BREAST CANCER CELLS CONFERS
CHEMORESISTANCE ASSOCIATED WITH *CELL GROWTH DELAY***

***Voulgaridou Georgia-Persephoni*, Kiziridou Magdalini*, Mantso Theodora,
Panagiotidis Georgios-Dimitrios and Pappa Aglaia#.***

*Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace,
Alexandroupolis 68100*Equal contribution# Correspondance: apappa@mbg.duth.gr*

Among the family of aldehyde dehydrogenases (ALDHs), ALDH1A1, ALDH1B1 and ALDH3A1 have been implicated in carcinogenesis as are found commonly over-expressed in various cancers where they are reported to serve as cancer stem cells markers. Cancer stem cells are known to be characterized by multi-drug resistance. Intriguingly, overexpression of ALDHs has been associated with cell survival advantage and is implicated in chemoresistance, however, their role in chemoresistance or cancer stemness is not fully understood. In the present study, the role of ALDH3A1 in chemoresistance was studied in MCF-7 human breast cancer cells. We established an MCF-7 cell line overexpressing ALDH3A1 and compared the response to stress induced by various agents between the ALDH3A1-expressing MCF-7 cells and the control MCF-7 cells (mock-transfected cells demonstrating non-detectable activity of ALDH3A1). Our results indicate that overexpression of ALDH3A1 provides resistance to stress induced by various chemotherapeutic agents that display different mode of action and are commonly used in clinical practice, such as cyclophosphamide, etoposide, doxorubicin and 5-fluoruracil. Our observations on the resistance of ALDH3A1-expressing cells were further expanded in cell treatments with other cytotoxic agents such as H₂O₂ or gamma radiation supporting a multi-mode resistance phenotype of ALDH3A1-expressing cells. While we are currently investigating the mechanisms through which ALDH3A1 confers protection against cytotoxic stress, ALDH3A1-expressing MCF-7 cells show a delayed cell growth compared to control cells which may be associated with altered apoptotic response. The outcome of this study is expected to shed light in the role of ALDH3A1 in chemoresistance of various cancer types where ALDH3A1 is overexpressed.

Η ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ PPARβ/δ ΑΝΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑ ΜΕΣΩ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ

Ελευθερία Γαλάτου, Αντιγόνη Λάζου

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης 54124 Θεσσαλονίκη, email: elefgala@bio.auth.gr*

Οι καρδιαγγειακές παθήσεις μεταξύ των οποίων και η καρδιακή υπερτροφία χαρακτηρίζονται από αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS). Πρόσφατη εργασία μας καθόρισε την αντι-υπερτροφική δράση του PPARβ/δ. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η αποσαφήνιση του ρόλου του PPARβ/δ σε οξειδοαναγωγικούς μηχανισμούς κατά την καρδιακή υπερτροφία. Με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής διαπιστώθηκε ότι ο προσδέτης του PPARβ/δ GW0742, αναστέλλει την επαγόμενη από την φαινυλεφρίνη (PE) παραγωγή των ROS. Στη συνέχεια διερευνήθηκε η επίδραση του GW0742 στο σηματοδοτικό μονοπάτι της Akt και στην οξειδοαναγωγική ρύθμιση της PTEN μίας φωσφατάσης, η οποία ρυθμίζει αρνητικά το σηματοδοτικό μονοπάτι της Akt. Στα κύτταρα που εκτέθηκαν σε PE παρατηρήθηκε αυξημένη οξείδωση της PTEN, γεγονός το οποίο οδηγεί στην απενεργοποίηση της. Αντίθετα παρουσία του προσδέτη, τα επίπεδα της οξειδωμένης μορφής της PTEN μειώθηκαν με επακόλουθη αναστολή του μονοπατιού της Akt. Επιπλέον, προσδιορίστηκε η επαγωγή της UCP3, ενός γονιδίου στόχου του PPARβ/δ που συμμετέχει στην αποσύζευξη της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας, μειώνοντας την παραγωγή των ROS. Κατά την ταυτόχρονη χορήγηση του GW0742 με την PE, παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση της UCP3 σε σχέση με τα χαμηλά επίπεδα που παρατηρήθηκαν κατά την έκθεση σε PE. Συμπερασματικά, ένας από τους προστατευτικούς μηχανισμούς με τους οποίους διαμεσολαβείται η αντι-υπερτροφική δράση του PPARβ/δ είναι η αναστολή της παραγωγής ROS.

PPAR β / δ ACTIVATION INHIBITS CARDIAC HYPERTROPHY THROUGH REDOX MECHANISMS

Eleftheria Galatou, Antigone Lazou

*Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki 54124 Thessaloniki, e-mail: elefgala@bio.auth.gr*

Cardiovascular diseases including cardiac hypertrophy are characterized by increased production of reactive oxygen species (ROS). In a recent study we determined the anti-hypertrophic role of PPAR β / δ . The purpose of this study was to clarify the role of PPAR β / δ in redox mechanisms in cardiac hypertrophy. Phenylephrine (PE)- induced ROS production was inhibited by the PPAR β / δ ligand GW0742 as shown by flow cytometry. Then was investigated the effect of GW0742 on the Akt signaling pathway and PTEN redox regulation, a phosphatase that negatively regulates the Akt signaling pathway. We found increased oxidation of PTEN which leads to its inactivation, in cardiomyocytes exposed to PE. In the opposite, the levels of the oxidized form of PTEN were reduced in the presence of the ligand, with subsequent inhibition of Akt pathway. Furthermore, we determined UCP3 induction, a PPAR β / δ target gene which is involved in uncoupling of the mitochondrial respiratory chain, reducing ROS production. In the presence of GW0742 and PE, UCP3 expression was increased compared with the low levels observed during cell exposure to PE. In conclusion, one of the protective mechanisms through which the PPAR β / δ anti-hypertrophic role is mediated, is the inhibition of ROS production.

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ
ΜΕΣΟΠΑΡΑΛΙΑΚΩΝ ΑΜΜΩΝ ΣΤΗΝ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΡΥΠΑΣΜΕΝΗ
ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΑΛΥΚΩΝ ΚΙΤΡΟΥΣ (ΘΕΡΜΑΪΚΟΣ ΚΟΛΠΟΣ),
ΜΕΤΑΞΥ 1976 ΚΑΙ 2003**

*Γερόπουλος Αντώνιος, Μαβίδης Μιχάλης, Κίτσος Μιλτιάδης-Σπυρίδων,
Χριστοδούλου Μαγδαληνή και Κούκουρας Αθανάσιος
Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541
24, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα*

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης της συνεχιζόμενης ρύπανσης του Θερμαϊκού Κόλπου στη σύνθεση της κοινότητας των μεσοπαρالياκών άμμων. Για το σκοπό αυτό, τον Ιούλιο του 1976 και τον Ιούλιο του 2003, ελήφθησαν διπλά δείγματα πανίδας σε οκτώ θέσεις κατά μήκος μιας διατομής που εκτείνεται από την ανώτερη έως και την κατώτερη μεσοπαρالياκή ζώνη, στην παραλία των Αλυκών Κίτρους Πιερίας. Σε κάθε δειγματοληπτική θέση συλλέχθηκαν δείγματα ιζήματος με πυρήνο-δειγματολήπτη επιφάνειας 50 cm², σε διαστήματα των 2 cm μέχρι το βάθος των 30 cm.

Η ανάλυση της σύνθεσης της μακροπανίδας έδειξε ότι το 1976, στην περιοχή υπήρχε η χαρακτηριστική κοινότητα των *Donacilla cornea* - *Ophelia bicornis*, στην οποία τα είδη *Eurydice affinis*, *Scolelepis squamata*, *Saccocirrus papillocercus*, και *Pisone remota* εμφάνιζαν σχετικά υψηλές αφθονίες. Αντίθετα, το 2003 η κοινότητα αυτή εμφανίστηκε αποδιοργανωμένη, με τα είδη *O. bicornis* και *P. remota* να απουσιάζουν και με τις αφθονίες των *D. cornea*, *E. affinis*, *S. squamata* και *S. papillocercus* να είναι σχεδόν μια τάξη μεγέθους χαμηλότερες σε σχέση με το 1976. Παράλληλα, και στη σύνθεση της μειοπανίδας παρουσιάστηκαν σημαντικές μεταβολές της αφθονίας: το 1976 κυρίαρχη ομάδα ήταν τα Nematoda (72%), ενώ το 2003 τα Oligochaeta (65%).

Οι αλλαγές στην ποικιλότητα και την αφθονία των ειδών της κοινότητας καθώς και οι μεταβολές στην οριζόντια και κατακόρυφη κατανομή των ειδών δίνονται και συζητούνται σε σχέση με τη συνεχιζόμενη ρύπανση στον Θερμαϊκό Κόλπο.

**COMPARISON OF THE COMPOSITION OF THE SANDY
MIDLITTORAL COMMUNITY IN THE ORGANICALLY POLLUTED
AREA OF ALYKES KITROUS (THERMAIKOS GULF), BETWEEN
1976 AND 2003**

***Geropoulos Antonios, Mavidis Michalis, Kitsos Miltiadis-Spyridon, Christodoulou
Magdalini and Koukouras Athanasios***

*Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of
Thessaloniki, 541 24, Thessaloniki, Greece*

This study aims to describe the effects of the ongoing pollution of Thermaikos Gulf on the composition of the community of the sandy midlittoral substratum. For this reason, in July 1976 and July 2003, double faunal samples were taken at eight positions along one transect extended from the upper to the lower midlittoral zone at Alykes Kitrous beach, Pieria. At each sampling position, the sediment was collected with a 50 cm² core sampler, placed down to 30 cm depth at 2 cm intervals.

The analysis of the faunal composition revealed that in 1976, the characteristic community of *Donacilla cornea* and *Ophelia bicornis* was present in the area, with *Eurydice affinis*, *Scolelepis squamata*, *Saccocirrus papillocerus*, and *Pisone remota* having relatively high abundances. On the contrary, in 2003 this community appeared disorganized with *O. bicornis* and *P. remota* absent from the community and the abundances of *D. cornea*, *E. affinis*, *S. squamata* and *S. papillocerus* being approximately one order of magnitude lower in relation to 1976. Furthermore, the meiofaunal composition was altered; in 1976 the dominant taxon was Nematoda (72%), while in 2003 it was Oligochaeta (65%).

The changes in the diversity and abundance of the community species, as well as the alterations in the spatial distribution of the species, are given and discussed in relation to the ongoing pollution in Thermaikos Gulf.

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΓΕΝΩΝ ΚΩΝΟΦΟΡΩΝ ΜΕ ΜΙΑ ΑΠΛΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ PCR

Γεωργολόπουλος Γ., Δρούζας Α.

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα
Βιολογίας, Τ.Θ. 104, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσ/νίκη
e-mail: ggeorgol@bio.auth.gr, drouzas@bio.auth.gr

Μια απλή και οικονομική μέθοδος η οποία θα επιτρέπει τη διάκριση μεταξύ των γενών δασικών ειδών είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για πολλές εφαρμογές. Σε αυτή την εργασία παρουσιάζεται ένας απλός μοριακός δείκτης που αφορά στην εφαρμογή μιας μόνο αντίδρασης PCR (Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης). Συγκεκριμένα, συλλέχθηκαν 42 φυτικά δείγματα από αυτοφυείς πληθυσμούς, τα οποία ανήκουν σε πέντε διαφορετικά γένη κωνοφόρων: *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Taxus* και *Cupressus*. Ολικό DNA απομονώθηκε από κάθε δείγμα και ενισχύθηκε το τμήμα του χλωροπλαστικού DNA μεταξύ των γονιδίων του tRNA της Βαλίνης και αυτού της Ιστιδίνης (trnV-trnH). Το προϊόν της ενίσχυσης ηλεκτροφορήθηκε σε πηκτή αгарόζης και βρέθηκε να έχει διαφορετικό μήκος σε κάθε γένος που εξετάστηκε. Ο πολυμορφισμός αυτός ήταν σταθερός σε όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν από κάθε γένος (6-10 δείγματα). Αυτός ο απλός μοριακός δείκτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην ταυτοποίηση των παραπάνω γενών κωνοφόρων, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου τα μορφολογικά διαγνωστικά χαρακτηριστικά τους δεν είναι διαθέσιμα (π.χ. ξυλεία, έπιπλα).

IDENTIFICATION OF CONIFERS' GENERA BY APPLYING A SIMPLE POLYMERASE CHAIN REACTION

Georgolopoulos G., Drouzas A.

*Phytosystematics Laboratory, Botany department, School of Biology, P.O. Box: 104,
Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece
e-mail: ggeorgol@bio.auth.gr, drouzas@bio.auth.gr*

A simple and low-cost method that can identify the various forest genera is very useful for many applications. In this work we present a simple molecular marker which employs just one Polymerase Chain Reaction (PCR). Forty-two plant samples were collected from native populations belonging to five different conifer genera: *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Taxus* and *Cupressus*. Total genomic DNA was isolated from each sample and the cpDNA region between the Valine tRNA and Histidine tRNA was amplified (trnV-trnH). The amplification product was visualized on agarose gel and had different length for each examined genus. This polymorphism was stable for all the analyzed samples from each genus (6-10 samples). This simple molecular marker may be used for the identification of the above conifers' genera, particularly in cases where morphological diagnostic features are not available (e.g. timber, furniture).

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΗΡΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΑΝΤΙΘΗΡΕΥΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΙΣ ΣΑΥΡΕΣ

Γιαννακοπούλου Ε¹., Ξηρογιαννοπούλου Π¹., Σαγώνας Κ¹., Παφίλης Π.² και Ε.Α.
Βαλακός¹

¹ Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, ² Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη,
Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

Η αυτοτομία της ουράς είναι ένας αμυντικός μηχανισμός που χρησιμοποιείται ευρύτατα στις σαύρες. Τμήμα της ουράς αποκόπτεται όταν το ζώο δεχτεί επίθεση και στη συνέχεια κινείται ώστε να προσελκύσει την προσοχή του θηρευτή και η σαύρα να αποδράσει. Πολλές παράμετροι του μηχανισμού έχουν μελετηθεί (π.χ. ανατομία, μορφολογία μυών, φυσιολογία μεταβολισμού) αλλά σημαντικοί χαρακτήρες της κίνησης παραμένουν ασαφείς. Η διάρκεια κίνησης δεν ποικίλει σε συγγενή είδη, τα χαρακτηριστικά όμως της κίνησης διαφέρουν. Έτσι κάποια είδη παρουσιάζουν έντονες συσπάσεις (που μπορεί να περιλαμβάνουν μικρά άλματα) και μεγάλη μετακίνηση πάνω σε επίπεδες επιφάνειες. Παραδοσιακά τα ποσοστά αυτοτομίας θεωρούνται ως δείκτης της θηρευτικής πίεσης. Στην παρούσα μελέτη θελήσαμε να εντοπίσουμε τη σχέση μεταξύ θήρευσης και χαρακτηριστικών την κίνησης και να διαλευκάνουμε τη φύση αυτής της σχέσης. Υποθέσαμε ότι όσο πιο υψηλή είναι η θήρευση, τόσο πιο έντονα θα κινείται η ουρά και τόσο πιο πολύ θα μετακινείται το τμήμα της ουράς ώστε να διασπά αποτελεσματικότερα την προσοχή των θηρευτών.

Εργαστήκαμε με τρία είδη που προέρχονται από τέσσερις πληθυσμούς με διακριτά επίπεδα θήρευσης: την πελοποννησιακή γουστέρα (*Podarcis peloponnesiacus* – Στυμφαλία, υψηλή θήρευση), το σιλιβούτι (*P. erhardii* – νησίδες Δασκαλιό και Κοπριά στις Μικρές Κυκλάδες – ήπια θήρευση) και τη σαύρα της Σκύρου (*P. gaigeae* – Σκύρος, χαμηλή θήρευση και νησίδια Διαβατές, ελάχιστη θήρευση). Τα αποτελέσματα δικαίωσαν την υπόθεση εργασίας. Σε κάθε περίπτωση (χρονικά διαστήματα και χαρακτήρες κίνησης) η πελοποννησιακή γουστέρα εμφάνισε την πιο έντονη κινητικότητα με πολυάριθμες συσπάσεις, αναπηδήσεις που έφταναν τα τρία εκατοστά και μεγάλης έκτασης κίνηση που υπερέβαινε το μέτρο. Οι ουρές από το σιλιβούτι παρουσίαζαν σαφώς πιο μειωμένη κινητικότητα χωρίς άλματα ενώ αμφότεροι οι πληθυσμοί της σαύρας της Σκύρου είχαν πολύ χαμηλή κινητικότητα και περιορισμένη έκταση κίνησης. Φαίνεται ότι η ένταση της θήρευσης ενεργοποιεί θετικά την κινητικότητα της ουράς μετά την αυτοτομία ως αποτέλεσμα προσαρμογής σε περιβάλλοντα υψηλού κινδύνου.

Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτήθηκε μερικά από τα Ερευνητικά Προγράμματα 2010 του Ιδρύματος Λάτση

PREDATION IMPACT ON THE PERFORMANCE OF ANTIPREDATORY MECHANISMS IN LIZARDS

Giannakopoulou E¹., Xirogiannopoulou P¹., Sagonas K¹., Pafilis P². and E.D. Valakos¹

¹ Section of Animal and Human Physiology, ² Section of Zoology and Marine Biology, Dept. of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, Ilissia 157-84, Athens

Caudal autotomy is an important defensive mechanism in many animal taxa, and is also widely used among lizards. The late shed voluntarily part of their tail, in response to a predator's attack, that is afterwards thrashing so as to distract predator and permit lizard to escape. Though many aspects of tail loss have been studied in detail (e.g. anatomy, muscle morphology, metabolism physiology), significant features of post autotomy movement have been largely neglected. It is well established that the duration of this movement remains invariable within phylogenetically related species. However, field and lab observations suggest the existence of differences in particular movement traits. Thus, some species show intense contractions (including acrobatic flips) and long distance translocation on flat surfaces. Tail shedding percentages are traditionally interpreted as an index of predation pressure. In this study we tried to detect whether there is a relation between predation and post autotomy movement traits and, if this is the case, to clarify the nature of this relationship. We presumed that the higher predation pressure is, the more vigorous would be tail motion (more contractions) and also longer distance would be covered by shed tail in order to distract predator. We worked with three species deriving from four different populations experiencing varying predation regimes: Peloponnese Wall lizard (*Podarcis peloponnesiacus* - Lake Stymfalia, high predation), Erhard's Wall lizard (*P. erhardii* - Daskalio and Kopries islets belonging to the Small Cyclades subgroup, mild predation) and Skyros Wall Lizard (*P. gaigeae* - Skyros Island, low predation, and Diavates islet, minimal predation).

Results offered strong support to our working hypothesis. In every case (time intervals and movement features) Peloponnese Wall Lizard show higher motility with numerous contractions, flips up to three cm height and long distance translocation that exceeded one meter. Skyros Wall Lizard and Erhard's Wall Lizard tails were characterized by considerably lower overall motility with no flips and diminished movement translocation. It seems that predation pressure triggers post autotomy movement motility as an adaptation to higher risk environments.

This study was partially funded by the Research Projects 2010 of Latsis Foundation

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΣΤΟ ΓΕΝΟΣ *EPIPACTIS* ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Γιαννακού Χ., Τσιφτσής Σ., Καραγιαννακίδου Β. και Τσιριπίδης Ι.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη

Το γένος *Epipactis* ανήκει στην οικογένεια *Orchidaceae* και απαντάται σε εύκρατες και υποτροπικές περιοχές της Ευρώπης, της Ασίας και της Αφρικής, ενώ ένα είδος εγκλιματίστηκε στην Αμερική. Τα είδη του γένους χαρακτηρίζονται από μεγάλη ποικιλότητα στο μέγεθος και στη μορφή των φύλλων. Η εργασία αποσκοπεί στη μελέτη της μορφολογικής ποικιλότητας των φύλλων στο γένος αυτό στην Ελλάδα και στη διερεύνηση της δυνατότητας διάκρισης (ταξινόμησης) ειδών και ομάδων με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων. Συνολικά, 463 φύλλα συλλέχθηκαν από φυσικούς πληθυσμούς 15 ειδών, που ανήκουν στα *E. atrorubens* group, *E. helleborine* group, *E. greuteri* group, *E. phyllanthos* group και *E. purpurata* group. Τα φύλλα σαρώθηκαν ηλεκτρονικά και στις ψηφιακές τους εικόνες έγινε μέτρηση του μήκους, του πλάτους, της περιμέτρου και της επιφάνειας των φύλλων, ενώ κατόπιν υπολογίστηκαν η κυκλικότητα και ο δείκτης φύλλου (leaf index). Τα μορφομετρικά δεδομένα των φύλλων αναλύθηκαν με τη μέθοδο των κυρίαρχων συνιστωσών (PCA), ενώ με τη βοήθεια δέντρων ταξινόμησης, διερευνήθηκε η ικανότητα διάκρισης των ειδών και των ομάδων βάσει των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φύλλων. Στην ανάλυση των κυρίαρχων συνιστωσών, ο πρώτος άξονας συσχετίζεται με χαρακτηριστικά που αφορούν στο μέγεθος των φύλλων, ενώ ο δεύτερος άξονας συσχετίζεται με χαρακτηριστικά που αφορούν στη μορφή των φύλλων. Τα δέντρα ταξινόμησης είχαν διαφορετικό ποσοστό ορθής ταξινόμησης μεταξύ των ειδών και των ομάδων. Για τα είδη το ποσοστό ορθής ταξινόμησης βρέθηκε χαμηλό εκτός από τα *E. atrorubens* και *E. helleborine*. Όσο αφορά στις ομάδες, σχετικά υψηλό ποσοστό ορθής ταξινόμησης βρέθηκε για τα *E. atrorubens* group, *E. helleborine* group και *E. greuteri* group.

LEAF MORPHOLOGICAL VARIATION IN THE GENUS *EPIPACTIS* IN GREECE

Giannakou Ch., Tsiftsis S., Karagiannakidou V. and Tsiripidis I.

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

The genus *Epipactis* belongs to the *Orchidaceae* family and is distributed at temperate and subtropical regions of Europe, Asia and Africa, while one species has been naturalized in America. The species of the genus are characterized by a high variation of leaves' size and shape. The present work aims at the investigation of the morphological variation of leaves in the *Epipactis* genus in Greece and the exploration of the capability to discriminate species and groups within this genus on the basis of leaves' morphological traits. In total, 463 leaves were collected from wild populations of 15 species, belonging to *E. atrorubens* group, *E. helleborine* group, *E. greuteri* group, *E. phyllanthes* group and *E. purpurata* group. The leaves were scanned and their length, width, perimeter and area were measured on their digital images, while their roundness and leaf index were furthermore, calculated. The morphometric data were analyzed with the method of principal component analysis (PCA). In addition, data were analyzed using classification trees, to test the capability of species and groups taxonomic classification on the basis of leaves' morphological traits. PCA first axis was correlated to the traits representing leaf size, while the second axis was correlated to those ones concerning leaf shape. The classification trees resulted in different percentages of correct classification among species and groups. The percentage of correct classification for species was rather low, except for *E. atrorubens* and *E. helleborine*. A relatively high percentage of correct classification was found for *E. atrorubens* group, *E. helleborine* group and *E. greuteri* group.

ΕΠΑΓΩΓΗ STRESS ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΩΝ ΜΥΔΙΩΝ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LMK.), ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΤΟΥΣ ΣΕ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΥΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΥΣ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ

Γιανναπάς Μάριος¹ και Στέφανος Νταϊλιάνης¹

¹ Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Η συγκεκριμένη μελέτη διερευνά την ικανότητα ορισμένων πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs), όπως το φαινανθρένιο (PH) και το ανθρακένιο (AN), να επάγουν συνθήκες καταπόνησης (stress syndrome) σε ιστούς, όπως τα βράγχια του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, άτομα που εκτέθηκαν για 7 ημέρες σε PH και/ή AN (τελικής συγκέντρωσης 0,1 mg/L σε κάθε περίπτωση) αλλά και σε μίγμα των παραπάνω οργανικών ρύπων (τελικής συγκέντρωσης 0,2 mg/L) παρουσίασαν αυξημένες συχνότητες εμφάνισης πυρηνικών ανωμαλιών, όπως η εμφάνιση μικροπυρήνων (MN), καθώς και επαγωγή νευρολογικών διαταραχών, όπως προκύπτει από τη μέτρηση της δραστηριότητας της ακετυλχολινεστεράσης (AChE). Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα της μαλονικής διαλδεϋδης (MDA) στα βράγχια των εκτιθέμενων ατόμων, καθώς και η μείωση του χρόνου επιβίωσης των ατόμων (LT50) κατά την έκθεσή τους στον αέρα (διαδικασία Stress on Stress), αποτελούν σημαντική ένδειξη επαγωγής φαινομένων οξειδωτικής καταπόνησης (oxidative stress), γεγονός που μπορεί να συσχετιστεί με την επαγωγή διαταραχών σε διάφορα επίπεδα οργάνωσης του οργανισμού.

**STRESS INDUCED IN TISSUES OF MUSSEL *MYTILUS*
GALLOPROVINCIALIS (LMK.), AFTER EXPOSURE TO PAHs**

Giannapas Marios¹ and Stefanos Dailianis¹

¹ Section of Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Patras, 26 500, Greece

This study investigates the ability of certain polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), such as phenanthrene (PH) and anthracene (AN), to induce stress conditions (stress syndrome) in tissues (e.g. gills) of mussel *Mytilus galloprovincialis*. According to the results of this study, mussels exposed for 7 days to PH and/or AN (at a final concentration of 0,1mg/L in each case) as well as to a mixture of these organic pollutants (at a final concentration of 0,2 mg/L) showed increased frequencies of nuclear abnormalities, such as the presence of micronuclei (MN), and induction of neurological disorders, as shown by measuring the activity of acetylcholinesterase (AChE). Furthermore, increased levels of MDA in the gills of exposed individuals, and the reduction of the lethal time (LT50) of challenge mussels superimposed in air (Stress on Stress technique), merely reflect PAHs-induced oxidative effects on tissues of challenge mussels, thus leading to the enhancement of toxic effects to different levels of organism function.

**ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΡΧΙΚΩΝ ΣΤΑΔΙΩΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΝ
ΙΝΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΕΝΑ ΕΞΑΠΕΠΤΙΔΙΟ-ΑΝΑΛΟΓΟ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ
ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ (hCT)**

Γιαννέλου, Π. Κ., Λεοντής Α., Οικονομίδου, Β.Α. και Χαμόδρακας, Σ.Ι.
*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01*

Η καλσιτονίνη είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη που αποτελείται από 32 αμινοξικά κατάλοιπα. Στον άνθρωπο εκκρίνεται από τα παρα-επιθηλιακά κύτταρα (C-κύτταρα) του θυρεοειδούς αδένος και σε άλλα (συνήθως κατώτερα) σπονδυλόζωα από το μεταβραγχιακό σωματίο και συμμετέχει στον μεταβολισμό του ασβεστίου και του φωσφόρου. Ανήκει σε μια οικογένεια πρωτεϊνών, τα μέλη της οποίας όταν διπλωθούν λάθος και αυτοσυγκροτηθούν σχηματίζουν αμυλοειδή ινίδια τα οποία σχετίζονται με μια σειρά σοβαρών ασθενειών, που είναι γνωστές ως αμυλοειδώσεις. Ο αμυλοειδογενής τύπος της ανθρώπινης καλσιτονίνης συσχετίζεται με το μυελώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς αδένος. Σε προηγούμενες μελέτες μας εντοπίσαμε ένα εξαπεπτίδιο-ανάλογο, τμήμα της ανθρώπινης καλσιτονίνης, το οποίο οργανώνεται σε αμυλοειδή ινίδια και πιθανότατα συμμετέχει στον πολυμερισμό της σε αμυλοειδή ινίδια. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζονται πρόσθετες μελέτες οι οποίες δείχνουν ότι το πρώτο βήμα σχηματισμού των αμυλοειδών ινιδίων από το εξαπεπτίδιο-ανάλογο, όπως συμβαίνει και σε πολλές ακόμα αμυλοειδείς πρωτεΐνες, είναι η δημιουργία πυρήνων υδροκρυσταλλικής φύσης γνωστών ως σφαιρουλίτων. Οι σφαιρουλίτες που παρατηρήθηκαν σε πειράματα κρυστάλλωσης με την μέθοδο hanging drop, μελετήθηκαν περαιτέρω με πολωτική μικροσκοπία, φασματοσκοπία υπερερυθρού (ATR FT-IR), ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (ΗΜΔ) και περίθλαση ακτίνων-X.

**A STUDY OF THE INITIAL STAGES OF FORMATION OF AMYLOID
FIBRILS FROM A HEXAPEPTIDE-ANALOGUE OF HUMAN
CALCITONIN (hCT)**

Giannelou, P.K., Leontis, A., Iconomidou, V.A. and Hamodrakas, S.J.

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

Calcitonin is a 32-amino acid linear polypeptide hormone that is produced in humans primarily by the parafollicular cells (C-cells) of the thyroid, and in several other organisms in the ultimobranchial body. The hormone is involved in calcium and phosphorus metabolism. It belongs to a protein family whose members may form amyloid fibrils, which are responsible for serious diseases known as amyloidoses. The amyloid form of calcitonin is involved in medullary thyroid carcinoma. We have shown previously that a hexapeptide-analogue of calcitonin forms amyloid fibrils under a variety of conditions and in this work we present supporting data showing that the first main step of amyloid-like fibrillogenesis of the calcitonin hexapeptide-analogue is the formation of nuclei of liquid crystalline nature. Using TEM, ATR FT-IR spectroscopy, and X-ray fibre diffraction methods, we proved experimentally that these liquid-crystalline nuclei (spherulites), which were observed in crystallization experiments with the hanging drop method, ‘collapse’ to form amyloid fibrils.

ΒΑΘΥΜΕΤΡΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ *SERRANUS HEPATUS* (PISCES) ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

Ιωάννης Γιώβος¹, Κωνσταντίνος Γκάνιας¹, Γεώργιος Σκούφας²

1. Α.Π.Θ., Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Ηλεκτρ. Ταχ.:
kganias@bio.auth.gr

2. Α.Τ.Ε.Ι.Θ., Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών, Παράρτημα Νέων
Μουδανιών Ηλεκτρ. Ταχ.: skoufas@aqua.teithe.gr

Το είδος *Serranus hepatus* (Linnaeus, 1758), γνωστό με το κοινό όνομα χανάκι, είναι ένα κοινό είδος των ελληνικών θαλασσών, χωρίς όμως να αποτελεί αλιευτικό στόχο, όπως άλλα είδη της οικογένειας Serranidae. Ο στόχος της παρούσας έρευνας αφορά στη μελέτη της βαθυμετρικής κατανομής του είδους, δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση σε ηθολογικά στοιχεία.

Η μελέτη διεξήχθη στη θαλάσσια περιοχή της Ακτής Καλογριάς (Σιθωνία, Χαλκιδικής), η οποία είναι ενταγμένη στο δίκτυο «NATURA 2000». Η παρατήρηση και η καταγραφή των στοιχείων έγινε με αυτόνομη κατάδυση (μη καταστροφική μέθοδος δειγματοληψία). Ακολουθήθηκαν τυχαίες διατομές μήκους 50 m, στις ισοβαθείς 5 m, 10 m, 15 m και 20 m, σε εβδομαδιαία βάση, τις πρωινές ώρες κατά τη χρονική περίοδο από 9/2010 έως 4/2011.

Αν και στις βιβλιογραφικές αναφορές η βαθυμετρική κατανομή του *S. hepatus* αρχίζει στα 30 m, εντούτοις στην παρούσα έρευνα παρατηρήθηκε (τέλος καλοκαιριού, αρχή φθινοπώρου) η παρουσία του ακόμα και σε βάθη της τάξης των 5 m. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η βαθυμετρική του κατανομή συμπίπτει με τις ζώνες των άλλων δύο ειδών του γένους *Serranidae*, *S. scriba* και *S. cabrilla*, ενώ στα δύο τελευταία είδη υπάρχει βαθυμετρικός διαχωρισμός. Λαμβάνοντας υπόψη ότι συγκριτικά με τα άλλα δύο είδη το *S. hepatus* είναι το πιο μικρόσωμο, θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι η κρυπτική του συμπεριφορά (ζει κοντά σε φύκη και στις παρυφές του σκληρού υποστρώματος) αποτελεί προσαρμογή στον ετεροειδικό ανταγωνισμό. Γενικά, όπως προέκυψε από τις *in situ* παρατηρήσεις, το συγκεκριμένο είδος παρουσιάζει μια ευκαιριακή βαθυμετρική κατανομή.

Ένα ενδιαφέρον ερώτημα που προκύπτει αφορά στην παρουσία του είδους, η οποία δεν είναι συνεχής στο χρόνο.

BATHYMETRIC DISTRIBUTION OF *SERRANUS HEPATUS* (PISCES) IN THE NORTH AEGEAN SEA

Ioannis Giovos¹, Konstantinos Ganias¹, Georgios Skoufas²

1. A.U.Th, School of Biology, Ichthyology Laboratory, E-mail address:
kganias@bio.auth.gr

2. A.T.E.I.Th., Department of Fisheries and Aquacultures Technology, Nea Moudania
E-mail address: skoufas@aqua.teithe.gr

The fish species *Serranus hepatus* (Linnaeus, 1758), known by the name Brown comber, is a common species in Greek waters with no fishing/economic interest, as other species of the Serranidae family. The principal objective of this research is to study the bathymetric distribution of this species, with particular emphasis on ethological data.

The current survey was conducted in the marine area Kalogria (Sithonia, Halkidiki), which constitutes a Site of Community Interest of «NATURA 2000» network. The gathering of data was accomplished via scuba diving (non-destructive sampling method). Random transects 50 m long were followed, along the depth contours of 5 m, 10 m, 15 m and 20 m, on a weekly basis during morning hours for the period from 9 / 2010 to 4 / 2011.

Although the bathymetric distribution of *S. hepatus*, according to literature, starts from 30 m and goes deeper, individuals of this species were recorded during the current survey (end of summer, beginning of autumn), even at 5 m depth. An interesting point concerning the bathymetric distribution of *S. hepatus* is that it coincides with the distribution areas of the Serranidae species *S. scriba* and *S. cabrilla*, while the latter two are bathymetrically distinctive. Taking into consideration that the other two species are bigger than *S. hepatus*, it could be assumed that its cryptic behaviour (living near algae and on the edge of hard substratum) is an adjustment to species' competition. As a general remark, based on our *in situ* observations, it seems that *S. hepatus* bathymetric distribution is kind of occasional.

An interesting question that arises concerns the presence of the species, which is not continuous in time.

ΕΠΟΧΙΑΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗ ΒΑΘΥΜΕΤΡΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ *SERRANIDAE* ΣΕ ΜΙΑ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΟΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ

Ιωάννης Γιώβος¹, Κωνσταντίνος Γκάνιας¹, Γεώργιος Σκούφας²

¹Α.Π.Θ., Σχολή Θετικών Επιστημών, Τομέας Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας,
Ηλεκτρ. Ταχ.: kganias@bio.auth.gr

²Α.Τ.Ε.Ι.Θ., Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών, Παράρτημα Νέων
Μουδανιών, Ηλεκτρ. Ταχ.: skoufas@aqua.teithe.gr

Τα είδη της οικογενείας *Serranidae* (ροφοί, πέρκες) είναι βενθικοί οργανισμοί που ζουν κυρίως στους υφάλους των παράκτιων οικοσυστημάτων. Στην διεθνή βιβλιογραφία έχει μελετηθεί ιδιαίτερα τόσο η βιολογία των συγκεκριμένων ειδών όσο και το εύρος της βαθυμετρικής τους κατανομής. Ωστόσο οι εποχιακές τους μετακινήσεις με το βάθος παραμένουν σε σημαντικό βαθμό άγνωστες. Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να μελετηθεί το εποχιακό αυτό πρότυπο και να διερευνηθούν οι παράγοντες που μπορεί να ευθύνονται για την δημιουργία του. Για τον σκοπό αυτό διεξήχθη δειγματοληψία με τη βοήθεια αυτόνομης κατάδυσής (μη καταστροφική μέθοδος) στον ύφαλο της ακτής Καλογριάς (Σιθωνία, Χαλκιδική) που αποτελεί προστατευόμενη περιοχή ενταγμένη στο δίκτυο «NATURA 2000». Πιο συγκεκριμένα, ακολουθήθηκαν τυχαίες διατομές μήκους 100μ στις ισοβαθείς των 5μ, 10μ, 15μ και 20μ όπου και έγινε καταγραφή του αριθμού και του μεγέθους των ατόμων ανά είδος με οπτική μέθοδο και μιας σειράς άλλων περιβαλλοντικών μεταβλητών όπως θερμοκρασία, το βάθος του θερμοκλινούς κ.α.. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 20 δειγματοληψίες από το Σεπτέμβριο του 2010 έως τον Απρίλιο του 2011. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων ανέδειξε ένα εποχιακό πρότυπο μετακίνησης το οποίο αφορούσε μία τάση μετακίνησης προς μεγαλύτερα βάθη κατά το Χειμώνα. Ακολούθησε προσπάθεια αναζήτησης και των λόγων για τους οποίους εμφανίζεται αυτό το πρότυπο.

**SEASONAL CHANGES IN THE BATHYMETRIC DISTRIBUTION OF
SPECIES OF THE FAMILY *SERRANIDAE* IN A MARINE PROTECTED
AREA.**

Ioannis Giovos¹, Konstantinos Gkanias¹, Georgios Skoufas²

¹A.U.Th., School of Biology, Ichthyology laboratory, e-mail:

kganias@bio.auth.gr

²A.T.E.I.Th., Department of Fisheries and Aquaculture Technology, e-mail:

skoufas@aqua.teithe.gr

The species of the family *Serranidae* are benthic, reef-associated organisms of the littoral ecosystems. Even if their biology has been extensively studied there is an important gap in the literature on the seasonal pattern of their bathymetric distribution. The aim of this study was to investigate this pattern and to analyze possible biological and environmental factors that might be responsible. The sampling was conducted via scuba diving (non destructive method) at the reef of Akti Kalogria coast (Sithonia, Chalkidiki) which is a marine protected area within the network of "NATURA 2000". Specifically, random transects of 100m length were followed at the isobaths of 5m, 10m, 15m and the 20m. The number and size (arbitrary scale) of individuals per species were recorded in each isobath; a number of environmental variables like temperature, and the depth of the thermocline were also recorded. A total of 20 samplings were performed between September 2010 and April 2011. The analysis of the results revealed a seasonal change in the bathymetric distribution of four *Serranids* according to which individuals move to larger depths during the winter. A number of factors that might regulate this pattern are also proposed.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΟΡΦΩΝ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ
ΚΟΥΡΚΟΥΜΙΝΗΣ ΣΕ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΩΝ MAPKS
ΣΕ ΕΜΠΟΤΙΖΟΜΕΝΗ ΚΑΡΔΙΑ ΑΜΦΙΒΙΟΥ**

Γκόνου Ε, Κούστας Ευ., Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Κ. και Μπέης Ι.
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιούπολη Ιλίσια, 157 84 Αθήνα

Η καρδιά των αμφιβίων είναι ιδιαίτερα ανθεκτική σε διάφορες στρεσογόνες καταστάσεις, τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (mitogen-activated protein kinases-MAPKs) κάτω από διάφορες στρεσογόνες συνθήκες στην απομονωμένη εμποτιζόμενη καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*. Υπό την επίδραση τόσο μηχανικού στρες (πίεση εμποτισμού διπλάσια της φυσιολογικής) όσο και οξειδωτικού στρες (30 μM H_2O_2), παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης (επομένως ενεργοποίηση) συγκεκριμένων υποοικογενειών των MAPKs. Ειδικότερα, ανάλυση κατά Western, κατέδειξε σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p38-MAPK από το πρώτο λεπτό τόσο οξειδωτικού όσο και μηχανικού στρες, η οποία διατηρήθηκε για 15 λεπτά περίπου. Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση της κουρκουμίνης, μίας πολυφαινολικής ένωσης, που έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να δρα τόσο ως οξειδωτικός όσο και ως αντι-οξειδωτικός παράγοντας. Εμποτισμός με 10 μM κουρκουμίνης βρέθηκε ότι επάγει σημαντική ενεργοποίηση της p38-MAPK, που μεγιστοποιείται με διφασικό πρότυπο στα 5 και 30 λεπτά επίδρασης. Μελετήθηκε επίσης η απόκριση της πρωτεΐνης θερμικού σοκ Hsp27, η οποία αποτελεί υπόστρωμα της p38-MAPK και παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσής της κατά την επίδραση μηχανικού στρες και κουρκουμίνης. Διερεύνηση της πιθανής συνδυαστικής-συνεργιστικής δράσης των τριών μελετούμενων αυτών συνθηκών επίδρασης, με τη χρήση και ειδικών αναστολέων, μπορεί να συμβάλει στην αποσαφήνιση των κινητοποιούμενων προστατευτικών μηχανισμών κάτω από τις μελετούμενες συνθήκες.

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από προγράμματα του Ε.Λ.Κ.Ε (ΕΚΠΑ).

**STUDY OF THE EFFECT OF VARIOUS STRESSES AND CURCUMIN
ON MAPKS SIGNALING PATHWAYS IN THE PERFUSED
AMPHIBIAN HEART**

Gonou E., Koustas V., Aggeli I.K., Gaitanaki C. and Beis I.
*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology,
University of Athens, Panepistimioupolis 157 84 Athens*

Amphibian heart is known to be particularly tolerant to a variety of stressful conditions *in vivo* as well as *in vitro*. In the present study, we examined the activation of mitogen-activated protein kinases (MAPKs) signaling pathways under diverse forms of stress in the isolated perfused amphibian heart (*Rana ridibunda*). We found that mechanical (double perfusion pressure) as well as oxidative stress (30 μ M H₂O₂) upregulated the phosphorylation (thus activation) of certain MAPKs subfamilies. In particular, immunoblot analysis showed a significant increase in the phosphorylation levels of p38-MAPK as early as the first minute of the treatments, which was sustained for approximately 15 min. Furthermore, we examined the effect of curcumin, a polyphenolic compound which has been shown to exert oxidative as well as anti-oxidative actions. Thus, perfusion with 10 μ M curcumin was observed to induce a significant increase in p38-MAPK phosphorylation which attained maximal levels in a biphasic profile after 5 and 30 min of treatment. In addition, the response of the small heat shock protein Hsp27, a p38-MAPK substrate, was also studied with its phosphorylation levels found to be upregulated by mechanical stress and treatment with curcumin. Further investigation of the potential synergistic effect of these three conditions under study is required, in the presence of selective inhibitors, so as to clarify and elucidate the protective mechanisms triggered under these conditions.

This work was funded by grants from the Special Research Account (University of Athens)

ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΣΤΟ ΜΥΔΙ *MYTILUS* *GALLOPROVINCIALIS*: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ CK2

Ευγενία Γολεγού^α, Andrea Baier^β, Regina-Maria Kolaitis^α, Ryszard Szyszka^β και
Σοφία Κουγιανού-Κουτσούκου^α

^αΠανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,

^βCatholic University of Lublin, Department of Molecular Biology, Lublin, Poland

Τα θαλάσσια δίθυρα όπως το μύδι *Mytilus galloprovincialis* χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες της θαλάσσιας ρύπανσης, καθώς μπορούν να συσσωρεύουν οργανικούς ρύπους και βαρέα μέταλλα στους ιστούς τους, με αποτέλεσμα χρωμοσωμικές βλάβες και αλλοιώσεις στην πρωτεϊνοσύνθεση και πολλές άλλες φυσιολογικές πορείες. Η Πρωτεϊνική κινάση CK2 είναι μια εξαιρετικά συντηρημένη κινάση Ser / Thr που εμπλέκεται στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, τη μεταγραφή, τη μεταγωγή σήματος και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και υπερεκφράζεται σε πολλές ασθένειες ή μετά από οξειδωτικό στρες. Η CK2 αποτελείται από δύο καταλυτικές (α και / ή α') και δύο ρυθμιστικές (β) υπομονάδες και φαίνεται να είναι επίσης υπεύθυνη για την φωσφορυλίωση των ριβοσωμικών P-πρωτεϊνών που σχηματίζουν τον πενταμερή μίσχο P0(P1/P2)₂ της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας. Κλωνοποιήσαμε πρόσφατα και απομονώσαμε τις ανασυνδυασμένες MgCK2α και MgCK2β υπομονάδες καθώς και την Cu/Zn υπεροξειδική δισμουτάση (MgSOD) του *M. galloprovincialis*. Παρουσιάζουμε εδώ τη φωσφορυλίωση της ρυθμιστικής υπομονάδας MgCK2β και των απομονωμένων ριβοσωμικών πρωτεϊνών MgP0, MgP1, MgP2 από την καταλυτική MgCK2α υπομονάδα και το ολοένζυμο. Μελετήσαμε επίσης τη φωσφορυλίωση ριβοσωμάτων από την MgCK2. Αλλαγές στην ενζυμική δράση της MgCK2α υπομονάδας και του ολοενζύμου παρατηρήθηκαν σε διάφορες θερμοκρασίες (από 18 έως 42 °C). Η επίδραση της MgSOD στην ενεργότητα της CK2 εξετάστηκε σε διάφορες συνθήκες για εκτίμηση του πιθανού μηχανισμού δράσης της. Έκθεση των μυδιών σε συνθήκες στρες, όπως σορβιτόλη, κάδμιο ή καδμιο και σορβιτόλη έδειξε αυξημένη έκφραση τόσο της MgCK2α όσο και της MgCK2β υπομονάδας.

Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ, 70/4/7803 στην Σ.Κ.) και το Καθολικό Πανεπιστήμιο του Lublin (to A.B.).

TRANSLATIONAL CONTROL IN THE MUSSEL MYTILUS GALLOPROVINCIALIS: THE ROLE OF PROTEIN KINASE CK2

**Eugenia Golegou^a, Andrea Baier^b, Regina-Maria Kolaitis^a, Ryszard Szyska^b and
Sophia Kouyanou-Koutsoukou^a**

^aUniversity of Athens, Faculty of Biology, Dep. of Genetics and Biotechnology,

^bCatholic University of Lublin, Department of Molecular Biology, Lublin, Poland

Marine bivalves like the sea mussel *Mytilus galloprovincialis* are used as biomarkers of marine pollution, as they are able to accumulate in their tissues organic pollutants and heavy metals, resulting in chromosomal damage and alterations in protein synthesis and many other physiological processes. Protein kinase CK2 is a highly conserved Ser/Thr protein kinase involved in cell cycle control, transcription, signal transduction and cell proliferation and is known to be upregulated in several diseases or by oxidative stress. CK2 is generally composed of two catalytic (α and/or α') and two regulatory (β) subunits and seems to be also responsible for the phosphorylation of the ribosomal P-proteins forming the pentameric stalk P0(P1/P2)₂ of the large ribosomal subunit. We have recently cloned and purified the recombinant MgCK2 α and MgCK2 β subunits as well as the Cu/Zn superoxide dismutase (SOD) of *M. galloprovincialis* after expression in *Escherichia coli*. In this report we present the phosphorylation of the regulatory MgCK2 β subunit and the isolated recombinant ribosomal MgP0, MgP1, MgP2 proteins by the catalytic MgCK2 α subunit and the holoenzyme. We also investigated the phosphorylation of purified *M. galloprovincialis* ribosomes by MgCK2. Changes in the enzymatic activity of CK2 α catalytic subunit and the holoenzyme were observed at several temperatures (18°C and 42°C), using as substrate the recMgP1 protein. The influence of MgSOD towards CK2 activity was examined under different assay conditions to estimate the putative mechanism of action. Exposure of mussels at stress conditions (sorbitol, cadmium or cadmium and sorbitol) resulted in increased expression of both MgCK2 α and MgCK2 β subunits.

This work was supported by the University of Athens and the Special Account for Research Grants of Athens University (SARG, 70/4/7803 to SK) as well as by the Catholic University of Lublin (to AB).

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΦΕΡΟΜΟΝΩΝ ΣΕ ΣΤΕΛΕΧΗ ΤΟΥ ΑΙΘΑΝΟΛΟΠΑΡΑΓΩΓΟΥ *Zymomonas mobilis*

Αγνή Δαμουλάκη¹, Αλέξανδρος Β. Τσούπρας², και Κατερίνα Μ. Παππά¹

¹Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας και ²Εργαστήριο Βιοχημείας,
Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη,
Ιλίσια, Αθήνα, ΤΚ 15701

Το *Zymomonas mobilis* είναι α-πρωτεοβακτήριο και θεωρείται υποψήφιος οργανισμός για βιομηχανικής κλίμακας παραγωγή βιοαιθανόλης. Στην παρούσα εργασία, μελετήσαμε την παραγωγή και έκλυση της πλέον κοινής κατηγορίας πρωτεοβακτηριακών φερομονών, των ακυλιωμένων λακτονών ομοσερίνης (AHLs), σε διαφορετικά στελέχη του *Z. mobilis* που ανήκουν στα δύο βασικά υποείδη του οργανισμού, τα subsp. *mobilis* και *pomaceae*. Η παραγωγή AHLs ανιχνεύθηκε με χρωματογραφικές μεθόδους - TLC και HPLC - συζευγμένες με βιοδοκιμασίες, οι οποίες βασίζονταν σε AHL-βιοαισθητήριο στέλεχος του *Agrobacterium tumefaciens* που φέρει ως γονίδιο αναφοράς αυτό της β-γαλακτοσιδάσης (*lacZ*). Στα υπερκείμενα των περισσότερων στελεχών *Z. mobilis* subsp. *mobilis* ανιχνεύθηκαν τουλάχιστον δύο υποψήφια είδη AHLs, ενώ στο *Z. mobilis* subsp. *pomaceae* ATCC 29192 δεν φάνηκε παραγωγή αντίστοιχου σήματος. Κατά την αύξηση του *Z. mobilis* subsp. *mobilis* CP4 (βιομηχανικό στέλεχος), που μελετήθηκε ως επί το πλείστον, η μέγιστη παραγωγή AHLs παρατηρήθηκε σε μικρό παράθυρο χρόνου κατά το τέλος εκθετικής φάσης - αρχή στασιμότητας και μόνο σε πλήρες θρεπτικό υλικό. Επί πλέον, εντοπίστηκε δράση πιθανών AHL-αναστολέων σε δοκιμασίες TLC κατά τη διάρκεια την ανάπτυξης του *Z. mobilis*, η οποία επιβεβαιώθηκε μέσω (i) εφαρμογής ανταγωνιστικών βιοδοκιμασιών παρουσία τίτλου προτύπων, για τον βιοαισθητήρα, AHL ενώσεων, και (ii) ανάλυσης κατ' αντιρροή (απομάκρυνσης μη-πολικών λιπιδίων) στα εκχυλίσματα υπερκειμένων, που οδήγησε σε ενίσχυση του ειδικού σήματος στην TLC. Τέλος, σε γονιδιωματική βάση, πραγματοποιήθηκε *in silico* ανάλυση στα προσφάτως επισημειωμένα (annotated) γονιδιώματα διαφορετικών στελεχών *Z. mobilis*, με σκοπό τον εντοπισμό ομολόγων για τυπικά γονίδια AHL-συνθετασών τύπου-I και ρυθμιστικών γονιδίων τύπου-R ή, εναλλακτικά, για γονίδια που φέρουν δράση AHL-λακτονάσης.

STUDY OF QUORMONE PRODUCTION IN DIFFERENT STRAINS OF THE ETHANOL-PRODUCING *Zymomonas mobilis*

Agni Damoulaki¹, Alexandros B. Tsoupras², Katherine M. Pappas¹

¹Department of Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology and ²Laboratory of Biochemistry, Faculty of Chemistry, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Ilissia, Athens TK 15701

Zymomonas mobilis is an α -proteobacterium currently studied as platform organism for industrial bioethanol production. In the present work, we investigated the production of the most common class of proteobacterial pheromones - acyl-homoserine lactones (AHLs) - in several *Z. mobilis* strains. We also enquired for presence of AHL synthases and cognate regulators in the recently sequenced genomes of the same strains. Production and release of AHLs by *Z. mobilis* strains belonging to the subspecies *mobilis* and *pomaceae* taxa was detected by organic analysis - thin-layer chromatography and high performance liquid chromatography (TLC and HPLC) - coupled to bioassays making use of an *Agrobacterium tumefaciens* AHL-biosensor expressing the β -galactosidase reporter gene (*lacZ*). At least two putative AHL species were detected in supernatant extracts of most *Z. mobilis* subsp. *mobilis* strains, whereas least to no signal appeared to be produced by the *Z. mobilis* subsp. *pomaceae* strain ATCC 29192. Growth-dependent AHL production was also monitored in aerated or standing batch cultures, by reporter strain Miller (β -galactosidase) assays. Peak culture bioactivity was repeatedly observed during a short time-frame at late logarithmic to early stationary phase and in cultures grown in rich medium only. Moreover, a marked AHL-inhibition activity was also noticed in TLC assays during *Z. mobilis* growth, further corroborated (i) via use of antagonistic Miller bioassays that were supplemented with an AHL cognate for the tester and of standard concentration in the reaction mixture, and (ii) via sample treatment involving non-polar lipid removal prior to TLC analysis. Lastly and in a genomic basis, a thorough *in silico* search was conducted in the recently annotated genomes of different *Z. mobilis* strains, in order to trace homologs for typical quorum sensing I-type synthase and R-type regulator genes or, alternatively, for genes bearing AHL lactonase activity.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΟΣΟΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ELISA ΓΙΑ ΤΗΝ
ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ
ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗ α (100-109) ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ**

Δάνα Ε.¹, Σαμαρά Π.¹, Ιωάννου Κ.¹, Καραχάλιον Χ.², Αιβανίου Ε.², Τσιτσιλώνη Ο.¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, ²Ινστιτούτο
Ραδιοϊσοτόπων & Ραδιοδιαγνωστικών Προϊόντων, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

Η προθυμοσίνη α (προΤα) είναι θυμικό πολυπεπτίδιο που εμπλέκεται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την επιβίωση, καθώς και σε φαινόμενα κυτταρομεσολαβητικής ανοσίας. Η ανοσοδραστική της περιοχή είναι το δεκαπεπτίδιο προΤα(100-109). Σκοπός μας ήταν η παραγωγή πολυκλωνικών και μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι του προΤα(100-109) με στόχο την ανάπτυξη ανοσοδοκιμασίας ELISA για την ανίχνευση και ποσοτικοποίησή του σε υπερκείμενα καλλιέργειών και στο πλάσμα του αίματος. Για τα μονοκλωνικά αντισώματα, σπληνοκύτταρα ανοσοποιημένων με προΤα(100-109) ποντικών συντήχθηκαν με τα συγγενικά μυελωματικά κύτταρα NSO και οι θετικές σειρές που προέκυψαν κλωνοποιήθηκαν. Απομονώθηκαν 2 υβριδώματα που παρήγαγαν αντισώματα έναντι του προΤα(100-109). Στη συνέχεια, συλλέχθηκαν υπερκείμενα από τις καλλιέργειες σε διάφορα χρονικά διαστήματα και ελέγχθησαν ως προς την εκκρινόμενη ποσότητα μονοκλωνικού αντισώματος με άμεση ELISA. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι κανένα υβρίδωμα δεν παράγει σταθερά μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του προΤα (100-109). Παράλληλα, παρήχθησαν αντι-προΤα(100-109) πολυκλωνικά αντισώματα μετά από ανοσοποίηση κουνελιού Νέας Ζηλανδίας με το δεκαπεπτίδιο συζευγμένο με KLH. Από τον πολυκλωνικό αντιορό απομονώθηκαν καθαρές IgG με χρωματογραφία πρωτεΐνης G και ελέγχθησαν με ELISA. Τα πολυκλωνικά αντισώματα εμφάνισαν καλό τίτλο και υψηλή ειδικότητα τόσο για την ακέραιη προΤα όσο και το προΤα(100-109). Τα αντισώματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη συστήματος ανταγωνιστικής ELISA, με επίστρωση αβιδίνης και ανταγωνισμό μεταξύ ελεύθερου και βιοτινυλιωμένου προΤα(100-109). Τα πρώτα αποτελέσματα έδειξαν ότι το όριο ανίχνευσης του ελεύθερου προΤα(100-109) είναι περίπου 10 ng/ml. Τα πειράματα συνεχίζονται προκειμένου να αυξηθεί η ευαισθησία της μεθόδου και να γίνει δυνατή η ανίχνευση ακόμα χαμηλότερων συγκεντρώσεων του πεπτιδίου προΤα(100-109) στο πλάσμα του αίματος.

Χρηματοδότηση: IKYDA 2010 (αριθμός σύμβασης 165), NATO Sfp 982838

**DEVELOPMENT OF AN IMMUNOASSAY FOR THE
QUANTIFICATION OF THE IMMUNOREACTIVE PEPTIDE
PROTHYMOSIN α (100-109) IN BIOLOGICAL FLUIDS**

Dhana E.¹, Samara P.¹, Ioannou K.¹, Karachaliou C.², Livaniou E.², Tsitsilonis O.¹

¹Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, ²Institute of Radioisotopes and Radiodiagnostic Products, NCSR «Demokritos»

Prothymosin α (proT α) is a thymic polypeptide involved in cell proliferation and survival, as well as in cell-mediated immunity phenomena. Its immunoreactive region is the decapeptide proT α (100-109). Our aim was the generation of polyclonal and monoclonal antibodies against proT α (100-109) in order to develop an ELISA immunoassay for the identification and quantification of proT α (100-109) in cell culture supernatants and in blood plasma. For the monoclonal antibodies, spleen cells of mice immunized with proT α (100-109), were fused with the syngeneic myeloma cell line NSO and the positive cell lines were cloned. Two hybridomas that produced antibodies against proT α (100-109) were isolated. Subsequently, supernatants from the hybridoma cultures were collected at various time-points and tested for the amount of monoclonal antibody secreted, by direct ELISA. Our results showed that none of the hybridomas was able to stably produce monoclonal antibodies against proT α (100-109). In parallel, anti-proT α (100-109) polyclonal antibodies were produced by immunizing a New Zealand white rabbit with the decapeptide conjugated with KLH. Purified IgG were isolated from the rabbit polyclonal antiserum with protein G chromatography and tested in ELISA. The polyclonal antibodies presented high titer and specificity both for intact proT α and the peptide proT α (100-109). These antibodies were used for the development of a competitive ELISA using avidin for coating and competition between free and biotinylated proT α (100-109). Our preliminary results showed that the detection limit of free proT α (100-109) is around 10 ng/ml. The experiments are still ongoing in order to increase the sensitivity of the method and, thus, detect minimum amounts of proT α (100-109), present in blood plasma.

Funding: IKYDA 2010 (contract number165), NATO SfP 982838

ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΣΤΑΔΙΑ ΕΜΒΡΥΑΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥ ΚΟΥΝΟΥΠΟΦΑΓΟΥ (*Gambusia holbrooki*) ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑ

¹ Δασκαλοπούλου Ε., ² Κουτράκης Μ., ³ Λεονάρδος Ι., ^{1,4} Τσίκληρας Α.

¹Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος, ² Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας-ΕΘΙΑΓΕ, Νέα Πέραμος, Καβάλα, ³Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, ⁴Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη. Email: tsikliras@uth.gr

Ο κουνουποφάγος (νέα κοινή ονομασία σε αντικατάσταση αυτής του 'κουνουπόψαρου') *Gambusia holbrooki* είναι ένα ψάρι που έχει εισαχθεί στα ελληνικά λιμνοποτάμια οικοσυστήματα με σκοπό να ελεγχθούν οι πληθυσμοί των κουνουπιών. Η αναπαραγωγική βιολογία του παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς πρόκειται για ένα από τα δύο ζωοτόκα ψάρια των ελληνικών λιμνών και ποταμών, αλλά το μοναδικό με ευρεία διασπορά. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε το ολικό μήκος σώματος (TL, cm), η γονιμότητα (Fec), το μέγεθος (μήκος εμβρύου, EL, mm και διάμετρος λεκιθικού σάκου, YD, mm) και το στάδιο ανάπτυξης των εμβρύων του κουνουποφάγου. Από τα 1000 άτομα που συνολικά συλλέχθηκαν από τη Λίμνη Παμβώτιδα κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου του είδους (Μάιος 2006), μελετήθηκαν μόνο τα θηλυκά (n=569). Τα εμβρυϊκά στάδια ανάπτυξης προσδιορίστηκαν σύμφωνα με την κλίμακα των 12 σταδίων (Edwards et al., 2010, Sci. Tot. Env. 408: 1569-1576). Το ολικό μήκος των ατόμων που συλλέχθηκαν κυμάνθηκε από 2,1 έως 4,9 cm (μέσο $TL \pm SD = 3,04 \pm 0,599$ cm) και αυτό των θηλυκών που μελετήθηκαν επίσης από 2,1 έως 4,9 cm (μέσο $TL \pm SD = 3,43 \pm 0,508$ cm). Η γονιμότητα σε κάθε θηλυκό κυμάνθηκε από 5 έως 69 έμβρυα (μέση $Fec \pm SD = 30,2 \pm 7,93$). Στα περισσότερα θηλυκά όλα τα έμβρυα βρέθηκαν στο 7^ο, το 8^ο ή το 9^ο στάδιο ανάπτυξης, ενώ σε αρκετά θηλυκά βρέθηκαν έμβρυα σε δύο ή περισσότερα στάδια. Η ταυτόχρονη παρουσία στη λίμνη θηλυκών που κατατάσσονται σε όλα τα στάδια ωρίμασης υποδεικνύει ότι, πιθανώς, ο κουνουποφάγος είναι πολλαπλός αποθέτης. Το μήκος εμβρύου (αναφέρεται στα στάδια ανάπτυξης 8-11) κυμάνθηκε από 2,72 έως 9,09 mm (μέσο $EL \pm SD = 6,55 \pm 1,366$ mm), και η διάμετρος του λεκιθικού σάκου (αναφέρεται στα στάδια 2-10) από 1,03 έως 8,23 mm (μέση $YD \pm SD = 2,35 \pm 0,464$ mm). Τέλος, η γονιμότητα παρουσίασε εκθετική σχέση με το μήκος ψαριού ($Fec = 1,27 TL^{2,4}$, $r^2 = 0,64$).

FECUNDITY AND EMBRYONIC DEVELOPMENT STAGES OF MOSQUITOFISH (*Gambusia holbrooki*) IN LAKE PAMVOTIS

¹ Daskalopoulou E., ² Koutrakis M., ³ Leonardos I., ^{1,4} Tsikliras A.

¹Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly, Volos, ² Fisheries Research Institute-NAGREF, Nea Peramos, Kavala, ³Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, Ioannina ⁴Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki. Email: tsikliras@uth.gr

Mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) has been introduced in the lakes and rivers of Greece as a mosquito population control. Its reproductive biology is particularly interesting because it is one of the two viviparous freshwater fishes in Greece, but the only one widely distributed. The total body length (TL, cm), fecundity (Fec), embryonic size (embryo length, EL, mm and yolk-sac diameter, YD, mm) and embryonic development stages of the female mosquitofish were measured. Out of the 1000 individuals collected from Lake Pamvotis during its reproductive period (May 2006), only the females were considered (n=569). The stages of embryonic development were determined according to the scale of 12 stages (Edwards et al., 2010, Sci. Tot. Env. 408: 1569-1576). Overall, total body length ranged between 2.1 and 4.9 cm (mean TL±SD=3.04±0.599 cm), while that of females also ranged between 2.1 and 4.9 cm (mean TL±SD=3.43±0.508 cm). Fecundity ranged between 5 and 69 embryos (mean Fec±SD=30.2±7.93). In most females, all embryos were assigned at 7th, 8th or 9th developmental stage, but in some of them, embryos were assigned to two or more developmental stages. The simultaneous presence, in the mosquito population of the lake, of females with embryos in all development stages may indicate that mosquitofish is a multiple spawner. Embryo length (refers to development stages 8-11) ranged between 2.72 and 9.09 mm (mean EL±SD=6.55±1.366 mm), and yolk-sac diameter (refers to stages 2-10) from 1.03 to 8.23 mm (mean YD±SD=2.35±0.464 mm). Finally, fecundity was exponentially related to total body length ($Fec=1.27TL^{2.4}$, $r^2=0.64$).

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ ΕΝΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΟΥ
ΕΙΔΟΥΣ *ATRINA FRAGILIS* (BIVALVIA: PINNIDAE) ΣΤΟΝ
ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ**

**Δήμητρα Δασκαλοπούλου, Βασίλειος Κατσαρές, Σοφία Γαληνού – Μητσούδη,
Αναστασία Ιμσιρίδου**

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας
Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Τ.Θ 157, Ν. Μιλτιάδη 1, 63200 Νέα Μουδανιά,
Χαλκιδική. E-mail: mitsakid@hotmail.com

Το δίθυρο *Atrina fragilis* (L., 1767) είναι είδος της οικογένειας Pinnidae και έχει μελετηθεί ελάχιστα. Ζει ανάμεσα σε λειμώνες του φανερόγαμου *Posidonia oceanica*, σε βάθη 25-50 m και σε επίπεδα αλατότητας 30-40‰. Στην παρούσα εργασία συλλέχθηκαν είκοσι άτομα του είδους από την περιοχή του Θερμαϊκού κόλπου. Ακολούθησε εξαγωγή DNA από τον πρόσθιο προσαγωγό μυ, ενίσχυση του μιτοχονδριακού γονιδίου 16S rDNA με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και τέλος ανάλυση πρωτοδιάταξης των ενισχυμένων προϊόντων. Το προϊόν της PCR ήταν περίπου 600 ζεύγη βάσεων ενώ η ακολουθία του γονιδίου που διαβάστηκε με την ανάλυση πρωτοδιάταξης ήταν 519 ζεύγη βάσεων. Βρέθηκαν συνολικά τρεις απλότυποι στα είκοσι άτομα που μελετήθηκαν, οι οποίοι διέφεραν μεταξύ τους σε μία μόνο βάση. Ο απλότυπος H1 βρέθηκε σε δεκαέξι άτομα, ο απλότυπος H2 βρέθηκε σε τρία άτομα και ο απλότυπος H3 παρατηρήθηκε σε ένα άτομο. Οι τιμές της γενετικής απόστασης μεταξύ των απλοτύπων κυμαίνονταν από 0,000–0,004. Η τιμή της απλοτυπικής ποικιλότητας για τον πληθυσμό ήταν $h=0,352$ ενώ αυτή της νουκλεοτιδικής ποικιλότητας βρέθηκε $\pi=0,00071$. Το είδος *A. fragilis* ανήκει στην κατηγορία των απειλούμενων και προστατευόμενων ειδών, κυρίως εξαιτίας της υπεραλίευσης. Η απότομη μείωση του μεγέθους ενός πληθυσμού μπορεί να προκαλέσει σημαντική μείωση του γενετικού πολυμορφισμού του, και η μειωμένη γενετική ποικιλότητα μπορεί να έχει σοβαρές συνέπειες στην επιβίωση και αναπαραγωγή του είδους. Παρόλα αυτά, η μείωση της γενετικής ποικιλότητας στα θαλάσσια ασπόνδυλα εκδηλώνεται κυρίως με την απώλεια σπάνιων απλοτύπων παρά με τη συνολική μείωση της ετεροζυγωτίας σε έναν πληθυσμό. Στον πληθυσμό που μελετήθηκε παρατηρήθηκαν και οι δύο παράμετροι (χαμηλή γενετική ποικιλομορφία, έλλειψη μοναδικών απλοτύπων), γεγονός που δηλώνει την αναγκαιότητα λήψης άμεσων μέτρων διαχείρισης και προστασίας του εν λόγω είδους.

GENETIC STRUCTURE OF AN *ATRINA FRAGILIS* POPULATION (BIVALVIA: PINNIDAE) IN THE THERMAIKOS GULF

Dimitra Daskalopoulou, Vassilios Katsares, Sofia Galinou Mitsoudi, Anastasia Imsiridou

Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Department of
Fisheries and Aquaculture Technology, P.O. Box 157, N. Miltiadi 1, GR-63200 Nea
Moudania, Halkidiki, Greece. E-mail: mitsakid@hotmail.com

The bivalve *Atrina fragilis* (L., 1767) is a species of the family Pinnidae and has been studied very little. It lives together with phanerogam *Posidonia oceanica*, in depths of 25-50 m and in levels of salinity 30-40‰. In the present study twenty individuals of *A. fragilis* were collected from Thermaikos Gulf. DNA extraction was made from the anterior adductor muscle, followed by PCR amplification of the mitochondrial 16S rDNA gene and finally sequencing analysis of the amplified products. The PCR product was roughly 600 base pairs and the gene sequence that was read with the sequencing analysis was 519 base pairs. Three haplotypes were found in total among the twenty individuals studied, which differed from each other in only one nucleotide. Haplotype 1 was found in sixteen individuals, Haplotype 2 was found in three individuals and Haplotype 3 was observed in only one individual. Values of genetic distance among haplotypes ranged from 0.000 to 0.004. The value of haplotype diversity in the population was $h = 0.352$, while the value of nucleotide diversity was estimated $\pi = 0.168$. The species *A. fragilis* belongs to the group of endangered and protected species, mainly because of overfishing. Reduction of population size can cause important reduction of genetic polymorphism, and the decreased genetic diversity can have serious consequences on the survival and reproduction of the species. Nevertheless, in the marine invertebrates reduction of genetic variation is expressed mainly with the loss of rare haplotypes despite with the total reduction of heterozygosity in a population. In the population studied, both of these parameters were observed (low genetic diversity, lack of unique haplotypes) and this result reveals the necessity of direct management and protection measures for the species.

ΣΕΡΠΕΝΤΙΝΙΚΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΣΤΗ ΛΕΣΒΟ: ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΚΟΙΝΟΤΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ *

Παναγιώτης Γ. Δημητρακόπουλος*

Εργ. Διαχ. Βιοποικιλότητας, Τμήμα Περιβάλλοντος, Παν. Αιγαίου, 81100, Μυτιλήνη

Τα σερπεντινικά υποστρώματα αποτελούν περιβάλλοντα έντονων πιέσεων για την ανάπτυξη των φυτικών ειδών, εξαιτίας των υψηλών συγκεντρώσεων μαγνησίου και βαρέων μετάλλων και των μειωμένων συγκεντρώσεων μακροθρεπτικών και ιδιαίτερα ασβεστίου. Στη συγκεκριμένη εργασία που πραγματοποιήθηκε στα σερπεντινικά υποστρώματα της Λέσβου, εστιάσαμε: (α) στην απόκριση των κυρίαρχων φυτικών ειδών των σερπεντινικών περιοχών στις υψηλές εδαφικές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, (β) στην ικανότητα υπερσυσσώρευσης νικελίου από το ενδημικό είδος *Alyssum lesbiacum* και ειδικότερα στην ύπαρξη διαφοροποιήσεων στο συγκεκριμένο χαρακτηριστικό μεταξύ των πληθυσμών του είδους στη Λέσβο, (γ) στην ύπαρξη διαφοροποιήσεων στην ποικιλότητα και σύνθεση ειδών μεταξύ σερπεντινικών και μη-σερπεντινικών κοινοτήτων, ελέγχοντας εάν οι υπάρχουσες διαφοροποιήσεις ερμηνεύονται από παραμέτρους της χημείας του εδάφους και (δ) στις προσαρμοστικές στρατηγικές των φυτών όσον αφορά στη χρήση των θρεπτικών εξετάζοντας την υπόθεση ότι τα είδη από τα σερπεντινικά υποστρώματα τείνουν να έχουν χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν την αποδοτικότερη χρήση των θρεπτικών σε σχέση με τους αντίστοιχους οικότυπους τους από τα μη-σερπεντινικά υποστρώματα. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι: (α) τα κυρίαρχα είδη των σερπεντινικών περιοχών έχουν προσαρμοστεί στις υψηλές εδαφικές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων περιορίζοντας τη μεταφορά αυτών στα υπέργεια τμήματά τους, (β) οι διακριτοί πληθυσμοί του είδους *A. lesbiacum* παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις στην υπερσυσσώρευση νικελίου, (γ) ο εδαφικός παράγοντας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση των σερπεντινικών κοινοτήτων και (δ) τα είδη των σερπεντινικών υποστρωμάτων τείνουν να έχουν χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν την αποδοτική διατήρηση των θρεπτικών και συνεπώς επαληθεύονται οι διαφορετικές στρατηγικές των ειδών όσον αφορά την απόκτηση των πόρων (αποδοτική διατήρηση έναντι ταχείας πρόσληψης) κατά μήκος σερπεντινικών και μη-σερπεντινικών υποστρωμάτων.

*Η εργασία πραγματοποιήθηκε σε συνεργασία με τον Υ.Δ. κ. Γιώργο Αδαμίδη.

SERPENTINE SOILS IN LESVOS ISLAND: PLANT SPECIES RESPONSES AND COMMUNITY LEVEL PROCESSES*

Panayiotis G. Dimitrakopoulos*

*Biodiversity Conservation Laboratory, Dept. of Environment, University of the Aegean,
811 00, Mytilene, Greece, Email: pdimi@env.aegean.gr*

Serpentine substrata present a stressful environment for plant growth. Plants have to face three major challenges in serpentine soils collectively called the “serpentine syndrome”: (1) the low Ca/Mg quotient, (2) nutrient limitation as the major stress of serpentine soils, and (3) elevated heavy metal concentrations. Slow growth rate, low frequency of disturbance, low plant cover, low productivity and late succession conditions are the main characteristics of serpentine vegetation. In this study that was conducted on serpentine substrata in Lesbos island in Greece we focused on: (a) the relationships between serpentine soils and serpentinophilic species in order to test their adaptation to the ‘serpentine syndrome’, (b) the Ni- hyperaccumulation capacity of *Alyssum lesbiacum*, a serpentine endemic, Ni-hyperaccumulating species, recorded over all its distribution, (c) the differences in structure (diversity, composition) between serpentine and its adjacent non-serpentine communities, aiming to determine factors responsible for any significant differences emerging between these contrasting edaphic environments, and (d) species adaptive strategies for nutrient use, testing the hypothesis that species from serpentine soils tend to have traits that allow them to use nutrients more efficiently than species from non-serpentine ones. Our results demonstrated that: (a) serpentinophilic species are adapted to elevated heavy metal soil concentrations by restricting heavy metal concentration in their leaves, (b) different *A. lesbiacum* populations from Lesbos present differences in Ni hyperaccumulation according to soil Ni availability, (c) serpentine communities presented significantly lower species diversity and distinct floristic features relative to the non-serpentine ones explained through differences in their soil elemental composition and pH values, and (d) species from serpentine soils tended to have traits that allow them efficient resource conservation and, therefore, support the contrasting “conservative” and “acquisitive” species strategies across contrasting soil environments.

**This research has been carried out with the PhD student George Adamidis.*

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΑΓΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-2 (IL-2)
ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΤΩΝ MAPKs ΣΕ ΚΑΡΔΙΑΚΟΥΣ
ΜΥΟΒΛΑΣΤΕΣ H9C2**

*Δρακουλιά Α., Λιάπη Ε., Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Κ. και Μπέης Ι.
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιούπολη Ιλίσια, 157 84 Αθήνα*

Το οξειδωτικό στρες και η φλεγμονώδης αντίδραση εμπλέκονται στην παθογένεια πολλών νοσημάτων. Κάτω από αυτές τις συνθήκες κινητοποιούνται διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια ανάμεσα στα οποία περιλαμβάνονται και εκείνα των MAPKs (mitogen-activated protein kinases-ενεργοποιούμενων από μιτογόνα κινασών). Οι MAPKs αποτελούν μια υπεροικογένεια κινασών και συμμετέχουν στην απόκριση των καρδιακών μυοκυττάρων σε εξωκυτταρικά ερεθίσματα. Παίζουν πρωταρχικό ρόλο σε ποικιλία κυτταρικών διεργασιών όπως η κυτταρική διαφοροποίηση, η ανάπτυξη, η επιβίωση και ο θάνατος. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η απόκριση των υποοικογενειών των JNKs και p38-MAPK στην IL-2 σε καρδιακούς μυοβλάστες H9c2. Ανάλυση κατά Western έδειξε ότι οι JNKs όπως και η p38-MAPK ενεργοποιούνται με δοσο- και χρονο- εξαρτώμενο πρότυπο. Συγκεκριμένα, επίδραση IL-2 (18mU/mL) προκάλεσε μέγιστη ενεργοποίησή τους μετά από 5-15 λεπτά. Παρόμοια ήταν και η ενεργοποίηση της p38-MAPK. Μέγιστη ενεργοποίηση των JNKs και p38-MAPK πιστοποιήθηκε επίσης και σε συγκεντρώσεις 18-72mU/mL στα 15 λεπτά επίδρασης. Καθώς προηγούμενες μελέτες έχουν πιστοποιήσει την επαγωγή οξειδωτικού στρες κατά την επίδραση της IL-2, μελετήθηκε η επίδραση του άμεσου οξειδωτικού στρες (αυξανόμενες συγκεντρώσεις H₂O₂) και IL-2 στη βιωσιμότητα των καρδιακών μυοβλαστών με χρήση της μεθόδου MTT. Επίδραση με H₂O₂ 200μM για 24 ώρες προκαλεί μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων κατά 34%, ένα αποτέλεσμα που αναστέλλεται πλήρως παρουσία διαφόρων αντιοξειδωτικών ενώσεων. Αντίθετα, αυξανόμενες συγκεντρώσεις IL-2 δεν επηρεάζουν τη βιωσιμότητα των κυττάρων. Επιπλέον μελέτες πρέπει να διεξαχθούν προκειμένου να αποσαφηνιστούν οι σηματοδοτικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στις παραπάνω αποκρίσεις και ο πιθανός προστατευτικός ρόλος των JNKs ή της p38-MAPK σε αυτές τις συνθήκες.

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από προγράμματα του Ε.Λ.Κ.Ε (ΕΚΠΑ).

STUDY OF INTERLEUKIN-2-INDUCED MAPKS SIGNALING PATHWAYS IN H9C2 CARDIAC MYOBLASTS

Drakoulia A., Liapi E., Aggeli I.K., Gaitanaki C. and Beis I.
*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology,
University of Athens, Panepistimioupolis 157 84 Athens*

Oxidative stress and inflammatory responses are involved in the pathogenesis of numerous diseases. Such conditions trigger the activation of various signaling cascades, including activation of mitogen-activated protein kinases (MAPKs). MAPKs consist a superfamily of protein kinases and mediate cardiac myocytes response to extracellular stimuli. They play a significant role in a plethora of cellular processes such as differentiation, development, survival and death. In the present study, we examined JNKs and p38-MAPK subfamilies response to IL-2 treatment in H9c2 cardiac myoblasts. Immunoblot analysis showed that JNKs as well as p38-MAPK were activated in a dose- and time-dependent manner. In particular, treatment with 18mU/mL of IL-2 maximally activated JNKs after 5-15 minutes. P38-MAPK response was similar. Maximal activation of JNKs and p38-MAPK was detected after treatment for 15 min with IL-2 at 18-72mU/mL. Since previous studies have shown that treatment with IL-2 induces oxidative stress conditions, we next determined the effect of direct oxidative stress (with increasing concentrations of H₂O₂) and IL-2 on H9c2 viability using MTT. Treatment with H₂O₂ (200μM) resulted in a decrease of H9c2 survival rate by 34%, an effect completely reversed in the presence of anti-oxidants. On the contrary, increasing concentrations of IL-2 had no effect on cell viability. Therefore, further studies are required in order to clarify the signaling mechanisms involved in the aforementioned responses and the potential protective role of JNKs or p38-MAPK, under such adverse conditions.

This work was funded by grants from the Special Research Account (University of Athens)

**IN VITRO ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΕΥΠΛΟΕΙΔΟΓΟΝΟΥ
ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ NOCODAZOLE (NOC),
PACLITAXEL (PTX) & GRISEOFULVIN (GF)**

Ζαχαράκη Π., Στεφάνου Γ., Δημόπουλος Ν.Α.
Τμήμα Βιολογίας, E-mail: geosteph@biology.upatras.gr
Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η συγκριτική διερεύνηση της ανευπλοειδογόνου δράσης των αντικαρκινικών φαρμάκων NOC, PTX και του αντιμυκητιακού GF. Κοινό χαρακτηριστικό είναι η πρόσδεση τους στη β-τουμπουλίνη. Ωστόσο, επηρεάζουν τη δυναμική των μιτωτικών μικροσωληνίσκων κατά διαφορετικό τρόπο. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε τρία κυτταρικά συστήματα, σε μυοβλάστες ποντικού C₂C₁₂, σε ινοβλάστες ανθρώπου HFFF2 και σε καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα μαστού ανθρώπου MCF-7. Διερευνήθηκε: α) το φαινόμενο της χρωμοσωματικής καθυστέρησης μέσω ανοσοσήμανσης CREST σε μικροπυρήνες, β) η ακεραιότητα της μιτωτικής συσκευής, μέσω συνδυασμένης ανοσοσήμανσης του κεντροσώματος (Aurora A) και του δικτύου των μικροσωληνίσκων (β-τουμπουλίνη) και γ) η έκφραση των πρωτεϊνών Aurora A, β- και γ-τουμπουλίνης, που συμμετέχουν στο χρωμοσωματικό αποχωρισμό, μέσω της μεθόδου της ανοσοαποτύπωσης. Και οι τρεις ενώσεις επάγουν χρωμοσωματική καθυστέρηση, συσσωρεύουν τα κύτταρα στο στάδιο της μετάφασης και αποδιοργανώνουν το δίκτυο των μικροσωληνίσκων. Επηρεάζουν τον κεντροσωματικό πολλαπλασιασμό δημιουργώντας η μεν NOC μονοπολικές μιτωτικές ατράκτους, το PTX πολυπολικές, ενώ η GF και τους δύο τύπους, αλλά σε συνάρτηση με την κυτταρική σειρά. Επιπλέον, σε συμφωνία με τα προηγούμενα και σε σχέση με τον κυτταρικό τύπο, η NOC μειώνει την έκφραση των πρωτεϊνών Aurora A και β-τουμπουλίνης, ενώ το αντίθετο ισχύει για τις PTX και GF. Ο ρυθμός έκφρασης της γ-τουμπουλίνης δεν επηρεάζεται από τη NOC αλλά ενισχύεται από τις PTX και GF. Φαίνεται λοιπόν, ότι τα επαγόμενα φαινόμενα σχετίζονται τόσο με τον κυτταρικό τύπο, όσο και με την ένωση και πιθανόν να αντανakλούν τη διαφορετική τροποποίηση της δυναμικής των μικροσωληνίσκων. Τα παραπάνω ευρήματα δίνουν νέα στοιχεία ως προς το μηχανισμό της ανευπλοειδογόνου δράσης των ενώσεων NOC, PTX και GF.

**IN VITRO COMPARATIVE STUDY OF THE ANEUGENIC
POTENTIAL OF THE DRUGS NOCODAZOLE (NOC), PACLITAXEL
(PTX) & GRISEOFULVIN (GF)**

Zacharaki P., Stephanou G., Demopoulos N.A.

Department of Biology, E-mail: geosteph@biology.upatras.gr

University of Patras, 265 00 Patras, Greece

The aim of this study was to comparatively investigate the aneugenic activity of three aneugenic agents, two anticancer drugs NOC and PTX, and one antifungal, GF. Besides their common feature consisting to aneugenicity by binding to various sides of β -tubulin, the effect on microtubule dynamics is quite different. The comparison was focused in three issues: a) induction of chromosome delay by estimation of MN frequency using CREST/ α -tubulin double immunofluorescence, b) disturbance of the mitotic spindle's organization with Aurora A/ β -tubulin double immunofluorescence and c) alteration on the expression of Aurora A, β - and γ -tubulin, participating in chromosome segregation, by Western blotting analysis. The comparative study was achieved in three cell lines, C₂C₁₂ mouse myoblasts, HFFF2 human fibroblasts and MCF-7 human breast cancer cells. NOC, PTX and GF, in all cell lines, induced chromosome delay, provoked metaphase arrest and promoted disorganization of microtubule network, reflecting their common characteristic to generate aneuploidy. Particularly, NOC induced mainly monopolar metaphases, though PTX only polypolar metaphases. GF generated different types of abnormal metaphases, exhibiting cell specificity. In addition, NOC decreased levels of Aurora's A and β -tubulin's expression, while the opposite was observed with PTX and GF. The expression of γ -tubulin was not modulated after treatment with NOC, whereas PTX and GF increased levels of protein's expression. Thus, it seems that the generation of different types of abnormal metaphases due to centrosome proliferation effect, as well as the alteration in the expression of proteins regulating chromosome segregation, was dependent on drug and cell type treated. Based on the above, we may say that our findings throw a light on the modulation of the aneugenicity of the studied compounds through centrosome proliferation/separation and protein expression. These may reflect to the binding of drugs on β -tubulin and specifically to their different effect on microtubule dynamics.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΩΝ ΤΗΣ
ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΟΥΣΙΑΣ (MMPs) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΣΤΡΕΣ
ΣΕ ΚΑΡΔΙΑΚΟΥΣ ΜΥΟΒΛΑΣΤΕΣ H9C2**

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

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

Οι Μεταλλοπρωτεάσες της Εξωκυττάριας ουσίας (MMPs) συνιστούν μια οικογένεια ενδοπεπτιδασών ψευδαργύρου με 28 μέλη. Η πρωτεολυτική τους δραστηριότητα επηρεάζει σημαντικές φυσιολογικές κυτταρικές διεργασίες όπως είναι: η εμβρυογένεση, η αγγειογένεση και η μηχανική δραστηριότητα της καρδιάς, αλλά και παθολογικές καταστάσεις (φλεγμονή, αρθρίτιδα). Ειδικότερα, οι MMP-2 και MMP-9 (ζελατινάσες), φαίνεται να σχετίζονται με την εκδήλωση διαφόρων καρδιαγγειακών νοσημάτων, αφού έχει βρεθεί ότι επάγονται σε διάφορες περιπτώσεις όπως π.χ. κατά την ισχαιμία. Έτσι, κρίθηκε σημαντικό να μελετηθεί η απόκριση της MMP-2 σε επίπεδο μεταγραφής αλλά και ενεργότητας του ενζύμου, υπό την επίδραση διαφόρων στρεσογόνων παραγόντων όπως το H_2O_2 (επαγωγή οξειδωτικού στρες) και το $CoCl_2$ (επαγωγή υποξίας) σε H9c2 καρδιακούς μυοβλάστες. Ζυμογραφία υποστρώματος έδειξε ότι το επαγόμενο από H_2O_2 (200 μ M) οξειδωτικό στρες προκαλεί αύξηση της ενεργότητας της MMP-2 με χρονοεξαρτώμενο πρότυπο, που μεγιστοποιείται στις 24 ώρες. Παράλληλα, με RT-PCR βρέθηκε ότι το οξειδωτικό στρες προκαλεί αύξηση και των μεταγράφων του γονιδίου της MMP-2, με χρονοεξαρτώμενο πρότυπο παρόμοιο της ζυμογραφικής ανάλυσης (μέγιστα επίπεδα στις 24 ώρες). Κατά την επίδραση 100 μ M $CoCl_2$ παρατηρήθηκε αύξηση τόσο της ενεργότητας της MMP-2 όσο και των μεταγράφων του γονιδίου από τις 2 ώρες επίδρασης, με μέγιστο στις 4 ώρες και επακόλουθη μείωση των επιπέδων σε μεγαλύτερους χρόνους. Επιπλέον, μελέτη της βιωσιμότητας των καρδιακών μυοβλαστών σε συνθήκες έντονου οξειδωτικού στρες έδειξαν ότι επέρχεται έντονος αποπτωτικός θάνατος μετά από 24 ώρες επίδρασης. Περαιτέρω μελέτες, με τη χρήση ειδικών αναστολέων, θα βοηθήσουν στην αποσαφήνιση των σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στη ρύθμιση της δραστηριότητας των MMPs σε επίπεδο μεταγραφής ή και μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων, κάτω από στρεσογόνες για τους καρδιακούς μυοβλάστες συνθήκες.

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από προγράμματα του Ε.Λ.Κ.Ε (ΕΚΠΑ).

**STUDY OF THE RESPONSES OF MATRIX
METALLOPROTEINASES (MMPS) TO VARIOUS STRESS
CONDITIONS IN H9C2 CARDIAC MYOBLASTS**

Zikaki K, Aggeli I.K., Gaitanaki C. and Beis I.

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology,
University of Athens, Panepistimioupolis 157 84 Athens*

Matrix metalloproteinases (MMPs) comprise a family of zinc-dependent endopeptidases with 28 members. The proteolytic activity of MMPs regulates principal cellular processes including: embryogenesis, angiogenesis and myocardial mechanical activity and also contributes to pathologies such as inflammation and arthritis. MMP-2 and MMP-9 (gelatinases) in particular, have emerged as key mediators in a number of cardiovascular diseases i.e. during ischaemia. Thus, the aim of the present study was the investigation of MMP-2 response after treatment with various stressors like H₂O₂ (inducer of oxidative stress) and CoCl₂ (simulating hypoxia) in H9c2 cardiac myoblasts, at the transcriptional level as well as at the level of its enzymatic activity. Gel zymography revealed that H₂O₂ (200μM) - induced oxidative stress upregulates MMP-2 activity in a time-dependent manner with maximal activation detected after 24 hours. RT-PCR experiments also showed MMP-2 mRNA levels to be induced by oxidative stress in a similar time-dependent way, with maximal values attained after 24 hours. Furthermore, treatment with 100 μM CoCl₂ increased MMP-2 activity and mRNA levels after 2 hours, with the maximal response observed after 4 hours, declining thereafter. In addition, examining cardiac myoblasts viability under severe oxidative stress conditions revealed extensive apoptotic death rates after 24 hours of treatment. Further studies (using selective inhibitors) are required so as to elucidate the signalling pathways implicated in the regulation of MMPs at the transcriptional or post-translational levels, under stressful conditions in cardiac myoblasts.

This work was funded by grants from the Special Research Account (University of Athens)

**IN VIVO ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΗΣ
ΛΙΠΟΦΟΥΣΚΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΩΡΙΜΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗΣ**

**Καλλιόπη Κ. Ηλιάκη¹, Ελένη Ν. Τσακίρη¹, Annika Höhn², Stefanie Grimm², Ισιδώρα
Παπασιδέρη¹, Tilman Grune² & Ιωάννης Π. Τρουγκάκος¹**

¹ Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ζωγράφου, 15784, Αθήνα

² Institute of Nutrition, Department of Nutritional Toxicology, Friedrich Schiller
University Jena, Dornburger Straße 24, 07743 Jena, Germany

Η γήρανση αποτελεί μια φυσιολογική, αναπόφευκτη διαδικασία που συνοδεύεται, μεταξύ των άλλων, από τη συσσώρευση στα κύτταρα τροποποιημένων δυσλειτουργικών πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και λιπιδίων. Μεταξύ των πρωτεϊνικών τροποποιήσεων που σχετίζονται με τη γήρανση περιλαμβάνονται η δημιουργία έντονα οξειδωμένων, αδιάλυτων πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων γνωστών σαν λιποφουσκίνη (lipofuscin), καθώς και η συσσώρευση των ώριμων τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης [advanced glycation end-product(s) (AGE(s))] τα οποία δημιουργούνται μέσω μη-ενζυμικής αντίδρασης αναγωγικών σακχάρων με πρωτεϊνικές αμινο-ομάδες. Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε η *in vivo* επίδραση της χορήγησης απομονωμένων παραγώγων λιποφουσκίνης και AGEs στη μακροβιότητα, στη κινητική ικανότητα και στην ενεργότητα του πρωτεασώματος του εντόμου *Drosophila melanogaster*. Τα προκατακτικά μας ευρήματα έδειξαν ότι τόσο η λιποφουσκίνη όσο και τα AGEs προκαλούν μείωση της μακροβιότητας των εντόμων, μειωμένη κινητικότητα και μείωση της πρωτεασωματικής ενεργότητας. Οι τρέχουσες αναλύσεις μας στοχεύουν στην κατανόηση της μοριακής βάσης των παρατηρήσεων αυτών.

IN VIVO STUDIES OF THE EFFECTS INDUCED IN ORGANISMAL HOMEOSTASIS BY LIPOFUSCIN OR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS

Kalliopi K. Iliaki¹, Eleni N. Tsakiri¹, Annika Höhn², Stefanie Grimm², Issidora S. Papassideri¹, Tilman Grune² & Ioannis P. Trougakos¹

¹ Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou, Athens 15784, Greece

² Institute of Nutrition, Department of Nutritional Toxicology, Friedrich Schiller University Jena, Dornburger Straße 24, 07743 Jena, Germany

Organismal ageing mostly reflects the outcome of complicated interactions between genetic factors along with the accumulation of a variety of deleterious stochastic changes over time. This process relates to a progressive failure of homeostasis that promotes multiple cellular, molecular and biochemical changes including the intracellular accumulation of highly oxidized and cross-linked proteins known as lipofuscin. Moreover, via a non-enzymatic reaction between reducing sugars and amino groups of proteins various glycation products are formed, which gradually become irreversibly cross-linked, fluorescent protein derivatives termed as advanced glycation end-products (AGEs). Reportedly, both lipofuscin and AGEs elicit oxidative stress generation and inflammatory reactions in various cell types. In the present study, we analyzed the *in vivo* effects induced in the organismal homeostasis of the model organism *Drosophila melanogaster* by culturing flies in the presence of either lipofuscin or three different types of AGEs, namely ribose-, glucose- or fructose-AGEs. Our preliminary analyses indicated that exposure of the flies to different concentrations of lipofuscin or the three AGEs assayed decreased both health- and lifespan, induced a reduced climbing activity and suppressed proteasomal activities. Work in progress in our labs aims to clarify the molecular basis of these findings.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΟΧΑΣΤΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Δημήτρης Θάνος

*Κέντρο Μοριακής Βιολογίας, Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Ιδρυμα Ιατροβιολογικών
Ερευνών, Ακαδημία Αθηνών, Σωρανού του Εφεσίου 4, Αθήνα 11527*

Η μεταγραφή των γονιδίων είναι μία στοχαστική διαδικασία επειδή οι πρωτείνες που την ρυθμίζουν βρίσκονται σε σχετικά χαμηλή συγκέντρωση στα κύτταρα. Μικρές διακυμάνσεις στην συγκέντρωση των μεταγραφικών παραγόντων μπορούν να έχουν μεγάλη επίδραση στην έκφραση των γονιδίων στόχων τους. Ένα από τα καλύτερα μοντέλα μελέτης των μηχανισμών στοχαστικής ρύθμισης της μεταγραφής είναι η επαγόμενη από ιικές μολύνσεις μεταγραφή του γονιδίου της ιντερφερόνης-β (IFN-β). Η ενεργοποίηση της IFN-β συμβαίνει σε 2 φάσεις και απαιτεί 3 διαφορετικούς μεταγραφικούς παράγοντες που προσδένονται στον ενισχυτή του γονιδίου μετά την ιική μόλυνση. Κατά την πρώτη φάση και σε μόνο σε ένα μικρό ποσοστό κυττάρων (20%), ο μεταγραφικός παράγοντας NF-kB προσδένεται αρχικά σε 3 γενετικές περιοχές που ονομάζουμε NRCs (NF-kB Reception Centers) και στη συνέχεια μεταφέρεται μέσω δια-χρωμοσωμικών αλληλεπιδράσεων σε ένα μόνο αλληλόμορφο της IFN.β, πυροδοτώντας έτσι την συγκρότηση του μεταγραφικού συμπλόκου και ενεργοποίηση της μεταγραφής μόνο από αυτό το αλληλόμορφο. Η παραγόμενη πρωτεΐνη IFN-β ενισχύει το σήμα της μόλυνσης μέσω της συμμετοχής της στην ενεργοποίηση της μεταγραφής και από τα δύο αλληλόμορφα σε μεγαλύτερο ποσοστό κυττάρων. Χρησιμοποιώντας μικροσυστοιχίες DNA ταυτοποιήσαμε 41 επιπλέον γονίδια τα οποία ρυθμίζονται μέσω των NRCs, με τρόπο παρόμοιο με αυτόν της IFN-β. Δείξαμε ότι κάθε ένα από αυτά τα γονίδια αλληλεπιδρά με τα NRCs και ότι αυτή η αλληλεπίδραση συμβαίνει σε ένα μικρό ποσοστό κυττάρων που εκφράζει αυτά τα γονίδια με στοχαστικό τρόπο. Επιπλέον, ανακαλύψαμε ότι σε κάθε κύτταρο οργανώνονται 2-4 υπερμοριακά συμπλέγματα που περιέχουν NRCs προσέρχονται τα γονίδια για να παραλάβουν τον NF-kB για να εκκινήσει η μεταγραφική τους ενεργοποίηση. Ανάλυση PCR σε μοναδιαία κύτταρα απέδειξε ότι όλα τα γονίδια που ρυθμίζονται από τα NRCs εκφράζονται ταυτόχρονα στο ίδιο κύτταρο με στοχαστικό τρόπο. Συνοπτικά, αυτά τα πειράματα καταδεικνύουν ότι η στοχαστικότητα στην γονιδιακή έκφραση οφείλεται, τουλάχιστον εν μέρει, σε διαχρωμοσωμικές αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε μικρό ποσοστό κυττάρων..

MECHANISMS OF STOCHASTIC GENE EXPRESSION

Dimitris Thanos

*Institute of Molecular Biology, Genetics and Biotechnology, Biomedical Research
Foundation, Academy of Athens, Greece*

Gene transcription is a stochastic process because most of the proteins required to regulate this process exist in small amounts. One of the best characterized examples of stochastic transcriptional activation is the virus infection- induced expression of the human IFN- β gene, playing a key role in mammalian antiviral response. Activation of the IFN- β gene is a biphasic process requiring three distinct sets of transcription factors bound to the enhancer in response to virus infection. During the early phase of virus infection, the limiting transcription factor NF- κ B is captured by 3 defined genetic elements termed NRCs (NF- κ B Reception Centers) in a small percentage of infected cells and subsequently it is delivered via interchromosomal interactions to a single IFN- β allele only, thus triggering enhanceosome assembly and monoallelic gene expression in this allele. The produced IFN- β protein amplifies the infection signal by stimulating expression of the IFN- β gene further from both alleles and in a larger fraction of cells. To identify additional genes activated by NRCs we used DNA microarray technologies and have identified 41 genes affected by NRCs. We performed DNA FISH experiments using probes for NRCs and these genes and showed that NRCs associate with all genes, and this association correlates with stochastic monoallelic expression. Remarkably, we found that each expressing cell organizes 2-4 NRC conglomerates in which many virus induced genes are recruited to receive NF- κ B and initiate monoallelic gene expression. Single cell PCR analysis verified these data by showing that all NRC-regulated genes are expressed simultaneously in the same cell and in a stochastic manner. Taken together, these experiments strongly suggest that stochastic patterns of gene expression are due to interchromosomal interactions in a small proportion of cells.

ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΑ ΠΕΥΚΑ, ΟΙΚΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΔΑΣΙΚΕΣ ΠΥΡΚΑΓΙΕΣ

Κώστας Α. Θάνος

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

Η χαλέπιος (*Pinus halepensis*) και η τραχεία πεύκη (*P. brutia*) είναι τα σπουδαιότερα, τυπικά Μεσογειακά είδη πεύκων της Ελλάδας και συγκροτούν μεγάλες δασικές εκτάσεις που βρίσκονται κάτω από τη συνεχή 'πίεση' της φωτιάς. Τα είδη αυτά είναι υποχρεωτικά σπερματοαναγεννώμενα και η φυσική, μεταπυρική ανάκαμψη των πληθυσμών τους οφείλεται αποκλειστικά στην υπέργεια σπερματική τράπεζα που συσσωρεύεται στους βραδύχωρους (κλειστούς) κώνους. Παρουσιάζονται αναλυτικά οι κυριότεροι οικοφυσιολογικοί χαρακτήρες της αναπαραγωγής: η τριετής περίοδος ωρίμανσης των σπερμάτων, ο προστατευτικός ρόλος των κώνων και ο μηχανισμός ανοίγματός τους, η διπλή στρατηγική διασποράς και η ανεμοχωρία των σπερμάτων, τα οικοφυσιολογικά χαρακτηριστικά της φύτευσης των σπερμάτων, η χρονική εμφάνιση και εγκατάσταση των αρτιβλάστων, η αυξητική δυναμική και επιβίωση των φυταρίων καθώς και η σύντομη διάρκεια της νεανικής περιόδου (χρόνος μετάβασης στην αναπαραγωγική φάση) σε συνδυασμό με την κυμαινόμενη παραγωγή κώνων και τη συσσωρευτική δημιουργία της υπέργειας σπερματικής τράπεζας. Διατυπώνονται και διερευνώνται τα ακόλουθα ερωτήματα: 1. Αποτελούν οι χαρακτήρες αυτοί πραγματικές προσαρμογές έναντι του Μεσογειακού κλίματος (περιλαμβανομένης και της φωτιάς) ή πρόκειται για απλές 'εφαρμογές' (exaptations) προγενέστερων προσαρμογών; 2. Με δεδομένο ότι τα είδη αυτά φαίνεται να ακολουθούν εν πολλοίς τη στρατηγική r, μπορούν να χαρακτηρισθούν ως διαταραχοφιλά (ruderals); Παρουσιάζεται, τέλος, η κατασκευή ενός μοντέλου πρόγνωσης του ελάχιστου χρόνου μεταξύ δύο διαδοχικών πυρκαγιών (διαπυρική περίοδος) που απαιτείται για την πλήρη μεταπυρική ανάκαμψη του πληθυσμού και επιχειρείται η επικύρωση του μοντέλου σε διάφορες περιπτώσεις και στη βάση των διαθέσιμων δεδομένων πεδίου και εργαστηρίου.

MEDITERRANEAN PINES, REPRODUCTIVE ECOPHYSIOLOGY AND FOREST FIRES

Costas A. Thanos

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

Aleppo (*Pinus halepensis*) and East Mediterranean pine (*P. brutia*) are the most important, typical Mediterranean pines of Greece and constitute extended forests that are constantly experiencing wildfire pressure. Both species are obligatory seed regenerators; therefore, the natural, postfire resilience of their populations depends exclusively on the canopy seed bank accumulated within their closed and bradychorous (serotinous) cones. The following, major ecophysiological reproductive traits will be described in detail: the three-year-long seed maturation period, the protective role of cones and the mechanism of their opening, the bet hedging strategy of seed dispersal and the anemochory mode, the ecophysiological characteristics of seed germination, the temporal patterns of seedling emergence and establishment, the sapling survival and growth dynamics as well as the short duration of the juvenile phase (the time required for the vegetative-to-reproductive growth shift) in association with the annually fluctuating cone yield and the accumulative buildup of the canopy seed bank. The following questions are investigated and discussed: 1. Are these observed ecophysiological traits true adaptations towards the Mediterranean climate (including wildfires) or are they solely exaptations to earlier selective pressures? 2. Based on the apparent 'behaviour' of both pines as r-strategists, should they be classified as ruderal plants? Finally, a predictive model is presented; this model can estimate the minimum time between two successive wildfires (interfire period) required for full postfire regeneration of a pine population; furthermore, validation of the model is attempted in several case studies and on the basis of the available, field and laboratory data.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΩΝ
ΥΔΑΤΩΝ ΤΗΣ ΛΕΚΑΝΗΣ ΑΠΟΡΡΟΗΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΣΟΦΑΔΙΤΗ
(Ν. ΚΑΡΑΙΤΣΑΣ) ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΟΔΗΓΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΝΕΡΑ 2000/60/
ΕΚ**

**Θεοφανούδη Αγλαΐα¹, Βούρκα Αικατερίνη¹, Κουγιουντζίδου Κυριακή¹,
Μπρουζιώτης Θεόφιλος², Νικολοπούλου Παρασκευή¹, Κατσιάπη Ματίνα³,
Μουστάκα Μαρία³, Λαζαρίδου Μαρία¹**

**1, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών ΑΠΘ
2 Αναπτυξιακή Καρδίτσας Α.Ε., Τμήμα Περιβάλλοντος**

**3 Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών ΑΠΘ,
e-mail: lazaridou@bio.auth.gr, mmoustaka@bio.auth.gr**

Κύριος στόχος της Οδηγίας - Πλαίσιο για τα Νερά 2000/60/ΕΚ είναι η επίτευξη καλής οικολογικής κατάστασης των υδάτων της Ευρώπης έως το 2015. Στην παρούσα εργασία έγινε μια πρώτη προσέγγιση ως προς την εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας των επιφανειακών υδάτων της λεκάνης απορροής του ποταμού Σοφαδίτη (Ιούνιος 2010) με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές της Οδηγίας 2000/60/ΕΚ. Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες στο ποτάμιο σύστημα της λεκάνης απορροής του Σοφαδίτη και στον Ταμιευτήρα Σμοκόβου με βάση την τυπολογία της περιοχής (Σύστημα Β'). Η οικολογική ποιότητα στο ποτάμιο σύστημα εκτιμήθηκε με βάση τα βενθικά μακροασπονδύλα εφαρμόζοντας το Ελληνικό Σύστημα Αξιολόγησης. Επιπλέον, σε κάθε σταθμό προσδιορίστηκαν οι φυσικές-χημικές παράμετροι και εξετάστηκαν οι υδρομορφολογικές παράμετροι με τη χρήση του δείκτη τροποποίησης ενδιαιτημάτων (Habitat Modification Score). Στην πλειοψηφία τους οι σταθμοί παρουσίασαν οικολογική ποιότητα κάτω της μέτριας. Στον Ταμιευτήρα Σμοκόβου, η οικολογική ποιότητα εκτιμήθηκε με βάση το φυτοπλαγκτό και συγκεκριμένα τις παραμέτρους του βιοόγκου του φυτοπλαγκτού, της ποσοστιαίας συμμετοχής των κυανοβακτηρίων στο συνολικό βιοόγκο και τον τροποποιημένο δείκτη Q. Με συνδυασμό αυτών των παραμέτρων εκτιμήθηκε καλή-μέτρια οικολογική ποιότητα.

**ASSESSING ECOLOGICAL QUALITY OF THE SURFACE WATER
BODIES OF SOFADITIS RIVER BASIN (PERF. KARDITSA)
ACCORDING TO THE WATER FRAMEWORK DIRECTIVE 2000/60/
EC**

Theofanoudi Aglaia¹, Vourka Aikaterini¹, Kougioumtzidou Kiriaki¹, Brouziotis Theofilos², Nikolopoulou Paraskevi¹, Katsiapi Matina³, Moustaka Maria³, Lazaridou Maria¹

1 School of Biology, Department of Zoology, School of Sciences, AUTH

2 Development Agency of Karditsa, Environment Department

3 School of Biology, Department of Ecology, School of Sciences, AUTH

e-mail: lazaridou@bio.auth.gr, mmoustaka@bio.auth.gr

The main objective of the Water Framework Directive 2000/60/EC (WFD) is to achieve good ecological status for all European water bodies by 2015. The present study is a first attempt to assess the ecological quality of the surface water bodies of Sofaditis river basin (June 2010) according to the guidelines of the WFD. Samplings were carried out at the riverine system of Sofaditis river basin and in Smokovou Reservoir based on the typology of the study area (System B'). The ecological water quality of the river was assessed based on the Hellenic Evaluation System using benthic macroinvertebrates. Furthermore, in each sampling station the physical–chemical parameters were measured and the hydromorphological ones were determined using the Habitat Modification Score (HMS). The ecological quality was below moderate in the majority of the sampling sites. In Smokovou Reservoir, the ecological quality was assessed on the basis of phytoplankton by applying the metrics: phytoplankton biovolume, percentage contribution of cyanobacteria to the total biovolume and the modified Q index. The combination of these metrics revealed a good – moderate ecological quality.

**ΔΟΜΙΚΟΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ HDL
ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΝΕΑΡΟΥΣ
ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ
ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ**

*Ανθούλα Κάβο¹, Λουκιανός Ραλλίδης², Stefan Lehr³, Πωλίνα Μποζατζή¹,
Παναγιώτα Τσικριά¹, και Κυριάκος Η Κυπραίος¹*

*¹Τομέας Φαρμακολογίας Πανεπιστήμιο Πατρών; ²Καρδιολογική Μονάδα, Αττικό
Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών; ³Τμήμα Βιοχημείας, Γερμανικό
Διαβητολογικό Κέντρο*

Επιδημιολογικές μελέτες στη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα της HDL στο πλάσμα σχετίζονται άμεσα με προστασία από αθηροσκλήρωση και στεφανιαία νόσο. Ωστόσο πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει πως πέραν της ποσότητας, η ποιότητα και λειτουργικότητα της HDL είναι εξίσου σημαντικές στην σχετιζόμενη με την HDL αθηροπροστασία. Ενώ η μέτρηση των επιπέδων της HDL χοληστερόλης αποτελεί μια εύκολη εργαστηριακή μέτρηση, η εύρεση βιοδεικτών ενδεικτικών της HDL ποιότητας αποτελεί ακόμα αντικείμενο έρευνας. Στην προσπάθεια να μελετήσουμε τα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά της HDL που σχετίζονται με το έμφραγμα του μυοκαρδίου, στην παρούσα μελέτη απομονώσαμε HDL από νεαρούς ασυμπτωματικούς ασθενείς (<35 years) με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (AMI) και συγκρίναμε τις δομικές και λειτουργικές της ιδιότητες της με την αντίστοιχη υγιών εθελοντών (ομάδα αναφοράς). Ανάλυση με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή SDS-πολυακρυλαμίδιου και ανοσοαποτύπωση κατά Western έδειξε ότι η HDL των ασθενών εμφανίζει μειωμένα επίπεδα apoA-I και apoE και αυξημένα επίπεδα apoC-III. Επιπλέον, ανάλυση των πρωτεϊνών της HDL με SELDI-TOFF φασματοσκοπία μάζας μετά από δισδιάστατη ηλεκτροφόρηση, έδειξε ότι η HDL από την ομάδα AMI εμφανίζει μειωμένα επίπεδα apoM και PON1 συγκριτικά με την HDL της ομάδας αναφοράς. Οι δομικές αυτές διαφορές σχετίζονται με αυξημένη οξειδωτική ικανότητα της HDL στην ομάδα AMI η οποία επιβεβαιώθηκε με *in vitro* DPPH δοκιμή. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν πως δομικές αλλαγές στην HDL σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο ενώ εγείρουν την πιθανότητα το κλάσμα [apoC-III] προς [apoA-I] να υποδεικνύει αυξημένο ρίσκο εμφράγματος του μυοκαρδίου σε νεαρούς ασυμπτωματικούς ασθενείς.

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF HDL
PARTICLES ISOLATED FROM YOUNG ASYMPTOMATIC PATIENTS
WHO SUFFERED AN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION**

Anthula E. Kavo¹, Loukianos Rallidis², Stefan Lehr³, Polina Mpozatzi¹, Panagiota Tsikrika¹, and Kyriakos E. Kypreos¹

¹Pharmacology Unit, University of Patras Medical School; ²Cardiology Unit, Attikon Hospital, University of Athens Medical School; ³Department of Biochemistry, German diabetes Center

Epidemiological studies during the past few decades have suggested that plasma HDL levels correlate directly with protection from atherosclerosis and coronary heart disease. More recent studies however have indicated that in addition to its quantity, HDL quality and functionality are also very important parameters in the HDL-associated atheroprotection. Though biochemical determination of HDL cholesterol levels is an easy laboratory measurement, identification of biomarkers indicative of HDL quality is still under investigation. In an attempt to study the structural and functional characteristics of HDL associated with myocardial infarction, in the present study we isolated HDL from young asymptomatic patients (<35 years) who suffered an acute myocardial infarction (AMI) and compared its structural and functional properties to HDL isolated from healthy (control) subjects. Isolation of plasma lipoproteins by ultracentrifugation followed by SDS-PAGE and western blot analysis showed that the HDL of AMI patients had reduced apoA-I and apoE levels and increased apoC-III. In addition, two dimensional electrophoresis followed by SELDI-TOFF mass spectrometry analysis of HDL from the two groups revealed that HDL from the AMI group had reduced levels of apoM and PON1 compared to the HDL of the control group. These structural differences correlated with increased oxidation capacity of the HDL from the AMI group, in an *in vitro* DPPH assay. Our data confirm that structural changes in HDL correlate with increased risk for coronary heart disease and raise the interesting possibility that and increased [apoC-III] over [apoA-I] ratio may indicate increased risk towards acute myocardial infarction in young asymptomatic patients.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΑΜΦΑΙΝΙΚΟΛΗΣ: ΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΑΙΝΙΓΜΑΤΟΣ

Ουρανία Ν. Κωστοπούλου και Δημήτριος Α. Καλπαξής
Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η χλωραμφαινικόλη (CAM), ένα αντιβιοτικό ευρέως φάσματος, δεσμεύεται επί της μεγάλης ριβοσωματικής υπομονάδας των βακτηρίων και παρεμποδίζει θεμελιώδεις λειτουργίες, όπως είναι η σύνθεση του πεπτιδικού δεσμού, η πρόσδεση των tRNA-υποστρωμάτων στην Α-θέση και ο τερματισμός της πεπτιδικής αλυσίδας. Αν και κρυσταλλογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν την πρόσδεση της CAM στο καταλυτικό κέντρο του ριβοσώματος, η κλασσική ανάλυση αποτύπωσης εισηγείται δύο θέσεις πρόσδεσης, μία στο καταλυτικό κέντρο και μία δεύτερη στην είσοδο της σήραγγας εξόδου της πεπτιδικής αλυσίδας. Προηγούμενες κινητικές μελέτες έχουν δείξει ότι η CAM (I) αντι-δρά ταχέως με ένα εναρκτήριο ριβοσωματικό σύμπλοκο (C) και σχηματίζει το ενδιάμεσο CI, που στη συνέχεια ισομερίζεται βραδέως στο τελικό σύμπλοκο C*I. Ωστόσο, η πρόσδεση της CAM στην αρχική και τελική θέση είναι αμοιβαίως αποκλειόμενη, που σημαίνει ότι μόνο ένα μόριο CAM εμπλέκεται στο μηχανισμό της αναστολής της σύνθεσης του πεπτιδικού δεσμού.

Με σκοπό τη διαλεύκανση του μηχανισμού, εφαρμόσαμε την τεχνική της χρονο-διαβαθμισμένης αποτύπωσης, ώστε να αποκομίσουμε πλήρη εικόνα της ολικής πορείας πρόσδεσης της CAM. Παρατηρήσαμε ότι, όταν η CAM προσδένεται στην αρχική θέση (CI), προστατεύει από χημικούς τροποποιητές τα νουκλεοτίδια A2451, G2505 και U2506, που εντοπίζονται γύρω από την Α-θέση του καταλυτικού κέντρου. Το γεγονός αυτό εξηγεί γιατί η CAM συμπεριφέρεται ως συναγωνιστικός αναστολέας. Εγκατάσταση της CAM στην τελική της θέση (C*I) προστατεύει το A2062, που εντοπίζεται μεταξύ του καταλυτικού κέντρου και της εισόδου της σήραγγας εξόδου της πεπτιδικής αλυσίδας. Ταυτόχρονα, η προστασία των G2505 και U2506 εξασθενίζει, ένα νέο αποτύπωμα στο A2059 αναδύεται, ενώ η επιδεκτικότητα του A2058 αυξάνεται. Τα αποτελέσματά μας εισηγούνται μία δύο-βημάτων πρόσδεση της CAM, κατά την οποία αρχικά το αντιβιοτικό δεσμεύεται βαθιά στη σχισμή της Α-θέσης. Στη συνέχεια, στρέφεται βραδέως προς το νουκλεοτίδιο A2062, προκαλώντας σε αυτό διαμορφωτικές αλλαγές. Οι αλλαγές αυτές μεταφέρονται αλλοστερικά στα νουκλεοτίδια A2058 και A2059 που εντοπίζονται στην είσοδο της σήραγγας εξόδου της πεπτιδικής αλυσίδας. Συνεπώς, η ετερογενής αποτύπωση δεν σχετίζεται με δύο θέσεις πρόσδεσης της CAM, αλλά με αλλοστερικά φαινόμενα.

THE MECHANISM OF CHLORAMPHENICOL ACTION: THE SECOND PART OF THE PUZZLE

Ourania N. Kostopoulou and Dimitrios L. Kalpaxis

*Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26504 Patras,
Greece*

Chloramphenicol (CAM) is a broad spectrum antibiotic that inhibits protein synthesis in prokaryotes by binding to the peptidyltransferase region of the large ribosomal subunit and blocking essential ribosomal functions, such as peptide bond formation, binding of tRNA substrates to the A-site, and peptide-chain termination. Although X-ray crystallographic data are compatible with CAM binding to the catalytic center of the ribosome, classical footprinting analysis suggested two binding sites; one placed at the catalytic center and a second one positioned at the entrance of the peptide exit-tunnel. Previous kinetic studies have demonstrated that CAM (I) reacts rapidly with a model initiator ribosomal complex (C) to form an encounter complex CI, which is then isomerized slowly to a tighter final complex C*I. Nevertheless, binding of CAM to the initial and final position is mutually exclusive, which means that only one molecule of CAM is implicated in the mechanism of inhibition of peptide bond formation.

To settle the complicated behavior of CAM binding to ribosomes, we applied a time-resolved chemical probing to achieve a complete picture of the entire course of CAM binding to *Escherichia coli* ribosomes. We observed that CAM bound at the initial position (CI) protects from chemical modification nucleotides A2451, G2505 and U2506, all clustered around the A-site of the catalytic center. This explains the behavior of CAM as competitive inhibitor. Accommodation of CAM at its final position (C*I) causes protection effects on A2062, a nucleotide placed between two hydrophobic crevices; one at the peptidyltransferase center and the other at the entrance of the peptide exit tunnel. Meanwhile, the protections at G2505 and U2506 soften, a new footprint at A2059 is raised, while the reactivity of A2058 is enhanced. Our results suggest a two-step binding of CAM, where initially the drug binds deep in the A-site crevice. Then, CAM slowly reorientates toward A2062, causing conformational changes to this nucleotide. In turn, these changes are allosterically transmitted to nucleotides A2058 and A2059 placed at the entrance of the peptide exit tunnel. Therefore, the footprinting heterogeneity does not correlate with two binding sites of CAM, but with allosteric effects.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ
ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ
ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΕΣ ΤΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΣΩΜΑΤΩΝ (PPAR) ΣΕ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*SPARUS AURATA*, LINNAEUS
1758)**

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

¹ Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

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

Η τσιπούρα αποτελεί ένα από τα πλέον διαδεδομένα εκτρεφόμενα είδη της Ευρωπαϊκής ιχθυοκαλλιέργειας, με τεράστια οικονομική σημασία για την Ελλάδα. Παρόλα αυτά ελάχιστα είναι γνωστά για το ανοσοποιητικό σύστημα του συγκεκριμένου είδους. Παράλληλα, τα τελευταία χρόνια, πολλές έρευνες εστιάζουν στο ρόλο των μεταγραφικών παραγόντων PPAR (υποδοχείς που ενεργοποιούνται από πολλαπλασιαστές των υπεροξειδιοσωμάτων) στο ανοσοποιητικό σύστημα των θηλαστικών. Επίσης ο σχετικά πρόσφατος μοριακός χαρακτηρισμός των τριών ισότυπων PPAR στην τσιπούρα, οδήγησαν στην ανάγκη να διερευνηθεί η εμπλοκή τους στην έμφυτη άνοση απόκριση του συγκεκριμένου είδους.

Ως εκ τούτου, στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε *in vitro* επίδραση με την κυτοκίνη Tumor Necrosis Factor α (TNF α) και τον λιποπολυσακχαρίτη (Lipopolysaccharide, LPS) σε κύτταρα τσιπούρας. Εικοσιτέσσερις ώρες μετά την επίδραση με την κυτοκίνη ή με το LPS προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της Real Time PCR η έκφραση των PPAR, και των PPAR και του TNF α , αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 24 ώρες μετά την επίδραση με τον TNF α , τα επίπεδα των PPAR δε διέφεραν από το μάρτυρα. Αντίθετα η *in vitro* LPS χορήγηση αν και δεν επηρέασε την έκφραση των PPAR α και β , μείωσε την έκφραση του PPAR γ , ενώ αύξησε την έκφραση του TNF α . Έτσι, από την ανάλυση της έκφρασης του PPAR γ σε συνδυασμό με την έκφραση του TNF α προέκυψε ότι ο συγκεκριμένος ισότυπος των PPAR είναι πιθανόν να δρα ως αντι-φλεγμονώδης παράγοντας στην τσιπούρα, όπως άλλωστε έχει δειχθεί και στα θηλαστικά.

**EFFECTS ON THE EXPRESSION OF PEROXISOME
PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTORS (PPARS) AFTER
IMMUNE STIMULATION ON A CELL LINE OF GILTHEAD SEA
BREAM (*SPARUS AURATA*, LINNAEUS 1758)**

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

¹ Department of Zoology, School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki

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

Sea bream is one of the most popular farmed fish in Europe and of great commercial and economical importance particularly in Greece. However, our knowledge regarding the immune system of this species is limited to date. Meanwhile, there is an increased research interest concerning lately the role of PPARs (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) in the immune system of mammals. The relatively recent molecular characterization of PPARs in the gilthead sea bream has led to the need of investigating their implication in the innate immune system of this species.

Therefore, a cell line of the gilthead sea bream was stimulated with known immune factors: the cytokine Tumor Necrosis Factor α (TNF α) or the lipopolysaccharide (LPS). Twenty four hours after the *in vitro* stimulation with TNF α or LPS, the Real Time PCR method was used for the determination of the expression levels of PPARs, and PPARs and TNF α , respectively.

The results of the present study indicated that 24 hours after the *in vitro* stimulation with TNF α the expression levels of PPARs didn't differ compared to control. On the other hand, LPS administration significantly reduced mRNA levels of PPAR γ , although the PPAR α and β expression remained unchanged, whereas the expression levels of TNF α were increased. Thus the expression profile of PPAR γ in combination with TNF α mRNA levels showed that in sea bream this PPAR isotype might act as an anti-inflammatory factor, as it has previously been shown in mammals.

ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΑΡΙΘΜΗΣΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΣΕ ΝΩΠΟΥΣ ΙΧΘΥΕΣ

Κακάσης Σ., Παρλαπάνη Φ. & Ι.Σ. Μποζιάρης

Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών
Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Φυτόκο, 38446 Ν. Ιωνία Βόλος

Σκοπός της εργασίας ήταν ο προσδιορισμός του καταλληλότερου θρεπτικού υλικού γενικής χρήσης για την απαρίθμηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) καθώς και ο έλεγχος της εκλεκτικότητας ορισμένων εκλεκτικών θρεπτικών υλικών που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση-απαρίθμηση συγκεκριμένων ομάδων μικροοργανισμών.

Πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις σε δείγματα ιχθύων τσιπούρας στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής τους μετά από συντήρηση στους 5°C. Καταμετρήθηκαν η OMX σε τρυβλία Plate Count Agar (PCA), PCA με 1,5% αλάτι, PCA με 2,5% αλάτι, Tryptone Soy Agar (TSA), TSA με 1,5% αλάτι, TSA με 2,5% αλάτι, Iron Agar (IA), IA με 1,5% αλάτι, IA με 2,5% αλάτι. Τα εκλεκτικά υλικά που ελέγχθησαν ήταν (α) Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) που χρησιμοποιείται για την απαρίθμηση των Enterobacteriaceae, (γ) CFC Agar (CFC) για *Pseudomonas* sp. (γ) TCBS Agar που χρησιμοποιείται για προσδιορισμό *Vibrio* sp. και δ) Starch Ampicillin Agar (SA), που χρησιμοποιείται για προσδιορισμό *Aeromonas* sp. Ο χαρακτηρισμός των αποικιών έγινε με βιοχημικές δοκιμές.

Το TSA αποτέλεσε στατιστικά το καταλληλότερο θρεπτικό υλικό για την απαρίθμηση της OMX δίνοντας τους υψηλότερους πληθυσμούς. Οι *Pseudomonas* sp. αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό στο CFC αλλά και στο SA. Στο VRBGA σημαντικό ποσοστό ήταν *Pseudomonas* sp. και *Aeromonas* sp. αλλά χωρίς να εμφανίζουν την τυπική αποικία των Enterobacteriaceae. Τέλος, στο TCBS όλα τα βακτήρια που αναπτύχθηκαν ανήκαν στην οικογένεια Enterobacteriaceae.

Συμπεραίνεται ότι το TSA, μπορεί να χρησιμοποιείται για την απαρίθμηση της OMX στα αλιεύματα, αντικαθιστώντας το PCA που χρησιμοποιείται για την OMX στα τρόφιμα σύμφωνα με τα διεθνή Πρότυπα μικροβιολογικής ανάλυσης. Επίσης, είναι αναγκαίο να πραγματοποιείται σε κάθε τρυβλίο δειγματοληπτικά επιβεβαίωση των αποικιών για την ορθή απαρίθμηση συγκεκριμένων ομάδων μικροοργανισμών.

PERFORMANCE AND SELECTIVITY OF MEDIA USED FOR THE ENUMERATION OF BACTERIAL POPULATIONS ON SEAFOOD

Kakasis S., Parlapani F. & I.S. Boziaris

*Dept. of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences,
University of Thessaly, Fitokou street, 38446, N. Ionia, Volos, Greece*

The aim of the present work was the determination of the optimal medium for TVC enumeration and the examination of selectivity of different selective media, which are used for enumeration of various spoilage bacteria in fish and seafood.

Samples of sea bream fish at the end of shelf-life after storage at 5°C, were taken for microbiological analysis. Enumeration of TVC on Plate Count Agar (PCA), PCA supplemented with 1,5% and 2,5% NaCl, Tryptone Soy Agar (TSA), TSA supplemented with 1,5% and 2,5% NaCl, Iron Agar (IA), IA supplemented with 1,5% and 2,5% NaCl were used. The selective media used were (a) Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) for Enterobacteriaceae, (b) CFC Agar (CFC) for *Pseudomonas* sp. (c) Thiosulphate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS) for *Vibrio* sp. and d) Starch Ampicillin Agar (SA), for *Aeromonas* sp. determination. Characterization of selected colonies were carried out using biochemical tests.

The highest TVC population was enumerated on TSA and for this reason was designated as the best medium among the rest for TVC determination. *Pseudomonas* sp. comprised the highest portion of counts on CFC and SA medium. *Pseudomonas* sp. and *Aeromonas* sp. constituted a significant portion of VRBGA medium, however they had different morphological features/attributes in contrast to Enterobacteriaceae. Finally, on TCBS medium only, Enterobacteriaceae were found.

From the media tested, TSA was the optimal medium for TVC enumeration in fish and for this reason might be possible to replace PCA which is used for TVC enumeration, according International Standards regarding microbiological analysis in foods. Additionally, confirmation of randomly selected colonies from selective media should be carried out for the precise enumeration of the specific microbial population.

ΔΑΣΟΣ: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΧΟΛΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΥΠΑΙΘΡΟΥ ΠΟΥ ΑΦΟΡΟΥΝ ΣΤΙΣ ΔΑΣΙΚΕΣ ΦΥΤΟΚΟΙΝΩΝΙΕΣ

Καλαθάκη Μαρία

Kalath04mar@yahoo.gr

Η σημασία των δασών είναι τεράστια και καθοριστική για την επιβίωσή μας στη Γη. Οι κίνδυνοι που τα απειλούν είναι πολλοί και απαιτείται η συμμετοχή όλων μας στον αγώνα για τη διάσωσή τους. Χρειαζόμαστε μεθόδους, τεχνικές και υλικά για ανετότερη και αποτελεσματικότερη μάθηση, για καλλιέργεια αξιών και ανάπτυξη στάσεων και συμπεριφορών φιλικών προς τα δασικά περιβάλλοντα.

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται μια μεθοδολογία Διδακτικής Έρευνας για σχολεία της Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης σχετική με τη μελέτη των δασών, βασισμένη στα πορίσματα του Ευρωπαϊκού προγράμματος Comenius *European Forests Network* και των Προγραμμάτων Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης *Το Δάσος της Μονής Επανωσήφη* και *Το Δάσος της αυλής του Σχολείου μας* που εκπόνησαν τα Λύκεια Σορωνής Ρόδου και Μελεσών Ηρακλείου. Η έρευνα αναπτύσσεται συνήθως σε μια κοντινή προς το σχολείο δασική περιοχή και εστιάζει στη ζωτικότητα των δένδρων, τη βιοποικιλότητα, την επίδραση της ρύπανσης και άλλα πολιτισμικά στοιχεία που σχετίζονται με το δάσος. Πριν την επίσκεψη, απαιτείται ενημέρωση σχετικά με το αντικείμενο, το περιεχόμενο και τη διαδικασία της επίσκεψης. Αναπτύσσονται κατατοπιστικές συζητήσεις και αναζητήσεις πολιτιστικών, κοινωνικών και οικονομικών στοιχείων σε ντόπιους και ειδικούς, στα βιβλία και στο διαδίκτυο. Κατά την επίσκεψη στο πεδίο μελέτης, στο δάσος, αναγνωρίζονται τα είδη της κοινωνίας του, υπολογίζεται το ύψος των δένδρων, μετρείται η αύξησή τους, γίνεται ταξινόμηση των δένδρων σε κλάσεις ανάλογα με την έκταση των απωλειών των φύλλων και των βελονών τους, του τύπου των απωλειών, της χρωματικής διαφοροποίησής, της ζωτικότητας της κορυφής, των επιδράσεων από έντομα, πυρκαγιές κλπ. Αναζητούνται ενδείξεις και στοιχεία ανθρώπινων επεμβάσεων, όπως ρύπανσης, βόσκησης, καλλιεργειών, οικοδόμησης, διάνοιξης δρόμων και γενικά αναπτυξιακών παρεμβάσεων. Τα αποτελέσματα συνθέτονται, συζητούνται και παρουσιάζονται στη σχολική κοινότητα, στην τοπική κοινωνία, στο διαδίκτυο.

FORESTS: DEVELOPMENT OF SCHOOL METHODOLOGY FOR FIELD STUDIES OF THE BOTANICAL WOODLAND

Kalathaki Maria

Kalath04mar@yahoo.gr

The major importance of forests is critical for our survival on planet Earth. Forests are threatened by a lot of dangers and all of us have to contribute in the fight for their survival. Young people have to be more sensitive, educated and activated by accordingly specialized teachers who are going to organize the educational background, decide on methodology, techniques and materials for the easiest and most effective learning, for the production of values, attitudes and friendly behaviors towards forests.

In this project, a methodology of Instructive Research for schools of Secondary Education is presented, related to the study of forests, based on the conclusions of the European Comenius *European Forests Network* and on the Programmes of Environmental Education *The Forest of the Epanosifis Monastery* and *The Grove in our School yard* conducted by the Soroni of Rhodes Lyceum and the Lyceum of Meleses in Heraklion.

The research usually takes place in a forest area close to the school and focuses on the vitality of the trees, the biodiversity, the effects of pollution and other cultural elements related to the forest. Before the visit, a briefing on the subject, the content and the procedure is necessary. There is a lot of informative discussion and research over cultural, social and economical factors with locals and specialists and also in books and the Internet.

During the field trip, in the forest are identified the species of it's bio-community, the height and growth of the trees are calculated, there is the classification of the trees according to the extend of the leaf loss, the kind of loss, colour differentiation, vitality of the tree top, insect and fire effects, etc. The young researchers look for signs and facts of human intervention, such as pollution, grazing, cultivating, building, road construction and developmental intervention in general. The results are recorded, discussed and presented in the school and in the local community and finally in the Internet.

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *PlCoup-TF* ΣΤΟ ΕΜΒΡΥΟ ΤΟΥ ΑΧΙΝΟΥ *Paracentrotus lividus*

Λαμπρινή Καλαμπόκη* και Κωνσταντίνος Ν. Φλυτζάνης
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο 26504

Οι Coup-TFs (Chicken ovalbumin upstream promoter-Transcription Factors) είναι μεταγραφικοί παράγοντες που ανήκουν στην υπεροικογένεια των υποδοχέων των στεροειδών/θυρεοειδών ορμονών. Μελέτες των *Coup-TFs* διαφόρων ειδών έδειξαν ότι πρόκειται για εξαιρετικά συντηρημένα γονίδια που εκφράζονται κυρίως στο νευρικό σύστημα. Οι Coup-TFs παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της οργανογένεσης, της νευρογένεσης και της κυτταρικής διαφοροποίησης κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη των οργανισμών. Στον αχινό *Paracentrotus lividus* το γονίδιο *PlCoup-TF* εκφράζεται σε όλα τα εμβρυϊκά στάδια και στον πλουτέα συγκεκριμένα, στη νευρική στοιβάδα του στοματικού εξωδέρματος. Σε μια σειρά παλαιότερων πειραμάτων, τμήματα της ρυθμιστικής περιοχής του *PlCoup-TF* κλωνοποιήθηκαν ανοδικά του γονιδίου αναφοράς *GFP*, ενέθηκαν σε γονιμοποιημένα αυγά αχινού και μελετήθηκε το πρότυπο έκφρασής τους στο στάδιο του πλουτέα. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι το τμήμα της ανοδικής περιοχής -212 έως -532 (περιοχή α) είναι επαρκές για να κατευθύνει την έκφραση του γονιδίου *PlCoup-TF* στο στοματικό εξώδερμα. Ακολούθως, με μια σειρά ελλειμμάτων και εσωτερικών αφαιρέσεων της περιοχής α, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι συγκεκριμένα στοιχεία απόκρισης στις θέσεις -378, -436 και -450 έχουν πιθανό ρυθμιστικό ρόλο στην έκφραση του γονιδίου *PlCoup-TF*. Πραγματοποιήσαμε EMSAs με τα στοιχεία αυτά χρησιμοποιώντας πυρηνικό εκχύλισμα εμβρυϊκών κυττάρων και παρατηρήσαμε ότι αναγνωρίζονται από μεταγραφικούς παράγοντες. Στοχευμένες μεταλλάξεις των στοιχείων αυτών με αντίστροφη PCR, και μικροενέσεις των αντίστοιχων κατασκευασμάτων σε γονιμοποιημένα αυγά αχινού, έδειξαν ότι επηρεάζουν το ποσοτικό και ιστοειδικό πρότυπο έκφρασης του γονιδίου αναφοράς *GFP* στο στάδιο του πλουτέα. Η σύγκριση των αλληλουχιών των τριών στοιχείων απόκρισης με βάσεις δεδομένων μεταγραφικών παραγόντων, έδειξε ότι οι πιο πιθανοί ρυθμιστές που προσδένουν στα στοιχεία -450, -436 και -378 είναι αντίστοιχα οι Ets, AP1 (Jun/Fra2) και Otx. Απομονώσαμε με RT-PCR και κλωνοποιήσαμε τα cDNAs των παραγόντων *PlJun* και *PlFra2* και μελετήσαμε το αναπτυξιακό πρότυπο έκφρασής τους σε έξι εμβρυϊκά στάδια με *in situ* υβριδοποίηση και qPCR. Οι πρωτεΐνες *PlJun* και *PlFra2* παρασκευάστηκαν με *in vitro* μεταγραφή και μετάφραση και μελετήθηκε η *in vitro* πρόσδεσή τους στο στοιχείο -436 ως ομοδιμερή (Jun/Jun και Fra2/Fra2) και ως ετεροδιμερή (Jun/Fra2).

*Η Λαμπρινή Καλαμπόκη είναι υπότροφος του Ιδρύματος 'Αλέξανδρος Σ. Ωνάσης'

EMBRYONIC REGULATION OF THE *PlCoup-TF* GENE IN THE SEA URCHIN *Paracentrotus lividus*

Lamprini Kalampoki* and Constantin N. Flytzanis

Department of Biology, University of Patras, University Campus, Rio 26504

Coup-TFs are transcription factors, which belong to the steroid-thyroid-retinoic acid receptor superfamily. Studies in a plethora of species have shown that *Coup-TFs* are extremely conserved genes, preferentially expressed in the developing nervous system. They play an important role in organogenesis, neurogenesis and cellular differentiation in embryonic development. The sea urchin *PlCoup-TF* is expressed at all stages of embryonic development and at the pluteus stage in particular, its expression is restricted in the neurogenic cell layer of the oral ectoderm. In previous experiments, various fragments of the *PlCoup-TF* regulatory region were cloned upstream of the reference gene *GFP*, microinjected into fertilized sea urchin eggs and determined the pattern of *GFP* expression at the pluteus stage. The results of these experiments confirmed that fragment a (-212 to -532) is sufficient to direct the expression of the reference gene in the oral ectoderm. Upstream and internal deletions into fragment a, indicated that three response elements at positions -378, -436 and -450 may have a possible regulatory role in the expression of the *PlCoup-TF* gene. EMSA experiments, with embryonic nuclear extracts, showed that DNA binding proteins specifically recognize these response elements. Site directed mutagenesis of the three response elements with inverse PCR and microinjection of the resulting constructs into sea urchin eggs, revealed that they play a role in the quantitative and tissue specific expression of the reference *GFP* gene at the pluteus stage. Sequence comparison of these elements with a transcription factor database showed that the probable regulatory proteins that bind to the sites -450, -436 and -378 are the Ets, AP1 (Jun/Fra2) and Otx respectively. We isolated with RT-PCR and cloned the *PlJun* and *PlFra2* cDNAs and studied the developmental pattern of their embryonic expression with *in situ* hybridization and real time qPCR. The transcription factors *PlJun* and *PlFra2* were prepared by *in vitro* transcription and translation and their *in vitro* binding to the -436 response element, either as homodimers (Jun/Jun and Fra2/Fra2) or heterodimers (Jun/Fra2), was analyzed by EMSA experiments.

*Lamprini Kalampoki is a fellow of the 'Alexander S. Onassis' foundation

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΩΝ ΜΕ G-ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (GPCRs) ΜΕ Gα-ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Καλντρεμτζίου Μ¹, Θεοδωροπούλου Μ.Κ.¹, Μπάγκος Π.Γ.² και Χαμόδρακας Σ.Ι.²

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 15701, Ελλάδα, ²Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, Λαμία 35 100

Η κυτταρική σηματοδότηση παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της επικοινωνίας του κυττάρου με το περιβάλλον του και στην απόκρισή του στα μηνύματα που λαμβάνει για να εξασφαλίσει την εύρυθμη λειτουργία του. Δυσλειτουργίες που οδηγούν σε συνεχή μεταβίβαση σήματος ή μη μεταβίβαση σήματος, μπορεί να προκαλέσουν διάφορες παθολογικές καταστάσεις και έλλειψη της ικανότητας ρύθμισης της ομοιόστασης από το κύτταρο. Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) αποτελούν τους πιο σημαντικούς, πολυποίκιλους και πολυπληθείς διαμεμβρανικούς υποδοχείς των ευκαρυωτικών οργανισμών. Βασικό τους γνώρισμα αποτελεί η σύνδεσή τους με σφαιρικές υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες, τις G-πρωτεΐνες (Guanine nucleotide binding proteins). Η εξειδίκευση της αλληλεπίδρασης ενός GPCR με το ετεροτρίμερές της G-πρωτεΐνης καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από την συγγενειά του για ορισμένες περιοχές της Gα υπομονάδας. Το PRED-COUPLE2, είναι ένα εξαιρετικά καλό εργαλείο, που προβλέπει την εξειδίκευση της σύζευξης των GPCRs με τις Gα-πρωτεΐνες, χρησιμοποιώντας ως είσοδο την ακολουθία του GPCR. Η πρόβλεψη βασίζεται σε μέρη της ακολουθίας του GPCR υπεύθυνα για την ειδικότητα της αλληλεπίδρασης με την Gα-πρωτεΐνη. Στόχος μας είναι να δίνουμε ως είσοδο την ακολουθία του GPCR και την ακολουθία της Gα-πρωτεΐνης ώστε να χρησιμοποιεί πληροφορία και από τις περιοχές αλληλεπίδρασής της με τον GPCR, βελτιώνοντας με αυτό τον τρόπο την απόδοση του υπάρχοντος εργαλείου πρόγνωσης και σηματοδοτώντας ένα νέο τρόπο αναγνώρισης της δυνατότητας αλληλεπίδρασης δύο πρωτεϊνών χρησιμοποιώντας απλά τις ακολουθίες τους. Προς αυτή την κατεύθυνση χρησιμοποιούνται δεδομένα της Uniprot-SwissProt και της gpDB και συνδυασμός Hidden Markov Models και Τεχνητών Νευρωνικών Δικτύων. Οι πρώτες δοκιμές έχουν δώσει υψηλά ποσοστά επιτυχίας, αλλά θα διεξαχθούν επιπλέον δοκιμές σε μεγαλύτερα σύνολα δεδομένων για βέλτιστη απόδοση.

STUDIES OF THE INTERACTION OF GPCRs WITH G α -PROTEINS

Kalntremtziou M.¹, Theodoropoulou M.C.¹, Bagos P.G.² & Hamodrakas S.J.¹

¹Department of Cell Biology & Biophysics

Faculty of Biology University of Athens, Athens 157 01, Greece,

²Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Central Greece, Lamia 35 100

Signal transduction plays a critical role in the regulation of the cell's communication with its outer environment and its response to extracellular stimuli. Misfunction leading to continuous signal transduction or no signal transfer may create various pathological phenotypes and lack of the ability for homeostasis regulation. G-protein coupled receptors (GPCRs) comprise a very important, diverse and large group of receptors in eukaryotic organisms. Their basic feature is their interaction with globular G-proteins (Guanine nucleotide binding proteins). The specificity of the interaction of the GPCR with the heterotrimer depends mainly on the receptor's affinity with specific regions of the G α -subunit. PRED-COUPLE2, developed in our lab, is a very successful tool that predicts the coupling specificity of GPCRs to G-proteins, utilizing as input the GPCR's sequence alone. The prediction is based on parts of the receptor's sequence responsible for the specificity of the interaction with the G α -protein. Our goal is to provide as input the GPCR's and the G α -protein's sequence in order for the tool to use for the prediction additional information from the G α -protein's interacting sites with the GPCR, improving that way the performance of the existing tool and starting a novel way of recognizing protein-protein interactions, utilizing only their sequences. Towards this direction we have used data from Uniprot-SwissProt and gpDB, a database of GPCRs and interacting G-proteins, developed also in our lab, and a combination of Hidden Markov Models (HMMs) and Artificial Neural Networks (ANNs). The first attempts show satisfactory performance, but more trials will be conducted to larger data sets for optimum performance.

ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ PCR-RFLP ΣΤΟΝ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *MENTHA*

Καμηνιώτη Α., Δρούζας Α., Κοκκίνη Σ.

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής,
Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ. 104, 54124,
Θεσσαλονίκη

E-mail: akaminio@bio.auth.gr, drouzas@bio.auth.gr, kokkini@bio.auth.gr

Το γένος *Mentha* ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae και περιλαμβάνει είδη που χαρακτηρίζονται από μεγάλη μορφολογική και χημική (αιθέρια έλαια) ποικιλότητα. Το γεγονός αυτό και η συχνή παρουσία στους φυσικούς πληθυσμούς διειδικών υβριδίων καθιστούν εξαιρετικά δύσκολο τον ταξινομικό προσδιορισμό των μελών του γένους. Εξ αιτίας του μεγάλου οικονομικού ενδιαφέροντος των αιθερίων ελαίων τους (συστατικά τροφίμων, ποτών, φαρμάκων και «πράσινων» χημικών), τα φυτά του γένους *Mentha* καλλιεργούνται σε μεγάλη κλίμακα στις ΗΠΑ, την Ινδία και την Κίνα. Στην Ελλάδα είναι πολύ συχνή η παρουσία αυτοφυών φυτών πολυετών ειδών του γένους που σχηματίζουν εκτεταμένους πληθυσμούς σε εδάφη με αυξημένα επίπεδα υγρασίας. Στην παρούσα εργασία συλλέχθηκαν 43 φυτικά δείγματα από αυτοφυείς πληθυσμούς του γένους *Mentha* σε οκτώ διαφορετικές περιοχές της Θεσσαλίας και της Δ. Μακεδονίας. Ο ταξινομικός τους προσδιορισμός έδειξε ότι ανήκουν σε τέσσερα διαφορετικά είδη τα *Mentha aquatica*, *M. longifolia*, *M. pulegium* και *M. spicata*. Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκαν οι δείκτες PCR-RFLP και μελετήθηκαν τρεις περιοχές του cpDNA με δύο περιοριστικά ένζυμα ανά περιοχή (έξι συνδυασμοί). Εντοπίστηκαν συνολικά 12 διαφορετικοί απλότυποι, οι τέσσερις από τους οποίους σε περισσότερα του ενός είδη και οι οκτώ σε ένα μόνο είδος (χαρακτηριστικοί είδους). Η ύπαρξη πολλών διαφορετικών απλοτύπων υποδεικνύει μεγάλη γενετική ποικιλότητα των ειδών του γένους *Mentha* που αυτοφύονται στην Ελλάδα. Η παρουσία ενός από τους πέντε χαρακτηριστικούς απλότυπους της *M. spicata* και ενός από τους δύο της *M. aquatica* σε μία μόνο από τις οκτώ περιοχές δειγματοληψίας αποτελεί ένδειξη γεωγραφικής διαφοροποίησης των δύο ειδών. Οι χαρακτηριστικοί απλότυποι που εντοπίστηκαν αποτελούν μοριακούς δείκτες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στον ταξινομικό προσδιορισμό των ειδών (species-specific) του γένους *Mentha*.

**USE OF PCR-RFLP AS MOLECULAR MARKERS IN THE
TAXONOMIC IDENTIFICATION OF SPECIES IN THE GENUS
*MENTHA***

Kaminioti A., Drouzas A., Kokkini S.

Laboratory of Systematic Botany & Phytogeography, Department of Botany, School of
Biology, Aristotle University of Thessaloniki, P.O. 104, 54124 Thessaloniki
E-mail: akaminio@bio.auth.gr, drouzas@bio.auth.gr, kokkini@bio.auth.gr

The genus *Mentha* belongs to the Lamiaceae family and includes species that are characterized by great morphological and chemical (essential oils) diversity. Both this fact and the frequent presence of interspecific hybrids in natural populations make the taxonomic identification of the members of the genus extremely difficult. Due to the high economic importance of their essential oil (food ingredients, beverages, pharmaceuticals and "green» chemicals), plants of the genus *Mentha* are cultivated on a large scale in the U.S.A., India and China. In Greece, wild growing *Mentha* plants, members of different perennial species, form very often extensive populations in high-water-content soils. In the present work 43 plant samples, from of natural *Mentha* populations, were collected from eight different areas in Thessaly and Western Macedonia (Greece). Their taxonomic identification, based on their morphological features, revealed that they belong to four different species: *Mentha aquatica*, *M. longifolia*, *M. pulegium* and *M. spicata*. Then, PCR-RFLP molecular markers were used and three regions of cpDNA were digested with two restriction enzymes per region (six combinations). A total of 12 different haplotypes were identified: four of them existed in more than one species while eight were present in one species only (species-specific). The existence of many different haplotypes indicates the high genetic diversity of *Mentha* species grown wild in Greece. The occurrence of one of the five species-specific haplotypes of *M. spicata* and one of the two of *M. aquatica* in one of the eight sampling areas suggests the geographical differentiation of both species. The identified species-specific haplotypes are molecular markers that may be used in the taxonomic identification of *Mentha* species.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΤΑ ΔΥΟ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ
ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ tRNAs ΛΕΥΚΙΝΗΣ, ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ
ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΚΑΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ**

**Ι. Καμπούρης¹, Π. Χαλυβοπούλου¹, Μ. Τερζενίδου¹, Σ. Πουρνάρας², Γ.
Χατζηγεωργίου², Ζ. Μαμούρης¹ και Α. Ζίφα¹**

¹Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, και ²Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 41221 Λάρισα

Το mtDNA είναι ευάλωτο στη συσσώρευση σημειακών μεταλλάξεων, που είτε δεν έχουν φαινοτυπικές επιπτώσεις είτε εμπλέκονται στην εμφάνιση θανατηφόρων νοσημάτων όπως MELAS και LHON και νευροεκφυλιστικών νοσημάτων όπως Alzheimer disease (AD), διαβήτης, άσθμα. Οι περισσότερες μεταλλάξεις που εμπλέκονται σε αυτά τα νοσήματα βρίσκονται σε γονίδια με ρυθμιστικό ρόλο όπως τα γονίδια των tRNAs (ποσοστό μεταλλάξεων περίπου 50%). Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν τα δύο ομόλογα γονίδια που κωδικοποιούν για το tRNA της λευκίνης (Leu), tRNA^{Leu(UUR)} ή MT- TL1 και tRNA^{Leu(CUN)} ή MT- TL2, ως προς τον πολυμορφισμό τους σε δείγματα από άτομα με φυσιολογικό φαινότυπο (ομάδα ελέγχου) και σε δείγματα από άτομα που πάσχουν από διαβήτη, AD και άσθμα. Η μελέτη έγινε με τις μεθόδους PCR, SSCP και αλληλούχιση στις οποίες εξετάστηκαν και για τα δύο γονίδια 174 δείγματα από την ομάδα ελέγχου, 102 ασθενείς με διαβήτη, 25 με άσθμα και 175 με AD (ομάδα ελέγχου AD: 50 άτομα). Στους ασθενείς με διαβήτη στο γονίδιο MT- TL1 δεν βρέθηκαν μεταλλάξεις σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Στο MT- TL2 η μετάλλαξη που βρέθηκε ήταν η A12308G. Συγκεκριμένα εμφανίστηκε σε 3/50 στην ομάδα ελέγχου (6%), 11/102 στους διαβητικούς (21,5%, OR=1,7), 6/25 σε ασθενείς με άσθμα (24%, OR=4) και 26/175 σε αυτούς με AD (14,8%, OR=2,4). Το ποσοστό των συγκεκριμένων μεταλλάξεων στο MT- TL2 στους ασθενείς ήταν μεγαλύτερο από ότι στην ομάδα ελέγχου. Το UUR κωδικόνιο χρησιμοποιείται πιο σπάνια από το CUN στη μετάφραση. Συνεπώς, οι μεταλλάξεις στο MT- TL1 εμφανίζονται λιγότερο συχνά και πιθανόν να είναι πιο σπάνιες και θανατηφόρες σε σχέση με αυτές στο MT- TL2 που εντοπίζονται συχνότερα. Από τα αυξημένα ποσοστά της μετάλλαξης στο MT- TL2 φαίνεται να υπάρχει μια προδιάθεση για τις τρεις ασθένειες, παρ' όλο που ο διαχωρισμός των ασθενών σε κάποια απλοομάδα δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί.

**MUTATION ANALYSIS ON THE TWO MITOCHONDRIAL GENES
THAT ENCODE tRNA LEUKINE, ON NORMAL POPULATION AND
ON VARIOUS PATHOLOGICAL STATES**

**Kambouris I. ¹, Chalyvopoulou P. ¹, Terzenidou M. ¹, Pournaras S. ², Hatzigeorgiou
G. ², Mamuris Z. ¹ and Zifa A. ¹**

¹ Department of Biochemistry and Biotechnology and ² Department of Medicine
University of Thessaly, 41221 Larissa

The development of mitochondrial genetics has shown that mtDNA is susceptible on the accumulation of point mutations, which either have no phenotypical impact or are involved in the presence of lethal diseases MELAS and LHON and neurogenerative diseases like Alzheimer disease(AD), diabetes, asthma. Most mutations involved with these diseases are located in genes which play regulatory part on the protein production, such as tRNA genes, on which the mutation percentage is approximately 50%. In this study the two homolog genes that encode for the Leukine tRNA, tRNA^{Leu(UUR)} or MT- TL1 and tRNA^{Leu(CUN)} or MT- TL2, were examined for their polymorphism on samples from persons with normal phenotype(control group) and on samples from persons that suffer from diabetes, Alzheimer disease(AD) and asthma. The methods used in this study are PCR, SSCP and sequencing and were studied 174 samples from the control, 102 patients with diabetes, 25 with asthma and 175 with AD(AD control group: 50). On patients with diabetes no mutations on MT- TL1 gene were found compared with the control group. On MT- TL2 gene the mutation found was A12308G. In particular, this mutation occurred in 3/50 in the control group (6%), 11/102 in the diabetic population (21,5%, OR=1,7), 6/25 in patients with asthma(24%, OR=4) and 26/175 in those with AD (14,8%, OR=2,4). The percentage of those mutations in MT- TL2 in patients was higher than in the control group. The UUR codon is used more rarely than CUN in translation. Thus, the mutations in MT- TL1 occur less frequently and are possible to be more rare and lethal in contrast to the MT- TL2 mutations that occur more often. From the increased rates of mutations in MT- TL2 seems to be a predisposition for the three diseases, although the segregation of the patients in a haplogroup cannot be made.

ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ DNA ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ X

*Καραγιαννίδου Θεοδώρα, Παπουτσής Δημήτριος, Τούλης Βασίλειος,
Κουβάτση Αναστασία*

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για τη μελέτη του φυλετικού χρωμοσώματος X, το οποίο παρουσιάζει ιδιαίτερα γενετικά χαρακτηριστικά. Το χρωμόσωμα X κληρονομείται ανάλογα με το φύλο, παρουσιάζει μικρότερη γενετική ποικιλομορφία, μεγαλύτερες τιμές ανισορροπίας σύνδεσης. Στην παρούσα ανακοίνωση δίνονται τα προκαταρκτικά αποτελέσματα ανάλυσης δεικτών STRs του χρωμοσώματος X. Συγκεκριμένα αναλύθηκαν 116 (40 γυναίκες, 76 άνδρες) μη συγγενικά άτομα του ελληνικού πληθυσμού (με καταγωγή για τρεις γενιές τουλάχιστον από την ίδια περιοχή) για 5 μικροδουρυφορικούς δείκτες του χρωμοσώματος X, τους δείκτες: DXS8378, DXS7132, DXS7133, GATA172D05 και HPRTB. Η ανάλυση έγινε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης και ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης με χρώση νιτρικού αργύρου. Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλα στατιστικά πακέτα. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων υπολογίστηκαν χωριστά στο δείγμα των ανδρών και των γυναικών του πληθυσμού. Ο αριθμός των αλληλομόρφων που ανιχνεύτηκαν ανά γενετικό δείκτη είναι έξι (DXS8378), επτά (DXS7132), πέντε (DXS7133), έξι (GATA172D05) και οκτώ (HPRTB). Το δείγμα των θηλυκών ατόμων του πληθυσμού βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg για όλους τους γενετικούς δείκτες που μελετήθηκαν. Ο βαθμός ετεροζυγωτίας στο δείγμα των γυναικών κυμαίνεται από 0,625 έως 0,850. Ο δείκτης με τις μεγαλύτερες τιμές βαθμού περιεχόμενης πληροφορίας πολυμορφισμού (PIC) και διακριτικής ικανότητας (PD) είναι ο GATA172D05, ενώ εκείνος με τις μικρότερες τιμές είναι ο DXS8378. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων συγκρίθηκαν με εκείνες άλλων ευρωπαϊκών πληθυσμών. Η μελέτη θα συνεχιστεί δεδομένου ότι η ανάλυση δεικτών του χρωμοσώματος X θα συμπληρώσει τα δεδομένα της γενετικής ανάλυσης των πληθυσμών και θα βοηθήσει σε ειδικές περιπτώσεις στην ιατροδικαστική διερεύνηση σχέσεων συγγένειας στους συγκεκριμένους πληθυσμούς.

POPULATION DATA OF X-CHROMOSOME MICROSATELLITE LOCI

***Karagiannidou Theodora, Papoutsis Dimitrios, Toulis Vasileios, Kouvatsi
Anastasia***

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

The X chromosome has grown to be the object of wide research within the fields of population genetics and forensics in recent years due to some distinctive features, as the way it is inherited, its low diversity, its long linkage disequilibrium intervals. This presentation refers to the preliminary results of the analysis of X-Chromosome STRs. Specifically 116 (40 female, 76 male) unrelated individuals of the Greek population (originated from the same geographical region for at least three generations) were analyzed for 5 X-Chromosome STRs: DXS8378, DXS7132, DXS7133, GATA172D05 and HPRTB. The allele identification was done by PCR analysis followed by polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining. The appropriate statistical packages were used for the analysis of the results. The allele frequencies were calculated separately for the male and female groups. The number of alleles detected per locus is six (DXS8378), seven (DXS7132), five (DXS7133), six (GATA172D05) and eight (HPRTB). The female group of the population is found to be in Hardy-Weinberg equilibrium for all the tested loci. The observed degree of heterozygosity in the female group ranges from 0.625 to 0.850. The locus with the highest values of polymorphism information content (PIC) and power of discrimination (PD) is the GATA172D05, while that with the lowest values is the DXS8378. The calculated allele frequencies were compared with those from other European populations. Much work is needed since the X-Chromosome markers could contribute to the analysis of the human populations and help in the forensic investigation of kinship relationships.

ΕΝΑ ΕΠΤΑΠΕΠΤΙΔΙΟ ΠΙΘΑΝΟΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΕΝΗΣ ΚΑΘΟΡΙΣΤΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΟΛΠΙΚΗ ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΣΗ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ

Καραμολέγκου, Μ.Η, Οικονομίδου, Β.Α και Χαμόδρακας Σ.Ι

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

Το ANP (Atrial Natriuretic Peptide), είναι μια νατριουρητική ορμόνη, η οποία, κυρίως, εκκρίνεται και αποθηκεύεται στους κόλπους της καρδιάς, με βασικό ρόλο τη διατήρηση της καρδιαγγειακής ομοιόστασης. Το αρχικό στάδιο για την έκκριση του ANP είναι η τάνυση των κολπικών τοιχωμάτων της καρδιάς, και ακολουθεί η διάχυση του σε διάφορα όργανα στόχους, μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Το ANP παράγεται, αρχικά, ως προ-προ-ορμόνη (pre-proANP), το μήκος της οποίας στον άνθρωπο είναι 151 κατάλοιπα, από την οποία, με διαδικασίες ωρίμανσης, αποκόπτεται το πεπτίδιο οδηγητής, και με τη δράση της πεπτιδάσης κορίνης, διαχωρίζεται το ώριμο ANP, που είναι ένα πεπτίδιο 28 αμινοξικών καταλοίπων, από το NT-proANP, μήκους 98 αμινοξικών καταλοίπων. Η παρατεταμένη τάνυση των κολπικών τοιχωμάτων οδηγεί σε αυξημένη έκκριση του ώριμου ANP και του NT-proANP στους κόλπους της καρδιάς τα οποία μαζί με το BNP (που είναι μια συγγενική με το ANP νατριουρητική ορμόνη) και του NT-proBNP, εντοπίζονται στα αμυλοειδή ινίδια της αμυλοείδωσης των κόλπων της καρδιάς (Isolated Atrial Amyloidosis). Με την βοήθεια του διαδικτυακού μας εργαλείου AMYLPRED, που είναι μια συναινετική μέθοδος πρόγνωσης της ‘αμυλοειδογενούς προδιάθεσης’ πρωτεϊνικών μορίων, προβλέφθηκε στο proANP ένα πεπτίδιο που φαίνεται να είναι πιθανός ‘αμυλοειδογενής καθοριστής’. Ο βασικός μας στόχος ήταν να εξετάσουμε κατά πόσο αυτός ο πιθανός ‘αμυλοειδογενής καθοριστής’ αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τον σχηματισμό ινιδίων στους κόλπους της καρδιάς. Μετά την σύνθεση του προβλεπόμενου πεπτιδίου, έγιναν πειράματα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Διέλευσης, Περίθλασης Ακτίνων-X, Φασματοσκοπίας ATR FT-IR και Πολωτικής Μικροσκοπίας. Τα πειράματα αυτά μας οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι το πεπτίδιο δημιουργεί αμυλοειδή ινίδια και είναι πιθανότατα συνυπεύθυνο για την εκδήλωση της κολπικής αμυλοείδωσης της καρδιάς (IAA).

A POSSIBLE AMYLOIDOGENIC DETERMINANT IN N-TERMINAL-PRO ATRIAL NATRIURETIC PEPTIDE

Karamolegkou M.I., Iconomidou V.A., Hamodrakas S.J.
*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology,
University of Athens, Athens 157 01*

ANP (atrial natriuretic peptide) was the first cardiac hormone, which was identified in 1981. This hormone is mainly expressed in the atria of the heart. Human pre-proANP is 151 amino acid residues in length. Cleavage of the amino terminal signal peptide results in the 126-amino-acid proANP. ProANP is rapidly cleaved upon secretion by the transmembrane cardiac serine protease corin, to form the mature ANP (28 amino acid residues) and NT-proANP (98 amino acids). ANP and BNP are in the same natriuretic peptide family and have a homologous structure and activity. They play key roles in cardiovascular homeostasis. Studies indicate that atrial natriuretic peptide (ANP and proANP) and brain natriuretic peptide (BNP and proBNP) are the major subunits of isolated atrial amyloid fibrils. We have predicted, via AMYLPRED, our online consensus prediction tool for ‘amyloidogenic propensity’ of protein molecules, a possible amyloidogenic determinant from the sequence of NT-proANP. Our main goal was to investigate, if this peptide is an amyloidogenic determinant. The peptide was synthesized and its amyloidogenic properties were studied experimentally, utilizing transmission electron microscopy, X-ray diffraction, ATR FT-IR and polarizing microscopy. It was shown conclusively that it forms amyloid-like fibrils *in vitro*.

**ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ APOE ΚΑΙ
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗ ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗΣ
ΝΕΥΡΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ
ΤΥΠΟΥ 2**

**Κ. Καρανικόλα¹, Χ. Μοναστηριώτης², Ν. Παπάνας², Γ. Τρυψιάνης³, Ε. Μαλτέζος², Σ.
Βελετζά¹**

¹Εργαστήριο Ιατρικής Βιολογίας, ²Εξωτερικό Ιατρείο Παχυσαρκίας, Μεταβολισμού και
Διαβήτη, Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, ³Εργαστήριο Στατιστικής
Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

Εισαγωγή: Οι μελέτες συσχέτισης των πολυμορφισμών του γονιδίου APOE με τη διαβητική περιφερική νευροπάθεια είναι λίγες και τα αποτελέσματά τους αντικρουόμενα.

Σκοπός της μελέτης: Να διερευνηθεί η ενδεχόμενη συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών του γονιδίου APOE και της βαρύτητας της περιφερικής διαβητικής νευροπάθειας σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2.

Υλικά και μέθοδος: Στη μελέτη συμμετείχαν 234 ασθενείς με διαβήτη τύπου 2. Οι ασθενείς εξετάστηκαν κλινικά για τη διάγνωση διαβητικής νευροπάθειας και ταξινομήθηκαν σύμφωνα με την κλίμακα Neuropathy Disability Score (NDS) ως πάσχοντες από ήπια ($NDS \leq 6$) ή βαριά ($NDS > 6$) διαβητική περιφερική νευροπάθεια. Στη συνέχεια προσδιορίστηκε ο γενότυπός τους ως προς το γονίδιο APOE. Ακολούθησε πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση με διόρθωση ως προς το φύλο, την ηλικία, τη διάρκεια του διαβήτη και το επίπεδο της HbA_{1c}, ώστε να εκτιμηθεί ο κίνδυνος βαριάς διαβητικής περιφερικής νευροπάθειας σε σχέση με τον γενότυπο APOE.

Αποτελέσματα: Ο γενότυπος ε3/ε4 και η φορεία του αλληλομόρφου ε4 συσχετίζονται με τετραπλάσιο κίνδυνο βαριάς περιφερικής διαβητικής νευροπάθειας (OR= 4.03, 95% CI= 1.22–13.34; p= 0.022 και OR= 3.83, 95% CI= 1.18–12.42; p= 0.025 αντίστοιχα), ενώ ο γενότυπος ε2 και η φορεία του ε2 συσχετίζονται με τάση μείωσης του αντίστοιχου κινδύνου κατά >60% (OR= 0.39, 95% CI= 0.05–3.25; p= 0.383 και OR= 0.35, 95% CI= 0.04–2.92; p= 0.331), σε σχέση με τον γενότυπο ε3/ε3.

Συμπεράσματα: Σε διαβητικούς τύπου 2 ασθενείς, η παρουσία του αλληλομόρφου ε4 συσχετίζεται με βαρύτερη περιφερική διαβητική νευροπάθεια. Αντίθετα, η παρουσία του αλληλομόρφου ε2 φαίνεται να είναι προστατευτική, αλλά το αποτέλεσμα αυτό δεν είναι στατιστικά σημαντικό.

APOE GENE POLYMORPHISMS AND THEIR ASSOCIATION WITH THE SEVERITY OF DIABETIC PERIPHERAL NEUROPATHY IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS

K. Karanikola¹, C. Monastiriotis², N. Papanas², G. Trypsianis³, E. Maltezos², S. Veletza¹

*¹Faculty of Medical Biology, ²Outpatient Clinic of Obesity, Metabolism and Diabetes,
2nd Department of Internal Medicine, ³Faculty of Statistics
School of Medicine, Democritus University of Thrace*

Introduction: Studies on the association of APOE gene polymorphisms with diabetic neuropathy are few and their results are contradicting.

Aim of the study: To investigate the probable association of APOE gene polymorphisms with the severity of diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients.

Patients and methods: Our study includes 234 type 2 diabetic patients. All patients were clinically examined for the presence of diabetic peripheral neuropathy and were classified according to Neuropathy Disability Score (NDS) as suffering from mild ($NDS \leq 6$) or severe ($NDS > 6$) diabetic peripheral neuropathy. Next, they were genotyped for APOE gene. Finally, multiple regression analysis was carried out with adjustment for gender, age, diabetes duration and HbA_{1c} level, to estimate the risk of developing severe diabetic peripheral neuropathy according to APOE genotype.

Results: A 4-fold increase in risk of severe diabetic neuropathy is associated with apoE $\epsilon 3/\epsilon 4$ subjects (OR, 4.03; 95% CI, 1.22–13.34; $p=0.022$) and $\epsilon 4$ carriers (OR, 3.83; 95% CI, 1.18–12.42; $p=0.025$), compared to subjects with apoE $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotype. Furthermore, the risk of severe diabetic neuropathy tended to be decreased by more than 60% in apoE $\epsilon 2/\epsilon 3$ subjects (OR, 0.39; 95% CI, 0.05–3.25; $p=0.383$) and $\epsilon 2$ carriers (OR, 0.35; 95% CI, 0.04–2.92; $p=0.331$), compared to subjects with apoE $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotype.

Conclusions: In type 2 diabetic patients, the $\epsilon 4$ allele is associated with more severe diabetic peripheral neuropathy. In contrast presence of the $\epsilon 2$ allele seems to be beneficial but this finding is not statistically significant.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ MAP ΚΙΝΑΣΩΝ ERK2
ΚΑΙ p38A ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΣΑΡΩΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗΣ
ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ (DIFFERENTIAL SCANNING FLUORIMETRY,
DSF)**

*Αθανάσιος Καραπέτσας, Κωνσταντία Βλαχάκη, Ραφαήλ Σανδαλτζόπουλος,
Αλέξης Γαλάνης*

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Πανεπιστημιούπολη, Δραγιάνα, 68100, Αλεξανδρούπολη*

Η μέθοδος Σάρωσης Διαφορικής Φθορισμομετρίας (DSF) επιτρέπει σε πραγματικό χρόνο την ανίχνευση της θερμικής αποδιάταξης καθαρών πρωτεϊνών παρουσία μιας φθορίζουσας χρωστικής και χρησιμοποιείται για το καθορισμό των συνθηκών που συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της πρωτεΐνης. Η μέθοδος διεξάγεται σε ένα τυπικό «θερμοκυκλοποιητή πραγματικού χρόνου» (Real-time Thermalcycler) ενώ η χρωστική που χρησιμοποιείται συνήθεστερα είναι η SYPRO orange. Η συγκεκριμένη χρωστική σε υδατικό διάλυμα φθορίζει ελάχιστα, ενώ όταν προσδένεται σε υδρόφοβες περιοχές των πρωτεϊνών φθορίζει έντονα. Συνεπώς, καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται, η πρωτεΐνη σταδιακά μετουσιώνεται και αποδιατάσσεται, εκθέτοντας υδρόφοβες περιοχές από τον πυρήνα της δομής της. Η χρωστική SYPRO orange προσδένεται σε αυτές τις περιοχές και ανιχνεύεται μια μεγάλη αύξηση της έντασης του φθορισμού. Στη συγκεκριμένη εργασία, εφαρμόσαμε τη μέθοδο DSF προκειμένου να διερευνήσουμε ποιες συνθήκες συμβάλλουν στη σταθεροποίηση των ανασυνδυασμένων ERK2 και p38a MAP κινασών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, κάθε πρωτεΐνη έχει ξεχωριστή θερμοκρασία αποδιάταξης (T_m) στις συνθήκες που εξετάστηκαν. Αυτά τα αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για τον καθορισμό των βέλτιστων συνθηκών για την διατήρηση της σταθερότητας και ενεργότητας των παραπάνω πρωτεϊνών σε άλλες πειραματικές διαδικασίες (πχ. ανοσοκατακρήμνιση, φασματοσκοπία SPR).

ASSESSMENT OF PROTEIN STABILITY OF THE MAP KINASES ERK2 AND P38A BY DIFFERENTIAL SCANNING FLUORIMETRY

*Athanasios Karapetsas, Konstantia Vlachaki, Raphael Sandaltzopoulos,
Alex Galanis*

*Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace,
University Campus, Dragana, 68100, Alexandroupolis*

Differential Scanning Fluorimetry (DSF) is a novel and generic method to screen for conditions that stabilize the conformation of purified proteins. DSF allows real-time monitoring of protein unfolding caused by heat denaturation in the presence of a fluorescent dye, such as SYPRO orange, whose emission intensity is strongly influenced by its environment. Furthermore, DSF is conducted in a typical Real-Time PCR thermal cycler without any requirement for special reagents. Upon binding to hydrophobic pockets of a protein, SYPRO orange fluoresces intensely, whereas in aqueous solution it is relatively quenched. As the temperature rises, the protein gets gradually denatured, unfolds and exhibits hydrophobic patches of its core. SYPRO orange binds to these hydrophobic regions and an increase of fluorescence is monitored. Fluorescence is measured and plotted against temperature resulting in a sigmoidal curve. We used DSF in order to assess the stability of the recombinant, affinity-purified MAP kinases ERK2 and p38 α , in various conditions. Each protein displayed a unique melting profile under the conditions tested. These data provide a means to determine the most suitable reaction conditions in order to preserve the stability and activity of recombinant proteins in downstream experiments such as immunoprecipitation, pull down assays and surface plasmon resonance spectroscopy.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΩΝ
ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΝΑ ΕΠΑΓΟΥΝ ΠΡΟ-
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΜΥΔΙΩΝ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ
MYTILUS GALLOPROVINCIALIS (LMK.)**

Καρνής Λούκας¹ και Στέφανος Νταϊλιάνης¹

¹ Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 26500, Πάτρα

Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) αποτελούν κύρια συστατικά του πετρελαίου και συχνά εμφανίζονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις στο θαλάσσιο περιβάλλον. Λαμβάνοντας υπόψη μας τις σοβαρές επιπτώσεις που μπορεί να προκαλέσουν σε διάφορα επίπεδα του οργανισμού, η παρούσα μελέτη διερευνά την ικανότητα ορισμένων PAH, όπως το φαινανθρένιο (PH) και το ανθρακένιο (AN), να επάγουν συνθήκες οξειδωτικού stress στον οργανισμό-Βιοενδείκτη του θαλάσσιου περιβάλλοντος *Mytilus galloprovincialis*. Συγκεκριμένα, άτομα του είδους που εκτέθηκαν σε κάθε ρύπο χωριστά (0,1 mg/L σε κάθε περίπτωση) αλλά και σε μίγμα τους (0,2 mg/L) εμφάνισαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα σουπεροξειδικών ανιόντων (O_2^-) στα αιμοκύτταρα της αιμολέμφου τους. Η αδυναμία αντιμετώπισης των παραγόμενων ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS) από τα αιμοκύτταρα που αποτελούν την κύρια άμυνα του οργανισμού, φαίνεται ότι σχετίζεται με την πρόκληση βλαβών στις μεμβράνες των κυττάρων, καθώς και σημαντικές διαταραχές στο μιτωτικό μηχανισμό τους, όπως αποδεικνύεται από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Συγκεκριμένα, τα εκτιθέμενα άτομα εμφάνισαν σημαντική αποσταθεροποίηση των λυσοσωμικών μεμβρανών τους, αύξηση της συχνότητας εμφάνισης πυρηνικών ανωμαλιών, καθώς και σημαντική αύξηση των επιπέδων της μαλονικής διαλδεϋδης (MDA), ως αποτέλεσμα της επαγωγής οξειδωτικού stress. Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμπεράνουμε ότι η παρουσία ρυπογόνων ουσιών στο υδάτινο μέσο, μπορεί να προκαλέσει σημαντικές επιπτώσεις στους υδρόβιους οργανισμούς, πιθανό μέσω της πρόκλησης οξειδωτικών φαινομένων.

**ESTIMATION OF PAHs-INDUCED PREPATHOLOGICAL
ALTERATIONS IN TISSUES OF MUSSEL *MYTILUS*
GALLOPROVINCIALIS (LMK.)**

Karnis Loukas¹ and Stefanos Dailianis¹

*¹ Section of Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of
Patras, 26 500, Greece*

It is known that polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are major components of petroleum and often occurred in high concentrations in the marine environment. Regarding PAH-mediated consequences in different levels of the organism, the aim of the present study was to investigate the ability of some PAH, including phenanthrene (PH) and anthracene (AN), to induce oxidative stress in tissues of mussel *Mytilus galloprovincialis*. Specifically, mussels exposed to each pollutant (at a final concentration of 0,1mg/L in each case) and/or to a PAH mixture (1:1, at a final concentration of 0,2 mg/L) showed significantly increased levels of superoxide anions ($\cdot\text{O}_2^-$) in their haemocytes, compared to levels observed in PAH-free mussels (control and acetone-treated mussels). It seems that PAHs ability to overwhelm the antioxidant efficiency of haemocytes, which are considered as the main immune defense system in mollusks, could lead to the enhancement of severe cellular damage. Indeed, haemocytes of challenge mussels showed increased levels of lysosomal membrane destabilization and lipid peroxidation products, such as malondialdehyde (MDA), while significantly increased frequencies of nuclear abnormalities, as measured by MN assay, were observed, thus verifying PAHs ability to enhance genotoxic damage in mussels' cells.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΜΗΚΟΥΣ ΑΛΛΑΓΗΣ ΦΥΛΟΥ ΤΗΣ ΜΕΝΟΥΛΑΣ
Spicara maena (Linnaeus, 1758) ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ**

Καρύδας, Θ., Αργυρίδης Ν., Μίνος Γ.

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν.
Μουδανιών, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Τ.Θ. 157, Ν. Μουδανιά
63200. E-mail: karidas@aqu.teithe.gr, gminos@aqu.teithe.gr

Οι παράγοντες που καθορίζουν την διαδοχή του φύλου στα ερμαφρόδιτα ψάρια είναι κυρίως η ηλικία, το μήκος του σώματος και η αναλογία φύλου στον πληθυσμό. Ο καθορισμός της επίδραση του κάθε παράγοντα στην αλλαγή αυτή, αποτελεί σημαντικό εργαλείο στην αλιευτική διαχείριση του πληθυσμού. Το μήκος αποτελεί αξιόπιστο και εύκολα μετρήσιμο παράγοντα καθώς ενέχει τις μικρότερες πιθανότητες λάθους. Κατά την παρούσα εργασία διενεργήθηκαν δειγματοληψίες από τον Μάιο έως και τον Ιούλιο του 2009 (περίοδος αναπαραγωγής του είδους) και ελήφθη το ολικό μήκος και προσδιορίστηκε το φύλο σε άτομα του είδους *Spicara maena* (Linnaeus, 1758) (μένουλα) που αλιεύθηκαν στο Θερμαϊκό κόλπο με κυκλικό δίχτυ γρι-γρι (ανοίγματος 20mm). Σε σύνολο 357 ατόμων εύρους μήκους 11,6-21,1cm (μέση τιμή 15,6cm $\pm$ 1,36) έγινε ταυτοποίηση του φύλου με μακροσκοπική εξέταση των γονάδων. Από αυτά, 315 ήταν θηλυκά, μήκους 11,6-17,7cm (μέση τιμή 15,3cm $\pm$ 1,04) και 42 αρσενικά, μήκους 12,7-21,1cm (μέση τιμή 17,9cm $\pm$ 1,37). Από την ανάλυση των δεδομένων προέκυψε ότι άτομα μεγέθους μικρότερου των 16cm ήταν κυρίως θηλυκά (99,5%) (πρωτόγυνος ερμαφροδιτισμός). Σε μήκη 16-18cm υπήρξε έντονη διαφοροποίηση του φύλου, ενώ το μήκος στο οποίο τα αρσενικά και τα θηλυκά εμφάνισαν την ίδια αναλογία (L_{50}), εκτιμήθηκε στα 17,5cm. Σε μήκος μεγαλύτερο των 18cm υπήρξε εμφάνιση μόνο αρσενικών ατόμων (100%). Η εκτιμώμενη αναλογία θηλυκών προς αρσενικά ήταν 7,5:1. Αν και έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία παρόμοιες αναλογίες φύλου, πιθανόν το αποτέλεσμα να μην χαρακτηρίζει την πραγματική σύνθεση του πληθυσμού καθώς η συμπεριφορά του είδους κατά την αναπαραγωγική περίοδο (βενθική φωλεοποίηση αρσενικών) σε συνδυασμό με το αλιευτικό εργαλείο που χρησιμοποιήθηκε (συλλέγει κυρίως από την στήλη του νερού), να συνέβαλε στο μικρό αριθμό των αρσενικών ατόμων στο δείγμα.

**SIZE AT SEX REVERSAL IN BLOTCHED PICAREL *Spicara maena*
(Linnaeus, 1758) IN THERMAIKOS GULF**

Karidas T., Argiridis N., Minos G.

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

E-mail: karidas@aqua.teithe.gr, gminos@aqua.teithe.gr

Factors that influence the sex reversal in hermaphrodite fish are mainly age, body length and sex composition in the population. The determination of the effect of each factor in this reversal is an important tool in fisheries management. Body length is a reliable and easily measurable factor and poses the least chance of bias. Present study was conducted from May to July 2009 (spawning season) and measured total length and estimated sex of blotched picarel individuals *Spicara maena* (Linnaeus, 1758) caught in Thermaikos Gulf with purse seine nets (20mm mesh-size stretched). In 357 individuals, length range was 11.6-21.1cm (mean 15.6 cm $\pm$ 1.36) and the sex was identified visually from the gonads. 315 individuals were female, length range 11.6-17.7cm (mean 15.3cm $\pm$ 1.04) and 42 males, length range 12.7-21.1cm (mean 17.9cm $\pm$ 1.37). The analysis revealed that individuals less than 16cm long are females (99.5%) (protogynous hermaphrodite). In length range 16-18cm appeared noticeable sex differences, while the length on which males and females appeared the same percentage (L_{50}), estimated as 17.5cm. Individuals longer than 18cm are only males (100%). The estimated female/male ratio was 7.5:1. Although it is also reported in literature similar sex ratio in *S. maena*, it may not characterize the true composition of the population since the fishing area, the behavior of the species during the spawning season (benthic male nesting) in conjunction with the fishing gear used (not intended to benthic individuals), contributed to the low number of males in the sample.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΕΤΑΜΟΡΦΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Κατσιμάροδς Γ.Α. και Χαμόδρακας Σ.Ι.

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

Η μονοδιάστατη πληροφορία που είναι αποθηκευμένη στην ακολουθία (αλληλουχία) μιας πρωτεΐνης μετατρέπεται σε μία βιολογικά ενεργή δομή τριών διαστάσεων μέσω του πρωτεϊνικού διπλώματος. Η υπόθεση του Anfinsen μας βοηθά στην κατανόηση βασικών αρχών του πρωτεϊνικού διπλώματος: μία πολυπεπτιδική αλυσίδα αποκτά τη βιολογικά ενεργή, φυσική της δομή υιοθετώντας την πιο σταθερή θερμοδυναμικά στερεοδιάταξη, η οποία αντιστοιχεί σε ένα, μοναδικό δίπλωμα από τα χιλιάδες πιθανά διαφορετικά διπλώματα, σε δεδομένο περιβάλλον. Τα τελευταία χρόνια όμως, έχει εντοπιστεί ένας μικρός, αλλά συνεχώς αυξανόμενος αριθμός πρωτεϊνών οι οποίες εμφανίζουν πολλαπλές σταθερές στερεοδιατάξεις για την ίδια αμινοξική ακολουθία σε δεδομένες, φυσιολογικές συνθήκες περιβάλλοντος. Οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται «μεταμορφικές» (A. Murzin, Science, 2008). Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη πρωτεϊνών που εμφανίζουν αυτή την ιδιότητα, δηλαδή πρωτεϊνών που επιβεβαιωμένα αποκτούν περισσότερες από μία λειτουργικές, σταθερές δομές. Αφού συλλέχθηκαν από την βιβλιογραφία όσο το δυνατόν περισσότερες περιπτώσεις μεταμορφικών πρωτεϊνών, στη συνέχεια, αυτές μελετήθηκαν τόσο σε επίπεδο ακολουθίας (αμινοξική σύσταση, περιοδικότητες αμινοξέων), όσο και σε επίπεδο δομής και λειτουργίας (μελέτη κάθε δομής ξεχωριστά, προσπάθεια ομαδοποίησης με βάση λειτουργικά και δομικά “domains”) με απώτερο στόχο την εύρεση κοινών χαρακτηριστικών ή ιδιοτήτων μεταξύ των πρωτεϊνών αυτών, οι οποίες μπορεί να μας οδηγήσουν: α) στην κατανόηση των αιτιών που επιτρέπουν σε αυτές τις πρωτεΐνες να έχουν μεταβλητή δομή, β) στην εύρεση (με υπολογιστικές μεθόδους) περισσότερων πρωτεϊνών που ίσως να παρουσιάζουν παρόμοιες ιδιότητες. Η ύπαρξη κοινών χαρακτηριστικών για τις μεταμορφικές πρωτεΐνες ενδέχεται να μας βοηθήσει να αντιληφθούμε τους λόγους, για τους οποίους η εξέλιξη έχει επιλέξει αυτόν τον τρόπο, ώστε οι πρωτεΐνες αυτές να επιτελέσουν το λειτουργικό τους ρόλο. Παράλληλα, ενδέχεται να αποκαλύψει ότι τέτοιες πρωτεΐνες ίσως να μην είναι τόσο σπάνιες όσο αρχικά είχε θεωρηθεί.

STUDIES ON METAMORPHIC PROTEINS

Katsimardos G.D. and Hamodrakas S.J.

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

Protein folding converts one-dimensional information stored in an amino acid sequence, into a three-dimensional biological active structure. Anfinsen's hypothesis helps our understanding of the basic principles of protein folding: A polypeptide acquires its native, biological active structure, by descending to the most thermodynamically stable conformation, which corresponds to one, unique fold out of thousands of different folds, in a certain environment. However, recently, a small but growing number of proteins, which can adopt different folded conformations for the same amino acid sequence in specific, native conditions, have been identified. These proteins are known as "metamorphic" (A. Murzin, Science, 2008). The scope of this work is the study of proteins, which adopt such a behavior, in other words the study of proteins that are verified to acquire more than one stable, functional structure. Initially, a collection of well-characterized metamorphic proteins was acquired after extensive literature search and these proteins were studied at the sequence level (residues, amino acid periodicities) and at the structural and functional level as well (study of each structure, efforts to group them based on structural and functional domains). An additional objective was the identification of common characteristics and attributes for these proteins, which can lead to: a) a better understanding of the reasons which induce the flexibility of these proteins and b) the identification of more proteins (using computational methods) that might have similar attributes. The existence of such common features could reveal the reasons, which make these proteins to choose such a way to fulfill their biological role(s). Furthermore, the results may indicate that metamorphic proteins are not as rare, as it was previously thought.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΘΕΡΜΟΕΠΑΓΟΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ
ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ HSP90 ΣΤΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΜΥΔΙ *MYTILUS*
*GALLOPROVINCIALIS***

**Κερσελίδου Δέσποινα, Παντζαρτζή Χρύσα, Δροσοπούλου Ελένη,
Σκούρας Γ. Ζαχαρίας**

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 54124, Θεσσαλονίκη

Οι πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος (Heat Shock Proteins, Hsps) προστατεύουν τα κύτταρα από τις πιθανές επιβλαβείς συνέπειες παραγόντων στρες, συμμετέχοντας στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης. Παράγοντες που επάγουν τις πρωτεΐνες αυτές είναι η αύξηση της θερμοκρασίας, το ψυχρό πλήγμα, η υποξία, η αλατότητα, τα ιόντα βαρέων μετάλλων, το οξειδωτικό στρες, οι ιώσεις, οι μικροβιακές μολύνσεις, οι δηλητηριάσεις, ο καρκίνος κ.α. Η HSP90 είναι μια από τις πιο συντηρημένες οικογένειες πρωτεϊνών, τα μέλη της οποίας συμμετέχουν σε σημαντικές λειτουργίες του κυττάρου (αναδίπλωση πρωτεϊνών, μεταγωγή σήματος, κ.ά.). Περιλαμβάνει πρωτεΐνες που εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα, στο ενδοπλασματικό δίκτυο, τα μιτοχόνδρια και τους χλωροπλάστες. Πρόσφατα, απομονώθηκαν δύο μεταγραφικές μονάδες *hsp90* από το *Mytilus galloprovincialis*. Οι δύο μονάδες συνίστανται από 9 εξώνια και εμφανίζουν αφενός μεγάλη ομοιότητα στην 5' μη κωδικοποιούσα και στην κωδικοποιούσα περιοχή, αλλά και σημαντικές διαφορές σε τρία ιντρόνια, λόγω της ύπαρξης επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών, καθώς και στην 3' μη κωδικοποιούσα περιοχή. Οι δύο μονάδες κωδικοποιούν το ίδιο πεπτίδιο που φέρει τις υπογραφές της οικογένειας HSP90 και φαίνεται να έχει κυτταροπλασματικό εντοπισμό. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA από διαφορετικούς ιστούς ατόμων *M. galloprovincialis*, ακολούθησε ανάστροφη μεταγραφή, εφαρμογή PCR, κλωνοποίηση και αλληλούχιση της πλήρους *hsp90* κωδικοποιούσας περιοχής. Παράλληλα, μελετήθηκε το πρότυπο έκφρασης των δύο γονιδίων υπό διαφορετικές συνθήκες και σε διαφορετικούς ιστούς του *M. galloprovincialis*.

**STUDY OF THE HSP90 EXPRESSION IN THE MEDITERRANEAN
MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

***Kerselidou Despoina, Pantzartzi Chrysa, Drosopoulou Elena,
Scouras G. Zacharias***

*Dept. of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology,
Faculty of Science, AUTH, 54124, Thessaloniki*

Heat Shock Proteins (Hsps) protect cells from stress, contributing to cell homeostasis. They are induced by heat or cold shock, hypoxia, salinity, heavy metals, oxidative stress, infection, poisoning, cancer etc. The HSP90 is among the most conserved protein families with members that participate in important cellular functions (protein folding, signal transduction, etc). The family includes proteins with cytoplasmic, endoplasmic, mitochondrial and chloroplastic localization. Recently, two *hsp90* transcriptional units were isolated from *Mytilus galloprovincialis*. The two units consist of 9 exons, present high similarity in the 5' non-coding region and in the coding region, but significant differences in three introns due to the existence of repeated sequences, as well as in the 3' non-coding region. The two units encode the same peptide that bears HSP90 family signatures and seems to have cytoplasmic localization. In the present study, isolation and reverse transcription of total RNA from various tissues of *M. galloprovincialis* specimens was performed, followed by amplification, cloning and sequencing of the complete *hsp90* coding region. In addition, the expression pattern of the *hsp90* genes was investigated under various conditions and in different tissues of *M. galloprovincialis*.

**ΔΟΜΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ
ΕΙΔΟΥΣ *ATHERINA BOYERI* (RISSE 1810) ΣΤΗΝ ΥΠΟΠΑΡΑΛΙΑΚΗ
ΖΩΝΗ ΤΟΥ ΒΟΡΕΙΟΥ ΙΟΝΙΟΥ**

Κόκολη Φλωριάννα, Λιούσια Βαρβάρα & Ιωάννης Δ. Λεονάρδος
Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα

Το είδος *Atherina boyeri* (Risso 1810) (κοινή ονομασία αθερίνα) ανήκει στην οικογένεια των Atherinidae. Απαντάται σε παράκτιες περιοχές, σε εκβολικά συστήματα, σε λιμνοθάλασσες και εσωτερικά ύδατα. Πρόκειται για ένα σαρκοφάγο είδος που τρέφεται κυρίως με ζωοπλαγκτικούς και μικρούς παραβενθικούς οργανισμούς. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της δομής και ορισμένων βιολογικών χαρακτηριστικών του πληθυσμού της *Atherina boyeri* της υποπαρالياκής ζώνης του Βορείου Ιονίου. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε μηνιαία βάση από τον Ιανουάριο έως τον Δεκέμβριο του 2009 στον Αμβρακικό Κόλπο και στο λιμάνι της Ηγουμενίτσας με τη χρήση γρύπου. Σε κάθε άτομο προσδιορίστηκε το φύλο, με μακροσκοπική εξέταση των γονάδων. Επίσης μετρήθηκε το σταθερό μήκος (σε cm), το ολικό και το καθαρό βάρος καθώς και το βάρος της γονάδας (σε gr). Συλλέχθηκαν συνολικά 2457 άτομα, εκ των οποίων τα 1027 (41,8%) ήταν θηλυκά, τα 917 (37,3%) αρσενικά και τα 513 (20,9%) αδιευκρίνιστου φύλου. Το μέσο μήκος του πληθυσμού ήταν 4,5 cm, με εύρος μηκών από 2,4-8,2 cm ενώ το μέσο βάρος 1,69 gr. Η τιμή του συντελεστή *b* της σχέσης μήκους-βάρους ήταν 3,02 (95% CI 2,99-3,05), γεγονός που υποδηλώνει ισομετρική αύξηση του είδους. Η μέση μέγιστη τιμή του γοναδοσωματικού δείκτη ήταν 6,68 και παρατηρήθηκε τον μήνα Απρίλιο, υποδηλώνοντας την αρχή της αναπαραγωγικής περιόδου.

**POPULATION STRUCTURE AND BIOLOGICAL FEATURES OF
ATHERINA BOYERI (RISSO 1810) IN THE LITTORAL ZONE OF THE
NORTH IONIAN SEA**

Kokolli Floriana, Liouisia Varvara & Ioannis D. Leonardos

*Laboratory of Zoology, Biological Applications and Technology Dept., University of
Ioannina, 45110 Ioannina*

Atherina boyeri (Risso 1810) (common name sand smelt) is a species of fish in the Atherinidae family. It mainly inhabits coastal and estuarine waters, including coastal lagoons, salt marshes, and more rarely, inland waters, over a wide range of salinities from freshwater to hypersaline. It is a carnivorous species and feeds on zooplankton and small bottom-living animals. The aim of the present study was to provide basic information on the population structure and some biological features of the sand smelt in the littoral zone of the North Ionian Sea. Samples of sand smelt were collected monthly from January 2009 to December 2010, in the Amvrakikos Gulf and in the port of Igoumenitsa using a beach seine. The sex was determined by examination of the gonad macroscopically. Moreover, standard length (SL) was measured to the nearest 0,1 cm. Total and net body weight as well as gonad weight were measured to the nearest 0,01 gr. A total number of 2457 specimens were collected. Of the 2457 captured specimens, 1027 were females (41,8%), 917 were males (37,3%) and 513 unidentified (20,9%). The mean observed length of the population was 4,5 cm, ranging from 2,4-8,2 cm, while the mean weight was 1.69 gr. The value of the exponent b of the length weight relationship was 3,02 (95% CI 2,99-3,05) displaying isometric growth. The highest average GSI value, 6,68, was recorded in April, indicating the beginning of the reproductive period.

ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΜΕΣΩ ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΔΙΚΤΥΩΝ ΡΥΘΜΙΣΗΣ

Δημήτρης Α. Κοντογιάννης,
Ερευνητής Β', Ινστιτούτο Ανοσολογίας, Ε.ΚΕ.Β.Ε «Αλ. Φλέμιγκ»

Πολλές από τις τρέχουσες θεωρήσεις υποδεικνύουν ότι ο καθορισμός ενός κυτταρικού φαινοτύπου ή μιας κυτταρικής αντίδρασης υποστηρίζεται από την δράση ειδικών μεταγραφικών παραγόντων και την επιγενετική τροποποίηση γονιδωματικών τόπων που σχετίζονται με αυτόν τον καθορισμό. Παρ' όλα αυτά η πολυπλοκότητα και η -σχετικά- αργή ταχύτητα των μηχανισμών αυτών δεν μπορεί να εξηγήσει την γρήγορη εναλλαγή κυτταρικών αντιδράσεων όπως αυτών που παρουσιάζουν κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος ή των αναπτυσσόμενων ιστών. Εναλλακτικά, η ρύθμιση αυτών των διεργασιών μπορεί να βασίζεται σε μετα-μεταγραφικούς μηχανισμούς που καθορίζουν την ωρίμανση, τη σταθερότητα και τη μετάφραση μορίων mRNA και συνεπώς τη «χρήση» αυτών των RNA σε κυτταροειδικό επίπεδο. Οι μεταμεταγραφικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν δυναμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ ριβονουκλεοπρωτεϊνών (PBP), ρυθμιστικών μορίων RNA (π.χ. μικρόRNA) και των mRNA στόχων τους που συναθροίζονται σε ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα (PNP). Στο σύνολο τους, οι αλληλεπιδράσεις αυτές συνιστούν το «ριβονουκλέωμα» (ribonome). Νέες θεωρήσεις υποδεικνύουν ότι το ριβονουκλέωμα μπορεί να καθορίζει την δημιουργία (μετα-μεταγραφικά οπερόνια-operons) και τη χρήση (μετα-μεταγραφικά δίκτυα ρύθμισης-regulons) μορίων mRNA που κωδικοποιούν «συγγενικούς» παράγοντες και με αυτόν τον τρόπο να ορίσει την κυτταρική κατάσταση/αντίδραση.

Με στόχο την ανακάλυψη μετα-μεταγραφικών δικτύων ρύθμισης που διέπουν δυναμικές κυτταρικές αντιδράσεις, επικεντρωθήκαμε στην ανάλυση μιας ομάδας PBP που προσδένει αλληλουχίες RNA, πλούσιες σε ουρακίλη ή αδενίνη/ουρακίλη. Οι αλληλουχίες αυτές βρίσκονται στα μη-μεταφραζόμενα άκρα πολλών σημαντικών μορίων mRNA και σχετίζονται με την επαγωγή ρύθμιση της σταθερότητας και της μετάφρασης τους. Για να αναλύσουμε τις βιολογικές δράσεις των PNP που εμπεριέχουν αυτές τις PBP, αναπτύξαμε μια ερευνητική πλατφόρμα που συνδυάζει την ιστοειδική διαγονιδιακή μετατροπή των PBP στον ποντικό, την εφαρμογή πειραματικών προτύπων παθολογίας και την ριβονωμική ανάλυση. Η χρήση αυτής της πλατφόρμας αποκάλυψε την σημασία των μετα-μεταγραφικών ρυθμιστών: (α) στην αλληλεπίδραση μεσενχύματος και ενδοδερμικού επιθήλιου κατά τη μορφογενετική ανάπτυξη διακλαδωμένων ιστών όπως ο πλακούντας και ο πνεύμονας, (β) την ανάπτυξη των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, και (γ) τη ρύθμιση του ισοζυγίου των φλεγμονωδών αντιδράσεων προς αποφυγή χρόνιας φλεγμονώδους παθολογίας, αυτοανοσίας και καρκίνου. Η ανάλυση αυτών των –φαινομενικά – ετερόκλιτων κυτταρικών διεργασιών υποδηλώνουν ότι ο μετα-μεταγραφικός έλεγχος μπορεί να μην είναι απαραίτητος για την ταυτότητα ενός κυττάρου αλλά για την προσαρμογή του σε συγκεκριμένα μικρο-περιβάλλοντα. Επιπρόσθετα, οι μελέτες μας υποστηρίζουν ότι η οργάνωση της γονιδιακής πληροφορίας στα «μετα-μεταγραφικά δίκτυα ρύθμισης» αποτελεί έναν αποδοτικό τρόπο για τον καθορισμό της προσαρμοστικότητας των κυττάρων καθώς και ένα νέο πεδίο για την ανάπτυξη εξειδικευμένων βιολογικών θεραπειών.

CELLULAR ADAPTATION THROUGH POST-TRANSCRIPTIONAL REGULONS

Dimitris L. Kontoyiannis,
Associate Investigator B' Grade
Institute of Immunology, BSRC "Alexander Fleming"

The determination of cellular phenotypes and responses has been traditionally attributed to the effects of several transcription factors and the epigenetic modification of response-related loci. However, the complexity and robustness of transcriptional and epigenetic mechanisms, cannot fully explain the rapid and alternating profiles of dynamic cellular responses (e.g. immune, developmental etc.) Alternative mechanisms may involve post-transcriptional processes that modify the use of state-specific mRNAs by means of modifications in mRNA maturation, turnover and/or translation. These mechanisms are guided by the dynamic interactions of RNA-binding proteins (RBPs), regulatory RNA populations (e.g microRNAs) and their mRNA targets that come together in Ribonucleoprotein particles (RNPs). The collective of these interactions is now considered to comprise *the ribonome*. An emerging concept, suggests that the ribonome can coordinate the generation (*operon*) and use (*regulon*) of functionally related mRNAs to dictate specific cellular states.

In search of post-transcriptional regulons guiding dynamic cellular responses, we focused on a collection of RBPs recognizing U and AU-rich elements in the untranslated termini of many important mRNAs and relate to signal-induced changes in mRNA turnover and translation. We employ an in-vivo platform for the tissue specific dissection of RNP components which couples transgenic permutations in the mouse, models of human disease and ribonomics. Through these platforms we now provide evidence for the importance of post-transcriptional regulators in : (a) mesenchymal:epithelial interactions driving the morphogenic development of branched structures like the placenta and the lung; (b) the development of immune compartments; and (c) the control of inflammation against pathologic inflammation, autoimmunity and cancer. The data derived through the analyses of these seemingly disparate cellular processes indicate that post-transcriptional control may not be required for the acquisition of the cellular identity *per se*, but rather for cellular adaptation in response to micro-environmental cues. Furthermore, it appears that the organization of the genetic information into post-transcriptional regulons provides an efficient mean for determination of cellular plasticity as well as a novel route for more efficient biological therapies.

ΚΕΛΥΦΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Codringtonia* ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΦΥΛΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Κοτσακιάζη Π.^{1*}, Παρμακέλης Α.², Γκιώκας Σ.³, Βαλάκος Ε.Δ¹.

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα.

²Τομέας Οικολογίας και Ταξινόμικης, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα.

³Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Το γένος *Codringtonia* (Γαστερόποδα, Πνευμονοφόρα) είναι ενδημικό της Ελλάδας και αποτελείται από 8 είδη τα οποία διαφοροποιήθηκαν κατά τα τελευταία 6 εκ. χρόνια. Εξαπλώνεται στην Πελοπόννησο, τη Στερεά, την Κέρκυρα, την Ήπειρο και τη νότια Αλβανία, και οι κατανομές των ειδών εμφανίζουν μωσαϊκό πρότυπο. Στην μελέτη αυτή έγινε πολυμεταβλητή ανάλυση μορφομετρικών παραμέτρων όλων των ειδών του γένους *Codringtonia* με στόχο τη διερεύνηση της κελυφικής διαφοροποίησης τόσο σε δια-ειδικό όσο και σε ενδο-ειδικό επίπεδο. Ακόμη, έγινε σύγκριση της μορφομετρικής ποικιλότητας με 1) τη μοριακή φυλογένεση του γένους, που βασίστηκε στην ανάλυση αλληλουχιών τριών μιτοχονδριακών γονιδίων, και 2) περιβαλλοντικούς παράγοντες, έτσι ώστε να διαπιστώσουμε εάν η μορφολογική διαφοροποίηση στο γένος είναι αποτέλεσμα καταγωγής ή προσαρμογών.

SHELL DIFFERENTIATION OF *Codringtonia* AND ITS RELATION TO PHYLOGENY AND ENVIRONMENTAL FACTORS

***Panayiota Kotsakiozi¹, Aristeidis Parmakelis², Sinos Giokas³ and Efstratios D.
Valakos¹***

¹ Faculty of Biology, Department of Animal and Human physiology, University of
Athens, Panepistimioupoli Zografou, GR-15784, Athens

² Faculty of Biology, Department of Ecology and Taxonomy, University of Athens,
Panepistimioupoli Zografou, GR-15784, Athens

³ Department of Biology, Section of Animal Biology, University of Patras, GR-26500,
Patras

The land snail genus *Codringtonia* is endemic to Greece and consists of 7 species recently differentiated (6 Ma). It is distributed in Peloponnese, Sterea, Kerkira island, Ipeiros and in the nearby Albanian territory. All over the genus range the distributional pattern is mosaic. In this study, including all *Codringtonia* species, morphological shell parameters were used. Morphological data were analyzed with multivariate morphometric techniques in order to investigate the degree of shell differentiation between and within species. Furthermore, the morphological differentiation was contrasted with the mtDNA phylogeny of the genus. In addition, in an effort to evaluate whether the morphological differentiation is adaptive, we performed a regression analysis between morphological characters and various abiotic parameters.

ΜΕΙΩΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ SURVIVIN ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΟΥ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΟΥΣ ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗ ΣΕ *IN VIVO* ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΟΝΤΙΚΟΥ

Κουρέτα Μ.¹, Μαλαμίδου Α.¹, Λαμπροπούλου Μ.², Βασιλειάδης Σ.¹, Υψηλάντης Π.²,
Σιμόπουλος Κ.², Παππά Α.¹, Χλίχλια Κ.¹

¹Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, 68100 Αλεξανδρούπολη

²Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα,
68100 Αλεξανδρούπολη

Ο καρκίνος μαστού είναι ένα από τα πιο σημαντικά προβλήματα υγείας που απασχολεί κυρίως τις γυναίκες. Η σιλιμπινίνη είναι ένα μη τοξικό φλαβονοειδές και τα τελευταία χρόνια πολλές ερευνητικές ομάδες μελετούν τη σιλιμπινίνη για την πιθανή χημειοπροστατευτική της δράση έναντι του καρκίνου του προστάτη και του εντέρου. Η δράση αυτή στηρίζεται στις ισχυρές αντιοξειδωτικές ικανότητες της και το ασφαλές της προφίλ.

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα της σιλιμπινίνης εναντίον αδеноκαρκινώματος μαστού *in vitro* και *in vivo*. Με δοκιμές κυτταρικής βιωσιμότητας που εφαρμόστηκαν σε καρκινικές κυτταρικές σειρές αδеноκαρκινώματος μαστού ποντικού και ανθρώπου ελέγχθηκε η επίδραση αυξανόμενων συγκεντρώσεων της σιλιμπινίνης σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Παρατηρήθηκε δραματική μείωση στο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού και προσδιορίστηκε η δόση EC50. Τα ανθρώπινα κύτταρα αδеноκαρκινώματος φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητα στη συγκεκριμένη ουσία σε σχέση με τα αντίστοιχα καρκινικά κύτταρα ποντικού. Η βιολογική σημασία των *in vitro* αποτελεσμάτων επιβεβαιώθηκε σε πειραματικό συνγονικό μοντέλο αδеноκαρκινώματος μαστού. Η σιλιμπινίνη προλαμβάνει σημαντικά την εγκαθίδρυση όγκου όπως υποδηλώνει η μείωση στο μέγεθος και στο βάρος του καρκινικού όγκου. Αξιοσημείωτη μείωση του όγκου σημειώθηκε με χορήγηση της σιλιμπινίνης θεραπευτικά σε εγκαθιδρυμένο όγκο, ενώ κανένα σύμπτωμα τοξικότητας δεν παρατηρήθηκε μακροσκοπικά. Επιπλέον, σημειώθηκε σημαντική μείωση στην έκφραση του γονιδίου *survivin*, ενός αναστολέα της απόπτωσης, όπως υποδηλώνουν τα αποτελέσματα από την ανοσοϊστοχημεία για τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Περαιτέρω πειράματα θα ακολουθήσουν για να εντοπιστεί ο ακριβής μηχανισμός της αναστολής ανάπτυξης του καρκινικού όγκου με τη χορήγηση σιλιμπινίνης.

DOWN-REGULATION OF SURVIVIN EXPRESSION *IN VIVO* IN MAMMARY ADENOCARCINOMA FOLLOWING TREATMENT WITH SILIBININ

**Koureta M.¹, Malamidou A.¹, Lambropoulou M.², Vassiliadis S.¹, Ypsilantis P.²,
Simopoulos C.², Pappa A.¹, Chlichlia K.¹**

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace,
University Campus-Dragana, 68100 Alexandroupolis

²Department of Medicine, Democritus University of Thrace, University Campus-
Dragana, 68100 Alexandroupolis

Breast cancer is one of the most serious health problems in the world affecting mainly women of all ages. Silibinin is a non-toxic flavonolignan extracted from milk thistle that has traditionally been used for the treatment of hepatic diseases. Silibinin has recently received attention as a potential natural cancer chemopreventive agent based on its strong antioxidant properties and safe profile. Significant anti-neoplastic effects against colorectal and prostate carcinoma have been described. The efficacy of silibinin against experimental breast cancer *in vitro* and *in vivo* was investigated in the present study. Cell viability assays (MTT and SRB) were performed on murine and human mammary adenocarcinoma cell lines cultured with increasing concentrations of silibinin. A dramatic drop in cell proliferation rate was observed and the EC₅₀ values were determined, while no signs of cell death were documented in the treated cells. It was proved that the human mammary adenocarcinoma cells were more sensitive to silibinin than the murine breast adenocarcinoma cells. We then evaluated the biological significance of the *in vitro* findings in a syngeneic mouse tumor model of breast cancer. Silibinin prevented significantly the establishment of tumor as evidenced by the reduction in size and weight of the growing tumor 10 days following daily administration of silibinin. An important decrease in tumor volume in two separate experiments was evident, while no adverse side effects were detected. Interestingly, the inhibitory effect of silibinin was apparent even when it was applied directly or a day after the subcutaneous administration of syngeneic tumor cells in mice. In immunohistochemistry studies a significant down-regulation of the inhibitor of apoptosis, survivin, was observed. Experiments are currently underway to unravel the direct mechanism of silibinin-mediated tumor growth inhibition via the specific down-regulation of survivin.

ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ 5-ΑΖΑΚΥΤΙΔΙΝΗΣ ΣΕ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΜΑΣΤΟΥ

Κουρέτα Μ.¹, Μαλαμίδου Α.¹, Λαμπροπούλου Μ.², Υψηλάντης Π.², Σιμόπουλος Κ.²,
Κοτσανίδης Ι.², Χλίγλια Κ.¹

¹Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Πανεπιστημιούπολη-Δραγιάνα, 68100 Αλεξανδρούπολη

²Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιούπολη-Δραγιάνα,
68100 Αλεξανδρούπολη

Η αζακυτιδίνη (5-AZA) είναι ένα ανάλογο της κυτιδίνης με κλινική δράση σε αιματολογικής προέλευσης κακοήθειες όπως τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, ενώ πιθανολογείται η δραστηριότητα της και σε συμπαγείς όγκους. Η 5-AZA είναι ένας αναστολέας των DNA και RNA μεθυλοτρανσφερασών που επάγει την απομεθυλίωση και την απενεργοποίηση γονιδίων. Η ανοσοθεραπευτική της δράση υποδηλώνεται μέσω της επιγενετικής της δράσης και του ενισχυτικού της ρόλου στην επαγωγή της έκφρασης απενεργοποιημένων γονιδίων καρκινικών αντιγόνων. Μελετήσαμε την θεραπευτική δράση αυτού του παράγοντα σε καρκινικά κύτταρα μαστού *in vitro* και σε πειραματικό συγγονικό μοντέλο αδενοκαρκινώματος *in vivo* εξετάζοντας την επίδραση στην κυτταρική βιωσιμότητα. Χρησιμοποιήθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις της 5-AZA σε κυτταρικές σειρές αδενοκαρκινώματος μαστού ποντικού και ανθρώπου σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, παρατηρήθηκε μείωση της κυτταρικής βιωσιμότητας με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, ενώ παράλληλα προσδιορίστηκε και η δόση EC50.

Επιπλέον, η *in vivo* ανασταλτική δράση της 5-AZA εξετάστηκε και σε πειραματικό συγγονικό μοντέλο αδενοκαρκινώματος μαστού σε BALB-c. Έπειτα από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση 15 mg/kg 5-AZA μετά από την εγκαθίδρυση του όγκου, σημειώθηκε σημαντική μείωση του μεγέθους/βάρους του καρκινικού όγκου, ενώ δεν παρατηρήθηκε κανένα σύμπτωμα τοξικότητας μακροσκοπικά. Αξιοσημείωτη είναι και η αποπτωτική δράση της 5-AZA σε αδενοκαρκίνωμα μαστού σύμφωνα με τα αποτελέσματα ανοσοϊστοχημείας χρησιμοποιώντας αντισώματα έναντι μορίων αποπτωτικών μονοπατιών. Η θεραπευτική δράση της 5-AZA αποδείχθηκε σε αδενοκαρκίνωμα μαστού *in vitro* και *in vivo*, ενώ περαιτέρω μελέτη θα ακολουθήσει για να προσδιοριστεί ο ακριβής μηχανισμός που οδηγεί τα καρκινικά κύτταρα σε απόπτωση.

APOPTOTIC EFFECT OF 5-AZACYTIDINE IN MAMMARY ADENOCARCINOMA

**Koureta M.¹, Malamidou A.¹, Lambropoulou M.², Ypsilantis P.², Simopoulos C.²,
Kotsianidis I.², Chlichlia K.¹**

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace,
University Campus-Dragana, 68100 Alexandroupolis

²Department of Medicine, Democritus University of Thrace, University Campus-
Dragana, 68100 Alexandroupolis

Azacytidine (5-AZA) is a cytidine analog with clinical activity in hematologic malignancies such as myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia, and potential activity in solid tumors. 5-AZA is a potent inhibitor of DNA and RNA methyltransferases that induces demethylation and gene reactivation. Re-expression of aberrant methylated genes involved in normal cell cycle control, differentiation and apoptotic pathways is believed to contribute to the anticancer effects of this drug. Due to its epigenetic function and potential adjuvant role in induction of expression of methylation-silenced tumor antigens that improve the outcome of immunotherapy studies, we investigated the therapeutic efficacy of this agent on breast cancer cells *in vitro* and in an experimental breast cancer model *in vivo*. The effect of 5-AZA on cell viability was examined. Increasing concentrations of 5-AZA in murine and human mammary adenocarcinoma cell lines in different time intervals led to reduced cell viability and cell number in a dose-dependent manner while EC50 dose was determined.

In addition, the *in vivo* inhibitory capacity was examined in a syngeneic murine tumor model of mammary adenocarcinoma. 5-AZA was applied intraperitoneally following subcutaneous injection of syngeneic adenocarcinoma cells into BALB-c mice and a significant reduction of tumor volume was detected at doses of 15 mg/kg body weight even against established experimental tumors. Notably, 5-AZA showed significant therapeutic efficacy. Remarkable is the *in vivo* apoptotic effect of 5-AZA observed in immunochemistry sections for Tunnel assay and M30 expression. In summary, the therapeutic effect of AZA was proven in mammary adenocarcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. Further studies will be conducted to understand the direct mechanism of apoptosis induced by this epigenetic and immunomodulating agent in adenocarcinoma cells.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΝΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ
ΕΜΒΡΥΪΚΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΕ ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Μαριάννα Κούσκου, Μαρία Λούκα, Θεοδώρα Κορομηλά, Βασιλική Αλεπόρου-
Μαρίνου, Παναγούλα Κόλλια**

*Εργαστήριο Γενετικής Ανθρώπου, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη 15701*

Η επαγωγή της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (HbF) με τη βοήθεια φαρμακευτικών ουσιών φαίνεται να έχει ευεργετική δράση σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία καθώς επίσης και σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία. Η κύρια ως τώρα χρησιμοποιούμενη φαρμακευτική ουσία είναι η υδροξυουρία (HU), αν και η πιθανή πρόκληση καρκινογένεσης και η μη ανταπόκριση αρκετών ασθενών έδωσε το έναυσμα για τη μελέτη και άλλων HbF-επαγωγικών φαρμακευτικών ουσιών. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετηθεί η επίδραση μιας νέας στεροειδούς αλκυλιωτικής ουσίας, της EA80, στην αύξηση της HbF. Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν CD34⁺ αρχέγονα κύτταρα περιφερικού αίματος φυσιολογικών ατόμων που καλλιεργήθηκαν σε STEM-SPAN καλλιεργητικό μέσο παρουσία EPO (4u/ml) και SCF (100ng/ml). Η προσθήκη της EA80 ουσίας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.2/ 0.4 μ M) έγινε την 6^η ημέρα καλλιέργειας (στάδιο προερυθροβλάστης). Η επίδραση της ουσίας στον αριθμό των κυττάρων μετρήθηκε με την τεχνική μπλε του τρυπανίου καθώς και ο αριθμός των Hb(+)- θετικών κυττάρων με τη μέθοδο της βενζιδίνης. Η προσθήκη της ουσίας αύξησε το συνολικό αριθμό κυττάρων και των βενζιδίνη-θετικών κυττάρων. Η ποιοτική και ποσοτική μέτρηση των γ -mRNA μεταγράφων έδειξε ότι ο παράγοντας EA80 (0.2/ 0.4 μ M) προκάλεσε μία δόσο-εξαρτώμενη αύξηση (1 ημέρα: 0.4 μ M, 72% αύξηση των γ -mRNA μεταγράφων), ενώ η παρουσία της EA80 ουσίας για 3 ημέρες επέφερε μείωση στα επίπεδα των γ -mRNA μεταγράφων κατά 18%. Η προσθήκη της ουσίας δεν επηρέασε την έκφραση των α - και β - mRNA μεταγράφων. Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι η προσθήκη της ουσίας EA80 μπορεί να επηρεάσει: i) την αύξηση του αριθμού των κυττάρων ii) το ρυθμό μεταγραφής του γ -γονιδίου, και iii) την περαιτέρω αύξηση της HbF. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ο νέος αλκυλιωτικός παράγοντας EA80 μπορεί να παρέχει μια πιθανόν χρήσιμη θεραπεία για θαλασσαιμικούς ασθενείς και πιθανός συνδυασμός του με άλλες γνωστές επαγωγικές για την HbF ουσίες να επιφέρει μεγαλύτερη αύξηση της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης.

EFFECT OF NOVEL PHARMACOLOGICAL AGENT ON ELEVATION OF FETAL HEMOGLOBIN IN CULTURES OF NORMAL ERYTHROID PRECURSORS

***Marianna Kouskou, Maria Louka, Theodora Koromila, Vasiliki Aleporou-Marinou,
Panagoula Kollia***

*National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of
Genetics and Biotechnology, Laboratory of Human Genetics, Campus
15701, Athens, Greece*

Pharmacological induction of fetal hemoglobin (HbF) is beneficial for some patients with β -thalassemia and also ameliorates the severity of pain episodes in sickle cell anemia. The prototype of HbF-inducing agents is hydroxyurea (HU). However, concerns on the potential carcinogenicity of HU have spurred the interest in other drugs. In the present study, we evaluated the effects of EA80, a newly synthesized steroidal alkylating agent, on HbF induction in CD34⁺ cell cultures from normal donors. CD34⁺ cells were cultured in serum-free StemSpan medium and exposed to EPO (4 u/ml) + SCF (100ng/ml). Different concentrations of EA80 (0.2/ 0.4 μ M) were added to the culture at day 6 (proerythroblast stage), then cells were washed and harvested 1- 3 days later. The effect of the drug on cell number was measured by the trypan blue exclusion technique. The number of Hb-containing cells were determined using the benzidine-HCl procedure. Continuous exposure of CD34⁺ to EA80 had a dose dependent effect on cell number as well as on benzidine-positive cells. Qualitative and quantitative RT-PCR evaluation of globin-mRNA transcripts in CD34⁺ demonstrated that EA80 (0.2/0.4 μ M) caused a dose-dependent increase (1 day: 0.4 μ M, 72% increase in γ -mRNA transcripts), while the presence of EA80 for 3 days caused a 18% decrease in levels of γ -mRNA transcripts. In contrast, the levels of β -and α -mRNAs in normal CD34⁺ cell cultures were not affected by either drug concentration. Our findings suggest that the beneficial effect of EA80 might be threefold: i) increasing cell number ii) affecting preferentially the rate of transcription of γ -globin mRNA, iii) increasing HbF. These results indicate that EA80, a newly synthesized alkylating agent, might provide a potentially useful treatment for patients with β -hemoglobinopathies.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ p53 ΣΤΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΜΥΔΙ
*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

**Κουτσίδου Μαρίνα, Παντζαρτζή Χρύσα, Δροσοπούλου Ελένη,
Σκούρας Γ. Ζαχαρίας**

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 54124, Θεσσαλονίκη*

Ανάμεσα στους μεταγραφικούς παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση είναι τα μέλη της οικογένειας p53, γνωστά για την ογκοκατασταλτική τους δράση. Ενεργοποιούνται ως απόκριση σε βλάβες του DNA και ρυθμίζουν γονίδια που σχετίζονται με τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση, αποτρέποντας με τον τρόπο αυτό τον πολλαπλασιασμό μη φυσιολογικών κυττάρων. Η οικογένεια p53 περιλαμβάνει τρία μέλη, που χαρακτηρίζονται ως p53, p63 και p73, και στα θηλαστικά κωδικοποιούνται από τρία διαφορετικά γονίδια. Στα δίθυρα θεωρείται ότι τα μέλη της οικογένειας προέρχονται από ένα γονίδιο (p63), ως αποτέλεσμα εναλλακτικού ματίσματος ή εναλλακτικών θέσεων έναρξης της μεταγραφής. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα δίθυρα, μεταξύ των οποίων και μέλη του γένους *Mytilus*, έχουν τη φυσική τάση να αναπτύσσουν διάφορες μορφές νεοπλασίας, κάποιες από τις οποίες έχουν συσχετιστεί με μεταλλάξεις στο γονίδιο p63. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της γονιδιωματικής οργάνωσης και της έκφρασης του γονιδίου p63 στο *Mytilus galloprovincialis*. Για τον πλήρη χαρακτηρισμό της μεταγραφικής μονάδας σχεδιάστηκαν εκκινητές, χρησιμοποιώντας κατατεθειμένες γονιδιωματικές και cDNA αλληλουχίες από δίθυρα, ενισχύθηκαν και αναλύθηκαν τμήματα του γονιδίου p63. Παράλληλα, μελετήθηκε η έκφραση των διαφορετικών μελών της οικογένειας μετά από απομόνωση ολικού RNA από διαφορετικούς ιστούς ατόμων *M. galloprovincialis*, ανάστροφη μεταγραφή και PCR με ειδικούς εκκινητές. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το πρότυπο έκφρασης των τριών μελών φαίνεται να διαφέρει μεταξύ των εξεταζόμενων ιστών.

**STUDY OF THE P53 FAMILY IN THE MEDITERRANEAN MUSSEL
*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

***Koutsidou Marina, Pantzartzi Chrysa, Drosopoulou Elena,
Scouras G. Zacharias***

*Dept. of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology,
Faculty of Science, AUTH, 54124, Thessaloniki*

Members of the p53 family, known for their tumor suppressive action, are among the transcription factors that play important role in carcinogenesis. They are activated as response to DNA damage and regulate genes related to cell cycle control and apoptosis, thus inhibiting proliferation of abnormal cells. The p53 family includes three members, namely p53, p63 and p73, which are encoded by three different genes in mammals. In bivalves, it is considered that the members of the family are encoded from a single gene (p63), as a result of alternative splicing or alternative transcription initiation sites. Studies have shown that bivalves, including members of the genus *Mytilus*, have the natural tendency to develop various forms of neoplasia, some of which have been associated with mutations in the p63 gene. The purpose of the present study is the investigation of the genomic organization and the p63 expression pattern in *Mytilus galloprovincialis*. For the complete characterization of the transcription unit, primers were designed, using known genomic and cDNA sequences from bivalves, and fragments of the p63 gene were amplified and analyzed. In addition, the expression pattern of different members of the family was studied after isolation of total RNA from different tissues of *M. galloprovincialis* specimens, reverse transcription and PCR with specific primers. According to the results, the expression patterns of the family members appear to differ among the examined tissues.

**ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΠΑΓΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ
17β-ΟΙΣΤΡΑΔΙΟΛΗ ΣΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ
*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

Κουτσογιαννάκη Σ. και Μ. Καλογιάννη

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ.,
Θεσ/νίκη 541 24

Τα οιστρογόνα, όπως η 17β-οιστραδιόλη (E₂), επιδρούν σε πλήθος ιστών και κυττάρων, όπως το ανοσοποιητικό σύστημα. Κύριο ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα των μυδιών κατέχουν τα αιμοκύτταρα, τα οποία διαμεσολαβούν την κυτταρική ανοσία μέσω της φαγοκυττάρωσης, της παραγωγής ελευθέρων ριζών και της απελευθέρωσης χυμικών παραγόντων.

Στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκε με κυτταρομετρία ροής, η επίδραση της E₂ στην παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) σε απομονωμένα αιμοκύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*. Επιπρόσθετα, μελετήθηκε η επίδραση της E₂ στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα και στην καρβονυλίωση των πρωτεϊνών των αιμοκυττάρων με χρήση της μεθόδου ELISA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 30 min επώασης με E₂ προκάλεσε αύξηση στην παραγωγή ROS, διαταραχή της αντιοξειδωτικής ικανότητας και επαγωγή της καρβονυλίωσης των πρωτεϊνών των αιμοκυττάρων. Στα σηματοδοτικά αυτά μονοπάτια, που επάγονται από την E₂ φαίνεται να συμμετέχουν η αντλία ανταλλαγής ιόντων Na⁺/H⁺ (NHE), η πρωτεϊνική κινάση C (PKC), η κινάση της φωσφατιδυλικής ινοσιτόλης (PI3-K), η NADPH οξειδάση, η συνθάση του οξειδίου του αζώτου (NO), η c-Jun N-terminal κινάση (JNK) και η 3'-5' κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP).

Περαιτέρω μελέτη του ανοσοποιητικού συστήματος των μυδιών μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερη διαχείριση και πιο αποτελεσματική προστασία αυτών των οικονομικής σημασίας οργανισμών. Επιπρόσθετα, η μελέτη των ανοσολογικών αποκρίσεων των μυδιών μπορεί να οδηγήσει στην καθιέρωση νέων βιομαρτύρων για τη βιοπαρακολούθηση των θαλάσσιων οικοσυστημάτων.

OXIDATIVE EFFECTS INDUCED BY 17 β -ESTRADIOL IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* HEMOCYTES

Koutsogiannaki S. and M. Kaloyianni

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki 541 24*

Estrogens, such as 17 β -estradiol (E₂), exert a broad spectrum of activities on a wide range of cells and tissues, among these the immune system. Hemocytes are the main components of the immune system of mussels and are responsible for cell mediated immunity through phagocytosis, production of reactive oxygen species (ROS) and release of humoral factors.

In the present study the effect of E₂ on ROS production in isolated hemocytes of *Mytilus galloprovincialis* was detected by flow cytometer. Furthermore, the effects of E₂ on total antioxidant capacity and on protein carbonylation of hemocytes were measured by ELISA. Our results showed that incubation with E₂ for 30 min caused an increase in ROS production, perturbation of antioxidant capacity and induction of carbonylation of the proteins in *Mytilus* hemocytes. These signaling pathways induced by E₂ seem to involve Na⁺/H⁺ exchanger (NHE), protein kinase C (PKC), inositol phosphate kinase (PI3-K), NADPH oxidase, nitric oxide (NO) synthase, c-Jun N-terminal kinase (JNK) and 3'-5' cyclic adenosine monophosphate (cAMP).

Further research in mussels' immune system may lead to a more sufficient protection and to a better control of these economically important organisms. Furthermore, from the study of the immune mechanisms in mussels could be suggested novel biomarkers offering an effective early warning system in biomonitoring of aquatic environments.

**ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ, ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΟΝΟΥ ΚΑΙ
ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΞΙ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ
ΕΛΑΙΩΝ, ΕΚΠΡΟΣΩΠΩΝ ΑΛΚΟΟΛΩΝ, ΕΣΤΕΡΩΝ ΚΑΙ
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ**

**Κουτσονίκου Χ.¹, Λιούλια Ε.¹, Μαδεμτζόγλου Δ.¹, Παυλίδου Θ.¹, Μπαζιώτη Γ.¹, Βώκου Δ.²
και Μανραγάνη-Τσιπίδου Π.¹**

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη,

²Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη

Στην παρούσα μελέτη γίνεται έλεγχος έξι συστατικών αιθέριων ελαίων, στο πλαίσιο διερεύνησης της τοξικότητας ουσιών ευρείας χρήσης. Τα συστατικά που εξετάστηκαν είναι: α) οι αλκοόλες alpha-terpineol, D-neomenthol, 1-octen-3-ol, β) ο εστέρας terpinyl acetate και γ) οι υδρογονάνθρακες α-pinene και β-pinene. Οι ουσίες αυτές αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες των αρωματικών φυτών και βρίσκουν πληθώρα εφαρμογών σε τομείς όπως η αρωματοποιία, η βιομηχανία τροφίμων και η φαρμακοβιομηχανία. Ως πειραματόζωο χρησιμοποιήθηκε το δίπτερο έντομο *Drosophila melanogaster*, ένας από τους σημαντικότερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς-μοντέλα για *in vivo* μελέτες τοξικότητας.

Για την εκτίμηση της εντομοκτόνου δράσης των υπό μελέτη ουσιών εκτιμήθηκε η τιμή LD₅₀ (Lethal Dose 50%, κρίσιμη συγκέντρωση που προκαλεί τον θάνατο στο 50% των πειραματόζώων) σε άτομα *D. melanogaster*. Για τον προσδιορισμό της μεταλλαξιγόνου και ανασυνδυαστικής δράσης, εφαρμόστηκε η δοκιμή SMART (Somatic Mutation And Recombination Test). Πραγματοποιήθηκαν χειρισμοί με διάφορες συγκεντρώσεις (2,5-10,0 μL/mL) σε προνύμφες *D. melanogaster*. Έγινε χρήση δύο γενετικών δεικτών (*mwh* και *flr*), που κάνουν δυνατή την αναγνώριση μεταλλάξεων ή ανασυνδυασμών σε άτομα trans-ετερόζυγα ως προς τους δυο αυτούς δείκτες μέσω της δημιουργίας κηλίδων διαφορετικού φαινοτύπου. Οι απλές κηλίδες (φαινότυπος *mwh* ή *flr*) είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης σημείου, χρωμοσωματικών ανακατατάξεων ή/και μιτωτικού ανασυνδυασμού, ενώ οι δίδυμες κηλίδες (*mwh* και *flr*) οφείλονται αποκλειστικά στον ανασυνδυασμό. Η σχετική συχνότητα αυτών των συμβάντων που σχετίζονται άμεσα με την καρκινογένεση υποδεικνύει τη φύση της βλάβης που προκαλεί η υπό μελέτη ουσία στο DNA.

**EVALUATION OF THE INSECTICIDAL, GENOTOXIC AND
RECOMBINOGENIC POTENTIAL OF SIX ESSENTIAL OIL
CONSTITUENTS, REPRESENTATIVES OF ALCOHOLS, ESTERS,
AND HYDROCARBONS**

**Koutsonikou C.¹, Lioulia E.¹, Mademtoglou D.¹, T. Pavlidou¹, G.Mpazioti¹,
Vokou D.² and Mavragani-Tsipidou P.¹**

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology, ²Department of
Ecology School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 541 24
Thessaloniki

As part of a wider research aiming at screening the toxic and genotoxic activity of widely used substances, six essential oil constituents were studied. More specifically, the tested compounds were: a) the alcohols alpha-terpineol, D-neomenthol, 1-octen-3-ol, b) the ester terpinyl acetate and c) the hydrocarbons a-pinene, b-pinene. These secondary metabolites have several applications in perfumery, food chemistry and medicine. To assess their toxic and genotoxic potential, *Drosophila melanogaster*, a major model organism for *in vivo* toxicity studies was used.

The evaluation of the insecticidal activity was based on the estimation of LD₅₀ (50% Lethal Dose), which is the concentration of the tested compound causing death to 50% of the exposed *D. melanogaster* individuals. To evaluate the mutagenic and recombinogenic effects, the SMART test (Somatic Mutation And Recombination Test), a widely used and accepted method, was applied. Briefly, *D. melanogaster* larvae were exposed to the tested compounds (2.5-10.0 µL/mL). Two genetic markers (*mwh* and *flr*) were used making it possible to discern the formation of mutant clones on the wing blade. The mutagenic and recombinogenic action of the assessed substances is estimated by recording the number of spots of mutant phenotypes on the wing. Single spots (phenotype *mwh* or *flr*) are produced by point mutations, structural abnormalities or mitotic recombination, while twin spots are produced exclusively by mitotic recombination. The frequency of these events associated with carcinogenesis indicates the type of DNA damage caused by the tested compounds.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΧΤΑΠΟΔΙΟΥ
(*Octopus vulgaris*) ΣΤΗΝ ΛΕΣΒΟ (ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΣΤΕΝΟΥ
ΜΥΤΙΛΗΝΗΣ)**

**Δρόσος Κουτσούμπας, Ιωάννης Ε. Μπατζάκας, Αθανάσιος Ευαγγελόπουλος,
Ιωάννης Παπαντωνάτος, Μανώλης Μεταξάκης & Θωμάς Βαρβέρης,**
Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, Τ. Κ. 81100, Μυτιλήνη,
drosos@aegean.gr

Το κοινό χταπόδι (*Octopus vulgaris*) εξαπλώνεται (Mangold, 1997) στις ακτές κυρίως της Μεσογείου και του Ανατολικού Ατλαντικού Ωκεανού. Ο κύριος στόχος της παρούσας μελέτης είναι μια προκαταρκτική καταγραφή των βιολογικών παραμέτρων των πληθυσμών του κοινού χταποδιού στην περιοχή της Λέσβου και ειδικότερα στη θαλάσσια περιοχή του Στενού Μυτιλήνης, με έμφαση στην αναπαραγωγική βιολογία του είδους. Συγκεντρώθηκαν και αναλύθηκαν μηνιαία δείγματα από τον Δεκέμβριο του 2008, μέχρι και τον Δεκέμβριο 2009. Επίσης, πραγματοποιήθηκε καταγραφή της παράκτιας αλιευτικής προσπάθειας για το είδος στην περιοχή του Στενού της Μυτιλήνης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης για τις μηνιαίες διακυμάνσεις της πυκνότητας των ώριμων ατόμων (σταδίου 4) και του γοναδοσωματικού δείκτη, η περίοδος αναπαραγωγής για το χταπόδι στα νερά του στενού της Μυτιλήνης φαίνεται να αρχίζει από τον Μάρτιο και να τελειώνει αρχές Οκτωβρίου, με κορύφωση τον Μάιο και τους καλοκαιρινούς μήνες, χωρίς δεύτερο ετήσιο μέγιστο αναπαραγωγικής δραστηριότητας. Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν με συμπεράσματα άλλων μελετών τόσο στην Ελλάδα (π.χ. Kallianiotis et al., 2001) όσο και στην Μεσόγειο (π.χ. Fernández-Rueda & García-Florez, 2007). Για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με τα αποτελέσματα που έχει η αλιευτική πίεση στους τοπικούς πληθυσμούς του κοινού χταποδιού, απαιτείται η συλλογή μεγαλύτερης χρονοσειράς δεδομένων. Τυχόν αλλαγές και ρυθμίσεις στην Νομοθεσία σχετικά με την αλιεία του χταποδιού θα πρέπει να βασιστούν, εκτός από την βιολογία και την οικολογία του είδους στις Ελληνικές θάλασσες και σε μακροχρόνια συνεχή παρακολούθηση των αλιευμάτων.

**PRELIMINARY STUDY OF THE BIOLOGY OF COMMON OCTAPUS
(*Octopus vulgaris*) in LESVOS ISLAND (MYTILINI STRAITS)**

**Drosos Koutsoubas, Ioannis E. Batjakas, Athanasios Evagelopoulos, John
Papantonatos, Manolis Metaxsakis & Thomas Varveris**

University of the Aegean, Dept. of Marine Sciences, 81100 Mytilene,
drosos@aegean.gr

The common octopus (*Octopus vulgaris*) is distributed in the Mediterranean and the Eastern Atlantic Ocean (Mangold, 1997). The main objective of this study is a preliminary assessment of the biological parameters of the common octopus populations in the area of Lesvos (Mytilini Straits), with a particular emphasis on the reproductive biology of the species. Monthly samples from December 2008 until December 2009 were collected and analyzed. The fishing effort for the species in this area has been also recorded. According to the results of this study for the monthly variations in the density of mature individuals (stage 4) and the gonadosomatic index, the breeding period for the common octopus in Mytilini Straits starts in March and ends in early October, with a peak in May and the summer months, without a second annual peak in the reproductive activity. These results are in agreement with other studies, both in the Hellenic waters (e.g. Kallianiotis et al., 2001) and in the Mediterranean (e.g. Fernández-Rueda & García-Florez, 2007). Time series data is required to draw safe conclusions regarding the effects of the fishing pressure on the local populations of the common octopus. Changes and adjustments to the National legislation for common octopus fisheries should be based on the biology and ecology of the species in the Greek seas, as well as on long-term, continuous monitoring of catches.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ Ig-α ΚΑΙ Syk ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΩΝ B-ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κρίκκη Ι.^{1,2}, Heizmann B.², Infantino S.², Τσιτσιλώνη Ο.¹, Reth M.²

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, ²Dept. of Molecular Immunology, Faculty of Biology, University of Freiburg and Max-Planck Institute for Immunobiology, D-79108 Freiburg, Germany

Η κυτταροπλασματική ουρά του Ig-α του B-κυτταρικού υποδοχέα (BCR) περιλαμβάνει μία συντηρημένη σερίνη (S197), η οποία φωσφορυλιώνεται κατά την ενεργοποίηση του BCR αναστέλλοντας τη συνολική σηματοδότηση από τον BCR, και μία συντηρημένη αργινίνη (R198), η οποία βρίσκεται κάτω από διαρκή μεθυλίωση από την PRMT1 (protein arginine methyltransferase) στον BCR σε κατάσταση ηρεμίας. Η πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης Syk είναι μία κινάση με διπλή εξειδίκευση που αυτορρυθμίζει το συνολικό μήνυμα από τον BCR, φωσφορυλιώνοντας τόσο τις ITAM τυροσίνες όσο και την S197. Το κατάλοιπο τυροσίνης (Y539) της Syk θεωρείται πιθανή θέση φωσφορυλίωσης. Με μετάλλαξη της θέσης αυτής σε αλανίνη (A), καταργείται η φωσφορυλίωση της Y539 ενώ αυξάνεται η φωσφορυλίωση της S197, ενώ μία μετάλλαξη σε ασπαρτικό οξύ (D) θα μπορούσε να μιμηθεί την φωσφορυλίωση της Y539. Ολικά κυτταρολύματα από κύτταρα Schneider επιμολύνθηκαν παροδικά με φυσικού τύπου (WT) CD8-Ig-α, καθώς και με Syk WT ή με τα μεταλλάγματα Syk Y/A και Syk Y/D. Στη συνέχεια, διαχωρίστηκαν με SDS-PAGE και αναλύθηκαν με Western Blot. Όπως αναμενόταν, το μετάλλαγμα Syk Y/D μιμείται τη φωσφορυλίωση της Y539, μειώνοντας έτσι τη φωσφορυλίωση της S197, σε αντίθεση με το μετάλλαγμα Syk Y/A, υποδεικνύοντας τη σημασία της Y539 στη διπλή εξειδίκευση της Syk. Επιπλέον, για να εξετάσουμε την επίδραση διάφορων μεταλλαγμάτων Ig-α στη σηματοδότηση του BCR, Ig-α ανεπαρκή προγονικά B-κύτταρα ποντικού ανασυστάθηκαν με κάθε έναν από τους παρακάτω τύπους Ig-α: Ig-α WT, τα μεταλλάγματα Ig-α S/A, Ig-α R/K, Ig-α R/F και το διπλό μετάλλαγμα Ig-α S/A R/K. Τα επιμολυσμένα B κύτταρα διεγέρθηκαν με NIP-BSA και μετρήθηκε η εισροή ασβεστίου (Ca²⁺). Είναι ενδιαφέρον, ότι μετάλλαξη της R198 σε ένα μη πολικό αμινοξύ όπως η φαινυλαλανίνη (F) έδειξε μεγαλύτερη εισροή ασβεστίου (Ca²⁺), ενώ το διπλό μετάλλαγμα δεν αποκάλυψε ένα “συνεργιστικό αποτέλεσμα”, με μεγαλύτερη εισροή ασβεστίου, όπως αναμενόταν. Αυτό το αποτέλεσμα ίσως υποδεικνύει σύνδεση μεταξύ της φωσφορυλίωσης της S197 και της μεθυλίωσης της R198, αφού μία μόνο μετάλλαξη του Ig-α είναι επαρκής για να επάγει ενδοκυτταρική αύξηση ασβεστίου (Ca²⁺-flux) και συνεπώς η δεύτερη μετάλλαξη συνεισφέρει οριακά στο παρατηρούμενο φαινόμενο.

STUDY OF THE BCR SIGNALLING MOLECULES Ig- α AND Syk

Krikki I.^{1,2}, Heizmann B.², Infantino S.², Tsitsilonis O.¹, Reth M.²

¹Dept. of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, ²Dept. of Molecular Immunology, Faculty of Biology, University of Freiburg and Max-Planck Institute for Immunobiology, D-79108 Freiburg, Germany

The cytoplasmatic tail of Ig- α of the B-cell receptor (BCR) contains a reserved serine (S197), which is phosphorylated upon BCR activation inhibiting the signal output of the BCR, and a reserved arginine (R198), which is constitutively methylated by protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1) on the resting BCR. Syk is a dual-specificity kinase that self-regulates the signal output from the BCR by phosphorylating both the ITAM tyrosines and S197. The tyrosine residue (Y539) of Syk is a putative phosphorylation site. When mutated to alanine (A), Y539 phosphorylation is abolished and S197 phosphorylation is increased, whereas a mutation to aspartic acid (D) could mimic the phosphorylation of Y539. Total cell lysates of Schneider cells transiently transfected with wild-type (WT) CD8-Ig- α , Syk WT, and the mutants Syk Y/A and Syk Y/D were separated by SDS-PAGE and analysed by Western Blot. As expected, the Syk Y/D mutant mimics the phosphorylation of Y539, thus decreasing S197 phosphorylation, in contrast to the Syk Y/A mutant, indicating the significance of Y539 for the dual-specificity of Syk. Furthermore, to examine the influence of different Ig- α mutants on BCR signalling, Ig- α deficient murine pro B-cells were reconstituted with Ig- α WT, the mutants Ig- α S/A, Ig- α R/K, Ig- α R/F and the double mutant Ig- α S/A R/K. The transduced B cells were stimulated with NIP-BSA and calcium (Ca²⁺) influx was measured. Interestingly, mutation of R198 to a non-polar amino acid like phenylalanine (F) resulted in higher Ca²⁺-flux, whereas the double mutant did not reveal the “synergistic effect”, with higher Ca²⁺-flux, that would be expected. This result may indicate an association between S197 phosphorylation and R198 methylation, since a single mutation of Ig- α is sufficient to induce increased Ca²⁺-flux and therefore the second mutation marginally contributes to the observed effect.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΗ-ΙΟΝΙΖΟΥΣΑΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΑΣΥΡΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ ΣΤΗΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΟΜΥΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ
*Drosophila melanogaster***

Κρικώνη Σ.¹, Κόνσουλας Χ.², Α.Χ. Μαργαρίτης¹

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

²Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ασύρματων (1,8GHz) και κινητών τηλεφώνων (900, 1800 MHz) στην ανάπτυξη του νευρομυϊκού συστήματος του εντόμου *D. melanogaster*. Συγκεκριμένα εξετάστηκε τυχόν επίδραση στη διάρκεια ζωής πληθυσμού ακτινοβολημένων και μη μυγών και στην κινητική συμπεριφορά τους που σχετίζεται με τον αρνητικό γεωτακτισμό και θετικό φωτοτακτισμό. Πραγματοποιήθηκαν δυο πειράματα και στο καθένα έγινε καλλιέργεια μυγών, συλλογή νυμφών αρχικού σταδίου (100-200 άτομα) και ακτινοβόλησή τους κατά τη μεταμόρφωση του νευρομυϊκού συστήματος (100 ώρες) στο στάδιο της νύμφης. Στο πρώτο πείραμα πραγματοποιήθηκε συνεχόμενη ακτινοβόληση με βάση ασύρματου, ενώ στο δεύτερο πείραμα διακοπτόμενη με βάση ασύρματου (ανά 2 ώρες/ημέρα) και με κινητό τηλέφωνο (2 ώρες/ημέρα). Και στα δύο πειράματα ώριμα άτομα διαφόρων ηλικιών υποβλήθηκαν σε πείραμα μελέτης αρνητικού γεωτακτισμού και θετικού φωτοτακτισμού. Παράλληλα έγινε μελέτη της διάρκειας ζωής του πληθυσμού με καθημερινή καταγραφή αριθμού ατόμων του πληθυσμού. Η ακτινοβόληση και στα δύο πειράματα δεν επηρέασε βασικές κινητικές λειτουργίες όπως είναι βάδιση, πτήση και άλμα. Η συνεχόμενη ακτινοβόληση με βάση ασύρματου δεν επηρέασε τη διάρκεια ζωής και την κινητική συμπεριφορά που σχετίζεται με τον αρνητικό γεωτακτισμό και θετικό φωτοτακτισμό. Η διακοπτόμενη ακτινοβόληση με βάση ασύρματου και κινητό, αν και δεν είχε επίδραση στη διάρκεια ζωής και στην κινητική συμπεριφορά που σχετίζεται με τον αρνητικό γεωτακτισμό, επηρέασε την κινητική συμπεριφορά, όσον αφορά στο θετικό φωτοτακτισμό, αφού στη σχετική δοκιμασία οι μάρτυρες εμφάνισαν με στατιστικά σημαντική διαφορά καλύτερες επιδόσεις σε σχέση με τα ακτινοβολημένα άτομα. Το γεγονός αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι μάλλον η ακτινοβολία επέδρασε σε φωτοϋποδοχείς ή/και σε ενδονευρώνες που συμμετέχουν στη διαδικασία επεξεργασίας και αντίληψης του οπτικού ερεθίσματος.

**EFFECTS OF ELECTROMAGNETIC RADIATION EMITTED BY
WIRELESS AND MOBILE PHONES ON DEVELOPMENT OF
NERVOUS AND MUSCULAR SYSTEM OF *Drosophila melanogaster***

Krikoni S.¹, Consoulas C.², L.H. Margaritis¹

¹Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis 157 84, Athens, Greece.

²Laboratory of Experimental Physiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, M. Asias 75, Athens 115 27, Greece

The *Drosophila melanogaster* insect is used in research of potential biological effects of electromagnetic radiation. In this study, effects of wireless DECT (1,8 GHz) and mobile phones (900,1800 MHz) electromagnetic radiation on the remodeling of nervous and muscular system of *Drosophila melanogaster* during metamorphosis, were investigated especially. Lifespan of population and flies' motor behavior related to negative geotaxis and positive phototaxis were examined, in order to evaluate potential effects of the radiation on nervous and muscular system. More specifically, two experiments were carried out as follows: culture of flies, collection of 100-200 white prepupae (initial stage of pupae) and their irradiation during metamorphosis (~100 hours). In the first experiment pupae were constantly exposed to radiation of DECT base. In the second experiment pupae were exposed to radiation both of DECT base (2 hours On / 2 hours Off) and mobile phone (for 2 hours per day). After irradiation, negative geotaxis (climbing a vertical distance on the vial's wall) and positive phototaxis (moving towards a light source) assays were applied in the adult flies at different ages. In addition, in order to evaluate the lifespan of the population, the number of dead flies was almost daily countered. Both experiments revealed that irradiation did not affect the lifespan of the population and the basic insects' motor functions like negative geotaxis, flight and walking. In contrast to the first experiment, the results of phototaxis assays in the second experiment revealed effects on insects' positive phototaxis, as control group of insects performed far better than the exposed group. In conclusion, electromagnetic radiation emitted by wireless DECT and mobile phone may affect perception (photoreceptors) or/and processing in the central nervous system (interneurons) of visual signals.

**ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΦΥΛΟΕΙΔΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ
ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΟ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟ DNA ΤΟΥ
*Mytilus galloprovincialis***

Κυριακού Ε.¹, Α. Κραββαρίτη¹, Ε. Ζούρος² και Γ. Κ. Ροδάκης¹

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

Το μύδι της Μεσογείου *Mytilus galloprovincialis* είναι ένα από τα είδη στα οποία παρατηρείται το ιδιαίτερο φαινόμενο της Διπλής Μονογονεϊκής Κληρονομικότητας (ΔΜΚ). Με βάση αυτό, η κληρονόμηση του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) δεν είναι μόνο μητρική, όπως προστάζει ο γενικός κανόνας, αλλά και πατρική. Πιο συγκεκριμένα, ο θηλυκός γονέας μεταβιβάζει το μητρικό mtDNA (τύπος F) σε ολόκληρο τον θηλυκό απόγονο, αλλά μόνο στους σωματικούς ιστούς του αρσενικού απόγονου, καθότι τα σπερματοζωάρια του φέρουν το πατρικό mtDNA (τύπος M). Η παρουσία του τύπου M μόνο στη γονάδα του αρσενικού ατόμου και η παράλληλη «εξάπλωση» του τύπου F σε όλους τους σωματικούς ιστούς, οδηγεί στην υποψία ύπαρξης κάποιου ρυθμιστικού μηχανισμού αναγνώρισης του τύπου M στα κύτταρα της γονάδας και διατήρησής του σε αυτά ως μοναδικό τύπο mtDNA. Η ιδέα αυτή προϋποθέτει την ύπαρξη κάποιας πρωτεΐνης ή πρωτεϊνικού συμπλόκου το οποίο αναγνωρίζει τον τύπο M και προσδένεται ειδικά σε αυτόν. Το συγκεκριμένο πρωτεϊνικό σύμπλοκο θα πρέπει να εντοπίζεται μόνο στην αρσενική γονάδα και όχι στη θηλυκή. Για τον εντοπισμό μιας ειδικής για την αρσενική γονάδα αλληλεπίδρασης DNA-πρωτεΐνης/ών δημιουργήσαμε DNA ανιχνευτές από την κύρια ρυθμιστική περιοχή (CR) του mtDNA τύπου M, στην οποία εντοπίζεται η μεγαλύτερη απόκλιση μεταξύ των δύο τύπων F και M. Μετά τη ραδιοσήμανσή τους, οι ανιχνευτές αυτοί υποβλήθηκαν σε πειράματα Μείωσης Κινητικότητας Συμπλόκου (ΜΚΣ) υπό την αλληλεπίδραση με πρωτεϊνικά εκχυλίσματα γονάδας αρσενικού και θηλυκού ατόμου. Σε συμφωνία με την πιο πάνω υπόθεση διαπιστώθηκε ότι η κινητικότητα ενός εκ των DNA ανιχνευτών, ο οποίος αντιστοιχεί σε τμήμα της πρώτης μεταβλητής περιοχής του CR (VD1) του M τύπου, μειώθηκε σημαντικά από το σχηματισμό ενός συμπλόκου με κάποιον πρωτεϊνικό παράγοντα του εκχυλίσματος της αρσενικής γονάδας, ενώ απουσίαζε από το αντίστοιχο πείραμα με χρήση εκχυλίσματος θηλυκής γονάδας.

DETECTION OF SEX-SPECIFIC PROTEIN BINDING REGIONS OF THE MITOCHONDRIAL DNA OF *Mytilus galloprovincialis*.

Kyriakou E.¹, L. Kravariti¹, E. Zouros² and G. C. Rodakis¹

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

The Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* is one of the species in which the special phenomenon of Doubly Uniparental Inheritance (DUI) is observed. According to this, the inheritance of mitochondrial DNA (mtDNA) is not only maternal, following the general rule, but also paternal. Specifically, the female parent transmits the maternal mtDNA (F type) to the whole female offspring, but only to the somatic tissues of the male offspring, whose spermatozoa carry the paternal mtDNA (M type). The presence of the M type only in the gonad of the male offsprings and the presence of F type in all their somatic tissues, leads to the suspicion that a regulatory mechanism exists that recognizes the M type in the gonadal cells and preserves it as its only mtDNA type. This idea posits the existence of some protein or protein complex that recognizes the M type and binds specifically to it. This particular protein complex should be detected only in male gonads but not in the female gonads. For the detection of a male gonad specific DNA-protein/s interaction we designed DNA probes from the main control region (CR) of the M type mtDNA, the region with the largest divergence between the F and M types. After the radiolabeling, these probes were subjected to Electrophoretic Mobility Shift Assays (EMSA) after interaction with protein extracts from male and female gonads. We observed that the mobility of one of the DNA probes the one that corresponded to a part of the first variable domain of the CR (VD1) of M type, shifted considerably, apparently because of the formation of a complex with some protein factor of the male gonadal extract. This band shifting was not observed when the same experiment was contacted with female gonadal extracts. This observation is consistent with the hypothesis stated above.

ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ G-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Κωστίου Β.Α., Θεοδοροπούλου Μ.Κ. και Χαμόδρακας Σ.Ι

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

Οι ετεροτριμερείς G-πρωτεΐνες είναι μοριακοί διακόπτες, οι οποίοι ενεργοποιούν ενδοκυττάριους σηματοδοτικούς καταρράκτες, ως απόκριση στην ενεργοποίηση συζευγμένων με G-πρωτεΐνες υποδοχέων (GPCRs) από εξωκυτταρικά ερεθίσματα. Συνεπώς, οι G-πρωτεΐνες έχουν ζωτική σημασία στον καθορισμό της ειδικότητας της κυτταρικής απόκρισης. Οι ετεροτριμερείς G-πρωτεΐνες αποτελούνται από τρεις υπομονάδες, α, β και γ. Η ονοματολογία τους καθορίζεται από τις α-υπομονάδες τους, οι οποίες ταξινομούνται σε τέσσερις οικογένειες ανάλογα με την δομή και λειτουργία τους: $G_{\alpha s}$, $G_{\alpha i/o}$, $G_{\alpha q/11}$, $G_{\alpha 12/13}$. Η λειτουργία τους ως διακόπτες εξαρτάται από την ικανότητα της α-υπομονάδας να εναλλάσσεται μεταξύ μιας ανενεργού GDP-συνδεδεμένης στερεοδιάταξης, που ετοιμάζεται να αλληλεπιδράσει με έναν ενεργό υποδοχέα και μιας ενεργού, GTP-συνδεδεμένης στερεοδιάταξης που μπορεί να διαφοροποιήσει τη λειτουργία μορίων εκτελεστών. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της εξέλιξης των G-πρωτεϊνών. Για το σκοπό αυτό ανασύρθηκαν αρχικά οι α, β και γ υπομονάδες των G-πρωτεϊνών από την βάση δεδομένων UniProt/Swiss-Prot. Σε πρώτη φάση κατασκευάστηκαν και ελέγχθηκαν στατιστικά μοντέλα (pHMMs) για τις τέσσερις γνωστές οικογένειες ετεροτριμερών G-πρωτεϊνών, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν για τον εντοπισμό πιθανών G-πρωτεϊνών σε πρωτεώματα διαφόρων οργανισμών. Η ίδια διαδικασία θα ακολουθηθεί και για την β και τη γ υπομονάδα. Οι πληροφορίες που θα προκύψουν από τη μελέτη αυτή ευελπιστούμε ότι θα μας οδηγήσουν σε συμπεράσματα για την εξέλιξη των G-πρωτεϊνών στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

EVOLUTION OF G-PROTEINS

Kostiou V.D., Theodoropoulou M.C. and Hamodrakas S.J

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

Heterotrimeric G-proteins are molecular switches that turn on intracellular signaling cascades in response to the activation of G-protein coupled receptors (GPCRs) by extracellular stimuli. Therefore, G-proteins play a crucial role in defining the specificity of the cellular response. Heterotrimeric G-proteins are composed of three subunits, α , β and γ . Their nomenclature is determined by their α -subunit and they can be classified in four families depending on the structure and function of their α -subunits: $G\alpha_s$, $G\alpha_{i/o}$, $G\alpha_{q/11}$, $G\alpha_{12/13}$. Their ability to act as switches depends on the inherent property of the α -subunit to alternate between an inactive GDP-bound conformation that interacts with an activated receptor, and an active GTP-bound conformation that can modulate the activity of downstream effector proteins. The goal of this study is the investigation of G-protein evolution. For this purpose, we retrieved G-protein α , β and γ subunits from the UniProt/Swiss-Prot database. Initially, we constructed and tested statistical models (pHMMs) for the four known heterotrimeric G-protein families, which then, will be used to detect potential G-proteins within the proteomes of various organisms. The same procedure will be followed for the β and γ subunits as well. We hope that the results of this study will provide useful information concerning G-protein evolution within eukaryotic organisms.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΑΜΦΑΙΝΙΚΟΛΗΣ: ΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΑΙΝΙΓΜΑΤΟΣ

Ουρανία Ν. Κωστοπούλου και Δημήτριος Α. Καλπαξής

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η χλωραμφαινικόλη (CAM), ένα αντιβιοτικό ευρέως φάσματος, δεσμεύεται επί της μεγάλης ριβοσωματικής υπομονάδας των βακτηρίων και παρεμποδίζει θεμελιώδεις λειτουργίες, όπως είναι η σύνθεση του πεπτιδικού δεσμού, η πρόσδεση των tRNA-υποστρωμάτων στην Α-θέση και ο τερματισμός της πεπτιδικής αλυσίδας. Αν και κρυσταλλογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν την πρόσδεση της CAM στο καταλυτικό κέντρο του ριβοσώματος, η κλασσική ανάλυση αποτύπωσης εισηγείται δύο θέσεις πρόσδεσης, μία στο καταλυτικό κέντρο και μία δεύτερη στην είσοδο της σήραγγας εξόδου της πεπτιδικής αλυσίδας. Προηγούμενες κινητικές μελέτες έχουν δείξει ότι η CAM (I) αντι-δρά ταχέως με ένα εναρκτήριο ριβοσωματικό σύμπλοκο (C) και σχηματίζει το ενδιάμεσο CI, που στη συνέχεια ισομερίζεται βραδέως στο τελικό σύμπλοκο C*I. Ωστόσο, η πρόσδεση της CAM στην αρχική και τελική θέση είναι αμοιβαίως αποκλειόμενη, που σημαίνει ότι μόνο ένα μόριο CAM εμπλέκεται στο μηχανισμό της αναστολής της σύνθεσης του πεπτιδικού δεσμού.

Με σκοπό τη διαλεύκανση του μηχανισμού, εφαρμόσαμε την τεχνική της χρονο-διαβαθμισμένης αποτύπωσης, ώστε να αποκομίσουμε πλήρη εικόνα της ολικής πορείας πρόσδεσης της CAM. Παρατηρήσαμε ότι, όταν η CAM προσδένεται στην αρχική θέση (CI), προστατεύει από χημικούς τροποποιητές τα νουκλεοτίδια A2451, G2505 και U2506, που εντοπίζονται γύρω από την Α-θέση του καταλυτικού κέντρου. Το γεγονός αυτό εξηγεί γιατί η CAM συμπεριφέρεται ως συναγωνιστικός αναστολέας. Εγκατάσταση της CAM στην τελική της θέση (C*I) προστατεύει το A2062, που εντοπίζεται μεταξύ του καταλυτικού κέντρου και της εισόδου της σήραγγας εξόδου της πεπτιδικής αλυσίδας. Ταυτόχρονα, η προστασία των G2505 και U2506 εξασθενίζει, ένα νέο αποτύπωμα στο A2059 αναδύεται, ενώ η επιδεκτικότητα του A2058 αυξάνεται. Τα αποτελέσματά μας εισηγούνται μία δύο-βημάτων πρόσδεση της CAM, κατά την οποία αρχικά το αντιβιοτικό δεσμεύεται βαθιά στη σχισμή της Α-θέσης. Στη συνέχεια, στρέφεται βραδέως προς το νουκλεοτίδιο A2062, προκαλώντας σε αυτό διαμορφωτικές αλλαγές. Οι αλλαγές αυτές μεταφέρονται αλλοστερικά στα νουκλεοτίδια A2058 και A2059 που εντοπίζονται στην είσοδο της σήραγγας εξόδου της πεπτιδικής αλυσίδας. Συνεπώς, η ετερογενής αποτύπωση δεν σχετίζεται με δύο θέσεις πρόσδεσης της CAM, αλλά με αλλοστερικά φαινόμενα.

THE MECHANISM OF CHLORAMPHENICOL ACTION: THE SECOND PART OF THE PUZZLE

Ourania N. Kostopoulou and Dimitrios L. Kalpaxis

*Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26504 Patras,
Greece.*

Chloramphenicol (CAM) is a broad spectrum antibiotic that inhibits protein synthesis in prokaryotes by binding to the peptidyltransferase region of the large ribosomal subunit and blocking essential ribosomal functions, such as peptide bond formation, binding of tRNA substrates to the A-site, and peptide-chain termination. Although X-ray crystallographic data are compatible with CAM binding to the catalytic center of the ribosome, classical footprinting analysis suggested two binding sites; one placed at the catalytic center and a second one positioned at the entrance of the peptide exit-tunnel. Previous kinetic studies have demonstrated that CAM (I) reacts rapidly with a model initiator ribosomal complex (C) to form an encounter complex CI, which is then isomerized slowly to a tighter final complex C*I. Nevertheless, binding of CAM to the initial and final position is mutually exclusive, which means that only one molecule of CAM is implicated in the mechanism of inhibition of peptide bond formation. To settle the complicated behavior of CAM binding to ribosomes, we applied a time-resolved chemical probing to achieve a complete picture of the entire course of CAM binding to *Escherichia coli* ribosomes. We observed that CAM bound at the initial position (CI) protects from chemical modification nucleotides A2451, G2505 and U2506, all clustered around the A-site of the catalytic center. This explains the behavior of CAM as competitive inhibitor. Accommodation of CAM at its final position (C*I) causes protection effects on A2062, a nucleotide placed between two hydrophobic crevices; one at the peptidyltransferase center and the other at the entrance of the peptide exit tunnel. Meanwhile, the protections at G2505 and U2506 soften, a new footprint at A2059 is raised, while the reactivity of A2058 is enhanced. Our results suggest a two-step binding of CAM, where initially the drug binds deep in the A-site crevice. Then, CAM slowly reorientates toward A2062, causing conformational changes to this nucleotide. In turn, these changes are allosterically transmitted to nucleotides A2058 and A2059 placed at the entrance of the peptide exit tunnel. Therefore, the footprinting heterogeneity does not correlate with two binding sites of CAM, but with allosteric effects.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ GPCRs ΚΑΙ G-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ENTOMA

Λαβίδας Η.Α., Θεοδωροπούλου Μ.Κ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.

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

Η μεταγωγή σήματος είναι η διαδικασία κατά την οποία ένα εξωκυττάριο σηματοδοτικό ερέθισμα ενεργοποιεί έναν μεμβρανικό υποδοχέα, προκαλώντας κατάλληλες κυτταρικές αποκρίσεις. Οι GPCRs αποτελούν τη μεγαλύτερη και πιο ποικιλόμορφη οικογένεια διαμεμβρανικών υποδοχέων στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η τοπολογία τους χαρακτηρίζεται από 7 διαμεμβρανικά τμήματα, την εξωκυττάρια N-τελική περιοχή και την ενδοκυττάρια C-τελική περιοχή. Επιτελούν τις περισσότερες λειτουργίες τους διαμέσου της αλληλεπίδρασής τους με τις G-πρωτεΐνες, οι οποίες δρουν ως μοριακοί διακόπτες κατά τη μεταγωγή σήματος. Μελέτες στη *Drosophila melanogaster* έχουν δείξει ότι υπάρχει τουλάχιστον ένας υποδοχέας (Or83b) με ανεστραμμένη τοπολογία ($N'_{in} - C'_{out}$) σε σχέση με αυτή των κλασικών GPCRs. Στον ίδιο οργανισμό έχει βρεθεί μια G-πρωτεΐνη, η G_{af} , η οποία δεν κατατάσσεται σε καμία από τις γνωστές οικογένειες G-πρωτεϊνών (G_s , $G_{i/o}$, $G_{q/11}$, $G_{12/13}$). Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η κατασκευή ενός μοντέλου εντοπισμού GPCRs και G-πρωτεϊνών σε πρωτεώματα εντόμων, όπως *D. melanogaster*, *B. mori*, *A. gambiae*, *A. mellifera* και άλλων με χρήση υπολογιστικών μεθόδων. Πιο συγκεκριμένα, με τη βοήθεια του λογισμικού HMMER, κατασκευάζονται αντίστοιχα στατιστικά μοντέλα (pHMM), χρησιμοποιώντας κατάλληλα σύνολα εκπαίδευσης για GPCRs και G-πρωτεΐνες. Τα pHMMs χρησιμοποιούνται στην συνέχεια για τον εντοπισμό GPCRs και G-πρωτεϊνών στα πρωτεώματα. Επίσης, για τον ίδιο σκοπό, χρησιμοποιούνται και άλλα υπολογιστικά εργαλεία (GPCRHMM) αλλά και έτοιμα στατιστικά μοντέλα από την βάση δεδομένων PFAM. Τέλος, γίνεται προσπάθεια να εντοπιστούν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά παρόμοια με αυτά της *D. melanogaster* (Or83b και G_{fa}) στα πρωτεώματα των υπόλοιπων εντόμων, έτσι ώστε να μελετηθεί αν πρόκειται για ιδιαίτερα γνωρίσματα των εντόμων γενικότερα ή όχι.

COMPUTATIONAL STUDIES ON INSECTS' GPCRs AND G-PROTEINS

Lavidas I.D., Theodoropoulou M.C. and Hamodrakas S.J.

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

Signal transduction refers to the process by which an extracellular stimulus activates a membrane receptor, resulting in an appropriate cellular response. GPCRs form the largest and most diverse family of transmembrane receptors in eukaryotes. Their topology is characterized by 7 transmembrane α -helices, an extracellular N-terminus and an intracellular C-terminus. Most of their functions are conducted through their interactions with heterotrimeric G-proteins, which act as molecular switches during signal transduction. Studies on *Drosophila melanogaster* indicate that there is at least one receptor (Or83b) with inverted topology (N'_{in} – C'_{out}) in contrast to typical GPCRs. $G\alpha_f$, a G-protein which is not classified into any of the known G-protein families (G_s , G_i/o , $G_{q/11}$, $G_{12/13}$), has also been found in the same organism. The goal of our studies is to create a procedure by which we will detect GPCRs and G-proteins in insects' proteomes, like *D. melanogaster*, *B. mori*, *A. gambiae*, *A. mellifera* and others, using computational methods. With the help of the HMMER software, statistical models (pHMMs) are created, using appropriate training sets for GPCRs and G-proteins. These pHMMs are then used for the detection of GPCRs and G-proteins in all insect proteomes known to date. Other computational tools (GPCRHMM) and pre-constructed statistical models from the PFAM database are also being used. Finally, attempts are being made to detect unique characteristics such as those found in *D. melanogaster* (Or83b and $G\alpha_f$) in other insect proteomes, to understand whether these are specific traits of insects in general or not.

**Η ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΤΗΣ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ
ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΤΥΠΩΝ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ
ΣΩΛΗΝΙΝΗΣ ΣΤΟ ΑΚΡΟΡΡΙΖΟ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ *Triticum turgidum* &
*Arabidopsis thaliana***

Λιβανός Π.¹, Γαλάτης Β.¹, Quader H.², Αποστολάκος Π.¹

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15781, Αθήνα

²Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg, Hamburg, Germany

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS), εκτός από την τοξική τους δράση, λειτουργούν και ως μόρια μεταγωγής μηνύματος που ρυθμίζουν πολλές βιολογικές διεργασίες (Mittler και συν. 2004, *TRENDS Plant Sci.* 9:1360-1385). Πρόσφατα δεδομένα συσχετίζουν την ομοιόσταση των ROS με τους μηχανισμούς που ελέγχουν τη μίτωση και την κυτοκίνηση των ανωτέρων φυτών (Λιβανός και συν. 2009, *Πρακτικά 11^{ου} συνεδρίου ΕΒΕ*, Αθήνα, σ. 110). Η μελέτη διαιρούμενων κυττάρων, μετά από ανοσοφθορισμό σωληνίνης, έδειξε ότι η διατάραξη της ομοιόστασης των ROS επάγει τη δημιουργία άτυπων συστημάτων πολυμερών σωληνίνης. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε στα ακρόρριζα των φυτών *Triticum turgidum* και *Arabidopsis thaliana* η λεπτή δομή των άτυπων πολυμερών σωληνίνης, που δημιουργούνται μετά τη διατάραξη της ομοιόστασης των ROS. Διαπιστώθηκε ότι η μείωση των επιπέδων των ROS οδηγεί στη καταστροφή των μικροσωληνίσκων και επάγει τη δημιουργία μακροσωληνίσκων, δηλαδή πολυμερών σωληνίνης με διάμετρο μεγαλύτερη από 25 nm. Είναι ενδιαφέρον ότι μακροσωληνίσκοι παρατηρήθηκαν και σε κύτταρα του *rhd2* μεταλλάγματος του *A. thaliana*, τα οποία στερούνται της λειτουργίας μιας NADPH οξειδάσης της AtRBOHC και εμφανίζουν μειωμένα επίπεδα ROS. Σε όλες τις περιπτώσεις οι περισσότεροι μακροσωληνίσκοι έχουν διάμετρο 28-32 nm. Η επαγωγή οξειδωτικής καταπόνησης προκαλεί επίσης αποπολυμερισμό των μικροσωληνίσκων, αλλά οδηγεί στη δημιουργία παρακρυστάλλων σωληνίνης. Αρχικά σχηματίζεται ένα δίκτυο από άμορφο ηλεκτρονιόπυκνο υλικό, το οποίο στη συνέχεια οργανώνεται σε παρακρυστάλλους. Η ανοσοεντόπιση σωληνίνης στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο με τη μέθοδο του ανοσοχρυσού επιβεβαίωσε ότι οι μακροσωληνίσκοι, το άμορφο υλικό και οι παρακρύσταλλοι, περιέχουν ή αποτελούνται από σωληνίνη. Η δημιουργία άτυπων πολυμερών σωληνίνης έχει διαπιστωθεί και σε άλλες περιπτώσεις καταπόνησης (Komis και συν. 2006, *New Phytol.* 171:737-750) και φαίνεται ότι αντιπροσωπεύει κοινή προσαρμογή των κυττάρων σε συνθήκες καταπόνησης. Πιθανόν, η συγκρότηση ανθεκτικών πολυμερών αντιπροσωπεύει ένα τρόπο προστασίας της σωληνίνης μέχρις ότου επιτευχθεί αποκατάσταση της ομοιόστασης των επιπέδων των ROS.

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

**DISTURBANCE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES OMEOSTASIS
INDUCES THE FORMATION OF ATYPICAL TUBULIN OLYMERS
IN THE ROOT-TIP OF *Triticum turgidum* and *Arabidopsis thaliana***

Livanos P.¹, Galatis B.¹, Quader H.², Apostolakos P.¹

¹Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781, Athens

²Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg, Hamburg, Germany

Although the reactive oxygen species (ROS) are toxic byproducts of aerobic metabolism, they function as signaling molecules in various biological processes (Mittler et al. 2004, *TRENDS Plant Sci.* 9:1360-1385). Recent data showed ROS implication in the organization of mitotic and cytokinetic apparatus in higher plants (Livanos et al. 2009, *Proceedings of the 11th EBE conference*, p. 110). Using tubulin immunolabeling, it was found that under both high and low ROS levels the dividing root-tip cells of *Triticum turgidum* form atypical tubulin polymers. The present study attempts to examine the fine structure of the atypical tubulin polymers that are formed in root-tip cells of *Triticum turgidum* and *Arabidopsis thaliana* after the disturbance of ROS homeostasis. Under low ROS levels, the majority of microtubules were disintegrated. They were replaced by macrotubules, i.e. tubular structures exhibiting outer diameter much more than 25 nm. Interestingly, root cells of the *rh2 A. thaliana* mutant lacking the function of the NADPH oxidase AtRBOHC, presented significant amounts of macrotubules. In all cases, the majority of macrotubules displayed an outer diameter varying between 28 to 32 nm. Oxidative stress also induced microtubule disorganization. However, in this case, tubulin paracrystals were assembled. Cells experiencing oxidative stress initially presented strands consisting of amorphous material, from which paracrystals were assembled. Tubulin immunogold labeling confirmed that in all cases the atypical polymers mentioned above contained or consisted of tubulin. Since macrotubule and tubulin paracrystals were found in cases, where the cells experienced other types of stress (e.g. Komis et al 2006, *New Phytol.* 171:737-750), it might be suggested that the formation of atypical tubulin polymers is a common adaptation of plant cells against stress. Probably, the cells assembling these resistant atypical polymers may protect tubulin until ROS homeostasis is restored.

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

**ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ
ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ *AZADIRACHTA INDICA*,
PIMPINELLA ANISUM ΚΑΙ *CARUM CARVI***

**Λιούλια Ε.¹, Κουτσουνίκου Χ.¹, Παντελέρη Ρ.¹, Μαδεμτζόγλου Δ.¹,
Κωνσταντοπούλου Μ.² και Μαυραγάνη-Τσιπιδου Π.¹**

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη.

² Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, 153 10 Αγ. Παρασκευή Αττικής

Η παρούσα μελέτη εντάσσεται σε ένα γενικότερο πλαίσιο ελέγχου φυσικών ουσιών με εγνωσμένη ή πιθανολογούμενη εντομοκτόνο δράση (πράσινη «Γεωργία») για πιθανές τοξικές και γενοτοξικές δράσεις. Σε αυτή την εργασία, χρησιμοποιήθηκαν τα αιθέρια έλαια των φυτών *Azadirachta indica* (neem oil), *Pimpinella anisum* και *Carum carvi*, που βρίσκουν εφαρμογή στην ολοκληρωμένη διαχείριση πληθυσμών επιβλαβών εντόμων, στη φαρμακοβιομηχανία, στην ιατρική αλλά και στη χημεία τροφίμων.

Για τον έλεγχο της εντομοκτόνου δράσης των ουσιών αυτών έγιναν επιδράσεις σε ενήλικα άτομα και σε προνύμφες *Drosophila melanogaster*, σε συγκεντρώσεις 0,05-15,00 $\mu\text{L/mL}$, και υπολογίστηκε η τιμή LD_{50} (Lethal Dose 50%, κρίσιμη συγκέντρωση που προκαλεί τον θάνατο στο 50% των πειραματοζώων). Καταγράφηκε έντονη εντομοκτόνος δράση των αιθερίων ελαίων των φυτών *P. anisum* (LD_{50} 0,04-1,07 $\mu\text{L/ml}$) και *C. carvi* (LD_{50} 0,70-2,55 $\mu\text{L/ml}$), σε αντίθεση με εκείνο του φυτού *A. indica* (LD_{50} 9,70-37,40 $\mu\text{L/ml}$). Καθώς το τελευταίο κατέχει σημαντική θέση στην αγορά των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, η διαπίστωση μεγαλύτερης αποτελεσματικότητας εντομοκτόνου δράσης των άλλων δύο φυσικών προϊόντων αποκτά βαρύνουσα σημασία. Για την μελέτη της μεταλλαξιγόνου δράσης εφαρμόστηκε η δοκιμή SMART (Somatic Mutation And Recombination Test), κατά την οποία με τη χρήση των γενετικών δεικτών *mwh* και *flr* της *D. melanogaster* γίνεται δυνατή η αναγνώριση μεταλλάξεων. Πραγματοποιήθηκαν επιδράσεις σε προνύμφες σε συγκεντρώσεις 0,05-15,00 $\mu\text{L/mL}$. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι κανένα από τα τρία αιθέρια έλαια δεν επάγει τον σχηματισμό μεταλλάξεων. Το γεγονός αυτό ενθαρρύνει τη συνέχιση των πειραμάτων σε έντομα οικονομικής σημασίας, στο πλαίσιο της μείωσης των συνθετικών εντομοκτόνων, της βελτίωσης της ποιότητας των γεωργικών προϊόντων και της ελάττωσης της ρύπανσης του περιβάλλοντος.

**EVALUATION OF THE INSECTICIDAL AND GENOTOXIC
ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OILS OF THE PLANTS
AZADIRACHTA INDICA, *PIMPINELLA ANISUM* AND
*CARUM CARVI***

**Lioulia E.¹, Koutsonikou C.¹, Panteleri R.¹, Mademtoglou D¹., Konstantopoulou
M.² and Mavragani-Tsipidou P.¹**

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,
Faculty of Sciences, Aristotle University, 541 24 Thessaloniki

²Institute of Biology, National Center for Scientific Research "Demokritos", 153 10
Ag.Paraskevi Attiki

The present study is part of a general project screening the toxic and genotoxic activity of widely used substances. The essential oils of the plants *Azadirachta indica* (neem oil), *Pimpinella anisum* and *Carum carvi* meet a broad range of applications in insect management, pharmaceutical industry, medicine and food chemistry. Their toxic and genotoxic potential were studied by using *Drosophila melanogaster*, one of the major eukaryotic model organisms for *in vivo* toxicity studies.

In order to detect the insecticidal activity, adults and larvae of *D.melanogaster* were exposed to the essential oils at concentrations of 0.05 to 15.00 µL/mL. The toxicity was estimated by calculating the LD₅₀ value (Lethal Dose 50%), which is the crucial compound's dose that causes death to 50% of the exposed larvae or adults. A strong insecticidal effect was demonstrated by the essential oils of *P.anisum* (LD₅₀ 0,04-1,07 µL/ml) and *C.carvi* (LD₅₀ 0,70-2,55 µL/ml), while the essential oil of *A.indica* was not found to exert strong insecticidal effects (LD₅₀ 9,7-30,9 µL/ml).

The evaluation of their genotoxic potential was assessed by applying the Somatic Mutation And Recombination Test (SMART), a well known eukaryotic *in vivo* assay, which not only detects the different kinds of mutational events but also allows the detection of mitotic recombination. The genetic markers *mwh* and *flr*, that were used, made it possible to discern the formation of mutant clones on the wing blade of the trans-heterozygous (*mwh/flr*) female flies. Larvae were exposed to the essential oils at concentrations of 0.05 to 15.00 µL/mL. None of the tested essential oils was found to induce mutational events or mitotic recombination.

ΠΕΠΤΙΔΙΑ-ΑΝΑΛΟΓΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ *ZONA PELLUCIDA* ΤΩΝ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ, ΜΕ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΕΝΕΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Λούρος, Ν.Ν., Οικονομίδου, Β.Α και Χαμόδρακας Σ.Ι

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

Η *zona pellucida* (ZP), γνωστή επίσης και ως διαφανής ζώνη (στα λατινικά *pellucida* σημαίνει διαφανής), είναι μια γλυκοπρωτεϊνικής φύσεως δομή, που περιβάλλει τα ωκύτταρα όλων των θηλαστικών και ‘παίζει’ σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες της ωογένεσης και γονιμοποίησης. Η πορώδης αυτή δομή στα θηλαστικά αποτελείται από 3 πρωτεΐνες (ZP1-ZP3). Σε ορισμένα θηλαστικά, έχει βρεθεί μία επιπλέον πρωτεΐνη, η ZP4, παρόμοια με την ZP1. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν μια χαρακτηριστική αυτοτελή δομική περιοχή κοντά στο C-τελικό τους άκρο. Το δομικό αυτό στοιχείο είναι γνωστό ως ZP domain και εμφανίζεται σε μια οικογένεια εξωκυτταρικών πρωτεϊνών (τις λεγόμενες ZP domain πρωτεΐνες), με ποικίλες λειτουργίες. Αποτελείται από ~260 αμινοξικά κατάλοιπα με 8 συντηρημένα κατάλοιπα κυστεΐνης (Cys), που σχηματίζουν ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς (στα θηλαστικά, οι πρωτεΐνες ZP1-2 έχουν 10 κατάλοιπα Cys). Χωρίζεται σε ZP-N και ZP-C ‘υπο’-δομικές αυτοτελείς περιοχές, από μια περιοχή ευαίσθητη σε πρωτεάσες. Η ZP-N, είναι υπεύθυνη για τον πολυμερισμό, ενώ η δεύτερη, ZP-C, σχετίζεται με την λειτουργία της πρωτεΐνης. Με τη μελέτη της ‘λυμένης’ κρυσταλλογραφικά δομής της ZP-N και σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον αλγόριθμο πρόγνωσης “αμυλοειδογενών καθοριστών” “AMYLPRD”, που αναπτύχθηκε στο εργαστήριό μας, βρέθηκαν ορισμένες πιθανές αμυλοειδογενείς περιοχές, που αντιστοιχούν στην ZP-N της ZP1 του ανθρώπου. Δύο από τα προγνωσθέντα ως ‘πιθανώς αμυλοειδογενή’ πεπτίδια συντέθηκαν. Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα, που υποστηρίζουν πως και τα δύο πεπτίδια “διπλώνουν” και αυτοσυγκροτούνται σε ινίδια με αμυλοειδογενή χαρακτηριστικά, προτείνεται ένα μοντέλο που υποδεικνύει πως πραγματοποιείται ο πολυμερισμός των ZP πρωτεϊνών για τη δημιουργία της *zona pellucida*. Τα αποτελέσματα αυτά πιθανότατα, υποδεικνύουν πως εκτός από το χόριο των ωοθυλακίων των μεταξοσκωλήκων και των ιχθύων, και η *zona pellucida* των ωοκυττάρων των θηλαστικών είναι ένα φυσικό προστατευτικό αμυλοειδές.

PEPTIDE-ANALOGUES OF MAMMALIAN *ZONA PELLUCIDA* PROTEINS WITH AMYLOIDOGENIC PROPERTIES

Louros, N.N., Iconomidou, V.A. and Hamodrakas, S.J.

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

All mammalian oocytes are enclosed by a proteinaceous coat, called *zona pellucida* (ZP) that protects the egg until it is fully developed and implanted in the uterus and is also bound to play a crucial role during fertilization. This extracellular porous matrix is a filamentous structure, composed of 3 glycoproteins (ZP1-3). A fourth protein, called ZP4, similar to ZP1, has also been found in some mammalian species (such as human, porcine etc.). These proteins share a conserved domain at their C-terminal end. This common structural element (domain), present in a family of extracellular proteins with various functions and from a wide variety of organisms (ZP domain proteins), is known as the ZP domain. It consists of ~260 amino acids with 8 conserved cysteine (Cys) residues that form intramolecular disulfide bonds (mammalian proteins ZP1-2 have 10 conserved cysteine residues) and is divided into two subdomains: the N-terminal region named ZP-N and the C-terminal region known as the ZP-C subdomain. The ZP-N subdomain is responsible for protein polymerization, whereas the ZP-C most probably contributes to the protein's function. Analysis of the solved crystal structure of the ZP-N subdomain and detailed study of the results produced by the "AMYLPRD" algorithm application, an amyloidogenic determinant prediction algorithm developed in our lab, led us to synthesize two peptide-analogues of parts of the human ZP-1 protein sequence, predicted as potential amyloidogenic determinants. Experimental data clearly indicate that these peptides do actually fold and self-assemble into amyloid-like fibrils. Based on these results, a possible model is proposed suggesting how ZP protein polymerization might occur for the formation of *zona pellucida*. This data most probably indicate that *zona pellucida* is a natural protective amyloid, in close analogy to its well-documented counterparts, silkworm and fish chorions.

**ΤΡΕΙΣ ΗΠΕΙΡΟΙ ΔΙΕΚΔΙΚΟΥΝ ΕΝΑ ΑΡΧΙΠΕΛΑΓΟΣ:
Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΕΡΠΕΤΟΠΑΝΙΔΑΣ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ**

Πέτρος Λυμπεράκης

Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Α. Κνωσού 71409

Ηράκλειο. e-mail lyberis@nhmc.uoc.gr

Το Αιγαίο μπορεί να περιγραφεί ως ένα από τα ενεργότερα εργαστήρια της Φύσης. Η σύγχρονη γεωμορφολογία του Αιγαίου είναι το αποτέλεσμα ποικίλων και ακόμη σε εξέλιξη γεωλογικών διεργασιών οι οποίες, σε συνδυασμό με κλιματικές αλλαγές, δημιούργησαν οροσειρές και χιλιάδες νησιά. Στο Αιγαίο όπου συναντώνται τρεις ήπειροι, καταγράφεται ανθρώπινη δραστηριότητα για περισσότερο από 10.000 χρόνια. Η ποικιλότητα της ερπετοπανίδας προσέφερε σε παλαιότερους ερευνητές τη δυνατότητα να περιγράψουν πρότυπα στο Αιγαίο, ιδίως ως το όριο κατανομής ειδών και πανιδικών στοιχείων. Τα πρότυπα που αρχικώς περιγράφηκαν σε αδρή κλίμακα, διαμόρφωσαν το πλαίσιο στο οποίο νέες τεχνικές, προσφέροντας νέα δεδομένα, επέτρεψαν λεπτομερέστερες αναλύσεις. Εδώ, αποτιμούμε και συνθέτουμε τα δεδομένα πρόσφατων εργασιών πάνω στην ερπετοπανίδα του Αιγαίου τονίζοντας το ρόλο των θαλάσσιων φραγμάτων, ιδίως της Μεσαιογαιακής Αύλακας (ΜΑυ). Προτείνουμε τέσσερα βασικά πρότυπα κατανομών (προ-ΜΑυ, μετά-ΜΑυ, νεο-αφιχθέντα και ένα ιδιοσυγκρασιακό) και συζητάμε εξαιρέσεις στα πρότυπα αυτά ώστε να ερμηνεύσουμε την παρατηρούμενη ποικιλότητα. Η διεπιστημονική μελέτη της ταξινομικής επιτρέπει την ερμηνεία της παρατηρούμενης ποικιλότητας. Προσφέρει επιπλέον ισχυρά επιχειρήματα για το πώς η έρευνα πάνω στην ποικιλότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ερμηνείες πέραν των βιολογικών διεργασιών.

**THREE CONTINENTS CLAIMING AN ARCHIPELAGO:
THE EVOLUTION OF AEGEAN'S HERPETOFAUNAL DIVERSITY**

Petros Lymberakis

*Natural History Museum of Crete, University of Crete. Knosou Ave. 71409 Herakleio.
e-mail lyberis@nhmc.uoc.gr*

The area of the Aegean can be described as one of nature's most active laboratories. The contemporary geomorphology of the Aegean is a result of diverse and still ongoing geological events, which coupled with climate changes, have created mountains and thousands of islands. The Aegean bridges three continents, where human activity has been recorded for at least 10,000 years. Herpetofauna diversity offered early researchers the possibility of describing patterns in the Aegean, especially as the distributional limit for several species and faunal elements. The patterns initially described at a rather coarse scale formed the frame on which the application of new techniques opened new views and permitted finer analyses. Here, we assess recent works on the Aegean's herpetofauna, outlining the role of sea barriers, especially the Mid Aegean Trench (MAT). We propose four basic patterns (pre-MAT, post-MAT, newcomers, and that of an outlier) and discuss exceptions to these patterns, to interpret the diversity recorded. The interdisciplinary study of taxonomy helps explaining the observed diversity and provides powerful arguments for how exploring diversity can be used to explain more than biological processes.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΔΥΟ ΝΕΩΝ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΩΝ ΔΟΤΩΝ ΥΔΡΟΘΕΙΟΥ (H_2S)

Μαζαράκη-Αινιάνος Ζ.¹, Ζου Ζ.², Σίδερης Δ.¹, Γιάννης Α.³, Παπαπετρόπουλος Α.⁴

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

²Εργαστήριο «Γ. Λιβανός και Μ. Σίμου», Μονάδα Αυξημένης Φροντίδας και Τομέας Πνευμονολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Ευαγγελισμού

³Ινστιτούτο Οργανικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Λειψίγ, Γερμανία

⁴Εργαστήριο Μοριακής Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πάτρας

Εισαγωγή: Το υδρόθειο (H_2S) είναι ένας διαβιβαστής με πολύ σημαντικούς ρόλους στο καρδιαγγειακό, στο ανοσοποιητικό και το νευρικό σύστημα. Στο καρδιαγγειακό σύστημα το H_2S αυξάνει τον αγγειακό τόνο επιδρώντας στην ενεργότητα των ATP-εξαρτώμενων καναλιών K^+ και στην αύξηση των επιπέδων του cGMP. Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν ο χαρακτηρισμός δύο νέων χημικών ενώσεων που απελευθερώνουν H_2S , τηθειογλυκίνη και τηθειοβαλίνη, καθώς και η αξιολόγηση της επίδρασής τους σε αγγειακά κύτταρα.

Μέθοδος – Αποτελέσματα: Η ποσότητα του H_2S που απελευθερώνεται από τους δότες,θειογλυκίνη καιθειοβαλίνη, μετρήθηκε αρχικά με τη μέθοδο methylene blue. Και οι δύο δότες φάνηκε να απελευθερώνουν πολύ λίγο H_2S με βάση τις μετρήσεις της παραπάνω μεθόδου. Έπειτα χρησιμοποιήσαμε μία μέθοδο φθορισμομετρίας για τη μέτρηση του H_2S που απελευθερώναν οι δύο δότες. Σε αυτή τη διαδικασία ο φθορισμός προκαλούνταν από τηνθειο-bimane που παράγεται από αντίδραση ανάμεσα στο H_2S/HS^- και το διβρωμο-bimane. Ηθειογλυκίνη και ηθειοβαλίνη παράγουν μεγάλες ποσότητες H_2S σε διάλυμα που περιέχει διτανθρακικό νάτριο ($NaHCO_3$) αλλά καμία μετρήσιμη ποσότητα όταν διαλύεται σε νερό ή σε διάλυμα που δεν έχει $NaHCO_3$. Το H_2S που απελευθερώνεται από τις χημικές ενώσεις που μελετήσαμε επιβεβαιώθηκε πειραματικά και με τη χρήση ηλεκτροδίου ειδικού για το H_2S . Ο χρόνος ημιζωής τηςθειογλυκίνης σε PBS που περιέχει 1g/L $NaHCO_3$ ήταν μεγαλύτερος από 24 ώρες όπως υπολογίστηκε από πειράματα με NMR. Η βιολογική δράση τηςθειογλυκίνης και τηςθειοβαλίνης αξιολογήθηκε σε καλλιέργειες λείων μυϊκών κυττάρων αορτής αρουραίου (RASMC) και σε ενδοθηλιακά κύτταρα μικροαγγείων εγκεφάλου ποντικού (bEnd.3). Ηθειογλυκίνη και ηθειοβαλίνη ενισχύουν τη συσσώρευση cGMP στα RASMC. Επιπλέον χρησιμοποιώντας την MTT δοκιμή, παρατηρήσαμε ότι ηθειογλυκίνη ενισχύει κατά τρόπο δόσοεξαρτώμενο τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων bEnd.3.

Συμπέρασμα: Ηθειογλυκίνη και ηθειοβαλίνη είναι δότες H_2S . Η απελευθέρωση H_2S εξαρτάται από το pH και το $NaHCO_3$. Καθώς το H_2S επιδρά στο καρδιαγγειακό σύστημα μειώνοντας την πίεση του αίματος και προστατεύοντας τα κύτταρα του συστήματος αυτού, παράγοντες που απελευθερώνουν H_2S , μπορεί να έχουν θεραπευτική αξία.

Η παρούσα εργασία υποστηρίχτηκε από το Ίδρυμα Θώραξ.

CHARACTERIZATION OF TWO NOVEL, WATER-SOLUBLE HYDROGEN SULFIDE (H₂S) DONORS

Mazaraki-Ainianos Z.¹, Zhou Z.², Sideris D.¹, Giannis A.³, Papapetropoulos A.⁴

¹ *Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens*

² *“G.P. Livanos & M. Simou Laboratories”, Department of Critical Care and Pulmonary Services, University of Athens Medical School, Evangelismos Hospital*

³ *Institut für Organische Chemie, Fakultät für Chemie und Mineralogie, Universität Leipzig, Germany*

⁴ *Laboratory for Molecular Pharmacology, Department of Pharmacy, University of Patras*

Background: Hydrogen sulfide (H₂S) is a naturally occurring gasotransmitter with important roles in the cardiovascular, immune and nervous systems. In the cardiovascular system H₂S regulates vascular tone and growth by affecting the activity of ATP-sensitive K⁺-channels and by increasing cGMP levels. The aim of this study was to characterize two new H₂S releasing compounds, thioglycine and thiovaline, and to evaluate their effects on vascular cells.

Method-result: The amount of H₂S released from the donor compounds was initially measured by the methylene blue method; both compounds released little H₂S as measured by this method. We next used a fluorescence-based assay to detect H₂S release from thioglycine and thiovaline. In this assay, fluorescence is emitted by thiobimane that is produced by a reaction between dibromobimane and H₂S/HS⁻. Thioglycine and thiovaline produced ample amounts of and H₂S (measured as thiobimane) in a buffer containing sodium bicarbonate (NaHCO₃), but not any measurable amounts when dissolved in water or a buffer that lacked NaHCO₃. H₂S release from these compounds was confirmed using an H₂S electrode. The half-life of thioglycine in PBS containing 1g/L NaHCO₃ was greater than 24hr as assessed by studies using NMR. The biological effects of the H₂S donors were evaluated in cultured rat aortic smooth muscle cells (RASMC) and in mouse brain microvascular endothelial cells (bEnd.3). Thioglycine and thiovaline stimulated cGMP accumulation in RASMC. Moreover, using the MTT assay, we observed that thioglycine promoted bEnd.3 cell proliferation in a dose-dependent manner.

Conclusion: Thioglycine and thiovaline are H₂S donors; the H₂S released from these compounds is pH and NaHCO₃-dependent. As H₂S exerts blood pressure-lowering effects and cytoprotective actions in the cardiovascular system, agents that release H₂S might be of therapeutic value.

The study was supported by the Thorax Foundation.

**ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΝΕΩΝ ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ
ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΤΕΡΠΕΝΙΩΝ
ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΠΡΟΣΤΙΘΕΜΕΝΗ ΑΞΙΑ**

*Αντώνιος Μακρής**

INA/CERTH, 6th km Charilaou-Thermi Road, P.O. Box 60361, GR570 01, Thermi,
Thessaloniki, Greece E-mail: antoniosmakris@yahoo.gr

Τα τερπένια αποτελούν μια μεγάλη ομάδα φυσικών προϊόντων που προσελκύουν εμπορικό ενδιαφέρον για τις πολλαπλές τους χρήσεις ως αρώματα, προσθετικά γεύσης, φάρμακα και εναλλακτικά καύσιμα. Μεταξύ αυτών είναι η ταξόλη κι η αρτεμισινίνη, δύο ουσίες που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη, όπως κι η σκλαρεόλη ένα διτερπένιο με ευρεία χρήση στη βιομηχανία αρωμάτων.

Το *S. cerevisiae* προσφέρεται ως ευέλικτο κυτταρικό εργοστάσιο για την παραγωγή τερπενίων φυτικής προέλευσης, καθώς τα βιοσυνθετικά υποστρώματα (GPP, FPP, GGPP) παράγονται φυσιολογικά από το μονοπάτι βιοσύνθεσης στερολών. Ο κύριος στόχος του έργου εστίασε στην ανάπτυξη νέων στελεχών ζύμης που υπερπαράγουν τα απαιτούμενα υποστρώματα. Αυτό έγινε εφικτό με την κατασκευή και ενσωμάτωση ανακυκλώσιμων γενετικών κασετών που επιτρέπουν την απεριόριστη σειριακή ενσωμάτωση στο χρωμόσωμα επιθυμητών τμημάτων (εκκινητές, γονίδια, αλληλουχίες τερματισμού) σε οποιοδήποτε γενετικό τόπο.

Η προσέγγιση αυτή συνδυάστηκε με επιλεγμένες αποκοπές αλληλόμορφων γονιδίων που δρουν ανταγωνιστικά προς το επιθυμητό μονοπάτι βιοσύνθεσης. Τα νέα στελέχη επιδεικνύουν σημαντική αύξηση της παραγωγής μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων χωρίς να παρατηρείται μείωση της σταθερότητας του οργανισμού. Το παρόν έργο εστιάζεται στη διερεύνηση συνδυασμών απώλειας αλληλόμορφων που θα συνεργούν στη μεγιστοποίηση των παραγόμενων υποστρωμάτων, όπως και στη στοχευμένη εξέλιξη των φυτικών ενζύμων ώστε να παράγουν νέα προϊόντα σε αυξημένες ποσότητες.

*To this work contributed: Codruta Ignea, Ivana Cvetkovic, Aggelos Kanellis, Sotirios Kampranis

**DEVELOPMENT OF NEW IMPROVED YEAST STRAINS FOR THE
PRODUCTION OF PLANT TERPENOIDS WITH HIGH ADDED
VALUE.**

Antonios M.Makris*,

*INA/CERTH, 6th km Charilaou-Thermi Road, P.O. Box 60361, GR570 01, Themi,
Thessaloniki, Greece E-mail: antoniosmakris@yahoo.gr*

Terpenoids constitute a large family of natural products, attracting commercial interest for a variety of uses as flavours, fragrances, drugs and alternative fuels. Among them are taxol and artemisinin, two terpenes currently used in clinical practice, and sclareol an industrially important diterpene used by the fragrance industry. *S. cerevisiae* offers a versatile cell factory for the production of plant derived terpenes, as the precursors of terpenoid biosynthesis (GPP, FPP, GGPP) are naturally synthesized by the sterol biosynthetic pathway. The main aim of the work focused on developing new strains of yeast which would be capable of overproducing the substrates required for terpene production. This was achieved by developing and integrating recyclable integration cassettes which enable the unlimited insertion of desirable genetic elements (promoters, genes, termination sequence) at any locus in the yeast genome. This approach was combined with selected single allele deletions which suppress the draining of the precursors to side pathways. The new strains exhibited a many-fold improvement in yield of plant mono- and sesquiterpenoids without any loss in robustness. Current work aims to assess the combinations of allele deletions which synergise to higher precursor levels, and the engineering of selected plant enzymes which would generate new terpene products.

**To this work contributed: Codruta Ignea, Ivana Cvetkovic, Aggelos Kanellis, Sotirios Kampranis*

ΑΥΞΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ROS ΜΕΣΩ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΔΡΟΣΟΦΙΛΑ

Μαντά Α.Κ., Τσακίρη Ε.Ν., Τρουγκάκος Ι. Π., Α.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολη
Ιλίσια ΤΚ 15784

Οι αντικρουόμενες απόψεις για τις επιπτώσεις της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (ΗΜΑ) στην υγεία έχουν εντατικοποιήσει τις επιστημονικές έρευνες. Μελέτες του εργαστηρίου μας με διαφορετικές πηγές ακτινοβολίας (κινητά τηλέφωνα, ασύρματα τηλέφωνα, ασύρματα δίκτυα, κ.λπ.) έχουν καταδείξει επιδράσεις σε μυς *Mus musculus* καθώς και σε έντομα του γένους *Δροσόφιλα*, που αποτέλεσε και το πειραματικό μοντέλο αυτής της εργασίας. Οι επιπτώσεις που έχουν διαπιστωθεί είναι σημαντικές τόσο στον κύκλο αναπαραγωγής του εντόμου όσο και στη διαδικασία ωογένεσης. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών επίδρασης της ΗΜΑ ασύρματου τηλεφώνου, μέσω ανίχνευσης πιθανών αλλαγών στα επίπεδα των ελευθέρων ριζών και συγκεκριμένα των «ενεργών ριζών οξυγόνου» (ROS-reactive oxygen species). Για το σκοπό αυτό νεοεκδυθέντα έντομα υποβλήθηκαν σε συνεχή ακτινοβολία χαμηλής έντασης 24 και 96 ωρών από βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT, 1890 MHz με μέση τιμή έντασης ηλεκτρικού πεδίου $E = 1,2 \text{ V/m}$, τιμή «ρυθμού ειδικής απορρόφησης» $SAR = 1 \text{ mW/kg}$, σύμφωνα με τη σχέση $SAR = \sigma E^2 / \rho$, εάν $\sigma = 0,8 \text{ S/m}$ και $\rho = 1040 \text{ kg/m}^3$. Στη συνέχεια ακολούθησε ανίχνευση των επιπέδων ROS, μέσω φθορισμομετρίας, τόσο στις ωοθήκες όσο και στα σώματα αρσενικών και θηλυκών εντόμων ηλικίας 4 ημερών. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων ROS στις ωοθήκες και τα σώματα των θηλυκών ατόμων που ακτινοβολήθηκαν τόσο για 24 ώρες όσο και για 96 ώρες, και σε μικρότερο βαθμό στα σώματα των αρσενικών ατόμων.

Κατά συνέπεια, συμπεραίνεται ότι το σύστημα της ωογένεσης είναι ιδιαίτερα ευάλωτο στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών μετά από επίδραση ακτινοβολίας, κάτι που ίσως εξηγεί και την αύξηση στα επίπεδα προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Αξιοσημείωτο είναι και το γεγονός ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών που παρατηρήθηκε μετά από 96 ώρες ακτινοβολίας είναι μικρότερη συγκρινόμενη με την αντίστοιχη των 24 ωρών, κάτι το οποίο μπορεί να σημαίνει πως η παρατεταμένη ακτινοβολία οδηγεί σε ανάπτυξη μηχανισμών προσαρμογής.

ROS INCREASE IN OVARIES AND WHOLE BODIES OF *D. melanogaster* AFTER ELECTROMAGNETIC RADIATION EXPOSURE

Manta A. K., Tsakiri E. N., Trougakos I. P. and L. H. Margaritis

*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopoli Ilisia 15784*

The worldwide conflict about the possible health hazards of non ionizing electromagnetic radiation has triggered an extensive research to take place. Our research group is applying various sources of radiation such as, mobile phones, wireless DECT telephones, wi-fi, e.t.c. on the dipteran insect *Drosophila melanogaster* and recently on the mouse *Mus musculus*. A decrease of reproductive capacity and an increase in the number of apoptotic follicles, physiologically created within the ovaries have been found.

The aim of this study was to clarify the mechanism by which non ionizing electromagnetic radiation provokes those effects in *D. melanogaster* and more specifically has focused on the detection of reactive oxygen species (ROS) that occur naturally and whether they are increased upon exposure to wireless DECT base radiation as has been found in other studies using mobile phones.

We used two groups of insects: In the first group 3 days old female and male flies were exposed continuously for 24 hrs. In the second group same number of flies was exposed for 96 hrs, starting a few hours after eclosion. Exposure was accomplished with wireless DECT base (1890 MHz continuous emission) within a Faraday cage. Average electrical field within the cage was $E=1,2$ V/m, calculated $SAR = \sigma E^2/\rho = 1$ mW/kg, if $\sigma=0,8$ S/m and $\rho=1040$ kg/m³. At the end of the exposure the flies were etherized, ovaries removed and three types of samples were prepared: ovaries, female bodies and male bodies. For each group suitable sham exposed and control flies were used. A total of 10 flies and 15 ovaries, per sample, were collected and processed for fluorometry and ROS detection. Experiments were repeated three times and the samples were duplicates. It was found that statistically significant ($p<0,05$) ROS increase was evident in all exposed samples and more in the ovaries of the one day exposed flies. This implies that recovery mechanisms operate so that the biological system tries to compensate for the deleterious effects of ROS by decreasing their levels. Work is in progress to explore the details of these effects of radiation.

**ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΕΝΟΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΡΕΤΡΟ-
ΤΡΑΝΣΠΟΖΟΝΙΟΥ SVA: ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΕΓΟΝΟΤΩΝ
ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΣΕΩΝ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ HeLa**

**Στεφανία Μάντζιου¹, Γεώργιος Μαρκόπουλος¹, Γεώργιος Βαρθολομάτος²,
Δημήτριος Νουτσόπουλος³ & Θεόδωρος Τζαβάρας¹.**

¹. Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ².
Αιματολογικό Εργαστήριο, Μονάδα Μοριακής Βιολογίας, Π.Π.Ν.Ι., ³. Εργαστήριο
Κυτταρικής και Μοριακής Νευροανοσολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών &
Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Τα ρετροτρανσποζόνια SVA (SINE-R–VNTR–Alu) αποτελούν την εξελικτικά νεότερη και μοναδική οικογένεια σύνθετων μη κωδικοποιών ρετρομεταθετών στοιχείων στο ανθρώπινο γένωμα, απαντώντας σε 2762 αντίγραφα. Θεωρείται ότι επάγουν γενωμική αστάθεια προκαλώντας γενετικές ασθένειες (πχ. λευχαιμία, νευροϊνωμάτωση) είτε μέσω άνισου ομόλογου ανασυνδυασμού είτε μέσω ενθέσεων. Η RNA έκφρασή τους λαμβάνει χώρα σε άωρα ωοκύτταρα, λεμφοκύτταρα και καρκινικά κύτταρα, ενώ παραμένει άγνωστη μέχρι σήμερα η ικανότητά τους προς ρετρομετάθεση.

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η ικανότητα προς ρετρομετάθεση ενός ρετροτρανσποζονίου SVA σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα HeLa. Κατασκευάσαμε ένα ανασυνδυασμένο ρετροτρανσποζόνιο SVA, απομονωμένο από DNA λευχαιμικών Β-λεμφοκυττάρων, σημασμένο με ειδική κασσέττα ανίχνευσης της ρετρομετάθεσης μέσω έκφρασης της φθορισμογόνου πρωτεΐνης EGFP (SVA/EGFP-INT). Μετά από διαμόλυνση κυττάρων HeLa με την ανασυνδυασμένη κατασκευή, απομονώσαμε μονήρεις όπως επίσης και μαζικούς κλώνους. Γεγονότα ρετρομετάθεσης ανιχνεύθηκαν σε αμφοτερές τις περιπτώσεις των κυτταρικών πληθυσμών μέσω EGFP-θετικών κυττάρων με μικροσκοπία UV, τα οποία περαιτέρω πιστοποιήθηκαν σε γενωμικό επίπεδο με ανάλυση PCR. Η συχνότητα ρετρομεταθέσεων μετρήθηκε με FACS και βρέθηκε να κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα από 500-4.800× φορές μεγαλύτερη της αντίστοιχης φυσικής συχνότητας ρετρομετάθεσης.

Τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν για πρώτη φορά ότι τα ρετροτρανσποζόνια SVA είναι ρετρομεταθετικά ενεργά και ότι πολλαπλασιαστικά ενεργά κύτταρα, όπως τα καρκινικά, παρέχουν τις προϋποθέσεις για την τέλεση γεγονότων ρετρομετάθεσής τους.

**CONSTRUCTION OF A RECOMBINANT HUMAN RETRO-
TRANSPOSON SVA: DETECTION OF RETROTRANSPOSITION
EVENTS IN HeLa CELLS**

Stefania Mantziou¹, Georgios Markopoulos¹, Georgios Vartholomatos², Dimitrios Noutsopoulos³ & Theodore Tzavaras¹.

1. Laboratory of General Biology, Medical School, University of Ioannina, 2. Hematology Laboratory, Molecular Biology Unit, University Hospital of Ioannina, 3. Laboratory of Cellular and Molecular Neuroimmunology, Department of Biological Applications and Technology, University of Ioannina

SVA retrotransposons (SINE-R–VNTR–Alu) are the unique, evolutionary youngest human retrotransposon family, representing composite non-coding transposable elements of the human genome and are present in 2762 copies. It is proposed that they induce genomic instability causing several genetic diseases (i.e. leukemia, neurofibromatosis) either by non-allelic homologous recombination or through genomic insertions. Their transcripts are detected in oocytes, lymphocytes and cancer cell lines. However nothing is known about their retrotransposition potential.

In this study, we investigated the ability of SVAs to generate retrotransposition events in human cancer HeLa cells. An SVA retrotransposon isolated from leukemic B-lymphocytes DNA was tagged with a retrotransposition cassette bearing an enhanced green fluorescent protein (EGFP) gene and the recombinant construct SVA/EGFP-INT was used for detection of retrotransposition events. HeLa cells were transfected with the recombinant construct and single clones as well as massive ones were isolated. Retrotransposition events were detected in both cell clone populations by UV microscopy, through EGFP-positive cells, further confirmed at the genomic level using PCR analysis. Retrotransposition frequencies were measured using FACS and found at high levels from 500-4.800× fold comparing to the natural retrotransposition frequency.

Our data demonstrate for the first time that SVA retrotransposons are retrotransposition-competent and proliferation-active cells such as cancer cells, provide a cellular environment for generation of SVA retrotransposition events.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΤΟΥ ZEBRAFISH ΜΕΣΩ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Μαντζώρου Δήμητρα, Λιάσκο Ρωμάν, Λεονάρδος Ιωάννης Δ.
Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα,
email: ileonard@cc.uoi.gr

Το zebrafish, (*Danio rerio*), είναι ένα τροπικό ψάρι των εσωτερικών υδάτων, το οποίο ανήκει στην οικογένεια Cyprinidae της τάξης Cyprinoformes. Αποτελεί ένα δημοφιλές είδος ενυδρείων και ένα σημαντικό πρότυπο πειραματόζωο. Ο μεταβολικός ρυθμός του μελετήθηκε μέσω του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος μέτρησης του BOD (Βιοχημικώς απαιτούμενο οξυγόνο), η οποία βασίζεται στη διαφορά πίεσης που προκύπτει από την κατανάλωση του διαλυμένου οξυγόνου με ταυτόχρονη δέσμευση του CO₂ σε μια ερμητικά κλειστή φιάλη που περιέχει το δείγμα. Ο σκοπός της εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης του σωματικού μεγέθους, του φύλου και της θερμοκρασίας στο μεταβολικό ρυθμό του zebrafish. Τα ψάρια χωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες μεγέθους, (μικρά, μεσαία, και μεγάλα), με βάση το φύλο (αρσενικά, θηλυκά), ενώ η κατανάλωση οξυγόνου μελετήθηκε σε πέντε διαφορετικές τιμές θερμοκρασίας (20°C, 24°C, 28°C, 32°C και 35°C). Ο ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου υπολογίστηκε για όλους τους συνδυασμούς των ανωτέρω παραγόντων. Η χρήση του Γενικού Γραμμικού Μοντέλου (GLM) έδειξε ότι ο ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου ανά μονάδα μάζας επηρεάζεται σημαντικά από το μέγεθος του ιχθύος ($F=388$, $P=0.000$), το φύλο ($F=6471.54$, $P=0.000$) και τη θερμοκρασία ($F=3149.666$, $P=0.000$). Φαίνεται ότι τα ψάρια καταναλώνουν περισσότερο οξυγόνο στις μεγαλύτερες τιμές θερμοκρασίας, τα αρσενικά ψάρια καταναλώνουν περισσότερο οξυγόνο ανά μονάδα μάζας σε σχέση με τα θηλυκά, ενώ τα μεγάλα άτομα έχουν μικρότερο ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου ανά μονάδα μάζας σε σχέση με τα μικρότερα ψάρια.

STUDY OF ZEBRAFISH'S METABOLIC RATE BY MEASURING THE OXYGEN CONSUMPTION

Mantzorou Dimitra, Liasko Roman, Leonardos Ioannis D.

Laboratory of Zoology, Biological Applications and Technology Dept., University of Ioannina,

email: ileonard@cc.uoi.gr

Zebrafish, *Danio rerio*, is a tropical freshwater fish belonging to the family of Cyprinidae in the order Cypriniformes. It is a popular aquarium species and a significant animal model. Its metabolic rate was studied by the rate of oxygen consumption. The method of measuring BOD (Biochemical oxygen demand) was used, based on pressure difference resulting from the consumption of dissolved oxygen with simultaneous capture of CO₂ in a tightly sealed bottle containing the sample. The purpose of this study was to investigate the effect of body size, sex and temperature on metabolic rate in zebrafish. The fish were grouped into three size categories (small, medium and large), by sex (male, female), while oxygen consumption was studied at five different temperatures (20°C, 24°C, 28°C, 32°C και 35°C). The rate of oxygen consumption was calculated for all combinations of these factors. The use of General Linear Model (GLM) showed that the rate of oxygen consumption per unit mass is significantly influenced by the size of fish ($F = 388$, $P = 0.000$), sex ($F = 6471.54$, $P = 0.000$) and temperature ($F = 3149.666$, $P = 0.000$). It seems that fish consume more oxygen at higher temperatures, the male fish consume more oxygen per unit mass compared with females, while larger fish have lower oxygen consumption rate per unit mass than smaller fish.

**ΦΑΡΜΑΚΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ
ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *TNFα* ΚΑΙ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΝΤΙ-TNF ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΨΩΡΙΑΣΗ ΣΤΟΝ
ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

***Ε.Μ. Μανώλικά¹, Γ. Βασιλόπουλος¹, Ε. Ζαφειρίου², Θ. Σαραφίδου¹, Β. Μπαγιάτης¹,
Α. Πατσατσή³, Δ. Σωτηριάδης³, Σ. Κρασάγκη-Κρύγκερ⁴, Α. Τόσκα⁴, Α.Β.
Ρουσάκη-Σούλτσε², Ζ. Μαμούρης¹***

¹Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ²Δερματολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ³Δερματολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Α.Π.Θ., ⁴Δερματολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου, Κρήτη

Η ψωρίαση είναι μια χρόνια, φλεγμονώδης δερματοπάθεια που προσβάλλει περίπου το 1-3% του πληθυσμού παγκοσμίως με σοβαρές κοινωνικο-οικονομικές επιπτώσεις. Την τελευταία δεκαετία, η εισαγωγή των βιολογικών αναστολέων του TNF (Infliximab, Etanercept, Adalimumab) έχουν επιφέρει επανάσταση στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας των ασθενών. Ωστόσο, τα κλινικά δεδομένα δείχνουν ότι περίπου 60-80% των ασθενών ανταποκρίνονται στη θεραπεία. Ο σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη συσχέτισης γνωστών πολυμορφισμών στον υποκινητή του γονιδίου *TNFα* (G-238A, G-308A, C-857T) και του υποδοχέα του *TNFR2* (T676G), με την κλινική ανταπόκριση των ασθενών με ψωρίαση στη θεραπεία με βιολογικούς παράγοντες, στον ελληνικό πληθυσμό. Συνολικά μελετήθηκαν 80 ασθενείς με ψωρίαση, οι οποίοι υπεβλήθησαν σε θεραπεία με παράγοντες αντι-TNF για τουλάχιστον 6 μήνες. Η γονοτύπηση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο PCR-RFLP. Υπήρξε στατιστικά σημαντική αύξηση της συχνότητας του συχνού αλληλομόρφου των πολυμορφισμών *TNFα* C-857T και *TNFR2* T-676G στους ανταποκριθέντες ασθενείς (PASI>75%), σε σχέση με τους μη ανταποκριθέντες (PASI≤50%) στη θεραπεία. Επιπρόσθετα, όταν οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν βάσει συν-νοσηρότητας, κανένας πολυμορφισμός δεν έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με ανταπόκριση στην θεραπεία. Η παρούσα μελέτη υποδεικνύει μια εξαιρετικά σημαντική συσχέτιση των πολυμορφισμών *TNFα* C-857T και *TNFR2* T-676G με τη θετική ανταπόκριση στη θεραπεία με Etanercept στους 6 μήνες.

**PHARMACOGENETIC ANALYSIS OF TNF α AND TNFRII
POLYMORPHISMS AND PREDICTION TO RESPONSE TO ANTI-TNF
THERAPY IN PSORIASIS PATIENTS IN THE GREEK POPULATION**

Marilena Manolika¹, Yiannis Vasilopoulos¹, Efterpi Zafeiriou², Theologia Sarafidou¹, Vasilis Bagiatas¹, Sabine Krüger-Krasagaki³, Androniki Tosca³, Aikaterini Patsatsi⁴, Dimitris Sotiriadis⁴, Angeliki Roussaki-Schulze², Zissis Mamuris¹

¹Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Greece;

²Department of Dermatology, University General Hospital Larissa, University of Thessaly, Greece; ³Department of Dermatology, University Hospital of Heraklion, Greece; ⁴Second Dermatologic Clinic, Medical School, Aristotle University,

Papageorgiou Hospital, Thessaloniki, Greece

Psoriasis is a chronic inflammatory disorder of the skin affecting approximately 125 million people worldwide. Recently, the introduction of tumour necrosis factor (TNF) antagonists, including Etanercept (Enbrel®, Pfizer), Infliximab (Remicade®, MSD) and Adalimumab (Humira®, Abbott), have revolutionized the therapeutic strategy against psoriasis. However, efficiency varies significantly among patients, depending also on the type of anti-TNF used. Hence, the objective of the present study was to investigate the possible influence of tumor necrosis factor- α (TNF α) and TNF α receptor II (TNFRII) gene polymorphisms on anti-TNF- α treatment responsiveness, in psoriasis patients. A Greek multi-centre collaboration was established to recruit 80 patients with psoriasis treated with anti-TNF drugs. TNF α g.-238G>A, g.-308G>A, g.-857C>T and TNFRII c.676T>G polymorphisms were genotyped by PCR-RFLP assays. Single-SNP, haplotype and stratification by comorbidity status analyses were performed in predicting response to treatment by 6 months. Sixty-three patients (78.8%) were defined as responders and 17 patients (21.2%) were defined as non-responders. Carriage of TNF α g.-857C and TNFRII c.676T alleles were associated with positive response to drug treatment in patients treated with Enbrel ($P=0.002$ and $P=0.001$, respectively). When patients were stratified by comorbidity status, none of the genotyped SNPs was alone associated with responsiveness to any type of drug treatment. This study demonstrates a strong association between genetic markers and positive response to drug treatment (Enbrel).

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΜΕ ΤΡΕΙΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ

*Γ. Μαραβελής, Π. Τσιώλη, Σ. Σακελλαρίου, Ζ. Λιακούλη,
Π. Κορκολοπούλου, Ι. Παπασιδέρη, Ε. Πατσούρης, Α. Σαέττα..
Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών*

Εισαγωγή: Τα γλοιώματα είναι οι πιο συνηθισμένοι όγκοι του εγκεφάλου με ποσοστό 80%. Σημαντικό ρόλο παίζει η μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου MGMT. Αυτό είναι ένα επιγενετικό φαινόμενο που σχετίζεται με την καταλληλότερη επιλογή θεραπευτικής προσέγγισης, όπως οι αλκυλιωτικοί παράγοντες. **Σκοπός:** Η συγκριτική μελέτη τριών διαφορετικών μεθόδων αναζήτησης της μεθυλίωσης του υποκινητή του MGMT, σχετικά με την ακρίβεια και ευαισθησία τους. **Υλικά και μέθοδοι:** Ελέγχθηκαν 25 δείγματα εγκεφάλου με τις μεθόδους MSP (Methylation Specific PCR) και επιβεβαίωση με αλληλούχιση, MS-HRM (Methylation Sensitive-High Resolution Melting) Analysis και Πυροαλληλούχιση (Pyrosequencing). Με την κάθε μέθοδο έγινε έλεγχος διαφορετικού αριθμού CpGs, δηλαδή μελετήθηκαν 8 CpGs με την MSP, 16 CpGs με την MS-HRMA και 10 CpGs με την Πυροαλληλούχιση. **Αποτελέσματα:** Παρατηρήθηκε μεθυλίωση του υποκινητή του MGMT σε 14 από τα 19 δείγματα με την MSP. Στη MS-HRMA 12 δείγματα από τα 22 ήταν θετικά για μεθυλίωση, ενώ η πυροαλληλούχιση κατέδειξε υψηλή μεθυλίωση σε 4 ασθενείς, μέτρια μεθυλίωση σε 3 και χαμηλή μεθυλίωση σε 12 από τους 19 ασθενείς. **Συμπεράσματα:** Παρατηρήθηκε διαφορετική ακρίβεια των τριών μεθόδων που εφαρμόστηκαν. Σχετικά με την MSP προτείνεται η παράλληλη εφαρμογή δεύτερης μεθόδου, της MS-HRMA για επιβεβαίωση της θετικότητας των περιστατικών. Πιο ακριβής μέθοδος φαίνεται να είναι η Πυροαλληλούχιση, αν και τα ποσοτικά αποτελέσματα που δίνει δεν μπορούν να αξιοποιηθούν επί του παρόντος στη θεραπευτική προσέγγιση του ασθενή.

MGMT METHYLATION ANALYSIS OF HUMAN GLIOMAS: COMPARATIVE STUDY USING DIFFERENT TECHNIQUES

**G. Maravelis, P. Tsioli, S. Sakellariou, Z. Liakouli, P. Korkolopoulou,
I. Papasideri, N. E. Patsouris, A. Saetta**
A' Dept of Pathology, Medical School University of Athens

Introduction: Gliomas are the most common brain tumors (80% of astrocytomas). Methylation of the MGMT promoter is an epigenetic phenomenon playing an important role to the optimal choice of targeted therapy, such as alkylating agents. **Aim:** Our aim is to compare three different methods of MGMT promoter methylation assessment, regarding their sensitivity and accuracy. **Materials and Methods:** 25 brain samples were analyzed for MGMT promoter methylation by MSP (Methylation Specific PCR) confirmed by sequencing, MS-HRMA (Methylation sensitive High Resolution Melting Analysis) and Pyrosequencing. Different number of CpG regions was examined with each method. We tested 8 CpGs with MSP, 16 CpGs with MS-HRMA and 10 CpGs with Pyrosequencing. **Results:** MGMT promoter methylation was identified using MSP in 14 out of 19 samples. MS-HRMA revealed 12 positive out of 22 cases. Pyrosequencing showed a high percentage of methylation in 4 cases, medium methylation in 3 and low in 12 out of a total of 19 samples. **Conclusion:** A difference of accuracy between the different methods was observed. In brief, we propose the use of MSP as a method complementary to HRM. The most accurate method seems to be Pyrosequencing which is the only one providing quantitative results, although their significance for treatment decisions remains to be determined.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΜΕ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΑΚΡΟΥ ΑΠΟ ΤΗ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ (The Athens Collection)

Μαράκη Αικ.¹, Κισκήρα Χ.¹, Ηλιόπουλος Κ.², Κοΐλιας Χ.³ και Σ.Κ. Μανώλης¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα.

²Research Centre in Evolutionary Anthropology and Palaeoecology, School of Natural Sciences
and Psychology, Liverpool John Moores University,
Byrom Street, Liverpool L3 3AF, U.K.

³Τμήμα Πληροφορικής, ΤΕΙ Αθήνας, Οδός Αγ. Σπυρίδωνος Αιγάλεω Αττικής

E-mails: smanoll@biol.uoa.gr; C.Eliopoulos@lmu.ac.uk; ckoilias@teiath.gr

Η μελέτη του φυλετικού διμορφισμού του ανθρώπινου σκελετού αποτελεί ένα θέμα που έχει απασχολήσει για πολύ καιρό τους ερευνητές στη Βιολογική και Δικαστική Ανθρωπολογία. Ο λόγος είναι προφανής. Αν υπάρχει φυλετικός διμορφισμός, τότε μπορούμε να προσδιορίσουμε το φύλο, που είναι μια σημαντική και αναγκαία δημογραφική παράμετρος στη μελέτη των ανθρώπινων σκελετικών υπολειμμάτων. Παραδοσιακά, εφόσον ο σκελετός είναι πλήρης, η λεκάνη και το κρανίο, επιτρέπουν έναν ασφαλή προσδιορισμό, όμως τι κάνουμε όταν αυτά τα σκελετικά στοιχεία είναι απόντα; Η παρούσα εργασία προσπαθεί να δώσει μια απάντηση αναλύοντας τα βιομετρικά δεδομένα των οστών του κάτω άκρου (μηριαίο, κνήμη και περόνη). Αυτά τα οστά συνήθως είναι παρόντα (έστω και αποσπασματικά) και η μελέτη τους έχει δώσει προσδιορισμό φύλου σε άλλους πληθυσμούς. Σκοπός της εργασίας είναι να διερευνήσουμε τον βαθμό φυλετικού διμορφισμού και να δημιουργήσουμε εξισώσεις διαχωριστικής ανάλυσης για προσδιορισμό του φύλου. Το σκελετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από την σύγχρονη συλλογή αναφοράς του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου που αποτελείται από 243 σκελετούς γνωστού φύλου και ηλικίας θανάτου. Λήφθηκαν 5 μετρήσεις από μηριαίο, 2 από κνήμη και 1 από περόνη. Τα μετρικά δεδομένα αναλύθηκαν με Διαχωριστική πολυμεταβλητή ανάλυση (Discriminant) κι εξάχθηκαν οι εξισώσεις προσδιορισμού του φύλου. Από τα αποτελέσματα προέκυψαν πολύ υψηλά ποσοστά σωστής ταξινόμησης, κυρίως για το μηριαίο οστό και την αριστερή περόνη, που αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα.

		FML	FPL	FEB	FHH	FHB	Constant	% σωστού προσδιορισμού
Left Femur								
F1	Y	-0,178	0,191	0,445	-0,131	0,347	-49,436	92,90
F2*	Y			0,455		0,276	-47,732	92,60
Right Femur								
F3	Y	-0,045	0,058	0,317	-0,068	0,429	-46,114	92,60
F4*	Y			0,319		0,424	-43,655	92,60
Left Tibia								
F5	Y	0,028	0,440				-42,602	85,30
Right Tibia								
F6	Y	0,034	0,452				-45,382	83,70
Left Fibula								
F7	Y	0,081					-28,267	90,00
Right Fibula								
F8	Y	0,063					-21,687	87,80

(*) Stepwise Discriminant Analysis

Οι εξισώσεις διαχωριστικής ανάλυσης που παρήχθησαν επιτυγχάνουν υψηλά ποσοστά επιτυχούς ταξινόμησης και συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το προσδιορισμό του φύλου σε άγνωστο σκελετικό υλικό (αρχαιολογικό ή σύγχρονο).

SEX DETERMINATION BY DISCRIMINANT ANALYSIS OF THE LEG BONE METRICS FROM THE ATHENS COLLECTION

Maraki Aik.¹, Kiskira Chr.¹, Eliopoulos C.², Koiliias Chr.³, and S.K. Manolis¹

¹Dept of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece,

²Research Centre in Evolutionary Anthropology and Palaeoecology, School of Natural Sciences and Psychology, Liverpool John Moores University, Byrom Street, Liverpool L3 3AF, U.K.

³Dept of Informatics, Technological Institution of Athens, Ag. Spyridonos Str, 12210 Aegaleo Attica, Greece

Email: smanol@biol.uoa.gr; C.Eliopoulos@ljmu.ac.uk; ckoiliias@teiath.gr

The study of sexual dimorphism on human skeletal remains has been a topic of interest for biological and forensic anthropologists for a long time. If there is sexual dimorphism, then the determination of sex can be achieved. This is a very important demographic parameter in the study of human skeletal remains. Traditionally when the skeleton is complete, the pelvis and skull can provide an accurate determination of sex. However, the question that could be raised on this method is: what happens when these skeletal elements are absent? The present work aims at providing an answer by analyzing biometric data from the lower long bones (femur, tibia and fibula). These long bones (or fragments of the bones) are usually present and their study has resulted in sex determination in other populations. The goal of this study is to investigate the degree of sexual dimorphism and generate discriminant function equations for the determination of sex. The skeletal sample used is derived from the modern reference collection of the Department of Animal and Human Physiology which consists of 243 skeletons of known age and sex. Five measurements were taken from the femur, two from the tibia and one from the fibula. The metric data were processed with discriminant analysis and sex determination equations were derived. The results produced very high levels of correct classification and are presented in the following table.

(*) Stepwise Discriminant Analysis

Left Femur	FML	FPL	FEB	FHH	FHB	Constant	% σωστό
F1	Y -0,178	0,191	0,445	-0,131	0,347	-49,436	92,90
F2*	Y		0,455		0,276	-47,732	92,60
Right Femur	FML	FPL	FEB	FHH	FHB	Constant	
F3	Y -0,045	0,058	0,317	-0,068	0,429	-46,114	92,60
F4*	Y		0,319		0,424	-43,655	92,60
Left Tibia	TML	TEB				Constant	
F5	Y 0,028	0,440				-42,602	85,30
Right Tibia	TML	TEB				Constant	
F6	Y 0,034	0,452				-45,382	83,70
Left Fibula	FiML					Constant	
F7	Y 0,081					-28,267	90,00
Right Fibula	FiML					Constant	
F8	Y 0,063					-21,687	87,80

The discriminant function equations generated by this study have very high percentages of correct classification and therefore can be used for the determination of sex in unknown skeletal material from Greece, either archaeological or modern.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΛΑΦΟΥΣ

Μαργαρίτη Χρυσάνθη, Παπαθεοδώρου Ευθυμία, Βώκου Δέσποινα
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541
24 Θεσσαλονίκη

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης τεσσάρων συστατικών των αιθερίων ελαίων i) στην εδαφική μικροβιακή αναπνοή και ii) στη δραστηριότητα των ενζύμων που σχετίζονται με τον κύκλο του άνθρακα (αφυδρογονάση), του φωσφόρου (αλκαλική φωσφατάση) και του αζώτου (ουρεάση) στο έδαφος. Τα τέσσερα συστατικά που επιλέχθηκαν είναι τα στερεοϊσομερή *R*-(-)-carvone και *S*-(+)-carvone, η φεγγόνη και το καρνοφυλλένιο. Η *R*-(-)-carvone είναι το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου της *Mentha spicata*, η *S*-(+)-carvone του ελαίου του *Carum carvi*, η φεγγόνη του ελαίου της *Lavandula stoechas* και το καρνοφυλλένιο είναι κοινό συστατικό των ελαίων πολλών φυτών όπως των αιθερίων ελαίων των *Rosmarinus officinalis*, *Thymus capitatus*, *Satureja thymbra*. Τα εδαφικά δείγματα επωάστηκαν για τέσσερις εβδομάδες στους 28°C παρουσία των αιθερίων ελαίων και οι ενζυμικές δραστηριότητες καταγράφηκαν στο τέλος της περιόδου επώασης. Προσθήκη της *R*-(-)-carvone είχε σαν αποτέλεσμα την υψηλότερη τιμή μικροβιακής δραστηριότητας ενώ όμοιες τιμές καταγράφηκαν μεταξύ των υπόλοιπων χειρισμών. Όσον αφορά στην δραστηριότητα της αφυδρογονάσης, η προσθήκη καρνοφυλλενίου οδήγησε στην υψηλότερη τιμή δραστηριότητας ενώ τα υπόλοιπα τρία συστατικά έδωσαν όμοιες τιμές δραστηριότητας. Τα δείγματα των χειρισμών παρουσίασαν υψηλότερη δραστηριότητα αφυδρογονάσης σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, εκτός από τον χειρισμό της *R*-(-)-carvone. Η δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης δεν διαφοροποιήθηκε μεταξύ χειρισμών και δειγμάτων αναφοράς αλλά ούτε και μεταξύ των χειρισμών. Αντίθετα, η δραστηριότητα της ουρεάσης διαφοροποιήθηκε. Το πρότυπο μεταβολής της ουρεάσης μεταξύ των χειρισμών είναι: φεγγόνη > καρνοφυλλένιο > *R*-(-)-carvone > *S*-(+)-carvone, ενώ οι διαφορές μεταξύ δειγμάτων αναφοράς και χειρισμού ποικίλουν ανάλογα με το συστατικό που εξετάστηκε.

THE EFFECTS OF CONSTITUENTS OF ESSENTIAL OILS ON SOIL ENZYMES

Margariti Chrysanthi, Papatheodorou Efimia, Vokou Despoina

*Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24
Thessaloniki*

The purpose of this study is to examine the effects of constituents of essential oils on i) soil microbial respiration and ii) soil enzymatic activities concerning C (dehydrogenase), P (alkaline phosphatase) and N (urease) cycling. Four constituents were used: the stereoisomers *R*-(-)-carvone and *S*-(+)-carvone, fenchone and caryophyllene. *R*-(-)-carvone is the main constituent of the oil of *Mentha spicata*, *S*-(+)-carvone of the essential oil of *Carum carvi*, fenchone of the oil of *Lavandula stoechas* and caryophyllene is a common constituent of oils of various aromatic plants such as *Rosmarinus officinalis*, *Thymus capitatus*, *Satureja thymbra*. Soil samples were incubated for four weeks at 28°C in the presence of the constituents of the essential oils and enzymatic activities were recorded at the end of the incubation period. The addition of *R*-(-)-carvone resulted in higher microbial activity whereas similar activities were recorded between the rest treatments. Concerning the activity of dehydrogenase, caryophyllene resulted in the highest activity whereas the addition of the other three constituents resulted in similar dehydrogenase activities. Apart from *R*-(-)-carvone, treated samples showed higher dehydrogenase activity than the controls. The activity of alkaline phosphatase is not differed neither between treatments and controls nor between treatments themselves. On the contrary, urease activity is differed significantly among treatments according to the following pattern: fenchone > caryophyllene > *R*-(-)-carvone > *S*-(+)-carvone. Finally the differences in urease between treated samples and controls are treatment-dependent.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ER α ΚΑΙ ER β
ΣΤΗ ΜΗΤΡΑ ΕΠΙΜΥΩΝ ΜΕΤΑ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΣΟΥΣΑΜΙΟΥ ΚΑΙ
ΦΛΟΙΟΥ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

Χριστίνα Μαρκούλη, Γιάννης Πασπαλτσής, Αθανάσιος Ι Παπαδόπουλος*
*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων-Τομέας Ζωολογίας- Τμήμα Βιολογίας ΣΘΕ-**
Τμήμα Φαρμακευτικής
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝ/ΜΙΟ ΘΕΣ/ΝΙΚΗΣ

Μελετήθηκε η επίδραση της χορήγησης σουσαμιού ή φλοιού από σουσάμι στην έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων ER α και ER β στη μήτρα θηλυκών επίμυων. Για τον σκοπό αυτό χορηγήθηκε δίαιτα εμπλουτισμένη κατά 30% σε σουσάμι ή φλοιό για χρονικό διάστημα τεσσάρων εβδομάδων σε πειραματόζωα ηλικίας οκτώ εβδομάδων. Με σκοπό τον περιορισμό της επίδρασης των ενδογενών οιστρογόνων στη φυτοοιστρογόνο δράση του σουσαμιού και του προϊόντος του, μία ομάδα πειραματόζωων υποβλήθηκε σε ωθηκεκτομή στην ηλικία των έξι εβδομάδων.

Μετά το τέλος του πειράματος τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν, ο ιστός της μήτρας αφαιρέθηκε, καταψύχθηκε σε υγρό άζωτο και αποθηκεύτηκε στους -70°C. Από τον ιστό ένα τμήμα χρησιμοποιήθηκε με σκοπό τον προσδιορισμό της πρωτεϊνικής έκφρασης των υποδοχέων με την μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης (Western blotting) ενώ παράλληλα από τμήμα βάρους περίπου 50μgs απομονώθηκε RNA με τη μέθοδο Trizol με σκοπό τον προσδιορισμό του mRNA του γονιδίου που κωδικοποιεί τον κάθε ένα υποδοχέα με την τεχνική .

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η χορήγηση σουσαμιού ή φλοιού προκαλεί σημαντική αύξηση της έκφρασης των υποδοχέων. Η παρατηρούμενη αύξηση είναι μεγαλύτερη για τον υποδοχέα ER β όπως διαπιστώνεται από την μεταβολή της τελικής αναλογίας ER α /ER β η οποία βαίνει υπέρ της έκφρασης του υποδοχέα β . Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία η επίδραση αυτή θεωρείται επωφελής για την υγεία εμποδίζοντας την καρκινογένεση στον ιστό εξαιτίας της ρυθμιστικής δράσης του ER β επί του ER α .

**EXPRESSION OF ESTROGEN RECEPTORS ER α AND ER β ON THE
UTERUS OF WISTAR RATS AFTER SUPPLYING A DIET RICH IN
SESAME OR SESAME PERISPERM**

Christina Markouli, Giannis Paspaltsis*, Athanasios I Papadopoulos

*Lab of Animals Physiology, Dept of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences **

Department of Pharmacy

ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI

In the present study it was investigated the effect of sesame or sesame perisperm feeding upon the expression of ER α and ER β on the uterus of Wistar rats. For eliminating the effect of internal estrogens, a group of experimental animals was subjected to ovariectomy at the age of six weeks, prior to feeding with the enriched diet. The diet was supplied to the animals for a period of four weeks immediately after they reached the age of eight weeks. After the completion of the experiment the uterus was removed, placed in liquid nitrogen and stored at -70°C. A part of the tissue was used for detecting the protein amount of the expressed receptors by means of Western blotting and another part for estimating the mRNA coding for each one of the receptors by means of qRT-PCR. According to our results, supplying the animals with sesame or perisperm resulted to increased expression of both receptors. However the increase of the expression of ER β was higher than that of ER α leading to a balance in favor of ER β suggesting a beneficial role of sesame diet upon the health status of the animals.

**ΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΠΟΡΡΥΘΜΙΣΗΣ ΤΗΣ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ Ca^{2+} ΣΤΗΝ
ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΠΟΥ ΕΠΙΦΕΡΕΙ Η α -ΣΥΝΟΥΚΛΕΪΝΗ ΣΕ
ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ SH-SY5Y ΚΥΤΤΑΡΑ ΝΕΥΡΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΟΣ**

**Μαρτζούκου Ο.^{1,2}, Μελαχροινού Κ.^{1,2}, Στεφανής Α.¹, Ξυλούρη Μ.¹, Παπαζαφείρη
Π.², και Βεκρέλλης Κ.¹**

¹Τμήμα Βασικών Νευροεπιστημών, Τδρμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας
Αθηνών, Αθήνα

²Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Η νόσος του Πάρκινσον (ΝΠ) είναι μια προδευτική νευροεκφυλιστική νόσος, με άγνωστη μέχρι στιγμής αιτιολογία. Ενδείξεις από γενετικές, παθολογικές, βιοχημικές μελέτες και ζωικά μοντέλα, υποστηρίζουν ότι η παθολογική εναπόθεση ολιγομερών της πρωτεΐνης α -συνουκλεΐνης (ASYN), κατέχει κυρίαρχο ρόλο στην παθογένεια της ΝΠ. Μεταξύ των προτεινόμενων μηχανισμών μέσω των οποίων η ASYN ασκεί την τοξική της δράση, συμπεριλαμβάνονται διαταραχές των μονοπατιών αποικοδόμησης πρωτεϊνών, της μιτοχονδριακής λειτουργίας, το οξειδωτικό στρες και η απορρύθμιση της ομοιόστασης των ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}). Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της συμμετοχής της ομοιόστασης του Ca^{2+} στη μεσολαβούμενη από την ASYN-τοξικότητα. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η υπερέκφραση της ASYN στα διαφοροποιημένα κύτταρα επάγει αύξηση της εισροής Ca^{2+} λόγω χωρητικότητας (CCE). Επιπρόσθετα, οι τασεοελεγχόμενοι διάλυτοι Ca^{2+} (VOCs) παίζουν σημαντικό ρόλο στην παρατηρούμενη αύξηση του CCE, καθώς η προσθήκη νιφεδιπίνης, ειδικού αναστολέα των L-τύπου VOCs, ανέστειλε την παρατηρούμενη αύξηση. Κατόπιν δέσμευσης του ενδοκυττάριου αλλά και εξωκυττάριου Ca^{2+} , με χηλικούς παράγοντες, η τοξική επίδραση της ASYN επίσης ελαττώθηκε σημαντικά. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η περίσσεια του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} αποθηκεύεται περισσότερο στα λυσοσώματα των WT ASYN κυττάρων, σε σχέση με τα κύτταρα-μάρτυρες. Τα ευρήματα αυτά εμπλέκουν, σαφώς, τα ιόντα Ca^{2+} στην ASYN-παρατηρούμενη τοξικότητα. Θεραπευτικός χειρισμός της σηματοδότησης του Ca^{2+} ενδέχεται να μετριάσει την ASYN-επαγόμενη τοξικότητα και το νευροεκφυλισμό που χαρακτηρίζει τη ΝΠ και να αποτελέσει υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο.

**DYSREGULATION OF Ca²⁺ HOMEOSTASIS CONTRIBUTES TO α -
SYNUCLEIN CONFERRED TOXICITY TO HUMAN SH-SY5Y
NEUROBLASTOMA CELLS**

**Martzoukou O.^{1,2}, Melachroinou K.^{1,2}, Stefanis L.¹, Xilouri M.¹, Papazafiri P.², and
Vekrellis K.¹**

¹*Division of Basic Neuroscience, Biochemical Research Foundation of the Academy of
Athens, Athens*

²*Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, Faculty of Sciences,
University of Athens, Athens*

Parkinson's disease (PD) is an age-related neurodegenerative disease with still unknown etiology. Growing evidence from genetic, pathologic, animal modeling and biochemical studies, strongly support the hypothesis that abnormal aggregation of α -synuclein (ASYN) plays a critical role in PD pathogenesis. Amongst the proposed mechanisms involved in ASYN toxicity are derangements in protein degradation pathways, mitochondrial function and oxidative stress, as well as disturbances in calcium (Ca²⁺) homeostasis. The aim of our study was to investigate the effects of ASYN expression on Ca²⁺ homeostasis and neuronal toxicity. We have previously shown, that in differentiated SH-SY5Y cells, expression of WT ASYN is associated with gradual toxicity and loss of cell viability. Here we show that WT ASYN overexpression in differentiated cells leads to an increase in Capacitative Calcium Entry (CCE). Moreover we found that Ca²⁺ voltage-operated channels (VOCs) play a critical role in the observed excessive Ca²⁺ influx. In fact, treatment with nifedipine, a specific L-type VOC blocker, diminished the observed Ca²⁺ rise and reduced ASYN-induced cell death. What is more, chelation of intracellular or extracellular Ca²⁺, also reduced the observed cell death. We further show that excess cytoplasmic calcium caused by WT ASYN overexpression was mainly sequestered into lysosomes. Our data suggest that Ca²⁺ is a prime regulator of ASYN-induced toxicity in neuronal cells and may thus represent a promising therapeutic target in PD.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ
ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ**

Μαυροειδή Π., Μαυροφρύδη Ο., Παπαζαφείρη Π.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Η επιβίωση υγιών αλλά και καρκινικών κυττάρων ελέγχεται από διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια, μεταξύ των οποίων αυτά της PI3K/Akt και του HIF-1, που ελέγχει την έκφραση γονιδίων για προσαρμογή στην υποξία. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι αύξηση του ελεύθερου κυτταροπλασματικού ασβεστίου συνδέεται με κυτταρικό θάνατο. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε η κυτταρική σειρά A431 για τη διερεύνηση της επίδρασης του καρκινογόνου ρύπου B[a]P στην έκφραση του HIF-1α και της Akt, ενώ παράλληλα εξετάστηκε ο ρόλος της ομοιόστασης του Ca^{2+} . Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι το B[a]P προκαλεί χρονοεξαρτώμενη ενεργοποίηση της Akt, ενώ τα επίπεδα του HIF-1α εμφανίζουν μια παροδική αύξηση, γεγονότα που μπορούν να υποστηρίξουν την μικρή αύξηση της βιωσιμότητας των κυττάρων στις ίδιες συνθήκες. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η επώαση των κυττάρων A431 με θρεπτικό υλικό φυσιολογικών ινοβλαστών, που είχαν προεπωαστεί με B[a]P, επίσης ενεργοποιεί την Akt, ενώ έχει αντίθετη επίδραση στα επίπεδα του HIF-1α. Το αποτέλεσμα αυτό, σε συνδυασμό με παρόμοια αποτελέσματα σε καλλιέργειες πνευμονικών κυττάρων, υποδηλώνει ότι οι ινοβλάστες εκκρίνουν, παρουσία B[a]P, παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τη φυσιολογία και την επιβίωση γειτονικών κυττάρων. Τέλος, η εκκένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών Ca^{2+} από την थाψιγκαργκίνη (Tg), παρά το γεγονός ότι μειώνει την κυτταρική επιβίωση, πυροδοτεί επαγωγή της κινάσης Akt, ενώ και σε αυτήν την περίπτωση τα επίπεδα του Hif-1α παραμένουν σχεδόν αμετάβλητα. Η παράδοση αυτή επαγωγή της Akt μπορεί να υποδηλώνει αφενός μια προσπάθεια του κυττάρου να αντισταθμίσει το αποτέλεσμα που θα προκύψει από τη δράση της Tg και αφετέρου την εξάρτηση της Akt από την εισροή ιόντων Ca^{2+} , που αναγκαστικά λαμβάνει χώρα κατά την εκκένωση του ενδοπλασματικού δικτύου.

INVESTIGATION OF THE CONDITIONS FOR COMBINED ACTIVATION OF SURVIVAL PATHWAYS AND CELL CALCIUM IN CANCER CELLS

Mavroeidi Pan., Mavrofrydi O., Papazafiri ¹ P.

*Department of Animal & Human Physiology, National & Kapodistrian University of
Athens*

The survival of healthy and cancer cells is controlled by various signaling pathways, such as those of PI3K/Akt, and HIF-1, a key transcription factor controlling the expression of hypoxia inducible genes and cell survival under hypoxic conditions. On the other hand, it is now well established that increase of free cytoplasmic calcium is invariably associated with cell death. In the present study we used the cell line A431 to investigate the effect of the carcinogenic pollutant B[a]P on the expression of Hif-1 α and Akt, while simultaneously we examined the role of calcium homeostasis. Our results show that B[a]P causes a time-depended activation of Akt, while Hif-1 α levels show a small and transient increase. As a slight but significant raise on the cell viability is observed under the same circumstances, the above findings support the pro-survival role of these factors and could even point to the carcinogenic nature of B[a]P. Interestingly, the incubation of A431 cells with conditioned medium from healthy fibroblasts, which were pre-incubated with B[a]P, leads to activation of Akt, while it has the opposite effect on Hif-1 α levels. Since similar results are obtained using lung cells, one could conclude that fibroblasts secrete, in the presence of B[a]P, factors which are affecting the physiology and viability of adjacent cells. Eventually, depletion of intracellular calcium stores with thapsigargin (Tg) resulted in a reduction of cell survival as expected, but it was accompanied by an induction of Akt kinase, while also in this case Hif-1 α levels remain almost stable. This paradoxical induction of Akt could be explained, in one hand by an effort of the cells to compensate the unavoidable Tg impact, and on the other hand, by the documented dependence of Akt from the influx of Ca²⁺ ions, that necessarily takes place during the depletion of endoplasmic reticulum.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ BENZO[α]ΠΥΡΕΝΙΟΥ ΣΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Μαυροφρύδη Όλγα και Παπαζαφείρη Παναγιώτα
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας,
Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Το βενζο[α]πυρένιο (B[a]P) αποτελεί έναν αποδεδειγμένα καρκινογόνο ρύπο, που εντοπίζεται σε υψηλά ποσοστά στην ατμόσφαιρα αστικών και βιομηχανικών περιοχών. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα πνεύμονα (A549) προκειμένου να διερευνηθεί η κυτταροτοξικότητα του ρύπου αυτού, καθώς και η επίδρασή του σε μοριακούς δείκτες επιβίωσης. Το B[a]P παρουσιάζει μια διαφορετική δράση, ευνοώντας την κυτταρική επιβίωση σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ακόμα και μετά από 72 ώρες, και δρώντας κυτταροτοξικά σε υψηλότερες. Η επίδραση αυτή συμφωνεί με αντίστοιχα δεδομένα από επιθηλιακά κύτταρα δέρματος και, επιπλέον, επιβεβαιώνεται στο παρόν σύστημα από την απόκριση των δεικτών επιβίωσης, Akt και HIF-1a. Συγκεκριμένα, παρατηρείται σχετικά άμεση ενεργοποίηση της κινάσης Akt και επαγωγή του μεταγραφικού παράγοντα HIF-1a σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης ή/και η παρατεταμένη επώαση είχαν αντίστροφα αποτελέσματα. Επιπλέον, διαπιστώθηκε συσσώρευση του μεταγραφικού παράγοντα NrF-2 στον πυρήνα, ο οποίος αποτελεί βασικό δείκτη άμυνας του κυττάρου έναντι του οξειδωτικού στρες. Αν και όλοι οι παράγοντες που εξετάστηκαν παρουσιάζουν παρόμοιο πρότυπο μεταβολής, το μονοπάτι PI3K/Akt εμπλέκεται μόνο στην απόκριση του HIF-1a και όχι του NrF-2. Παράλληλα, προκαταρκτικά πειράματα, είτε συγκαλλιέργειας των επιθηλιακών κυττάρων με φυσιολογικούς ινοβλάστες, είτε μεταφοράς του θρεπτικού υλικού, από ινοβλάστες προεπωασμένους με B[a]P, φαίνεται να στηρίζουν τα παραπάνω αποτελέσματα. Αξιοσημείωτο, τέλος, είναι το γεγονός ότι ο συνδυασμός τοξικής συγκέντρωσης B[a]P με τα – φαινομενικά ακίνδυνα – συνθετικά νανοσωματίδια PLGA-PEO, τα οποία χρησιμοποιούνται ως φορείς φαρμάκων, αύξησε περαιτέρω την τοξική δράση του ρύπου. Συμπερασματικά, όχι μόνον οι συνθήκες έκθεσης, αλλά και η αλληλεπίδραση του B[a]P με άλλα μικρο- ή νανο-σωματίδια ή ακόμα και με κυτταρικά μεταβολικά προϊόντα, συντελούν στη διαμόρφωση της κυτταρικής απόκρισης.

EFFECTS OF BENZO[a]PYRENE ON SURVIVAL PATHWAYS OF HUMAN LUNG CELLS

Mavrofrydi Olga & Papazafiri Panagiota

*Department of Animal & Human Physiology, National & Kapodistrian University of
Athens*

Benzo[a]pyrene (B[a]P) is a carcinogenic pollutant, ubiquitously present in urban or industrial areas. In the present study, we used human lung epithelial cells (A549) in order to investigate the cytotoxic potential of this pollutant and elucidate the mechanism by which it affects the cell survival pathways. Our results revealed that B[a]P displays differential effects, promoting cell proliferation at low doses – even after relatively long incubation times, as 72 hours – while expressing a cytotoxic profile at higher doses. These results are similar to previous findings in our lab on epidermoid carcinoma cell line A431 and are further supported by the response of two survival markers, Akt and HIF-1a. Indeed, low B[a]P doses induced an almost direct activation of Akt kinase and elevation of HIF-1a levels, while toxic doses had the opposite effects on both proteins. Furthermore, we observed nuclear accumulation of NrF-2 transcription factor, a key regulator of cellular antioxidant defense. Even though all the examined proteins expressed a similar profile in response to B[a]P, HIF-1a response was the only one mediated by PI3K/Akt pathway. Interestingly, related outcomes were observed when B[a]P was used in a co-culture model with lung fibroblasts as well as after incubation of epithelial cells with conditioned medium from fibroblasts. Eventually, it is of particular interest the finding that combined incubation with toxic B[a]P doses and the non-toxic biodegradable nanoparticles PLGA-PEO, caused further damage compared to the pollutant alone. In conclusion, it seems that besides the incubation conditions, the interaction of environmental pollutants, such as B[a]P, with other micro-/nano-particles or cellular metabolic products is a very important parameter for the integration of the final cellular response.

ΕΚΤΟΣ ΤΟΠΟΥ (*EX SITU*) ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΕΝΔΗΜΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ: ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΜΑΣΤΕ;

Μεντέλη Β. (1), Κρίγκας Ν. (2) και Βώκου Δ. (3)

(1) Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 54 124, Θεσσαλονίκη, ymenteli@gmail.com (2) Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ. 54 124, Θεσσαλονίκη (3) Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 54 124, Θεσσαλονίκη

Η Παγκόσμια (GSPC) και η Ευρωπαϊκή Στρατηγική για τη Διατήρηση των Φυτών (EPCS), όπως και ο πρόσφατος Νόμος του Ελληνικού κράτους για τη Διατήρηση της Βιοποικιλότητας έχουν θέσει ως στόχο τους, πέραν της επιτόπιας (*in situ*), και την εκτός τόπου (*ex situ*) διατήρηση των σημαντικών, σπάνιων και απειλούμενων ειδών. Στο πλαίσιο αυτό διενεργήθηκε έλεγχος της εκτός τόπου διατήρησης των ενδημικών ειδών της χώρας. Λόγω απουσίας επίσημου καταλόγου των φυτών αυτών, χρησιμοποιήθηκαν τα ενδημικά είδη και υποείδη (*taxa*) που περιλαμβάνονται: (i) στην Οδηγία 92/43/ΕΟΚ (Παραρτήματα II, IV, V), (ii) στα Βιβλία Ερυθρών Δεδομένων των Σπάνιων και Απειλούμενων Φυτών της Ελλάδας (1995, 2009), (iii) στον κατάλογο “The rare and endemic plants of Greece” της IUCN (1982), και (iv) στη βάση δεδομένων ΧΛΩΡΙΣ. Ο ενιαίος κατάλογος που προέκυψε περιλαμβάνει τουλάχιστον 1.300 *taxa* (ο ονοματολογικός έλεγχος είναι ακόμα σε εξέλιξη). Ελέγχθηκε η εκτός τόπου διατήρησή τους σε (α) βοτανικούς κήπους, από τη βάση δεδομένων της Botanic Garden Conservation International (BGCI) και (β) τράπεζες σπερμάτων, από το Δίκτυο European Native Seed Conservation Network (ENSCONET). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι συνολικά περίπου 16,3% των ενδημικών φυτών διατηρούνται αποκλειστικά σε βοτανικούς κήπους, 7,2% αποκλειστικά σε τράπεζες σπερμάτων, 20,5% διατηρούνται τόσο σε βοτανικούς κήπους όσο και σε τράπεζες σπερμάτων, ενώ 56% των Ελληνικών ενδημικών φυτών δεν διατηρούνται πουθενά *ex situ*. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι σε εθνικό επίπεδο απέχουμε αρκετά από την κατάκτηση των στόχων της GSPC.

EX SITU CONSERVATION OF GREEK ENDEMIC PLANTS: WHERE ARE WE?

Menteli V. (1), Krigas N. (2) and Vokou D. (3)

(1) Department of Ecology, School of Biology, A.U.TH., 54 124, Thessaloniki,
vmenteli@gmail.com (2) Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography,
Department of Botany, School of Biology, A.U.TH., 54 124, Thessaloniki (3)
Department of Ecology, School of Biology, A.U.TH., 54 124, Thessaloniki

The Global (GSPC) and European Strategies for Plant Conservation (EPCS) and the recently voted Greek Law for Biodiversity Conservation, apart from the *in situ* conservation, set the *ex situ* conservation of important, rare and threatened plants as one of their targets. In the absence of an official list of the endemic plants of Greece, we compiled a catalogue based on the endemic plants found in: (i) the Directive 92/43/EEC (Annexes II, IV, V), (ii) the Red Data Books of Rare and Threatened Plants of Greece (1995, 2009), (iii) the list of the 'The rare and threatened endemic species of Greece' compiled by the IUCN (International Union for the Conservation of Nature) Threatened Plants Committee Secretariat, and (iv) the database Chloris of the 'Endemic, rare and threatened plants of the Greek flora'. The final unified catalogue includes at least 1.300 endemic taxa (checking of nomenclature in progress). For each taxon, we examined its *ex situ* conservation in (a) botanic gardens according to the PlantSearch of the Botanic Garden Conservation International (BGCI) and (b) seed banks according to the European Native Seed Conservation Network (ENSCONET). The results showed shown that 16.3% of the endemic taxa of this catalogue are included exclusively in living collections of botanic gardens, 7.2% are found exclusively in seed banks, 20.5% occur in both botanic gardens and seed banks, whereas ca. 56% of the Greek endemics have no *ex situ* conservation at all. These results indicate that at a national level we stand far from implementing the targets of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC).

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΦΥΣΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΞΑΝΘΙΝΗΣ ΧΑΝQ

Γεώργιος Μερμελέκας, Ελένη Βούρβου, και Στάθης Φριλίγγος
Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιατρική Σχολή

Ο ΧανQ είναι ενός ειδικός, υψηλής συγγένειας συµμεταφορέας ξανθίνης: H^+ της *Escherichia coli* K-12 που ανήκει στην οικογένεια των Μεταφορέων Νουκλεοτιδικών βάσεων–Ασκορβικού (NAT/NCS2 family). Το εργαστήριό μας έχει αναπτύξει ένα πειραµατικό σύστηµα µελέτης του µεταφορέα ΧανQ, µε βάση την εφαρµογή συστηµατικής µεταλλαξιγένεσης κυστεϊνικής σάρωσης (Cys-scanning mutagenesis). Παρά τη σηµαντική πρόοδο, οι σχέσεις δοµής-λειτουργίας του ΧανQ δεν έχουν εξετασθεί µε αναλυτικές βιοφυσικές ή δοµικές µεθόδους, ενώ εντελώς πρόσφατα, δημοσιεύθηκε η πρώτη κρυσταλλική δοµή ενός οµολόγου, του µεταφορέα ουρακίλης UraA (Lu et al., *Nature*, in press), ο οποίος έχει σχετικά µικρή συγγένεια µε τον ΧανQ (20% ταυτότητα). Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουµε ένα πρωτόκολλο υπερέκφρασης και αποµόνωσης του ΧανQ-His₁₀ σε µεγάλη κλίµακα και έναν αρχικό χαρακτηρισµό του µε βιοφυσικές µεθόδους. Ο αποµονωµένος ΧανQ έχει δοµή α-έλικας κατά 41% περίπου, όπως φαίνεται µε φασµατοσκοπία κυκλικού διχρωϊσµού. Με ανάλυση φθορισµοµετρίας τρυπτοφανών αποδεικνύεται ότι η αποµονωµένη πρωτεΐνη αναγνωρίζει και ανταποκρίνεται ειδικά στο φυσικό της υπόστρωµα (ξανθίνη). Τα πειράµατα αυτά έγιναν σε φυσικού τύπου ΧανQ (που περιέχει ένα µόνο κατάλοιπο Trp) και σε ένα ενεργό µετάλλαγµα ελεύθερο τρυπτοφανών (W73F) που χρησιµοποιήθηκε ως αρνητικός µάρτυρας. Τα δύο δείγµατα καθαρής ΧανQ (1 μ M, σε διάλυµα 50 mM NaPi pH 7.5, 0.008% δωδεκυλοµαλτοσιδίου) αναλύθηκαν φθορισµοµετρικά, µε διέγερση στα 295 nm. Για τη φυσικού τύπου ΧανQ ανιχνεύθηκε ειδικό σήµα φθορισµού µε µέγιστο στα 334 nm, υποδεικνύοντας ότι η Trp-73 βρίσκεται σε σχετικά υδρόφοβο µικροπεριβάλλον. Το σήµα φθορισµού της τρυπτοφάνης µπορεί να αποσβεσθεί από ιωδιούχο κάλιο (KI) και ακρυλαµίδιο, µε σταθερές Stern-Volmer (K_{SV}) 0.8932 και 2.1783, οι οποίες αυξάνονται σε 1.2851 και 2.7946, αντίστοιχα, παρουσία ξανθίνης, ενώ δεν επηρεάζονται από το µη αναγνωριζόµενο ανάλογο 7-µεθυλοξανθίνη. Τα αποτελέσµατα είναι συµβατά µε την ερµηνεία ότι η εγγενής Trp-73 (TM2) βρίσκεται σε σχετικά υδρόφοβο µικροπεριβάλλον στην ελεύθερη υποστρώµατος περµεάση και η δέσµευση υποστρώµατος προκαλεί µια αλλαγή διαµόρφωσης που οδηγεί σε µετατόπιση της Trp-73 σε περισσότερο υδρόφιλο µικροπεριβάλλον.

PURIFICATION AND BIOPHYSICAL STUDY OF XANTHINE PERMEASE XANQ

George Mermelekas, Eleni Vourvou, and Stathis Frillingos

Laboratory of Biological Chemistry, University of Ioannina Medical School

We have recently cloned and functionally characterized XanQ, a specific, high-affinity xanthine:H⁺ symporter from *Escherichia coli* K-12, a member of the nucleobase-ascorbate transporter (NAT/NCS2) family. With introduction of appropriate epitope tags at the C terminus and application of the Cys-scanning mutagenesis technology, a model bacterial system was developed for the study of structure-function relationships of the NAT transporters, based on XanQ. Despite considerable progress, today, there are limited efforts to elucidate structure-function relationships by structural analysis of any member of this family, while a high-resolution structural model has only recently become available, with the crystallographic analysis of the uracil transporter UraA (Lu et al., *Nature*, in press). In this communication, we show development of a protocol for overexpression and large-scale purification of XanQ-His₁₀ and a first structural characterization of XanQ with biophysical methods. Using circular dichroism spectroscopy we find that purified XanQ is 41% alpha-helical, which conforms roughly to the alpha-helical content of the UraA homolog deduced from the crystal structure. In parallel, with tryptophan fluorescence spectroscopy, we have shown that the purified protein is conformationally active, as it recognizes specifically and responds to substrate (xanthine). More specifically, we have purified both wild-type XanQ (which is a natural single-Trp protein) and a functional Trp-less mutant of XanQ as a control (W73F) and subjected both molecules (1 μM, in 50 mM NaPi pH 7.5, 0.008% dodecyl maltoside) to fluorescence spectroscopy with excitation at 295 nm. Specific Trp emission signal was detected for wild-type XanQ with a peak at 334 nm, indicating a relatively hydrophobic environment for Trp-73. Potassium iodide (KI) and acrylamide quench the Trp signal with a Stern-Volmer constant of 0.8932 and 2.1783, respectively, while the presence of xanthine (0.2 mM) enhances quenching significantly, increasing the Stern-Volmer constants to 1.2851 and 2.7946, respectively. The analog 7-methylxanthine (0.2 mM) which is not recognized as a ligand by wild-type XanQ has no effect on quenching. The results indicate that Trp-73 (TM2) is at a rather hydrophobic site of the unloaded permease but shifts to a less hydrophobic environment in the presence of substrate.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΒΑΣΗΣ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ
ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΣΤΗ ΜΝΗΜΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ ΘΗΛΥΚΩΝ ΜΥΩΝ ΚΑΙ
ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ ΤΟΥΣ**

**Μηνά Α.^{1*}, Μπουγιούκου Α.^{1*}, Φραγκοπούλου Α.Φ.¹, Κωστομητσόπουλος Ν²,
Σταματάκης Α.³, Κουσουλάκος Σ.¹ και Α.Χ. Μαργαρίτης¹**

¹Εργαστήριο Ηλεκτρομαγνητικής Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρων & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, 15784 Αθήνα. ²Μονάδα Ζωικών Προτύπων, Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής, ΙΒΕΑΑ, Σωρανού Εφεσίου 4, 11527 Αθήνα. ³Εργ. Βιολογίας-Βιοχημείας, Τμήμα Νοσηλευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ, Παπαδιαμαντοπούλου 123, 11527 Αθήνα. *Ισότιμη συμμετοχή

Πρόσφατες μελέτες της ερευνητικής μας ομάδας σε μυς έχουν δείξει απώλεια μνήμης (χωρικής και αναγνώρισης), διαταραχές οστεοποίησης, ιστολογικές αλλοιώσεις, επαγωγή στρες, καθώς και αλλαγή στην έκφραση πρωτεϊνών του εγκεφάλου έπειτα από έκθεση των ζώων στην ακτινοβολία τόσο βάσης ασύρματου DECT όσο και κινητού τηλεφώνου. Σε επέκταση προηγούμενων αποτελεσμάτων μας, στην εργασία αυτή θελήσαμε να ανιχνεύσουμε τυχόν επιπτώσεις στη βραχυπρόθεσμη μνήμη θηλυκών ενήλικων μυών στελέχους C57BL/6, καθώς και στην οστεοποίηση των εμβρύων τους, έπειτα από καθημερινή 12ωρη έκθεσή τους σε ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου DECT μέσης έντασης ηλεκτρικού πεδίου 2,7 V/m. Για τον έλεγχο της μνήμης αναγνώρισης εφαρμόσαμε τη «δοκιμασία αναγνώρισης καινοφανούς αντικειμένου» (Novel Object Recognition task - NOR) σε δύο ομάδες των έξι μυών (εκτεθειμένοι και μη). Για ιστοχημική μελέτη του σκελετικού συστήματος σε 44 συνολικά έμβρυα (13 εκτεθειμένα και 31 φυσιολογικά) εφαρμόστηκε η χρώση alizarin red-alcian blue. Διεξήχθησαν δύο πειράματα NOR, στις 6 και στις 10 εβδομάδες καθημερινής ακτινοβολίας συμπεριλαμβανομένων των φάσεων της δοκιμασίας NOR. Οι ακτινοβολημένοι μύες παρουσίασαν παρόμοια επίδοση με τους μυς-μάρτυρες όπως προέκυψε από τους δείκτες προτίμησης, γεγονός που ίσως εξηγείται από τη νευροπροστατευτική δράση των οιστρογόνων στα θηλυκά πειραματόζωα. Στους σκελετούς των εμβρύων παρατηρήθηκαν μικρού βαθμού αλλοιώσεις στην οστεοποίηση των πλευρών στο 23% των ζώων που είχαν εκτεθεί στην ακτινοβολία κατά τη διάρκεια της κύησης, οι οποίες χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Σε εξέλιξη βρίσκεται η ιστολογική ανάλυση των εγκεφάλων των ενήλικων ζώων και των κρανίων των εμβρύων τους.

EFFECTS OF WIRELESS DECT BASE RADIATION ON THE RECOGNITION MEMORY OF ADULT FEMALE MICE AND ON THE EMBRYOGENESIS OF THEIR NEWBORNS

Mina D.^{1*}, Bougioukou A.^{1*}, Fragopoulou A.F.¹, Kostomitsopoulos N.², Stamatakis A.³, Koussoulakos S.¹ and L.H. Margaritis¹

¹Electromagnetic Biology Lab, Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens. ²Laboratory Animal Facilities, Centre of Experimental Surgery, Biomedical Research Foundation, Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou, 11527 Athens. ³Biology – Biochemistry Lab, Faculty of Nursing, School of Health Sciences, University of Athens, Papadimantopoulou 123, 11527 Athens

*Equal contribution

Recent lab animal studies of our Electromagnetic Biology group in Athens University have shown memory deficits (in spatial and recognition memory), ossification disorders, histological lesions, stress induction and brain proteome expression changes following exposure of mice to either wireless DECT base or to mobile phone radiation. In this study, expanding our previous results, we investigated whether wireless DECT base radiation at an electric field intensity of 2.7 V/m for 12 hrs/day may be capable to provoke malfunction in the recognition memory of adult C57BL/6 female mice and any ossification disorders on their fetuses. In order to achieve our first goal, we applied the Novel Object Recognition (NOR) task in two equally divided groups of 12 animals (exposed and sham exposed). For fulfilling the second part of our work, we applied the alizarin red-alcian blue staining in 44 fetuses (31 sham exposed and 13 exposed during gestation) in order to reveal by cytochemistry any possible alterations on their skeletal system. We performed two NOR experiments on day 45 and day 75 with parallel radiation throughout the task. The exposed group performed equally well with the sham-exposed group as revealed by the Recognition and Preference Indices scores, showing that these specific exposure conditions do not provoke any negative effect on mice' recognition memory. Such a result could be explained by the neuroprotective action of estrogens in female mice' memory. In the skeletal system of fetuses low grade alterations have been observed in the ribs of the 23% of the exposed animals, which need further investigation. Histological analysis is in process concerning the brain tissues of the adult mice and the craniums of their fetuses.

**ΛΕΙΠΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΧΕΙΜΕΡΙΑΣ
ΝΑΡΚΗΣ ΣΤΙΣ ΤΙΜΕΣ ΠΕΝΤΕ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΚΑΙ
ΕΙΔΙΚΟΥ STRESS ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *EOBANIA*
*VERMICULATA***

Μοσχοβάκη-Φιλιππίδου Φωτεινή, Ττζιου Αικατερίνη, Δημητριάδης Βασίλειος
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 54124, Θεσσαλονίκη

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκαν οι διαφοροποιήσεις στις τιμές πέντε βιομαρτύρων ρύπανσης όταν άτομα *Eobania vermiculata* εκτέθηκαν σε συνθήκες χειμέριας νάρκης ή ασιτίας. Οι βιομάρτυρες που εφαρμόστηκαν ήταν η σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης σε πεπτικά κύτταρα (LMS) και η κατακράτηση της χρωστικής ουδέτερο ερυθρό σε αιμοκύτταρα (NRR), η δραστηριότητα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), τα επίπεδα μεταλλοθειονινών (MTs), καθώς και τα επίπεδα του κυκλικού AMP (cAMP). Χερσαία σαλιγκάρια συλλέχθηκαν τον Απρίλιο του 2010 και μετά από εγκλιματισμό στο εργαστήριο διάρκειας 12 ημερών, διαχωρίστηκαν σε τρεις ομάδες (χειμέριας νάρκης, ασιτίας και ελέγχου). Μετά από 21 ημέρες πραγματοποιήθηκε λήψη του πεπτικού αδένου και της αιμολέμφου. Σύμφωνα με τις μεθόδους LMS και NRR, τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο χρόνο αποσταθεροποίησης των λυσοσωμικών μεμβρανών στα ζώα που υπέστησαν χειμέρια νάρκη ή ασιτία συγκριτικά με τα ζώα ελέγχου. Ακόμη, τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση της δραστηριότητας της AChE μόνο στην ομάδα των σαλιγκαριών που βρίσκονταν σε χειμέρια νάρκη σε σχέση με τα σαλιγκάρια ελέγχου. Τα επίπεδα των MTs παρουσίασαν αύξηση στα σαλιγκάρια που υπέστησαν ασιτία σε σχέση με τα σαλιγκάρια ελέγχου, ενώ τα επίπεδα του cAMP δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των πειραματικών ομάδων. Η παρούσα μελέτη υποστηρίζει ότι πιθανές συνθήκες χειμέριας νάρκης ή ασιτίας κατά την περίοδο που πραγματοποιούνται οι δειγματοληψίες σαλιγκαριών θα πρέπει να λαμβάνονται υπ'όψιν σε πειράματα χερσαίας βιοπαρακολούθησης. Κάτι τέτοιο κρίνεται απαραίτητο λόγω του ότι οι προαναφερθείσες συνθήκες είναι δυνατό να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό τις τιμές των βιομαρτύρων ρύπανσης που εξετάζονται.

**EFFECTS OF STARVATION AND HIBERNATION ON FIVE
BIOMARKERS OF GENERAL AND SPECIFIC STRESS USING THE
LAND SNAIL *EOBANIA VERMICULATA***

Moschovaki-Filippidou Foteini, Itziou Aikaterini, Dimitriadis Vasileios
*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University, 54124 Thessaloniki*

In the present study, the differentiations in the values of five pollution biomarkers were evaluated, when snails *Eobania vermiculata* were placed under hibernation or starvation conditions. The biomarkers applied were the lysosomal membrane stability in digestive cells (LMS) and neutral red retention assay in haemocytes (NRR), the acetylcholinesterase activity (AChE), the metallothionein contents (MTs) and the cAMP contents (cAMP). Land snails were collected on April 2010. The experimental animals were maintained for 12 days in order to be acclimatized to laboratory conditions and then divided into three treatment groups (hibernation, starvation and control group). After 21 days the digestive gland and the haemolymph of the snails were collected. The results showed statistically significant lower LMS and NRR times in the animals which had undergone hibernation or starvation compared to control animals. Furthermore, the results indicated statistically significant increase of AChE activity only in the hibernating snails compared to the control ones. The MTs contents were increased in the starved snails in comparison to controls, while, the cAMP contents did not show statistically significant differences among the experimental groups. The present study supports that possible hibernation or starvation conditions during the snail sampling period should be considered in terrestrial biomonitoring assays. This is deemed necessary due to the fact that the previously mentioned conditions may seriously affect the values of the examined pollution biomarkers.

**Η ΦΥΛΟΓΕΩΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΗΜΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Savigniorrhipis*
acoreensis (Arachnida, Linyphiidae) ΣΤΟ ΑΡΧΙΠΕΛΑΓΟΣ ΤΩΝ
ΑΖΟΡΩΝ**

**Μουρίκης Α¹., Λάμπρη Π.-Ν¹., Τριάντης Κ.^{2,4}, Rego C.², Crespo L.², Pereira F.³,
Borges P.A.V.², Παρμακέλης Α.¹**

¹Τομέας Οικολογίας και Ταξινόμικης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα.

²CITA-A (Azorean Biodiversity Group), Dep. de Ciências Agrárias, Universidade dos
Açores. Terra-Chã, 9700-851 Angra do Heroísmo, Terceira, Açores, Portugal.

³GESPEA - Grupo de Estudo do Património Espeleológico dos Açores. Ed. Matos
Souto, Piedade, 9930 Lajes do Pico, Pico, Açores, Portugal.

⁴Biodiversity Research Group, Oxford University, Centre for the Environment

Τα ωκεάνια νησιά έχοντας πολύ καλά καταγεγραμμένη γεωλογική ιστορία αποτελούν εξαιρετικό πλαίσιο μελέτης της εξελικτικής ιστορίας ενδημικών ειδών. Το αρχιπέλαγος των Αζορών είναι ηφαιστειακής προέλευσης με τα εννέα νησιά του να διαφέρουν ως προς την ηλικία τους από 0,3 έως 8 εκ. χρόνια. Η Santa Maria, όντας το παλαιότερα διαμορφωμένο νησί, έχει ηλικία 8 εκ. χρόνια. Το Sao Miguel, που αποτελεί το μεγαλύτερο νησί του συγκροτήματος, πήρε το παρόν του σχήμα περίπου πριν από 0,05 εκ. χρόνια.

Το συγκρότημα διαθέτει έναν μεγάλο αριθμό ειδών χλωρίδας και πανίδας. Ωστόσο, ελάχιστες ομάδες έχουν προσεγγιστεί ως προς την εξελικτική τους ιστορία. Σε ότι αφορά τις αράχνες, το συγκρότημα φέρει 22 ενδημικά είδη, για τα οποία, εκτός από την κατανομή και λίγα στοιχεία οικολογίας τους, δεν υπάρχουν άλλες διαθέσιμες πληροφορίες. Αυτή η μελέτη είναι μια πρώτη προσπάθεια διερεύνησης των προτύπων κατανομής και της εξελικτικής ιστορίας του ενδημικού είδους αράχνης, *Savigniorrhipis acoreensis*.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με τη χρήση τριών μιτοχονδριακών μοριακών δεικτών. Νουκλεοτιδικές αλληλουχίες από δείγματα προερχόμενα από τα 7 νησιά, αναλύθηκαν φυλογενετικά. Το φυλογεωγραφικό πρότυπο που προέκυψε συγκρίθηκε ως προς τη σύγκλιση του με τα παλαιογεωγραφικά δεδομένα των Αζορών και με τις αντίστοιχες μελέτες ασπονδύλων που κατανέμονται στο συγκρότημα.

**PHYLOGEOGRAPHY OF THE ENDEMIC SPECIES *Savigniorrhipis*
acoreensis (Arachnida, Linyphiidae) IN THE AZOREAN ARCHIPELAGO**

**Mourikis A.¹, Lampri P.-N.¹, Triantis C.^{2,4}, Rego C.², Crespo L.², Pereira F.³, Borges
P.A.V.², Parmakelis A.¹**

¹Dept. of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimioupoli Ilisia, GR-15784, Athens, Greece.

²CITA-A (Azorean Biodiversity Group), Dep. de Ciências Agrárias, Universidade dos
Açores. Terra-Chã, 9700-851 Angra do Heroísmo, Terceira, Açores, Portugal.

³GESPEA - Grupo de Estudo do Património Espeleológico dos Açores. Ed. Matos
Souto, Piedade, 9930 Lajes do Pico, Pico, Açores, Portugal.

⁴Biodiversity Research Group, Oxford University, Centre for the Environment

Oceanic islands with well-documented geological history provide an excellent framework for the investigation of endemic species evolutionary history. The Azorean archipelago is of volcanic origin and its nine islands range in age from 0.3 to 8mya. Santa Maria being the oldest with an age of 8my and S. Miguel, the largest, exhibiting a complex geomorphology with its current shape attained during the last 0.05mya.

This group of islands comprises a great number of flora and fauna species. However, only a few groups have been approached in terms of their evolutionary history. Especially, the Azorean spider fauna comprises 22 endemic species and besides their distribution and some ecological attributes, no other information is available. This study is a first attempt to investigate the evolutionary processes shaping the distribution and evolutionary history of the Azorean endemic spider *Savigniorrhipis acoreensis*.

The phylogeographical study was performed using three mitochondrial molecular markers. Nucleotide sequences from samples gathered from 7 islands were used for phylogenetic analysis. The phylogeographical pattern was contrasted, in terms of its congruence, to the Azorean paleogeography and previous phylogeographic studies concerning other invertebrate species distributed in these islands.

ΧΩΡΟ-ΧΡΟΝΙΚΗ ΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΑΛΙΕΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΓΡΙ-ΓΡΙ ΣΤΙΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΘΑΛΑΣΣΕΣ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ 1964-2007

Δημήτριος Κ. Μουτόπουλος^{1,2} και Κωνσταντίνος Ι. Στεργίου²

¹ΤΕΙ Μεσολογγίου, Τμήμα ΥΔ.ΑΔ., Νέα Κτίρια, 302 00 Μεσολλόγι, dmoutopo@teimes.gr

²Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας,
Εργ. Ιχθυολογίας, Θ. 134, 541 24 Θεσσαλονίκη

Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν τα αδημοσίευτα δεδομένα της Ελληνικής Στατιστικής Αρχής για την αλιευτική παραγωγή των γρι-γρι στις 16 υπο-περιοχές των ελληνικών θαλασσών την περίοδο 1990-2007. Σκοπός ήταν να αποτυπωθεί η σύνθεση των ειδών της αλιευτικής παραγωγής του γρι-γρι ανά υπο-περιοχή και να ανασυσταθεί η αλιευτική παραγωγή σε κάθε υπο-περιοχή για την περίοδο 1964-1989, κατά την οποία δεν υπάρχουν τα αντίστοιχα δεδομένα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στον Παγασσητικό κόλπο η αλιευτική παραγωγή από τα γρι-γρι αντιπροσωπεύει περίπου το 70,6% της συνολικής αλιευτικής παραγωγής για αυτήν την περιοχή, γεγονός που οφείλεται στην καθολική απαγόρευση της αλιείας με μηχανότρατα μέσα στον κόλπο. Η ανάλυση της σύνθεσης των ειδών έδειξε ότι δώδεκα είδη αντιπροσωπεύουν από 43,7% έως 93,3% της συνολικής παραγωγής των γρι-γρι σε κάθε υπο-περιοχή. Η εφαρμογή πολυμεταβλητής ανάλυσης στη σύνθεση των ειδών για τις 16 υπο-περιοχές και για τα έτη 1990-2007 ανέδειξε τρεις ομάδες: (α) Βόρειο Αιγαίο, (β) Νότιο Αιγαίο και (γ) Ιόνιο-Κεντρικό Αιγαίο. Η ανάλυση της αλιευτικής παραγωγής μετά την ανασύσταση των δεδομένων, έδειξε ότι για την περίοδο 1964-2007 οι περισσότερες υπο-περιοχές εμφανίζουν είτε σημαντικά αυξητική τάση ή δεν εμφανίζουν καθόλου τάση. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι αν και η αλιευτική παραγωγή των γρι-γρι χαρακτηρίζεται, στο σύνολο των ελληνικών θαλασσών, ως πολύ-ειδική, εντούτοις, σε κάθε υπο-περιοχή το γρι-γρι στοχεύει σε συγκεκριμένα είδη, των οποίων η αφθονία εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά κάθε υπο-περιοχής. Επίσης, η αυξητική τάση της παραγωγής στις περισσότερες υπο-περιοχές είναι πιθανό να οφείλεται στον εκσυγχρονισμό της αλιείας με γρι-γρι, ιδιαίτερα μετά την είσοδο της Ελλάδας στην ΕΕ.

SPATIO-TEMPORAL RECONSTRUCTION OF THE PURSE SEINE FISHERIES LANDINGS IN GREEK WATERS DURING 1964-2007

Dimitrios K. Moutopoulos^{1,2} and Konstantinos I. Stergiou²

¹ *Technological Educational Institute of Mesolonghi, Department of Aquaculture and
Fisheries Management, 30200, Mesolonghi*

² *Aristotle University of Thessaloniki, Department of Zoology, School of Biology,
Laboratory of Ichthyology, P.O. Box 134, 541 24, Thessaloniki*

In this study we present the unpublished data of the purse-seine fisheries landings per species and fishing subarea over 1990-2007 provided by the Hellenic Statistical Authority. The aim was to describe the species composition of the purse seine fisheries landings per fishing subarea during 1990-2007 and to reconstruct the gear-aggregated landings per fishing sub-area during 1964-1989. The results showed that purse seine fisheries landings in Pagassitikos gulf represented more than 70.6% of the total landings in that area, a fact attributed to the all-year banning of trawl fishery. Species composition per fishing subarea showed that 12 species represented from 43.7% to 93.3% of the purse seine landings in the different fishing subareas. Multivariate analysis on the species composition for the 16 subareas during 1990-2007 showed three groups of subareas: (a) North Aegean, (b) South Aegean, and (c) Ionian-Central Aegean. The reconstructed fisheries landings during 1964-2007 showed that in most fishing subareas the landings were either significantly increased over time or depicted no trend at all. The results also indicated that although purse seine landings are multi-species, species composition per subarea was dominated by few target species. In addition, the increasing trend of the purse seine landings with time over 1964-2007 might be attributed to the recent modernization of this fishery after the entrance of Greece in European Union.

Key-words-Λέξεις κλειδιά: Historical reconstruction, fisheries landings, purse seine fishery, Greek waters

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΙΘΑΝΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ
G1733A ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ AR ΜΕ ΤΗΝ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ
ΝΟΣΟΥ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

**Μπακαλγιάννη Α¹, Αγιαννιτόπουλος Κ¹, Μαγγίνας Α², Παπαμεντζελόπουλος Σ²,
Λάμνησου Κ¹**

¹ Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,

²Καρδιολογική Κλινική, Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο, Αθήνα, Ελλάδα

Το γονίδιο AR κωδικοποιεί για τον υποδοχέα των ανδρογόνων, έναν μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζει τις δράσεις των ανδρογόνων στους ιστούς - στόχους. Ο πολυμορφισμός G1733A στο εξόνιο 1 του γονιδίου έχει συνδεθεί με ανδρογονο-εξαρτώμενες νόσους, ενώ αρκετές έρευνες υποστηρίζουν συσχέτιση των ανδρογόνων με κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Στην παρούσα μελέτη διερευνάται η πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού G1733A του γονιδίου AR με την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου (CAD) στον Ελληνικό πληθυσμό. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 184 ασθενείς με στεφανιαία νόσο επιβεβαιωμένη με στεφανιογραφία και 145 υγιή άτομα του γενικού πληθυσμού. Η γονοτύπηση των ατόμων έγινε με τη μέθοδο PCR-RFLP. Οι συχνότητες των γονοτύπων GG, GA και AA που παρατηρήθηκαν ήταν 0.80, 0.07 και 0.13 αντίστοιχα, για την ομάδα των ασθενών, και 0.76, 0.14, 0.10 αντίστοιχα, για την ομάδα ελέγχου. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων G και A, ήταν 0.84 και 0.16 για τους ασθενείς και 0.83 και 0.17 για την ομάδα ελέγχου των υγιών ατόμων αντιστοίχως. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των γονοτυπικών συχνοτήτων και των συχνοτήτων των αλληλομόρφων ανάμεσα στους ασθενείς και στα υγιή άτομα. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας υποστηρίζουν ότι ο πολυμορφισμός G1733A του γονιδίου AR δεν μπορεί να θεωρηθεί επιβαρυντικός προδιαθεσικός παράγοντας για την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου στον ελληνικό πληθυσμό.

**STUDY FOR ASSOCIATION BETWEEN THE G1733A
POLYMORPHISM OF THE AR GENE AND THE RISK OF
PREMATURE CORONARY ARTERY DISEASE IN THE GREEK
POPULATION**

***Bakalgianni A¹, Aghiannitopoulos K¹, Manginas A², Papamentzelopoulos S²,
Lamnisou K¹***

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

²1st Cardiology Dept, Onassis Cardiac Surgery Center, Athens, Greece

The AR gene encodes the androgen receptor, a transcriptional factor which mediates androgen actions in target tissues. The G1733A polymorphism in exon 1 of the AR gene has been associated with androgen dependent diseases while several reports support the association of androgens with the risk of developing coronary artery disease. The present study investigates the possible association between the G1733A polymorphism and the risk of coronary artery disease (CAD) in the Greek population. The genetic distribution of the polymorphism was investigated in two groups. The first group contains 184 CAD patients, documented by coronary angiography, while the second one contains 145 controls. All patients and controls were genotyped by the PCR-RFLP method. The observed frequencies of GG, GA, AA genotypes were 0.80, 0.07 and 0.13, respectively, for the patient group and 0.76, 0.14, 0.10, respectively, for the control group. Frequencies of the G and the A allele were 0.84 and 0.16, respectively, for the patient group and 0.83 and 0.17, respectively, for the control group. Statistical analysis indicated no significant differences in genotype or in allele frequencies between the patient and the control group. These results suggest that there is no association between the G1733A polymorphism of the AR gene and the risk of premature coronary artery disease in the Greek population.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ GPCRs, G-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΜΟΡΙΩΝ ΕΚΤΕΛΕΣΤΩΝ

Μπαλτούμας Φ.Α., Θεοδωροπούλου Μ.Κ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.

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

Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) είναι μια από τις μεγαλύτερες και πλέον ποικιλόμορφες οικογένειες μεμβρανικών υποδοχέων στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Οι περισσότερες λειτουργίες τους επιτελούνται μέσω ετεροτριμερών G-πρωτεϊνών, που λειτουργούν ως «μοριακοί διακόπτες» για τη μεταγωγή σημάτων από τον εξωκυττάριο χώρο στο εσωτερικό του κυττάρου. Οι G-πρωτεΐνες αποτελούνται από τις υπομονάδες α , β και γ και ταξινομούνται σε τέσσερις οικογένειες, με βάση την ομολογία της $G\alpha$ υπομονάδας τους ($G\alpha_s$, $G\alpha_{i/o}$, $G\alpha_{q/11}$ και $G\alpha_{12/13}$). Μετά την ενεργοποίησή τους αλληλεπιδρούν με διάφορα μόρια εκτελεστές (effectors) και προκαλούν αλλαγές στις συγκεντρώσεις ενδοκυτταρικών μοριακών σημάτων, οδηγώντας σε διάφορες κυτταρικές αποκρίσεις. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα επιβεβαιώνουν την αποδεκτά κοινή τοπολογία των GPCRs και δίνουν στοιχεία για τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε διάφορους εκτελεστές και G-πρωτεΐνες, ωστόσο ο τρόπος αλληλεπίδρασης των τελευταίων με τους υποδοχείς δεν έχει διαλευκανθεί. Η παρούσα εργασία ασχολείται με τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στους GPCRs, τις G-πρωτεΐνες και τους εκτελεστές και το πώς σχετίζονται με τη στερεοδιάταξη των $G\alpha$ υπομονάδων στην ενεργή και την ανενεργή δομή τους. Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν με βάση τα στοιχεία από λυμένες κρυσταλλογραφικές δομές G-πρωτεϊνών και συμπλόκων ανάμεσα σε G-πρωτεΐνες και εκτελεστές, καθώς και από δοκιμές μεταλλαξιγένεσης και προτυποποίησης. Οι διάφοροι εκτελεστές αλληλεπιδρούν με συγκεκριμένες επιφάνειες της $G\alpha$ που μπορούν να θεωρηθούν ως κοινή «περιοχή πρόσδεσης εκτελεστών», καθώς και με άλλες διακριτές περιοχές, κάποιες από τις οποίες έχουν συσχετιστεί με τις αλληλεπιδράσεις με GPCRs. Σύγκριση αυτών των περιοχών μέσω υπερθέσεων δομών και στοιχίσεων αλληλουχιών δείχνει στερεοδιαταξικές διαφορές ανάμεσα στην ενεργή και την ανενεργή δομή καθώς και ανάμεσα στις διάφορες οικογένειες των $G\alpha$ πρωτεϊνών.

STUDIES OF INTERACTIONS BETWEEN GPCRs, G-PROTEINS AND EFFECTORS

Baltoumas F.A., Theodoropoulou M.K. and Hamodrakas S.J.

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

G-Protein Coupled Receptors (GPCRs) are one of the largest and most diverse families of membrane receptors in eukaryotes. Most GPCR functions are conducted via heterotrimeric G-proteins that act as “molecular switches” for signal transduction from the extracellular space inside the cell. Heterotrimeric G-proteins are composed of α , β and γ subunits and are grouped into four families based on the sequence homology of the $G\alpha$ subunit ($G\alpha_s$, $G\alpha_{i/o}$, $G\alpha_{q/11}$ και $G\alpha_{12/13}$). Upon activation, they interact with various effectors and induce changes in the concentrations of intracellular messages, leading to various cell responses. Crystallographic data confirm the widely accepted common topology of GPCRs and provide information regarding the interactions between effectors and G-proteins, however still little is known about the receptor – G-proteins interaction complex. This work focuses on the interactions between GPCRs, G-proteins and effectors and their relation to the $G\alpha$ subunit’s active and inactive state structure. All studies were based on information provided by the crystal structures of G-proteins and complexes between G-proteins and effectors, as well as several mutagenic and modeling studies. Various effectors appear to interact with certain surfaces of $G\alpha$ that can be considered as a common “effector binding site”, as well as other distinct sites, some of which have also been implicated in GPCR – G-protein interactions. Comparison of these sites through structure superimpositions and sequence alignments shows conformational shifts between the active and inactive states of $G\alpha$ and between the various $G\alpha$ protein families.

**ΣΠΑΝΙΑ ΚΑΙ ΑΠΕΙΛΟΥΜΕΝΑ ΦΥΤΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ
ΚΑΤΗΓΟΡΙΩΝ ΕΞΑΠΛΩΣΗΣ, ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΞΑΦΑΝΙΣΗΣ ΚΑΙ
ΝΟΜΙΚΟΥ ΚΑΘΕΣΤΩΤΟΣ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΤΟΥΣ**

Μπάντη Α. (1), Κρίγκας Ν. (2), Βόκου Δ. (1)

(1) Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Θεσσαλονίκη 54124, ampanti@bio.auth.gr; antompan@gmail.gr (2) Εργαστήριο
Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 54124

Στην παρούσα εργασία δημιουργήθηκε ενιαίος κατάλογος τουλάχιστον 467 φυτικών taxa (είδη και υποείδη, ονοματολογικός έλεγχος σε εξέλιξη) που περιλαμβάνονται στα επίσημα Βιβλία Ερυθρών Δεδομένων των Σπάνιων και Απειλούμενων Φυτών της Ελλάδας (1995, 2009). Με βάση τη γεωγραφική τους εξάπλωση, τα φυτά αυτά διακρίθηκαν σε (α) Ελληνικά ενδημικά φυτά (72%) και (β) φυτά που εξαπλώνονται και εκτός των συνόρων της Ελλάδας (28%). Η πρώτη κατηγορία διακρίνεται σε πέντε υποκατηγορίες και περιλαμβάνει στενότοπα ενδημικά, ενδημικά μιας ή περισσότερων, γειτονικών ή σχετικά απομακρυσμένων, φυτογεωγραφικών περιοχών της Ελλάδας. Η δεύτερη διακρίνεται και αυτή σε πέντε υποκατηγορίες και περιλαμβάνει taxa που απαντούν και σε τμήματα της Τουρκίας, της Βαλκανικής χερσονήσου ή της Μεσογείου, ή εμφανίζουν ευρύτερο πρότυπο εξάπλωσης. Με βάση το νομικό καθεστώς προστασίας τους προέκυψε ότι 12,9% των φυτών προστατεύονται από τη σύμβαση της Βέρνης, 3,9% από τη CITES, 37,8% από το Π.Δ. 67/81, ενώ 65% περιλαμβάνονται στα Παραρτήματα II ή V του Δικτύου ΦΥΣΗ (Natura) 2000 (Εφαρμογή της Οδηγίας 92/43/ΕΟΚ). Επιπρόσθετα, έγινε προσπάθεια ομαδοποίησης των κατηγοριών κινδύνου εξαφάνισης, στις οποίες εντάσσονται τα φυτά αυτά (EX, CR, EN, VU, R, NT, LC, DD), σύμφωνα με τη Διεθνή Ένωση για την Διατήρηση της Φύσης (IUCN) και διερευνήθηκε ο τρόπος εφαρμογής των κριτηρίων της IUCN για ένταξη των σπάνιων και απειλούμενων φυτών στις επιμέρους κατηγορίες κινδύνου.

RARE AND THREATENED PLANTS OF GREECE: EXAMINATION OF DISTRIBUTION TYPES, EXTINCTION RISK CATEGORIES AND PROTECTION STATUS

Bandi A. (1), Krigas N. (2), Vokou D. (1)

(1) Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124, ampant@bio.auth.gr; (2) Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124

In this study we compiled the catalogue of the plants included in the Red Data Books of the Rare and Threatened plants of Greece (1995, 2009) which finally includes at least 467 taxa (species and subspecies, checking of nomenclature in progress). The geographic distribution types of the plants have been grouped into ten basic categories referring to: (a) Greek endemics (72%), which can further be grouped into five subcategories i.e. local endemics, or endemics found in a single or various (adjacent or relatively distant) phytogeographical regions of Greece, and (b) taxa distributed further out of the geographical limits of Greece (28%), which can also be found in parts of Turkey, the Balkan peninsula or the Mediterranean, or presenting a wider distribution (5 subcategories). Moreover, the protection status of the selected plants has been investigated; 12.9% of them are included in the Bern convention, 3.9% are covered by CITES, 37.8% are included in the Greek Presidential Decree 67/81, and 65% in the Appendices II or V of the NATURA 2000 (Directive 92/43/EEC). Furthermore, the plants' extinction risk categories (EX, CR, EN, VU, R, NT, LC, DD) of the International Union for the Conservation of Nature (IUCN) have been grouped; additionally we investigated the way that the IUCN criteria have been applied for assigning the risk categories of the rare and threatened plants of Greece.

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ PPARβ/ δ ΣΤΑ ΚΑΡΔΙΑΚΑ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ

Ελευθερία Μπαρλάκα,, Αντιγόνη Λάζου.

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

Το οξειδωτικό στρες, το οποίο ενοχοποιείται για ένα πλήθος καρδιαγγειακών παθήσεων, σχετίζεται με την υπερτροφία και την απόπτωση και οδηγεί στην καρδιακή αναδιαμόρφωση. Η τελευταία διαμεσολαβείται εν μέρει από μια ειδική κατηγορία ενζύμων, τις μεταλλοπρωτεάσες (MMPs), οι οποίες διαρρηγνύουν τον εξωκυττάριο χώρο. Επιπλέον, έχειδειχθεί ότι οι μεταγραφικοί παράγοντες PPARs σχετίζονται, πέραν του λιπιδιακού μεταβολισμού, και με άλλους κυτταρικούς μηχανισμούς. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του ρόλου της ενεργοποίησης του PPARβ/δ μέσω του ειδικού προσδέτη του GW0742, κατά το οξειδωτικό στρες. Η έκθεση των καρδιομυοκυττάρων στον GW0742 κατά το οξειδωτικό στρες, είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή της παραγωγής των ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS), όπως προσδιορίστηκε με κυτταρομετρία ροής, και τελικά την αύξηση της βιωσιμότητας των καρδιομυοκυττάρων. Επιπλέον, παρουσία του GW0742, αναστάλη η απόπτωση των καρδιομυοκυττάρων που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε αύξηση των ολικών επιπέδων της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 και μείωση της φωσφορυλίωσης της, γεγονός που διαμεσολαβείται ανοδικά από την p38 MAPK. Συμπερασματικά, η ενεργοποίηση του PPARβ/δ στα καρδιομυοκύτταρα έχει αντιοξειδωτικό και αντιαποπτωτικό ρόλο, που περιλαμβάνει την αναστολή της παραγωγής ROS, την αύξηση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 και τη μείωση της έκφρασης και της δραστηριότητας των MMP-2 και MMP-9.

ANTIOXIDANT AND ANTIAPOPTOTIC ROLE OF PPAR β / δ IN CARDIAC MYOCYTES

Eleftheria Barlaka, Antigone Lazou

*Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki 54124 Thessaloniki, e-mail: emparlak@bio.auth.gr*

Oxidative stress, which is implicated in a variety of cardiovascular diseases, is associated with hypertrophy and apoptosis and leads to cardiac remodeling. The latter is mediated in part by a specific class of enzymes, the metalloproteases (MMPs), which disrupt the extracellular matrix. Furthermore, it has been shown that the transcription factors PPARs, are related with various cellular mechanisms apart from the lipid metabolism. The purpose of this study was to investigate the role of PPAR β / δ activation, through the specific ligand GW0742, during oxidative stress. The exposure of cardiomyocytes to GW0742 during oxidative stress, resulted in inhibition of free oxygen radicals (ROS) production, as determined by flow cytometry, and ultimately increased the viability of cardiomyocytes. Moreover, the presence of GW0742 inhibited cardiomyocyte apoptosis induced by oxidative stress, while there was observed an increase in total levels of the antiapoptotic protein Bcl-2 and reduction of its phosphorylation, which is mediated by the upstream p38 MAPK. In conclusion, activation of PPAR β / δ in cardiomyocytes, has antioxidant and antiapoptotic role which involves inhibition of ROS production, increase of the anti-apoptotic Bcl-2 protein and reduction of the expression and activity of MMP-2 and MMP-9.

ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΛΕΚΑΝΗ ΑΠΟΡΡΟΗΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΜΑΡΜΑΡΑ

Μ. Μπέτζιου¹, Ε. Πανά², Ε. Πατετσίνη³, Σ. Ορφανίδης⁴ και Κ. Βουδούρης²

*1 Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολή, ΑΠΘ, 2 Τμήμα Γεωλογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 3 Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 4
ΕΘΙΑΓΕ-ΙΝΑΛΕ, Νέα Πέραμος,, Καβάλα*

Σκοπός της μελέτης είναι η εφαρμογή της Οδηγίας 2000/60/ΕΚ για την εκτίμηση της οικολογικής κατάστασης των επιφανειακών υδατικών σωμάτων του ποταμού Μαρμαρά (Πιερία λεκάνη), μέσω φυσικοχημικών, υδρομορφολογικών και βιολογικών στοιχείων. Η μεγαλύτερη έκταση της λεκάνης καλύπτεται από δάση και ημιφυσικές περιοχές (Corine Land Cover, 2000) με τα μεγαλύτερα τεχνικά έργα την Εγνατία οδό και το αρδευτικό φράγμα του Ακροποτάμου (υπό κατασκευή).

Η απεικόνιση των δεδομένων που συλλέχθηκαν και καταγράφηκαν στην περιοχή μελέτης έγινε με τη χρήση των Γεωγραφικών Συστημάτων Πληροφοριών (ArcGis 9.3.1). Ο χαρακτηρισμός των τύπων του υδρογραφικού δικτύου έγινε με το Σύστημα Β (Οδηγία – Πλαίσιο) και προέκυψαν εφτά σταθμοί δειγματοληψίας (Εκβολές, Λουτρά Ελευθερών, Ποδοχώρι, Μουσθένη, Δωμάτια, Αυλή και Κηπιά). Στους 7 σταθμούς έγινε συλλογή βενθικών μακροασπονδύλων (Ιουλιός 2010) με τη μέθοδο «3 λεπτών λακτίσματος – σάρωσης», υπολογίστηκε ο δείκτης τροποποίησης HMS και μετρήθηκαν οι φυσικοχημικές παράμετροι τόσο στο πεδίο όσο και στο εργαστήριο του Διαβαλκανικού Κέντρου Περιβάλλοντος. Η μέση οικολογική ποιότητα των υδάτων προσδιορίστηκε με το Ελληνικό Σύστημα Αξιολόγησης (ΕΣΑ) και χαρακτηρίστηκε ως “μέτρια”, ο μέσος δείκτης τροποποίησης κατέταξε το ποτάμι στη κατηγορία “εμφανώς μη τροποποιημένο”, ενώ οι φυσικοχημικές παράμετροι δεν ξεπερνούν ως επί το πλείστον τα επιτρεπτά όρια. Στην παράκτια ζώνη πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία μακρόφυτων, η οποία έδειξε “καλή” ποιότητα των υδάτων. Η στατιστική επεξεργασία των βιολογικών παραμέτρων έγινε με τη μη ιεραρχική ομαδοποίηση Fuzzy, όπου ο κάθε σταθμός κατηγοριοποιήθηκε σε διαφορετική ομάδα, λόγω συνεχούς ανανέωσης των επιφανειακών υδάτων από τα υπόγεια, με εξαίρεση τους σταθμούς Εκβολές και Ποδοχώρι. Το υδατικό ισοζύγιο της λεκάνης απορροής υπολογίστηκε ως πλεονασματικό με δεδομένα των μετεωρολογικών σταθμών Χρυσούπολης, Κάριανης και Μουσθένης.

ECOLOGICAL WATER QUALITY AND MANAGEMENT AT MARMARAS RIVER BASIN

M. Betziou¹, E. Pana², E. Patetsini³, S. Orfanidis⁴, K. Voudouris²

1 Department of Civil Engineering, Faculty of engineering, Aristotle University of Thessaloniki, 2 School of Geology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 3 School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 4 Fisheries Research Institute, New Peramos, Kavala

The purpose of this study is to implement Directive 2000/60/EC on the assessment of ecological status of surface water bodies in the river Marmara (Pieria area), via chemical, hydromorphological and biological data. The largest area of the basin is covered by forests and semi-natural areas (Corine Land Cover, 2000), while the larger structures are Egnatia Road and the irrigation dam of Akropotamos (under construction).

Geographic Information Systems (ArcGis 9.3.1) were extensively used in order to visualize the data that collected and recorded in the study. The identification of the types of drainage network was by the System B (Directive - Framework) and obtained seven sampling stations (Ekvoles, Eleftheres baths, Podochori, Moustheni, Domatia, Auli and Kipia). Subsequently, benthic macroinvertebrates were collected from the 7 stations (July 2010) using the “3 minutes kick and swipe”; the index HMS was calculated and different physicochemical parameters were determined either in the field or in the Balkan Environment Center. The average ecological quality of waters was identified with the Greek Evaluation System (EES) and was characterized as “moderate”; the HMS index categorized the river as “apparently unmodified”, whereas the physicochemical parameters do not exceed for the most part the permissible limits. In the coastal zone macroalgae was sampled, which showed “good” water quality. Statistical analysis of biological parameters was conducted through Fuzzy method, where each station is categorized into different group, because of the continuous renewal of surface water from groundwater, with the exception of channels Ekvoles and Podochori. The water balance of the basin was calculated as surplus using data of the meteorological stations Chrysoupoli, Kariani and Moustheni.

Η ΝΟΥΚΛΕΟΛΙΝΗ ΩΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΣ ΣΤΟΧΟΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Μπίρμπας Χ.¹, Φωτόπουλος Μ.¹, Courty J.² και Κατσώρης Π.¹

¹Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας. ²University Paris 12, Dept. of Biology, Paris, France

Η νουκλεολίνη είναι υποδοχέας αυξητικών παραγόντων, ανιχνεύεται στην επιφάνεια καρκινικών και ενδοθηλιακών κυττάρων και εμπλέκεται στην αγγειογένεση και στην ανάπτυξη όγκων. Στοχεύοντας στην καταστολή της αγγειογένεσης και ανάπτυξης όγκων, συνθέσαμε μια σειρά πεπτιδίων που προσδένονται στη νουκλεολίνη και αναστέλλουν την ενεργοποίησή της.

Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήσαμε την βιολογική δράση δυο εξ' αυτών των πεπτιδίων, του HB-19 και του N6, και βρέθηκε ότι αναστέλλουν τον *in vitro* πολλαπλασιασμό και την *in vitro* προσκόλληση των κυττάρων HUVEC. Τα πεπτίδια αυτά παρουσιάζουν *in vivo* ογκοκατασταλτική δράση και βρέθηκε να αναστέλλουν την αγγειογένεση στο σύστημα της χοριοαλλαντοϊδικής μεμβράνης εμβρύου όρνιθας. Επίσης αναστέλλουν τη μετανάστευση των κυττάρων HUVEC στο *in vitro* σύστημα μελέτης της μετανάστευσης Boyden chamber και αναστέλλουν την έκφραση διαφόρων αγγειογενετικών αυξητικών παραγόντων (όπως οι FGF και VEGF) και των υποδοχέων τους σε επίπεδο mRNA. Το HB-19, όπως και το N6, επηρεάζουν την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-2 τόσο σε επίπεδο πρωτεϊνών όσο και σε επίπεδο έκφρασης γονιδίων. Τα πεπτίδια HB-19 και N6 δεσμεύονται στη νουκλεολίνη της επιφάνειας του κυττάρου και φαίνεται ότι για την άσκηση των βιολογικών τους δράσεων διαμεσολαβούν οι κινάσες SRC, ERK1/2, AKT και FAK καθώς αναστέλλουν την ενεργοποίησή τους σε κύτταρα HUVEC. Τέλος, μετά από παροδική αποσιώπηση της έκφρασης της νουκλεολίνης σε κύτταρα HUVEC επιβεβαιώσαμε το ρόλο της στις βιολογικές δράσεις των πεπτιδίων. Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, φαίνεται ότι η νουκλεολίνη αποτελεί υποψήφιο μώριο-στόχο για τη θεραπεία του καρκίνου μέσω καταστολής της αγγειογένεσης και της ανάπτυξης όγκων.

CELL SURFACE EXPRESSED NUCLEOLIN AS A THERAPEUTIC CANCER TARGET

Birmpas Ch.¹, Fotopoulos M.¹, Courty J.² and Katsoris P.¹

¹University of Patras, Department of Biology. ²University Paris 12, Dept. of Biology,
Paris, France.

Nucleolin is a protein over expressed on the surface of tumor and endothelial cells. Recent studies have demonstrated the involvement of nucleolin in tumor growth and angiogenesis. Thus, this cell surface molecule serves as a low-affinity receptor for various ligands implicated in pathophysiological processes. HB-19 and N6 are synthetic peptides that bind cell surface expressed nucleolin and inhibit both tumor growth and angiogenesis.

In the present work, we investigated the biological actions of peptides HB-19 and N6. Our results suggest that HB-19 and N6 inhibit the *in vitro* cell proliferation and adhesion of HUVEC cells. Furthermore, both of them inhibit the *in vivo* tumor growth and angiogenesis on the chicken embryo CAM assay. These peptides inhibit the *in vitro* cell migration (Boyden chamber assay) and the mRNA expression of FGF, VEGF and their receptors in HUVEC cells. HB-19 and N6 induce the activation of MMP-2 in the level of gene and protein expression. HB-19 and N6 bind to cell surface expressed nucleolin and in their biological action possibly involve SRC, ERK1/2, AKT and FAK kinases as HB-19 induces their activation in HUVEC cells. Finally, after down regulation of nucleolin expression using siRNA we confirmed the role of nucleolin in the biological actions of these peptides. Taken together, these results indicate that HB-19 and N6 could constitute an interesting tool for tumor therapy strategy.

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΑΓΟΜΕΝΩΝ ΑΝΟΣΟΑΠΑΝΤΗΣΕΩΝ ΑΠΟ ΝΕΟΥΣ
ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥ MIF: *IN VITRO* ΚΑΙ *IN VIVO*
ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗΣ ΤΟΥΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ**

Μπιρμπίλης Α.¹, Ιωάννου Κ.¹, Παρώνης Ε.², Σαμαρά Π.¹, Al-Abed Y.³, Τσιτσιλώνη Ο.¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, ²Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής, ΙΙΒΕΑΑ, ³The Feinstein Institute for Medical Research, New York, USA

Ο παράγοντας αναστολής της μετανάστευσης μονοκυττάρων/μακροφάγων (MIF) είναι κυτταροκίνη που εκκρίνεται από ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα/μακροφάγα. Δρα πλειοτροπικά και εμπλέκεται σε διαδικασίες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης, αγγειογένεσης, ανάπτυξης των όγκων και μετάστασης. Μελετήσαμε την αντικαρκινική δράση συνθετικών μεταβολιτών-αναστολέων του MIF (ISO-1 και των αναλόγων του, ISO-92 και ISO-66) *in vitro* και *in vivo*. Αρχικά, με τη δοκιμασία MTT, οι αναστολείς ελέγχθηκαν ως προς την τοξικότητα τους έναντι καρκινικών σειρών ανθρώπου (HCT-116, FM-3) και ποντικού (B16, CT-26), αλλά και μονοπύρηνων περιφερικού αίματος, όπου παρατηρήθηκε πως δεν ήταν τοξικοί. Κατόπιν, απομονώθηκαν NK κύτταρα δοτών, ενεργοποιήθηκαν παρουσία των αναστολέων και ελέγχθηκαν ως προς την κυτταροτοξική τους ικανότητα έναντι των στόχων K562 και Daudi. Σημειώθηκε ενίσχυση της NK και LAK κυτταροτοξικότητας παρουσία των αναστολέων. Για να ελέγξουμε επαγωγή αντίστοιχης ανοσοδραστικότητας και *in vivo*, ενοφθαλμίσαμε υποδόρια ποντίκια των φυλών C57BL/6 και BALB/c, με συγγενικά κύτταρα B16 (μελάνωμα) και CT-26 (καρκίνος παχέος εντέρου), αντίστοιχα, και χορηγήσαμε θεραπευτικά, για 20 ημέρες, τους αναστολείς του MIF. Τα ζώα παρακολουθήθηκαν ως προς τον ρυθμό ανάπτυξης των όγκων τους και ακολούθησε *ex vivo* έλεγχος της κυτταροτοξικότητας των σπληνοκυττάρων ορισμένων εξ αυτών, έναντι των στόχων B16, CT-26, YAC-1 και WEHI 164. Τα ζώα και των δύο φυλών που έλαβαν θεραπευτικά τους αναστολείς του MIF, σημείωσαν ηπιότερο ρυθμό ανάπτυξης των όγκων, οι οποίοι, 40 ημέρες μετά τον ενοφθαλμισμό, είχαν υποδιπλάσιο μέγεθος σε σύγκριση με αυτούς των μαρτύρων. Η *ex vivo* κυτταροτοξικότητα των σπληνοκυττάρων τους, έδειξε επαγωγή αντικαρκινικών απαντήσεων μεσολαβούμενων κυρίως από T-λεμφοκύτταρα (αυξημένη λύση των συγγενικών καρκινικών κυττάρων) αλλά και από NK/LAK κύτταρα (αυξημένη λύση των WEHI 164).

STUDY OF IMMUNE RESPONSES INDUCED BY NOVEL SYNTHETIC INHIBITORS OF MIF: *IN VITRO* AND *IN VIVO* EVALUATION OF THEIR ANTI-CANCER ACTIVITY

Birmpilis A.¹, Ioannou K.¹, Paronis E.², Samara P.¹, Al-Abed Y.³, Tsitsilonis O.¹

¹Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, NKUA, ²Centre of Experimental Surgery, BRFAA, ³The Feinstein Institute for Medical Research, New York, USA

Migration inhibitory factor of monocytes/macrophages (MIF) is a cytokine secreted from activated lymphocytes and monocytes/macrophages. MIF acts pleiotropically and is involved in cell proliferation phenomena, differentiation, angiogenesis, tumor development and metastasis. Herein, we studied the anticancer activity of synthetic metabolites-inhibitors of MIF (ISO-1 and its analogues, ISO-92 and ISO-66), both *in vitro* and *in vivo*. Initially, the inhibitors were assayed for their toxicity versus human (HCT-116, FM-3) and murine (B16, CT-26) cancer cell lines, as well as versus peripheral blood mononuclear cells, using the MTT assay and our results showed that they did not induce cell toxicity. Subsequently, NK cells, isolated from the peripheral blood of normal donors, were activated in the presence of the inhibitors and tested for their cytotoxic activity against the targets K562 and Daudi. We observed enhancement of NK and LAK cytotoxicity in the presence of the inhibitors. In order to investigate whether the inhibitors could induce similar cytotoxicity enhancement *in vivo*, we subcutaneously inoculated C57BL/6 and BALB/c mice with the syngeneic B16 (melanoma) and CT-26 (colorectal cancer) cells, respectively, and treated the animals therapeutically with the MIF inhibitors for 20 days. Tumor growth rate was recorded, followed by cytotoxicity assessment of selected animals' spleen cells *ex vivo*, versus the targets B16, CT-26, YAC-1 and WEHI 164. Animals from both strains, treated therapeutically with the MIF inhibitors, showed reduced cancer growth rates and at 40 days upon cancer cell-inoculation, their tumor masses were reduced by ca. 50% compared to those of control animals. *Ex vivo* cytotoxicity of their spleen cells revealed a marked *in vivo*-induced enhancement of anti-cancer responses, mediated in principle by T-cells (increased lysis of syngeneic cancer cells) as well as by NK/LAK cells (increased lysis of WEHI 164).

**BACTROCERA OLEAE: ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΦΥΛΕΤΙΚΩΝ
ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΜΕ
ΦΘΟΡΙΖΟΝΤΑ *IN SITU* ΥΒΡΙΔΙΣΜΟ (FISH)**

Νάκου Ι.¹, Δροσοπούλου Ε.¹, Sichova J.², Marec F.², Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π¹.

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124, Θεσσαλονίκη

²Department of Molecular Biology and Genetics, Institute of Entomology,
Biology Centre ASCR, Branisovska 31, 370 05 Ceske Budejovice, Czech Republic

Η οικογένεια Tephritidae περιλαμβάνει είδη εντόμων μεγάλης οικονομικής σημασίας. Το έντομο *Bactrocera oleae*, ο κοινός δάκος της ελιάς προκαλεί τεράστιες καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη χώρα μας. Η γενετική και η κυτταρογενετική μελέτη των παρασιτικών εντόμων αποτελεί τη βάση για την κατανόηση της βιολογίας τους και την ανάπτυξη σύγχρονων, φιλικών προς το περιβάλλον μεθόδων καταπολέμησής τους.

Στην παρούσα μελέτη:

α) αναπτύχθηκαν ειδικοί ανιχνευτές για τα φυλετικά χρωμοσώματα (X, Y) του *B. oleae* μετά από μικροεκτομή (laser microdissection) από μιτωτικούς πυρήνες. Οι παραπάνω ανιχνευτές χρησιμοποιήθηκαν σε πειράματα φθορίζοντος *in situ* υβριδισμού (Whole Chromosome FISH) για τον εντοπισμό των φυλετικών χρωμοσωμάτων σε πολυταινικούς πυρήνες. Τα σήματα υβριδισμού και για τους δύο ανιχνευτές εντοπίστηκαν στην εξω-χρωμοσωματική ετεροχρωματινική μάζα του πολυταινικού πυρήνα, επιβεβαιώνοντας την υπόθεση ότι η ετεροχρωματινική μάζα που έχει παρατηρηθεί στον πολυταινικό πυρήνα των Tephritidae αντιστοιχεί στα φυλετικά χρωμοσώματα.

β) χαρτογραφήθηκαν τα ριβοσωμικά γονίδια (rDNA) σε μιτωτικούς και πολυταινικούς πυρήνες του *B. oleae* με φθορίζοντα *in situ* υβριδισμό. Τα σήματα εντοπίστηκαν στα άκρα των δύο φυλετικών χρωμοσωμάτων των μιτωτικών πυρήνων και σε τμήμα της εξω-χρωμοσωματικής ετεροχρωματινικής μάζας των πολυταινικών πυρήνων, ενισχύοντας την άποψη ότι η παρουσία του rDNA στα φυλετικά χρωμοσώματα αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό των Δίπτερων εντόμων.

***BACTROCERA OLEAE*: LOCALIZATION OF THE SEX
CHROMOSOMES AND THE RIBOSOMAL RNA GENES BY
FLORESCENT *IN SITU* HYBRIDIZATION (FISH)**

Nakou I. ¹, Drosopoulou E. ¹, Sichova J. ², Marec F. ², Mavragani-Tsipidou P. ¹

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology,

School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 54124, Thessaloniki

*²Department of Molecular Biology and Genetics, Institute of Entomology,
Biology Centre ASCR, Branisovska 31, 370 05 Ceske Budejovice, Czech Republic*

The family of Tephritidae consists of many economically important insects. *Bactrocera oleae*, the olive fruit fly, causes annually significant loses of the olive fruit crops in the Mediterranean and other olive producing countries. Genetics and cytogenetics of insect pests provide an essential basis for understanding the biology of these species and for the implementation of modern control strategies.

In the present study:

- a) specific probes for *B. oleae* sex chromosomes (X, Y) have been developed by laser microdissection and used in Whole Chromosome FISH experiments for the localization of sex chromosomes in the polytene nuclei. Both probes hybridized on the extra-chromosome heterochromatic mass of the polytene nuclei, providing the first proof that the sex chromosomes of Tephritidae are organized in the heterochromatic structure of the polytene complement.
- b) the ribosomal RNA genes (rDNA) have been localized in mitotic and polytene nuclei of *B. oleae* by FISH. Hybridization signals were detected on the edges of sex chromosomes in mitotic nuclei and on part of the extra-chromosome heterochromatic mass in polytene nuclei, supporting the notion that the organization of the rDNA on the sex chromosomes is common among Diptera.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

*Αναστάσιος Νικολάου, Γεωργία Σαζάμη, Αθανάσιος Καραπέτσας, Μαριάνθη
Σιδηρά, Ιωάννης Κουρκουτάς, Αλέξιος Γαλάνης*

*Ομάδα Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας και Μοριακής Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Μοριακής
Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, 68100*

Η ανάπτυξη και παραγωγή τροφίμων που περιέχουν προβιοτικούς μικροοργανισμούς έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας και των καταναλωτών, λόγω των ευεργετικών επιδράσεων τους στην υγεία. Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται συχνότερα ανήκουν στα είδη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*. Ειδικότερα, οι λακτοβάκιλλοι *L. casei* ATCC 393 και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς από τη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή προβιοτικών γιαουρτιών. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας μοριακής μεθόδου για γρήγορη ανίχνευση και ταυτοποίηση των εν λόγω μικροοργανισμών σε νέα λειτουργικά τρόφιμα. Αρχικά μέσω της διαδικτυακής πλατφόρμας NCBI πραγματοποιήθηκε έρευνα για την εξεύρεση πολυμορφικών θέσεων στα γονίδια *hsp60* για τον *L. casei* ATCC 393 και *tuf* για τον *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* αντίστοιχα, με σκοπό το σχεδιασμό ειδικών εκκινητών. Οι εξειδικευμένοι αυτοί εκκινητές, μέσω της τεχνικής multiplex PCR, είχαν ως αποτέλεσμα την ενίσχυση μοναδικών γονιδιακών τμημάτων παράγοντας ένα χαρακτηριστικό πρότυπο ζωνών και επιτρέποντας τη διαφοροποίηση ακόμη και μεταξύ πολύ συγγενικών στελεχών. Η διακριτική ικανότητα της μεθόδου εξετάστηκε με επιτυχία σε προβιοτικά προϊόντα και μπορεί να εφαρμοστεί άμεσα στη βιομηχανία τροφίμων.

MOLECULAR IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA IN PROBIOTIC FOOD PRODUCTS

**Anastasios Nikolaou, Georgia Saxami, Athanasios Karapetsas, Marianthi Sidira,
Yiannis Kourkoutas, Alex Galanis**

*Applied Microbiology and Molecular Biotechnology Research Group, Department of
Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis,
GR 68100, Greece*

Nowadays, the development and production of novel foods containing probiotic microorganisms have attracted tremendous interest due to their healthful properties. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species are the most commonly used probiotic microorganisms. Among these lactic acid bacteria (LAB), *L. casei* ATCC 393 and *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* have been widely used to make yoghurt with improved texture and taste, as well as to confer probiotic properties. The aim of our study was to develop a molecular method for efficient detection of *L. casei* ATCC 393 and *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* based on a multiplex PCR assay. Comparative sequence analysis of specific ubiquitous genes (*hsp60* for *L. casei* ATCC 393 and *tuf* for *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) was performed for all *Lactobacillus* strains available in GenBank database for the identification of polymorphic sites that are unique for *L. casei* ATCC 393 and *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Specific primers were designed in order to generate unique products for *L. casei* ATCC 393 and *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, respectively, in a multiplex PCR assay. A unique pattern of bands was generated for *L. casei* ATCC 393 and *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* that permitted efficient differentiation even among very closely-related LAB. The discriminating power of our method and its applicability were successfully tested in food products. In conclusion, we presented a new multiplex PCR-based methodology for identification of *L. casei* ATCC 393 and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in a single reaction. Our method can be immediately adopted for detection of the above LAB in food products.

**ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΟΙΚΟΥΜΕΝΙΚΩΝ ΕΚΚΙΝΗΤΙΚΩΝ
ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟ
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ**

Μαρία Ντερτιλή, Μιλτιάδης Α. Τύπας, Βασίλης Ν. Κουβέλης
Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιούπολη 15701 Αθήνα, e-mail: kouvelis@biol.uoa.gr

Τα μιτοχονδριακά γονιδιώματα (mtDNAs) είναι πηγή πληροφόρησης για τη γενετική, ταξινομική, εξελικτική και φυλογενετική μελέτη των μυκήτων σύμφωνα με όλα τα σύγχρονα δεδομένα. Η μέθοδος εμπλουτισμού αλυσιδωτής αντίδρασης (PCR) παρέχει δεδομένα ποικιλομορφίας, ταυτοποίησης και διάγνωσης των μυκήτων, υποδεικνύει δε τις φυλογενετικές τους σχέσεις με χρήση κατάλληλων εκκινήτων. Τα mtDNAs των μυκήτων έχουν μεγέθη που κυμαίνονται από 11 έως 120 kb και φέρουν συνήθως 14 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες για την αναπνοή και παραγωγή ATP, 2 γονίδια rRNA και 25 (κατά μέσο όρο) γονίδια tRNAs. Για το σχεδιασμό των οικουμενικών εκκινήτων χρησιμοποιήθηκαν τα μέχρι σήμερα γνωστά μιτοχονδριακά γονιδιώματα (82), τα οποία έχουν κατατεθεί στις γονιδιακές τράπεζες, και mtDNAs που αναλύθηκαν στο εργαστήριό μας από τις αλληλουχίες μη ολοκληρωμένων γονιδιωμάτων μυκήτων (20), με την ακόλουθη κατανομή: Ασκομύκητες (78), Βασιδιομύκητες (10), Ζυγομύκητες (3), Χυτριομύκητες (9) και Γκλομερομύκητες (2). Οι εκκινητές δοκιμάστηκαν σε αντιπροσωπευτικά στελέχη μυκήτων από διάφορες τάξεις, προκειμένου να διαπιστωθεί η καθολικότητά τους. Τα μέχρι σήμερα δεδομένα υποδεικνύουν ότι οι καταλληλότεροι αφορούν τα γονίδια της υπομονάδας 3 της κυτοχρωμικής οξειδάσης (*cox3*), της υπομονάδας 6 της συνθετάσης του ATP (*atp6*) και της μικρής ριβοσωμικής rRNA μιτοχονδριακής υπομονάδας (*rns*). Επιλεγμένα προϊόντα κλωνοποιήθηκαν και αναγνώσθηκαν με αποτέλεσμα οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες των γονιδίων αυτών και ο συνδυασμός τους να χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή φυλογενετικών δέντρων που αναδεικνύουν τις εξελικτικές σχέσεις αυτών καθεαυτών των γονιδίων αλλά και των οργανισμών που τα φέρουν.

DESIGNING AND USING UNIVERSAL PRIMERS FOR THE AMPLIFICATION OF MITOCHONDRIAL GENES WITHIN THE KINGDOM OF FUNGI

Maria Ntertili, Milton A. Typas, Vassili N. Kouvelis

*Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panemistiopolis, Athens 15701, Greece, e-mail: kouvelis@biol.uoa.gr*

The mitochondrial genomes (mtDNAs) are a source of information for genetic, taxonomic, evolutionary and phylogenetic studies in fungi as recent literature has shown. The polymerase chain reaction amplification method (PCR) can provide information about the diversity, identification and diagnosis of fungi and thus, reveal their phylogenetic relationships, with the use of the appropriate primers. Fungal mt DNAs present size variability which ranges from 11 to 120 kbs and a typical mitochondrial fungal genome usually contains 14 protein-coding genes related to oxidative phosphorylation and ATP production, 2 rRNA and 25 (on average) tRNA genes. For the design of the universal primers for all mt genes (protein encoding and ribosomal), the known mtDNAs (82), submitted to genetic sequence databases (e.g. GenBank) and several other mt genomes (20) collected from genome projects of fungi and annotated in our laboratory, were used. Their distribution within the fungal subphyla varied, i.e., Ascomycetes (78), Basidiomycetes (10), Zygomycetes (3), Chytridiomycetes (9) and Glomeromycetes (2). Primers have been tested with DNA template isolated from representative fungal species of the most important and known orders, for evaluating their universality within the kingdom. So far, the best results have been provided with the primer pairs of the genes ATP synthase subunit 6 (*atp6*), cytochrome oxidase subunit III (*cox3*) and small ribosomal rRNA mitochondrial subunit (*rns*). Selected amplicons were cloned and sequenced so that nucleotide alignments of each mitochondrial gene are being used as a data matrix for the construction of phylogenetic trees which accentuate the evolutionary relationships of either the genes *per se*, or even better, of the organisms they carry them.

ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΧΩΡΙΚΗΣ ΜΝΗΜΗΣ ΜΥΩΝ *Mus musculus* C57BL6 ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΚΙΝΗΤΟ ΤΗΛΕΦΩΝΟ ΕΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Ντζούνη Μ.Π.¹, Κωστομητσόπουλος Ν.² και Α.Χ. Μαργαρίτης¹

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

²Μονάδα Ζωικών Προτύπων, Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής, ΙΙΒΕΑΑ

Με στόχο να διαπιστώσουμε εάν και άλλες λειτουργίες εκτός της μνήμης αναγνώρισης αντικειμένου επηρεάζονται από την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (ΗΜΑ), που εκπέμπεται από συμβατικό κινητό τηλέφωνο, σχεδιάσαμε ειδικό πρωτόκολλο ακτινοβόλησης αρσενικών μυών C57BL/6 και ελέγχου χωρικής μνήμης, όπως περιγράφεται παρακάτω. Λαμβάνοντας υπόψη την «αρχή των 3Rs (Replacement, Reduction, Refinement)» στο σχεδιασμό των πειραμάτων χρησιμοποιήσαμε τρεις ομάδες των 8 ζώων (για 2 σειρές πειραμάτων) μία για έκθεση σε ΗΜΑ, μία για εικονική έκθεση σε ΗΜΑ και μία ως μάρτυρες. Η έκθεση διήρκεσε 90 λεπτά την ημέρα για 30 ημέρες έχοντας το κινητό τηλέφωνο κάτω από τους κλωβούς διαβίωσης. Η ένταση ηλεκτρικού πεδίου, όπως μετρήθηκε με το όργανο NARDA SRM 3000 είχε μέση τιμή $E=12$ V/m και κατά συνέπεια τιμή $SAR = \sigma E^2 / \rho = 0,111$ Watt/Kg, όπου $\sigma = 0,8$ S/m και $\rho = 1040$ Kg/m³. Ο έλεγχος της χωρικής μνήμης, πραγματοποιήθηκε με τη «Δοκιμασία Αναγνώρισης Θέσης Αντικειμένου», όπου οι μύες καλούνται να ανακαλέσουν την κωδικοποιημένη πληροφορία θέσης δυο όμοιων αντικειμένων στο χώρο και να εξερευνήσουν για περισσότερο χρόνο το μετατοπισμένο αντικείμενο έναντι του μη μετατοπισμένου. Η ικανότητα αυτή εκτιμάται μέσω ενός «Δείκτη Διάκρισης» (ΔΔ), που υπολογίζεται από το χρόνο εξερεύνησης των δυο αντικειμένων. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του ΔΔ με την ΗΜΑ ($p<0,05$) κάτι που σημαίνει ότι οι μύες δεν αντιλαμβάνονται τη μετατόπιση αντικείμενου, γεγονός που αποδίδεται σε επίδραση της ΗΜΑ στον ιππόκαμπο, αφού όπως έχει δειχθεί παρόμοια διαταραχή χωρικής μνήμης προκαλούν φάρμακα που αλλοιώνουν τη λειτουργία του ιππόκαμπου. Συμπεραίνεται ότι η ΗΜΑ από κινητό τηλέφωνο, εκτός από τη μνήμη αναγνώρισης αντικειμένων επηρεάζει επίσης και τη χωρική μνήμη, παρόλο που οι δυο διαδικασίες μνήμης ελέγχονται από διαφορετική περιοχή του εγκεφάλου. Εκτιμάται ότι η μη στοχευμένη δράση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ενδεχόμενα παρενοχλεί και άλλες περιοχές του εγκεφάλου με ακόμη άγνωστες συνέπειες.

SPATIAL MEMORY IMPAIRMENT IN MICE *Mus musculus* C57BL/6 AFTER EXPOSURE TO A MOBILE PHONE

Ntzouni M.P.¹, Kostomitsopoulos N.² and L. H. Margaritis¹

¹Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, ²Laboratory Animal Facilities, Centre of Experimental Surgery, Biomedical Research Foundation, Academy of Athens

In order to investigate whether or not other memory functions besides recognition memory are affected by the electromagnetic field (EMF) emitted by a mobile phone, we designed a special radiation protocol combined with a spatial memory paradigm in mice *Mus musculus* C57BL/6 as described below. Three groups of animals (8 each) were used in two series of experiments (48 animals in total): exposed, sham exposed and control group. The 3Rs concept for Refinement, Reduction and Replacement of animal experimentation was taken under consideration. The exposure lasted 90 minutes per day for 30 days with a mobile phone in operation under each home cage. Electrical field intensity as measured with the spectrum analyzer NARDA SRM 3000 was $E=12$ V/m. Specific absorption rate (SAR) = $\sigma E^2 / \rho = 0,111$ W/Kg, where $\sigma = 0,8$ S/m and $\rho = 1040$ Kg/m³. The specific paradigm of “Object Location Task” was used to test the performance of spatial memory, which is controlled by the hippocampus. During this trial the mice are called to retrieve the encoded location information of two identical objects within a cued environment and to explore more extensively the displaced object versus the non displaced during the trial session. The final ability in the exploration of the displaced object is assessed via a “Discrimination Index” which is calculated from the time spent exploring each object. The results showed a statistically significant decrease of DI ($p<0,05$) in exposed group vs the sham exposed which means that the mice are not able to perceive the displacement of the object. It is concluded that hippocampal function has been disturbed by EMFs since similar spatial memory impairment is caused by drugs affecting hippocampus. Therefore mobile phone EMF, which affect recognition memory as we reported previously, is able to impair spatial memory as well, under the same exposure conditions albeit the two memory functions are controlled by different brain regions. It is postulated that the non targeted impact of this type of radiation may disturb other brain regions with still unknown hazards.

ΣΥΝΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΠΕΡΚΑΠΝΙΑΣ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΟΥ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Ντόκου Αγλαΐα¹, Ανέστης Ανδρέας¹, και Μιχαηλίδης Βασίλειος¹

¹ Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΚ 54124, Ελλάδα

Στα πλαίσια της Κλιματικής Αλλαγής, σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των φυσιολογικών αποκρίσεων των μυδιών στη συνδυασμένη επίδραση αυξημένης συγκέντρωσης CO₂ και θερμοκρασίας. Για το λόγο αυτό, έγινε προσδιορισμός της δραστηριότητας γλυκολυτικών ενζύμων όπως κινάση του πυροσταφυλικού οξέος (PK) και φωσφοφρουκτοκινάση (PFK) και του Κύκλου Krebs όπως συνθετάση του κιτρικού οξέος (CS) στο μανδύα και στον πρόσθιο προσαγωγό μυ (PAM) μυδιών του είδους *Mytilus galloprovincialis* που εγκλιματίστηκαν σε συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας και χαμηλού pH.

Ωριμα άτομα του είδους συλλέχθηκαν από το Θερμαϊκό κόλπο και αφού εγκλιματίστηκαν στις συνθήκες του εργαστηρίου, στη συνέχεια διαμοιράστηκαν σε τέσσερα ενυδρεία με τις ακόλουθες συνθήκες: α) 18°C/pH 7,4, β) 24°C / pH 7,4, γ) 26°C / pH 7,4 και δ) 28°C / pH 7,4. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν την 1^η, 3^η, 5^η, 10^η, 15^η και 20^η ημέρα του εγκλιματισμού των μυδιών σε αυτές τις συνθήκες. Οι μετρήσεις των ενζυμικών δραστηριοτήτων έγιναν σύμφωνα με γνωστές μεθόδους.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θνησιμότητα των μυδιών μειώνεται σημαντικά όταν αυτά εκτίθενται ταυτόχρονα σε χαμηλό pH και υψηλές θερμοκρασίες συγκριτικά με την έκθεση τους μόνον σε υψηλές θερμοκρασίες. Η αυξημένη ανθεκτικότητα πιθανόν να οφείλεται στην μείωση του μεταβολικού ρυθμού. Οι δραστηριότητες των ενζύμων μειώνονται σημαντικά όταν τα μύδια εκτίθενται στις ίδιες συνθήκες υποστηρίζοντας περαιτέρω την παραπάνω υπόθεση.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η μείωση του μεταβολικού ρυθμού μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην αντιμετώπιση του θερμικού στρες και στη μείωση της θνησιμότητας που αυτό προκαλεί. Ωστόσο, η αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων στον καθορισμό των ορίων ανοχής των μυδιών στην αλλαγή των περιβαλλοντικών συνθηκών απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.

**SYNERGETIC EFFECTS OF TEMPERATURE AND HYPERCAPNIA
ON THE METABOLISM OF THE BIVALVE *MYTILUS
GALLOPROVINCIALIS***

Ntokou Aglaia¹, Anestis Andreas¹ and Michaelidis Basile.¹

¹ Laboratory of Animal Physiology, Department of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki, 54124, Greece

The present study aimed to explore the physiological responses of the bivalve *Mytilus galloprovincialis* at the combined stress of high levels of CO₂ and temperature, in light of climate change. For this reason, activities of the glycolytic enzymes PK, PFK and CS were measured under conditions of elevated temperature and decreased pH.

Mature individuals were collected from Thermaikos Gulf, acclimated at lab conditions for several weeks and then divided into four groups that were transferred at different aquariums. In each aquarium, different conditions were applied for 20 days: a) 18°C/pH 7.4, b) 24°C /pH 7.4, c) 26°C /pH 7.4 and d) 28°C /pH 7.4. The mantle and posterior adaptor muscle (PAM) of mussels were sampled after 1, 3, 5, 10, 15 and 20 days of acclimation and frozen immediately in liquid nitrogen until used. Enzyme activities were then measured according to known methods.

According to our results, mortality is significantly reduced when mussels are exposed to both increased temperature and decreased pH, compared to the mortality recorded under conditions of only increased temperature. Moreover, the enzyme activities were also reduced under these conditions, indicating metabolic depression.

Consequently, metabolic depression caused by the increased CO₂ levels could possibly be involved in the decrease of the effects of thermal stress on mussels physiology and survival. However, the interaction of temperature and CO₂ in determining the mussel's tolerance limits at changing environmental conditions should be further investigated.

ΕΚΚΡΙΣΗ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ: Η ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ- NANOMΗΧΑΝΩΝ

Οικονόμου Α^{1,2*}

¹IMBB-FoRTH και ²Τμ. Βιολογίας, Π.Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη ³

Σχεδόν το ήμισυ των πρωτεϊνών του κυττάρου εκκρίνονται πλήρως ή εισάγονται σε μεμβράνες από μεμβρανοσύνδετες μεταθετάσες. Η κύρια βακτηριακή μεταθετάση αποτελείται από το σύμπλοκο SecYEG, ένα κανάλι που εξάγει πολυπεπτίδια και τον περιφερικό κινητήρα SecA ATPάση. Τα εκκριτικά πολυπεπτίδια συντίθεται ως "προπρωτεΐνες" οι οποίες φέρουν προσωρινά αμινοτελικά πεπτίδια-σήματα. Τα πεπτίδια-σήματα μπορούν να αναγνωριστούν είτε από το Σωμάτιο Αναγνώρισης Σημάτων (Signal Recognition Particle, SRP) είτε από τη SecA και, στη συνέχεια, να στοχευθούν στη μεμβράνη κοντά ή πάνω στη μεταθετάση. Πρόσθετες πληροφορίες σημαντικές για τη στόχευση βρίσκονται στη "μη εγγενή" διαμόρφωση των ώριμων τμημάτων της προπρωτεΐνης και αυτά μπορεί να αναγνωρίζονται από μοριακές συνοδούς όπως ο Trigger Factor ή η SecB. Επιπρόσθετα, μπορεί να αναγνωρίζονται και από τη SecA, είτε στο κυτταρόπλασμα ή, πιο αποτελεσματικά, όταν αυτή βρίσκεται δεσμευμένη στο κανάλι SecYEG. Τα πεπτίδια-σήματα έχουν ένα νέο ουσιαστικό ρόλο πέραν της στόχευσης καθώς δρουν ως αλλοστερικοί ενεργοποιητές της μεταθετάσης. Μετά τη σύνδεση τους σε ειδική αύλακα πάνω στη SecA, ενεργούν *in trans* για να προωθήσουν τα εξής τρία διαδοχικά στάδια: πρώτον, την "ενεργοποίηση" που οδηγεί τη μεταθετάση σε μια χαμηλότερη ενεργειακή ενεργοποιημένη κατάσταση. Μετά στην "παγίδευση" μέσω της οποίας παγιδεύονται στην εκκριτική μηχανή τα μη-εγγενή, ώριμα τμήματα της προπρωτεΐνης και, τέλος, την «έκκριση», κατά την οποία τα παγιδευμένα ώριμα τμήματα υφίστανται πολλαπλούς κύκλους μετατόπισης, τμηματικά. Υπάρχουν εκατοντάδες εκκριτικές πρωτεΐνες με διαφορετικά πεπτίδια-σήματα και ώριμα τμήματα. Ποιά είναι τα «bar codes» πάνω στα εκκριτικά πεπτίδια-σήματα και στα ώριμα τμήματα των εκκριτικών πρωτεϊνών που "διαβάζονται" από τους διάφορους κυτταροπλασματικούς παράγοντες στόχευσης (Trigger Factor, SecB, SecA) και στη συνέχεια από τη μεταθετάση, καθώς αυτή περνά από στάδια "ενεργοποίησης", "παγίδευσης" και "έκκρισης"; Για να απαντήσουμε σ αυτά τα ερωτήματα συνδυάζουμε προπρωτεΐνες, με ελλείματα και αλλαγμένες περιοχές, δοκιμασίες *in vivo* και *in vitro*, βιοφυσικές δοκιμές για τη μελέτη πρωτεϊνικών συμπλόκων, δομική ανάλυση με χρήση NMR και κρυσταλλογραφίας, βιοπληροφορική και φασματομετρία μάζας.

References

Economou, A. (2008). *Nature* **455**, 879-880., Gelis, I., et al. (2007). *Cell* **131**, 756-769., Gouridis, G. et al., (2009). *Nature* **462**, 363-36., Karamanou, S., et al., (2007). *EMBO J* **26**, 2904-2914., Keramissanou, D., et al., *Nature Struct & Mol Biol* **13**, 594-602., Papanikou, E., et al. (2007). *Nature Rev Microbiol* **5**, 839-851.

*Karamanou, S.¹, Gouridis, G.¹, Chatzi, K.^{1,2}, Sardis, M.F.^{1,2}, Emmanouilidis, L.^{1,2}, Orfanoudaki, G.^{1,2}, Pai, M.T.³, Kalodimos, C.G.³ and Economou A^{1,2}

¹IMBB-FoRTH και ²Τμ. Βιολογίας, Π.Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη; ³Dpt of Biomedical Engineering, Rutgers University, USA

; ³Dpt of Biomedical Engineering, Rutgers University, USA

PROTEIN SECRETION: THE SYSTEM-NANOMACHINE CROSS-TALK

Economou A^{1,2*}

¹IMBB-FoRTH and ²Dpt of Biology, U.Crete, Iraklio, Crete, Greece

Almost half of cellular proteins are secreted across or inserted into membranes by membrane-embedded translocases and inhabit the cell envelope. The main bacterial translocase comprises the SecYEG "protein-conducting channel" and the peripheral ATPase motor SecA. Secretory polypeptides are synthesized as "preproteins" carrying aminoterminal, cleavable signal peptides. Signal peptides can be recognized by the Signal Recognition Particle (SRP) or SecA and thus be targeted to the membrane near or at the translocase. Additional targeting information resides in the "non-native" conformation of the mature domains of preproteins and this can be recognized not only by chaperones like Trigger Factor or SecB but also by SecA, either at the cytoplasm or, more efficiently, when bound at SecYEG. Signal peptides have a novel essential role beyond targeting as allosteric activators of the translocase. Upon docking on their binding groove on SecA, they act *in trans* to drive three successive states: first, "triggering" that drives the translocase to a lower activation energy state; then "trapping" that engages non-native preprotein mature domains docked with high affinity on the secretion apparatus at a distinct site and, finally, "secretion" during which trapped mature domains undergo multiple turnovers of translocation in segments. There are hundreds of secretory proteins with different signal peptides and mature domains. What are the "barcodes" on secretory protein signal peptides and mature domains that are first "read" by the different cytoplasmic targeting factors (Trigger Factor, SecB, SecA) and then by the translocase as it undergoes "triggering", "trapping" and "secretion"? To address these questions we combine truncated and domain-swapped preproteins, *in vivo* and *in vitro* assays, biophysical assays to study complexes, structural dissection using NMR and crystallography, bioinformatics and mass-spectrometry.

References

- Economou, A. (2008). **Nature** **455**, 879-880., Gelis, I., et al. (2007). **Cell** **131**, 756-769., Gouridis, G. et al. (2009). **Nature** **462**, 363-36., Karamanou, S., et al. (2007). **EMBO J** **26**, 2904-2914., Keramissanou, D., et al. **Nature Struct & Mol Biol** **13**, 594-602., Papanikou, E., et al. (2007). **Nature Rev Microbiol** **5**, 839-851.
*Karamanou, S.¹, Gouridis, G.¹, Chatzi, K.^{1,2}, Sardis, M.F.^{1,2}, Emmanouilidis, L.^{1,2}, Orfanoudaki, G.^{1,2}, Pai, M.T.³, Kalodimos, C.G.³ and Economou A^{1,2}
¹IMBB-FoRTH και ²Τμ. Βιολογίας, Π.Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη; ³Dpt of Biomedical Engineering, Rutgers University, USA
¹IMBB-FoRTH και ²Τμ. Βιολογίας, Π.Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη; ³Dpt of Biomedical Engineering, Rutgers University, USA

**SALMO LOUROSENSIS DELLING, 2010: ΕΝΑ ΑΠΕΙΛΟΥΜΕΝΟ
ΕΝΔΗΜΙΚΟ ΕΙΔΟΣ ΚΑΙ ΤΟ ΚΑΘΕΣΤΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΤΟΥ**

**Οικονόμου Ανθή, Ντάκης Αλέξανδρος,, Αναστασιάδου Χρύσα και Λεονάρδος
Ιωάννης**

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων 45110, Ιωάννινα, e-mail: ileonard@uoi.gr

Το σαλμονοειδές *Salmo lourosensis* Delling, 2010 (Salmonidae), είναι ψάρι των εσωτερικών υδάτων, ενδημικό του Ποταμού Λούρου (Β.Δ. Ελλάδα), το οποίο τις τελευταίες δυο δεκαετίες θεωρήθηκε ως είδος υπό εξαφάνιση. Πρόσφατα, η συστηματική και εντατική έρευνα πεδίου αποκάλυψε την ύπαρξη ατόμων του είδους. Εντούτοις, η μελέτη της αφθονίας του είδους με τη μέθοδο της σύλληψης -επανασύλληψης έδειξε ότι ο πληθυσμός είναι περιορισμένος και το είδος κινδυνεύει διότι έχει περιοριστεί σε ένα μικρό τμήμα του ποταμού έκτασης μόλις 28 χλμ. Πιο συγκεκριμένα, το είδος περιορίζεται μόνο στο ανώτερο τμήμα του ποταμού Λούρου με τα νότια όρια της κατανομής του να ορίζονται από ένα υδροηλεκτρικό φράγμα,.

Οι κυριότερες απειλές για το είδος είναι η απώλεια και η υποβάθμιση του βιοτόπου του συμπεριλαμβανομένης της ιζηματογένεσης, της μείωσης της παρόχθιας βλάστησης, της χαμηλής ποιότητας των αναπαραγωγικών πεδίων και της μείωσης της παραγωγικότητας στη κύρια ροή και παρόχθια ζώνη. Επιπλέον, ο ανταγωνισμός ως προς τη τροφή με τη μη ιθαγενή ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) που διαφεύγει από τις ιχθυοκαλλιέργειες της περιοχής αποτελεί σημαντική απειλή για το είδος. Τέλος, η εντατική πρακτική της αλιείας του είδους από τους ψαράδες καθώς και η κατασκευή του φράγματος έχουν περιορίσει την περιοχή κατανομής του και έχουν επηρεάσει την ποιότητα του βιοτόπου.

Το *S. lourosensis* έχει αναγνωριστεί ως είδος υψηλής διαχειριστικής αξίας, έχει χαρακτηριστεί ως κινδυνεύον σύμφωνα με το Κόκκινο Βιβλίο των Απειλούμενων Σπονδυλόζωων της Ελλάδας, συμπεριλαμβάνεται στην οδηγία 92/43/EEC της ΕΕ (παραρτήματα II, IV), προστατεύεται από τη Συνθήκη της Βέρνης (παράρτημα II) και από το προεδρικό διάταγμα του ελληνικού κράτους (67/1981). Παρά την επείγουσα ανάγκη για μελέτη και προστασία του εναπομείναντος πληθυσμού, δεν υπάρχει καμία διαχειριστική ενέργεια που να αφορά το είδος. Η επιβίωση και η διατήρηση της ενδημικής πέστροφας του Π.Λούρου απαιτούν άμεσες ενέργειες που θα στοχεύουν στην προστασία του ενδιαίτηματος και των πληθυσμών της.

SALMO LOUROSENSIS, DELLING, 2010: A THREATENED ENDEMIC SPECIES AND ITS CONSERVATION STATUS

Oikonomou Anthi., Ntakos Alexandros, Anastasiadou Chryssa and Leonardos Ioannis

*Laboratory Zoology, Department of Biological Applications and Technology,
University of Ioannina, 45110, Ioannina, e-mail: ileonard@uoi.gr*

Salmo lourosensis, Delling, 2010, (Salmonidae) is a freshwater salmonid species endemic to Louros River (NW Greece), which was considered as extinct for the past two decades. Recent intensive field work has revealed the species to be extant. However, based on our extensive field surveys under the Trout Population Monitoring project, including capture-recapture techniques, we estimate that species' current population is low and the species is considered as Endangered because it is currently restricted to a short part of the river extending to 28 km; almost one third of the riverine ecosystem. More specifically, *S. lourosensis* has been recorded only in the upper part of Louros River with the southern border of its distribution restricted by a hydroelectric dam.

The major threats for the population are the habitat loss and degradation including the loss of pool habitat, sedimentation, riparian vegetation, low quality of spawning grounds and reduction of instream and riparian area food production. In addition, the competition and the diet overlap with the non-native rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) which escapes from the region's aquacultural farms are among the important threats of the endemic trout. Intensive fishing practice by the local fishermen as well as the dam's construction have restricted its distribution area into a small part of the riverine ecosystem and have affected habitat's and water's quality.

S. lourosensis has been recognized as a species of high conservation value; it is assigned as endangered in the Red Book of Endangered Species of Greece, listed in the EU Habitat Directive 92/43/EEC (Annexes II, IV), protected by the Bern Convention (Appendix II) and by the Presidential Decree No. 67/1981 of the Greek State. Despite the urgent need for studying and protecting the remaining populations, currently there are no specific conservation actions for *S. lourosensis*. Survival and persistence of this endangered endemic trout clearly requires rapid conservation actions along with provisions for the protection of its habitat.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΕΝΟΣ ΚΟΙΝΟΥ
ΣΑΡΩΤΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΣΤΙΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΣΤΑ
ΨΑΡΙΑ**

Γιώργος Ορφανίδης, Κωνσταντίνος Γκάνιας

*Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Η χρήση συστημάτων ψηφιακής ανάλυσης εικόνας στις μετρήσεις της γονιμότητας των ψαριών εφαρμόζεται όλο και περισσότερο στις μέρες μας. Οι εφαρμογές αυτές πέραν του ειδικού λογισμικού απαιτούν τη χρήση ειδικού και συνήθως ακριβού εξοπλισμού όπως είναι ένα στερεοσκόπιο με κάμερα συνδεδεμένη με Η/Υ. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η εναλλακτική χρήση ενός απλού επιτραπέζιου σαρωτή εικόνων (flatbed scanner) στον υπολογισμό της γονιμότητας στα ψάρια. Για τον υπολογισμό της γονιμότητας χρησιμοποιήθηκαν φωτογραφίες από δείγματα ιστού ωοθηκών γαύρου, *Engraulis encrasicolus*, που συλλέχθηκαν τόσο με τη χρήση ενός σαρωτή (HP Scanjet G4050) όσο και μέσω στερεοσκοπίου συνδεδεμένου με κάμερα μικροσκοπίας (ProGres C3). Στη συνέχεια με τη χρησιμοποίηση λογισμικού ψηφιακής ανάλυσης εικόνας (Image J) υπολογίστηκε τόσο η γονιμότητα (βαρυμετρική μέθοδος: πυκνότητα ωοκυττάρων x βάρος ωοθήκης) όσο και το μέγεθος των ωοκυττάρων και με τα δύο μέσα. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν μη σημαντικές στατιστικά διαφορές στις μετρήσεις τόσο του αριθμού, όσο και του μεγέθους των ωοκυττάρων. Συνεπώς, αποδείξαμε πως ο υπολογισμός της γονιμότητας στα ψάρια μπορεί να γίνει και με τη χρήση ενός επιτραπέζιου σαρωτή εικόνων, ο οποίος είναι ένα τρόπος πολύ πιο απλός και οικονομικός σε σχέση με τη χρήση στερεοσκοπίου.

VALIDING THE USE OF A SIMPLE FLATBED SCANNER IN THE MEASUREMENT OF FISH FECUNDITY

Giorgos Orfanidis, Konstantinos Ganias

*Laboratory of Ichthyology, Section of Zoology, Department of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki*

The routines of digital particle analysis provide valuable tools for the measurement of fish fecundity and are used from a wide number of laboratories worldwide. However, applications of digital image analysis require the existence of specific and often expensive infrastructure such as an ocular microscope with attached camera linked to a computer. The present study validates the use of a simple flatbed scanner in the measurement of fecundity of European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. Specifically, fecundity measurements based on photographs of ovarian whole mounts captured both by means of a scanner (HP Scanjet G4050) and a microscope camera (ProGres C3). The photographs were analyzed through digital particle analysis inside Image J (rsbweb.nih.gov/ij/) which served to provide measurements of both oocyte counts and size. Finally measurements from the scanner were compared to those from the stereoscope (reference method). The results showed non-significant statistical differences in the measurement of both number and size of oocytes. This result suggests that the calculation of fecundity in fishes can be performed by using images from scanner, which is a much more simple and cost-efficient alternative compared to the use of ocular microscope.

**Ο ΘΕΜΕΛΙΩΔΗΣ Ή ΠΛΕΟΝΑΖΩΝ ΡΟΛΟΣ ΔΙΑΚΡΙΤΩΝ
ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ ΚΑΙ ΟΜΟΕΙΔΩΝ ΡΥΘΜΙΣΤΩΝ ΤΟΥ
ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΟΦΘΑΛΜΟΥ ΤΟΥ
ΔΙΠΤΕΡΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Drosophila melanogaster***

**Πανταζή Α.Α., Βελέντζας Π.Α., Βελέντζας Α.Α., Μπάκου Β.Ε., Μαργαρίτης Α.Χ.,
Παπασιδέρη Ι.Σ. και Στραβοπόδης Δ.Ι.**

Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα

Το πρωτεάσωμα συνιστά ένα υψηλής οργάνωσης πολυ-πρωτεϊνικό σύμπλοκο του κυττάρου, που δρα ως μηχανή αποικοδόμησης πρωτεϊνών μέσω εκλεκτικής και στοχευμένης πρωτεόλυσης αυτών. Στα πλαίσια της μελέτης αυτής, διερευνάται η συμμετοχή του πρωτεασώματος στις αναπτυξιακές διαδικασίες σχηματισμού του σύνθετου οφθαλμού του δίπτερου εντόμου *Drosophila melanogaster*, εστιάζοντας στο μορφογενετικό ρόλο της δράσης επιλεγμένων υπομονάδων του, καθώς και κρίσιμων ρυθμιστών αυτού. Στην κατεύθυνση αυτή, δημιουργήθηκαν μέσω του γενετικού συστήματος GAL4/UAS διπλά διαγονιδιακά έντομα ικανά να υπερεκφράζουν επιθυμητά RNAί τμήματα και μεταλλαγμένες πρωτεΐνες του πρωτεασώματος με ιστοειδικό τρόπο. Ακολούθησε παρατήρηση των οφθαλμών με τεχνολογίες φωτονικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης. Διαπιστώθηκε ότι η απενεργοποίηση των υπομονάδων Rpn1 και Rpn2 του ρυθμιστικού 19S πρωτεασώματος, καθώς και των α5 και β6 υπομονάδων του καταλυτικού 20S πρωτεασώματος, οδηγεί σε έντονο φαινότυπο ανώμαλων ομματαδίων, καταδεικνύοντας το θεμελιώδη ρόλο τους στη μορφογένεση του οφθαλμού. Επιπρόσθετα, η δράση της πρωτεάσης UBP2, παρεμποδίζει πλήρως τη δημιουργία ομματαδίων, ενώ καταστολή αυτής οδηγεί σε φυσιολογικό φαινότυπο. Τέλος, η απενεργοποίηση των ρυθμιστών του πρωτεασώματος UbcD1 και UbcD4 δε φαίνεται να έχει επιπτώσεις στη μορφογένεση του οφθαλμού, εν αντιθέσει με αυτήν του UbcD6. Η ένταση του παθολογικού φαινοτύπου αντανακλάται άμεσα και σε κυτταρικό επίπεδο στην άτακτη διευθέτηση ή απουσία ραβδομερών στα ομματίδια, μετά από παρατήρηση τομών σε φωτονικό μικροσκόπιο. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, υποδεικνύουν την άρρηκτη σχέση της απρόσκοπτης πρωτεασωμικής λειτουργίας με τη φυσιολογική μορφογένεση του σύνθετου οφθαλμού στη *D. melanogaster*.

**THE FUNDAMENTAL OR REDUNDANT ROLE OF DISTINCT
PROTEASOME SUBUNITS AND COGNATE REGULATORS DURING
EYE MORPHOGENESIS IN *Drosophila melanogaster***

***Pantazi A.D., Velentzas P.D., Velentzas A.D., Bakou V.E., Margaritis L.H.,
Papassideri I.S. and Stravopodis D.J.***

*Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens,
Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens, Greece*

Proteasome represents a highly sophisticated protease complex designed to carry out selective, efficient and processive hydrolysis of client proteins. In the present study, we investigate the contribution of proteasome structure and function in the developmental integrity course during formation of the compound eye in *Drosophila melanogaster*, focusing on the morphogenetic role of its critical subunits and regulators, as well. To this direction, double transgenic flies, able to overexpress selected RNAi moieties and mutant proteins, in a cell type-specific manner, were generated through the GAL4/UAS binary genetic system. The eye morphology was examined via optical and scanning electron microscopy (SEM) approaches. It proved that downregulation of Rpn1 and Rpn2 subunits of the regulatory 19S proteasome, as well as reduction of $\alpha 5$ and $\beta 6$ subunit expression levels of the catalytic 20S proteasome, led to rough phenotypes, thus demonstrating their fundamental role in eye morphogenesis. Moreover, the overexpressed UBP2 yeast protease strongly inhibits the formation of compound eye ommatidia, producing an “eye-less” phenotype, while the RNAi-mediated suppression of the UBP superfamily homologous member does not seem to cause any prominent abnormality. Interestingly, in contrast to the downregulated UbcD6 proteasome determinant, which is associated with the formation of notable eye defects, the RNAi-induced decrease of UbcD1 and UbcD4 (critical proteasome regulators) protein levels does not detectably affect the eye morphogenetic course. Depending on the severity, the pathological phenotype of the eye can be also reflected on a perturbed cellular architecture as well, since cross-sections observed via optical microscope display either an irregular arrangement or absence of rhabdomeres in ommatidia. Our results clearly indicate the functional importance of unimpaired proteasome in normal eye development of *D. melanogaster*.

ΕΙΣΟΣΩΜΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ-ΕΝΔΟΚΥΤΤΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟΠΟΓΕΝΕΣΗ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΣΤΟΝ *Aspergillus nidulans*

Βασιλική Πανταζοπούλου και Βίκυ Σοφianoπούλου

Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.ΚΕ.Φ.Ε «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή 15310, Αθήνα

Οι εισοσωμικές πρωτεΐνες που περιγράφηκαν αρχικά στο *S. cerevisiae* και θεωρήθηκαν στατικές πύλες ενδοκύττωσης, είναι πρωτεϊνικά συμπλέγματα συντηρημένα σε όλους τους ασκομύκητες [1, 2]. Αποτελούνται από τις ομόλογες πρωτεΐνες Pil1 και Lsp1 και τη διαμεμβρανική πρωτεΐνη Sur7. Η Pil1 αποτελεί τη θεμελιώδη συνιστώσα των εισοσωμικών πρωτεϊνών καθώς είναι απαραίτητη για την υποκυτταρική κατανομή των Lsp1 και Sur7 σημασμένων με GFP, όπως δείχθηκε με πειράματα απαλοιφής του γονιδίου της. Στο εργαστήριο μας απομονώθηκαν στον ασκομύκητα *Aspergillus nidulans* οι πρωτεΐνες PilA, PilB και SurG, ομόλογες των Pil1, Lsp1 και Sur7 του ζυμομύκητα, αντίστοιχα. Στα μη εκβλαστημένα κονιδιοσπόρια του *S. cerevisiae* και του *A. nidulans* οι Pil1 (PilA) και Lsp1 (PilB) εντοπίζονται ως κοκκία κάτω ακριβώς από τη μεμβράνη των κυττάρων. Στα μυκήλια του *A. nidulans* η PilA απαντάται σε στικτές δομές, ενώ η PilB είναι διάχυτη στο κυτταρόπλασμα και η SurG είναι εντοπισμένη στα χυμοτόπια και στα ενδοσώματα [1]. Το βιολογικό ερώτημα που τέθηκε ήταν το εάν και κατά πόσο οι εισοσωμικές πρωτεΐνες επηρεάζουν τη διαδικασία της ενδοκύττωσης μεταφορέων αμινοξέων και νουκλεοτιδικών βάσεων στον *Aspergillus nidulans*, δεδομένης της ομολογίας τους με αυτές του *S. cerevisiae*. Μελετήθηκαν, ο μεταφορέας δικαρβοξυλικών αμινοξέων (ασπαρτικού-γλουταμικού) AgtA και ο κύριος μεταφορέας προλίνης PtnB του μύκητα, μεταφορείς που ενδοκυττώνονται παρουσία αμμωνιακών αλάτων με ένα μηχανισμό που απαιτεί πρωτεϊνική σύνθεση [3]. Επιπρόσθετα, μελετήθηκε ο μεταφορέας ουρακίλης FurD, ο οποίος ενδοκυττώνεται όταν η συγκέντρωση του υποστρώματος αυξάνεται [4]. Η ενδοκύττωση των παραπάνω μεταφορέων μελετήθηκε με τη χρήση μικροσκοπίας φθορισμού και/ή συνεστιακής μικροσκοπίας laser στελεχών που απομονώθηκαν με γενετικές διασταυρώσεις. Τα στελέχη αυτά εκφράζουν τον εκάστοτε μεταφορέα σημασμένο με την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη GFP και την PilA σημασμένη με την mRFP είτε φέρουν έλλειψη του γονιδίου που κωδικοποιεί για την PilA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η PilA δεν εμπλέκεται –τουλάχιστον άμεσα– στην ενδοκύττωση των εν λόγω διαμεμβρανικών μεταφορέων και υποδεικνύουν τις λειτουργικές διαφοροποιήσεις των υψηλά συντηρημένων εισοσωμικών πρωτεϊνών στους ασκομύκητες.

1.Walther, T. *et al.*, (2006). Nature 439 (7079): 998-1003.;2.Vangelatos, I. *et al.*, (2010). Eukaryotic Cell 9 (10): 1441-1454.;3.Apostolaki, A. *et al.*, (2009).. Eukaryotic Cell 8 (3): 339-352.;4. Amillis, S., *et al.*, (2007).. Mol Membr Biol.24(3): 206-14.

EISOSOMES - ENDOCYTOSIS AND TOPOGENESIS OF TRANSMEMBRANE TRANSPORTERS IN *Aspergillus nidulans*

Vassiliki Pantazopoulou and Vicky Sophianopoulou

Institute of Biology, National Center for Scientific Research, Demokritos, Aghia
Paraskevi, 153 10, Athens, Greece Phone: +30 2106503602 Fax: + 30 2106511767.
E-mail: vicky@bio.demokritos.gr

Eisosomes are sub-cortical organelles firstly described in *Saccharomyces cerevisiae* as static sites implicated in endocytosis. They comprise two homologue proteins, Pil1 and Lsp1, which colocalise with the transmembrane protein Sur7. Pil1 is essential for the subcellular distribution of Lsp1 and Sur7 as shown in *pilAA* strains (1). Eisosomal proteins are universally conserved in the ascomycetes (2).

We identify in *Aspergillus nidulans* (and in all the Pezizomycotina) two homologues of Pil1/Lsp1, PilA and PilB and one strict Sur7 orthologue SurG. In *A. nidulans* conidiospores, but not in hyphae, the three proteins colocalise at the cell cortex in eisosomal-like structures. In mycelia, punctate structures are present, but they are composed only of PilA, while PilB is diffused in the cytoplasm and SurG is located in vacuoles and endosomes (2).

The biological functions of eisosomes are quite elusive. Their mostly characterized but at the same time strongly debated function concerns lipid and protein endocytosis in *S. cerevisiae*. In the present work we examined the involvement of the hyphal PilA in amino acid and nucleobase transporters endocytosis in *A. nidulans*.

In particular, we examined whether ammonium-dependent internalization of AgtA (aspartate/glutamate) and PrnB (proline) transporters (3) as well as substrate-dependent internalization of FurD (uracil) transporter (4) is affected by PilA in *A. nidulans*. By using fluorescent or confocal laser microscopy of appropriate strains isolated by genetic crosses we showed that internalization of the above transporters does not depend on the presence of PilA. The strains studied express each one of the transporters marked with GFP independently in a *pilA* or a *pilAA* background.

Overall our data illustrate that conservation of eisosomal proteins within the ascomycetes is accompanied by a striking functional divergence.

1. Walther, T. *et al.*, (2006). Nature 439 (7079): 998-1003.; 2. Vangelatos, I. *et al.*, (2010). Eukaryotic Cell 9 (10): 1441-1454.; 3. Apostolaki, A. *et al.*, (2009).. Eukaryotic Cell 8 (3): 339-352.; 4. Amillis, S., *et al.*, (2007).. Mol Membr Biol. 24(3): 206-14.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΔΕΙΚΤΩΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ ΚΑΙ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΗΣ ΑΦΟΜΟΙΩΣΗΣ CO₂

Στυλιανή Παπαδάκη¹, Γιώργος Γραμματικόπουλος² & Άρης Κυπαρίσσης¹

¹Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα

²Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Η φωτοσυνθετική αφομοίωση του CO₂ αποτελεί τη σημαντικότερη παράμετρο για την εκτίμηση της λειτουργίας και παραγωγικότητας των φυτών σε επίπεδα που ποικίλουν από το είδος έως το οικοσύστημα και ολόκληρη τη βίοςφαιρα. Ωστόσο, η μέτρησή της στο πεδίο σε επίπεδο ατόμου είναι αρκετά πολύπλοκη και χρονοβόρα, ενώ η εκτίμησή της σε επίπεδο οικοσυστήματος μπορεί να επιτευχθεί με διεργασίες μοντελοποίησης που βασίζονται σε πληθώρα τέτοιων μετρήσεων πεδίου. Έτσι, οποιαδήποτε μέθοδος θα υποκαθιστούσε τις μετρήσεις φωτοσύνθεσης με απλούστερες και ταχύτερες θα είχε προφανές όφελος για τις παραπάνω διεργασίες. Στο πλαίσιο αυτό, ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ φωτοσύνθεσης και δεικτών φθορισμού της χλωροφύλλης. Προς αυτή την κατεύθυνση, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις κινητικών φθορισμού της χλωροφύλλης *in vivo* κατά τη φάση της ταχείας επαγωγής του (fast fluorescence induction, OJIP) με φορητό φθορισμόμετρο τύπου συνεχούς διέγερσης (continuous excitation, Handy-PEA, Hansatech) ταυτόχρονα με κλασικές μετρήσεις φωτοσύνθεσης με φορητό αναλυτή αερίων (LCPro+, ADC) στα ίδια φύλλα. Ο φθορισμός των χλωροφυλλών και η φωτοσύνθεση μετρήθηκαν εποχιακά σε 4 διαφορετικά είδη (*Malva sylvestris*, *Ligustrum japonicum*, *Rubus* sp, *Pyracantha* sp.), από τον Οκτώβριο του 2010 έως τον Απρίλιο του 2011. Εξετάστηκε η συσχέτιση της φωτοσύνθεσης με διάφορους δείκτες φθορισμού, σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, ενώ επιπροσθέτως επιχειρείται η διαμόρφωση βελτιωμένων δεικτών φθορισμού.

INVESTIGATION OF CORRELATION BETWEEN CHLOROPHYLL FLUORESCENCE INDICES AND CO₂ PHOTOSYNTHETIC ASSIMILATION

Stelina Papadaki¹, George Grammatikopoulos² & Aris Kyparissis¹

¹Laboratory of Botany, Department of Biological Applications and Technologies,
University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece

²Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology,
University of Patras, 26500 Patras, Greece

Photosynthetic CO₂ assimilation is the most important parameter for the estimation of plant function and productivity, from species to the ecosystem and biosphere. However, field measurements of photosynthesis may be rather complicated and laborious, while plenty of such measurements are usually necessary for ecosystem productivity modeling. Accordingly, any simple and fast method that could replace photosynthesis measurements, would offer great advantage for the above-mentioned processes. Under that framework, the aim of the present study was the investigation of correlation between photosynthesis and chlorophyll fluorescence indices. To that purpose, *in vivo* fast induction fluorescence kinetics measurements (OJIP) were performed with a continuous excitation fluorometer (Handy-PEA, Hansatech), simultaneously with photosynthesis measurements performed with a portable infrared gas analyzer (LCPro+, ADC) on the same leaves. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis were seasonally measured for 4 species (*Malva sylvestris*, *Ligustrum japonicum*, *Rubus* sp, *Pyracantha* sp.) from October 2010 until April 2011. The correlation between photosynthesis and several fluorescence indices according to the relevant literature was examined and, furthermore, the development of improved fluorescence indices is attempted.

ΜΕΓΑΛΟΙ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΙ ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Nikoletta Papadopoulou,

Lab of Molecular Infectiology, Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene, University of Cologne, Goldenfelsstrasse 19-21, D-50935, Cologne, Germany. e-mail: nikol.papadopoulou@uni-koeln.de

Παθογόνοι μικροοργανισμοί όπως η *L. monocytogenes* διεγείρουν το ανοσοποιητικό σύστημα και συγκεκριμένα την μη ειδική ανοσοαπάντηση με σκοπό την εξάλειψη του παθογόνου. Η αποτελεσματικότητα της ανοσοαπάντησης εξαρτάται από την έγκαιρη αναγνώριση του παθογόνου, μέσω συγκεκριμένων υποδοχέων-αναγνώρισης (PRRs), αλλά και από την συντονισμένη δράση πλήθους μορίων που οδηγούν στην παραγωγή προφλεγμονώδων κυτοκινών μεσολαβώντας στην απόκριση του ανοσοποιητικού. Τα μακροφάγα κύτταρα παίζουν πρωταρχικό και κυρίαρχο ρόλο. Το gram (+) βακτήριο της *L. Monocytogenes* αναγνωρίζεται από τα μακροφάγα μέσω μεμβανικών (TLR) αλλά και κυτταροπλασματικών (NLR) υποδοχέων και διεγείρει την ενεργοποίησή τους. Μεταγραφικοί παράγοντες, όπως ο NF-κΒ, και οι MAPK (κινάσες που ενεργοποιούνται από μιτογόνο) κινάσες αποτελούν τους κύριους ρυθμιστές της δράσης των μακροφάγων, ενώ ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF) αποτελεί ίσως την σημαντικότερη κυτοκίνη που επάγεται από τα συγκεκριμένα κύτταρα κατόπιν μόλυνσης και δρα αυτοκρινικά ή/και παρακρινικά μέσω του υποδοχέα του, TNFR. Με σκοπό την μελέτη του ρόλου των κυτταρικών αυτών μηχανισμών κατά της *L. Monocytogenes* in vivo χρησιμοποιήσαμε υπό-όρους (conditional) γενετικά τροποποιημένα (knock-out) ποντίκια στα οποία συγκεκριμένοι μεταγωγές σήματος που σχετίζονται με τα παραπάνω σηματοδοτικά μονοπάτια (TLR, TNF, NF-κΒ) έχουν εξαλειφθεί από τα μακροφάγα ή από τα ηπατοκύτταρα.

Η αποφυγή της παρατεταμένης ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος ρυθμίζεται μεταξύ άλλων σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο από ρυθμιστικά μικρομοριακά RNA (miRNA), μια νέα οικογένεια ανοσορυθμιστών. Τα ενδογενή αυτά μικρομόρια προσδένονται στο mRNA των πρωτεϊνών-στόχος και επάγουν την αποδόμησή του με αποτέλεσμα την καταστολή της σύνθεσης της συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Έχειδειχθεί ότι τα miR-146a και miR-155 παίζουν σημαντικό ρόλο στην καταστολή της απόκρισης των μακροφάγων σε φλεγμονώδη ερεθίσματα. Στην παρούσα εργασία δείχνουμε ότι τα συγκεκριμένα miRNA επάγονται από τα μακροφάγα μετά από μόλυνση με *L. monocytogenes* και επιπλέον ότι ρυθμίζονται διαφορετικά από τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ και το MyD88- σηματοδοτικό μονοπάτι, τα οποία επάγει η αναγνώριση της *L. monocytogenes* από τους υποδοχείς TLR. Οι μηχανισμοί ρύθμισης της απόκρισης κατά της *L. monocytogenes* από τα miRNAs παραμένουν εν πολλοίς άγνωστοι μέχρι στιγμής.

REGULATION OF INNATE IMMUNE SIGNALLING UPON BACTERIAL INFECTION

Nikoletta Papadopoulou,

*Lab of Molecular Infectiology, Institute for Medical Microbiology, Immunology and
Hygiene, University of Cologne, Goldenfelsstrasse 19-21, D-50935, Cologne,
Germany. e-mail: nikol.papadopoulou@uni-koeln.de*

The elicitation of effective host defence against microbial pathogens requires the early detection of infectious agents and a coordinated immune response, which needs to be tightly controlled at all levels. Macrophages are key players of the innate immune response against *L. monocytogenes*, a Gram-positive facultative intracellular bacterium. *L. monocytogenes* induces host cell transcriptional responses via pattern recognition receptors (PRRs) which lead to the production of proinflammatory cytokines and other molecules that further instruct elicitation of antigen-specific acquired immunity and clearance of bacteria. In macrophages, *L. monocytogenes* induces vacuolar (Toll-like receptor dependent) and cytoplasmic (NOD-like receptor dependent) transcriptional responses regulated by NF- κ B and mitogen-activated protein kinases (MAPK). These lead to immediate tumour necrosis factor (TNF) expression in the infected cell, essential for anti-bacterial host defence. We used mice with conditional knockout of specific signalling mediators of the TLR, TNF receptor, and NF- κ B pathways in myeloid cells and hepatocytes, both of which are targeted *L. monocytogenes*, to study the cell-autonomous role of these cascades upon infection *in vivo*.

To prevent excessive and inappropriate activation of the immune response, these cascades need to be regulated at post-transcriptional levels too. To this end, the contribution of miRNAs in immune cell function is becoming increasingly appreciated. These endogenous small non-coding RNAs bind to target mRNAs of protein coding genes resulting in mRNA degradation or translational repression. Expression and function of some miRNAs, notably miR-146a and miR-155, have been studied in macrophages upon TLR activation and were found to negatively regulate inflammatory signalling cascades. We found that these and additional miRNAs are upregulated during *L. monocytogenes* infection in macrophages, and they are differentially regulated by myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88) and NF- κ B. However, whether and how miRNAs modify the host capacity to resist bacterial invasion or facilitate clearance of infection remains unknown.

**ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΗΣ ΩΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *D. melanogaster* ΑΠΟ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ
ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.**

Παπανάγνου Ε.Ε., Νίνου Ι.Β., Κουσουλάκος Σ.Α. και Α.Χ. Μαργαρίτης
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Το Δίπτερο έντομο *Drosophila melanogaster* χρησιμοποιείται εκτενώς στη βιολογική έρευνα ως πρότυπο σύστημα κυτταρικής διαφοροποίησης. Στην εργασία αυτή θελήσαμε να εξετάσουμε εάν και κατά πόσον η ηλικία του θηλυκού εντόμου επηρεάζει την αναπαραγωγική του ικανότητα. Για το σκοπό αυτό μελετήσαμε την ωοπαραγωγή/θηλυκό έντομο σε τρεις ηλικιακές κατηγορίες 0-6, 7-12 και 13-18 ημερών ως προς: α) την αναπαραγωγική τους ικανότητα και β) το ποσοστό αποπτωτικών ωοθυλακίων που φυσιολογικά συμβαίνει κατά την ωογένεση ως στρατηγική εξασφάλισης άρτιων ωοθυλακίων. Παράλληλα θελήσαμε να μελετήσουμε την επίδραση στις ίδιες ηλικίες ενός εξωτερικού περιβαλλοντικού παράγοντα, όπως είναι η έκθεση στην ακτινοβολία (24 ώρες το 24ωρο) από ένα τυπικό οικιακό ασύρματο τηλέφωνο. Κατά συνέπεια είχαμε τρεις πειραματικές ομάδες: τους μάρτυρες εντός του δωματίου καλλιέργειών, τα εκτεθειμένα στην ακτινοβολία και, τα έντομα εικονικής ακτινοβολίας (sham) σε άλλο χώρο. Θηλυκά και αρσενικά έντομα τοποθετήθηκαν σε κλωβό Faraday, στο εσωτερικό του οποίου βρίσκεται η βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT (1890 MHz με μέση τιμή έντασης ηλεκτρικού πεδίου 1,2 V/m που προσδίδει τιμή $SAR = 1 \text{ mW/kg}$, αφού $SAR = \sigma E^2 / \rho$, όπου $\sigma = 0,8 \text{ S/m}$ και $\rho = 1040 \text{ kg/m}^3$). Έτσι δεν διαρρέει ακτινοβολία προς τις ομάδες εικονικής ακτινοβολίας. Κάθε 6 ημέρες λαμβάνονται έντομα από όλες τις ομάδες, ακολουθεί ανατομία των εντόμων, λήψη των ωοθηκών, χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης (για εντοπισμό αποπτωτικών ωοθυλακίων) και καταμέτρηση των θυγατρικών χρυσαλίδων ύστερα από το πέρας κατάλληλου χρονικού διαστήματος. Διαπιστώθηκαν τα εξής: α) Η αναπαραγωγική ικανότητα μειώνεται στις 3 ηλικιακές κατηγορίες, αλλά όχι με στατιστικά σημαντικό ρυθμό. β) το ποσοστό ωοθυλακίων που έχουν υποστεί απόπτωση δεν εμφανίζει σημαντική μεταβολή και γ) η επίδραση του περιβαλλοντικού παράγοντα φαίνεται να είναι μέγιστη κατά τη μεσαία κατηγορία ηλικίας (7-12 ημερών). Εκτιμάται ότι τα εν λόγω έντομα είναι σε πλήρη αναπαραγωγική ικανότητα τουλάχιστον μέχρι την ηλικία των 18 ημερών.

DEPENDENCE OF OOGENESIS AND REPRODUCTIVE CAPACITY OF *D.melanogaster* ON AGE AND ENVIRONMENTAL FACTORS

Papanagnou E.E., Ninou I.V., Koussoulakos S.L. and L.H. Margaritis
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology,
University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens
E-mail: lmargar@biol.uoa.gr

The *Drosophila melanogaster* insect is used in biological research as a model system for cell differentiation. For this research, we examined whether the age of the female insect affects reproductive capacity. For this purpose we studied fecundity (number of eggs per female) in three age populations of 0-6, 7-12, 13-18 days old, first for their reproductive capacity and second for the percentage of apoptotic follicles physiologically occurring during oogenesis as a strategy of ensuring healthy follicles. Simultaneously, we studied the effect of external environmental factors such as exposure to the radiation of a domestic DECT wireless phone on the same age classes. Three experimental groups of insects were used: exposed, sham exposed and controls. Groups of insects were exposed continuously to the radiation emitted from the DECT base, at 1890MHz, (average field intensity 1,2 V/m, calculated SAR = 1 mW/kg, if $\sigma=0,8$ S/m and $\rho=1040$ kg/m³ according to the formula $SAR= \sigma E^2/\rho$). A Faraday cage was used for the exposed group in order to prevent radiation leakage towards the sham exposed group which was in the same room in another Faraday cage. At the middle of the first cage there was a wireless DECT base in operation surrounded by the fly vials. Control group insects were maintained within the culture room. Every six days insects were removed from each experimental group, were dissected, the isolated ovaries were stained with acridine orange to detect apoptosis, and pupa count followed after the appropriate time. Specifically, we found that:

- a) The reproductive capacity was reduced in the 3 age classes, but not statistically significant.
- b) The percentage of induced cell death shows no significant change.
- c) The effect of environmental factors appears to be greatest in the middle age-class.

It is estimated that these insects are in full reproductive capacity at least until the age of 18 days.

Η ΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ ΑΜΦΙΠΟΔΩΝ (CRUSTACEA, PERACARIDA) ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΕΚΕΙΝΕΣ ΤΩΝ ΓΕΙΤΟΝΙΚΩΝ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ

Παρασκευοπούλου Σ., Χριστοδούλου Μ., Συρανίδου Ε. & Α. Κούκουρας
Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη

Μετά από λεπτομερή ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και έλεγχο του σχετικού υλικού που περιλαμβάνεται στο Ζωολογικό Μουσείο του Τομέα Ζωολογίας, δημιουργήθηκε ένας ελεγμένος σύγχρονος κατάλογος της πανίδας των βενθικών και πελαγικών αμφίποδων της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας. Όλα τα είδη που έχουν καταγραφεί, καταχωρήθηκαν σε μια βάση δεδομένων μαζί με τη σχετική πρώτη βιβλιογραφική αναφορά από την κάθε γεωγραφική περιοχή. Η βάση δεδομένων ονομάζεται “Ελληνική Βιοποικιλότητα” και είναι προσβάσιμη στη διαδικτυακή διεύθυνση: <http://greek-biodiversity.web.auth.gr>.

Στο Αιγαίο Πέλαγος καταγράφηκαν 337 είδη αμφίποδων, ενώ συνολικά στη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα καταγράφηκαν 586 είδη. Από τα 586 αυτά είδη, τα 507 είναι βενθικά ενώ τα υπόλοιπα 79 πελαγικά. Το υψηλότερο ποσοστό βενθικών ειδών βρέθηκε στη Δυτική Μεσόγειο (93,3%). Στην Κεντρική Μεσόγειο και στην Αδριατική Θάλασσα βρέθηκαν 50,7% και 52,5%, από το σύνολο των γνωστών βενθικών ειδών της Μεσογείου. Επιπρόσθετα, στη Θάλασσα του Λεβάντε και στη Μαύρη Θάλασσα βρέθηκαν ποσοστά 46,9% και 19,1% αντίστοιχα ενώ στο Αιγαίο βρέθηκε το 57,4%. Επίσης, το υψηλότερο ποσοστό πελαγικών ειδών βρέθηκε στη Δυτική Μεσόγειο (94,9%), ενώ ακολουθούν η Κεντρική Μεσόγειος (69,6%), το Αιγαίο Πέλαγος (58,2%), η Αδριατική Θάλασσα (50,6%) και η Θάλασσα του Λεβάντε (49,4%) ενώ στη Μαύρη Θάλασσα δεν έχει αναφερθεί κανένα πελαγικό αμφίποδο.

Τα βενθικά είδη *Caprella hirsuta* Mayer, 1890, *Caprella liparotensis* Haller, 1879 και *Podocerus schieckei* Ruffo, 1987 αναφέρονται για πρώτη φορά ως στοιχεία της πανίδας του Αιγαίου, ενώ τα είδη *Ceradocus orchestiipes* Costa, 1853, *Microdeutopus bifidus* Myers, 1977, *Apohyale crassipes* (Heller, 1866), *Stenothoe antennulariae* Della Valle, 1893 αναφέρονται για πρώτη φορά από τη Θάλασσα του Λεβάντε. Ο σχετικά υψηλός αριθμός των ειδών που βρέθηκε στο Αιγαίο μπορεί να αποδοθεί, στις εντατικές δειγματοληπτικές προσπάθειες και μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, στη μεγαλύτερη ποικιλότητα των ενδιαιτημάτων του, αλλά και στην πιο άμεση επικοινωνία του με τη δυτική λεκάνη της Μεσογείου. Σύμφωνα με τα παραπάνω, φαίνεται ότι ο αριθμός των ειδών των αμφίποδων μειώνεται από τη δυτική προς την ανατολική Μεσόγειο.

THE AMPHIPOD FAUNA OF THE AEGEAN SEA AND COMPARISON WITH THOSE OF THE NEIGHBORING AREAS

Paraskevopoulou S., Christodoulou M., Syranidou E. & A. Koukouras

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

After a detailed review of the literature and an examination of the relevant material deposited in the Zoological Museum of the Department of Zoology, an updated checklist of the benthic and pelagic amphipods of the Mediterranean and Black Sea was created. Each species that has been recorded was registered in a database along with the relevant publication reporting it for the first time from each geographical area. The database is called "Greek Biodiversity" and is available in the internet address: <http://greek-biodiversity.web.auth.gr>.

Three hundred thirty seven (337) species of amphipods are recorded from the Aegean Sea while in Mediterranean and Black Sea 586 species are recorded. From the total number of 586 amphipod species found, 507 are benthic while the remaining 79 are pelagic. The highest recorded species number concerning the benthic amphipod is found in the Western Mediterranean (93.3%). In the Central Mediterranean and the Adriatic Sea 50.7% and 52.5% respectively, of the known benthic Mediterranean amphipods is found. Additionally, in the Levantine Sea and Black Sea 46.93% and 19.1% respectively is found, while in the Aegean 57.4% of the known benthic species of the Mediterranean and the Black Sea is found. Also, the highest recorded species number of pelagic amphipods is found in the Western Mediterranean (91.56%), followed by Central Mediterranean (69.6%), Aegean Sea (58.2%), Adriatic Sea (50.6%) and Levantine Sea (49.4%), while in Black Sea no pelagic amphipods have been recorded.

The benthic species *Caprella hirsuta* Mayer, 1890, *Caprella liparotensis* Haller, 1879 and *Podocerus schieckei* Ruffo, 1987 are reported for the first time as a part of the Aegean fauna while the species *Ceradocus orchestiipes* Costa, 1853, *Microdeutopus bifidus* Myers, 1977, *Apohyale crassipes* (Heller, 1866) and *Stenothoe antennulariae* Della Valle, 1893 are reported for the first time from the Levantine Sea. The relatively high number of species found in the Aegean could be attributed to the intensive sampling efforts and studies carried out in this region, the higher habitat diversity and to its more direct communication with the western basin of the Mediterranean. According with the above, it seems that the number of amphipod species decreased from the western towards the eastern Mediterranean Sea.

Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΣΠΟΝΔΥΛΗΣ ΠΑΝΙΔΑΣ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ

Άρης Παρμακέλης

*Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών
Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, Τ.Κ. 15784, Αθήνα
E-mail: aparmakel@biol.uoa.gr*

Τα νησιωτικά συγκροτήματα προσφέρονται για τη διερεύνηση της ισχύος διάφορων εξελικτικών διεργασιών σχετιζόμενων με τη διαφοροποίηση ζωικών και φυτικών οργανισμών. Είναι ιδιαίτερα κατάλληλα συστήματα για φαινόμενα διαφοροποίησης τα οποία προκύπτουν από επαναλαμβανόμενους κύκλους εποίκισης και εξαφάνισης, προσαρμογής καθώς και τυχαίας παρέκκλισης. Το Αιγαίο είναι ένας σχετικός νέος σχηματισμός αφού απέκτησε τη σημερινή του μορφή κάπου στο κατώτερο με μέσο Μειόκαινο. Από τη στιγμή του σχηματισμού του μέχρι και σήμερα ορογενετικές και ευστατικές κινήσεις αλλάζουν συνεχώς τις συνδέσεις και τις απομονώσεις των νησιών που το αποτελούν. Το έντονο γεωτεκτονικό παρελθόν της Ελλάδας και η μακροχρόνια παρουσία του ανθρώπου στην περιοχή, δημιουργούν μια εξαιρετικά σύνθετη εικόνα με αποτέλεσμα η ανακατασκευή των εξελικτικών σχέσεων ζωικών αλλά και φυτικών οργανισμών να μην είναι μια απλή υπόθεση. Ανάλογα με το νησιωτικό συγκρότημα και το είδος που προσεγγίζεται η φυλογενετική εικόνα που προκύπτει είναι διαφορετική. Σε αυτή την προσέγγιση τα φυλογεωγραφικά πρότυπα που χαρακτηρίζουν διάφορα ασπόνδυλα τάξα του Αιγαίου θα παρουσιαστούν. Παράλληλα, θα γίνει μια προσπάθεια να διαπιστωθεί αν υπάρχουν γενικότερα βιογεωγραφικά πρότυπα ή αν υπερισχύουν οι ιδιοσυγκρασιακές συμπεριφορές.

THE EVOLUTION OF THE INVERTEBRATE FAUNA OF THE AEGEAN ARCHIPELAGO

Aris Parmakelis

*Dept. of Ecology and Taxonomy, Faculty of Biology, University of Athens
Zografou University Campus, GR-15784, Athens, Greece
E-mail: aparmakel@biol.uoa.gr*

Island biota provide useful models to study many evolutionary hypotheses including those pertaining to repeated cycles of colonization and extinction, adaptation and drift-induced population differentiation. The Aegean Archipelago is a relatively young formation as it attained its present form during the Late to Middle Pleistocene. Since then, and up to today, orogenic movements and sea level fluctuations have been changing the size and form of the islands comprising it, and have been continually altering the connections between, and isolation of, individual islands. The intense geotectonic history of the Aegean Archipelago and the long-term presence of humans in the area create a complex pattern, and the inference of evolutionary relationships of animal or plant taxa is not always a straightforward process. Depending on the island group examined, different historical processes can be considered as the factors responsible for the phylogenetic patterns observed. In this approach, the phylogeographic patterns inferred for several invertebrate taxa distributed in the Aegean Archipelago will be presented and the existence of general biogeographic patterns will be explored. Are invertebrate taxa conforming to general patterns or are there idiosyncratic evolutionary histories?

**ΣΥΖΕΥΚΤΙΚΗ ΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ ΜΕΤΑΞΥ ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΩΝ
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟΥ
*Cornu aspersum***

Παρσωνίδης Π., Σταθοπούλου Χ., Ρεντζή Μ., Στάικου Α.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη,

E-mail: astaikou@bio.auth.gr, mrentzi@bio.auth.gr, cstathop@bio.auth.gr,
pparsoni@bio.auth.gr

Το *Cornu aspersum* είναι ένα ταυτόχρονα ερμαφρόδιτο και υποχρεωτικά ετερογονιμοποιούμενο χερσαίο γαστερόποδο. Η μελέτη διαφορετικών πληθυσμών του στον Ελλαδικό χώρο έχει δείξει ότι τόσο η συχνότητα όσο και η διάρκεια σύζευξης ποικίλουν σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Η μέγιστη διαφοροποίηση των χαρακτηριστικών αυτών παρατηρείται μεταξύ πληθυσμών της Κρήτης και πληθυσμών της Δυτικής Ελλάδας. Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται αποτελέσματα επιλεκτικών διασταυρώσεων σαλιγκαριών από πληθυσμούς των παραπάνω περιοχών με στόχο να διερευνηθεί η συζευκτική συμβατότητα μεταξύ απομακρυσμένων πληθυσμών και να περιγραφεί η διαδικασία μεταφοράς σπέρματος σε ζευγάρια από τον ίδιο και από διαφορετικούς πληθυσμούς.

Για την πραγματοποίηση της μελέτης, συλλέχθηκαν σαλιγκάρια από διαφορετικές περιοχές της Κρήτης (Ηράκλειο και Λασιθί) και της Δυτικής Ελλάδας (Πρέβεζα και Κέρκυρα) και μεταφέρθηκαν για παρατήρηση σε εργαστηριακές συνθήκες. Για τη παρατήρηση της συζευκτικής συμπεριφοράς τα ζώα τοποθετούνταν στα δοχεία σε εξάδες από τον ίδιο ή από δύο διαφορετικούς πληθυσμούς. Καταγράφονταν τα ζεύγη που σχηματίζονταν και η διάρκεια σύζευξης για το κάθε ζεύγος. Ένας αριθμός μικτών ζευγών θανατώθηκε μετά το τέλος της σύζευξης, έγινε εκτομή του αναπαραγωγικού συστήματος και καταγραφή της θέσης των σπερματοφόρων.

Οι καταγραφές μας έδειξαν τυχαία συζευκτική συμπεριφορά για τη πλειονότητα των διασταυρώσεων που επιχειρήθηκαν. Μη τυχαία σύζευξη και επιλογή ατόμων του ίδιου πληθυσμού παρατηρήθηκε στο πληθυσμό του Λασιθίου. Σε μικτά ζευγάρια μετά το τέλος της σύζευξης παρατηρήθηκε αμοιβαία ανταλλαγή σπερματοφόρων και σχηματισμός δεύτερου σπερματοφόρου στα άτομα από τους πληθυσμούς της Κρήτης.

MATING COMPATIBILITY BETWEEN DISTANT POPULATIONS OF THE LAND SNAIL *Cornu aspersum*

Parsonidis P., Stathopoulou C., Rentzi M., Staikou A.

Section of Zoology, Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
Campus 54124 Thessaloniki, E-mail: pparsoni@bio.auth.gr, cstathop@bio.auth.gr,
mrentzi@bio.auth.gr, astaikou@bio.auth.gr

Cornu aspersum is a simultaneously hermaphroditic and obligatory outcrossing terrestrial gastropod. The study of mating behaviour in different populations of the species in Greece has shown that both frequency and duration of mating vary intraspecifically. Maximum differences of those traits were observed among populations of Crete and Western Greece. The present study presents results of mating trials between snails obtained from populations of Crete and Western Greece, in order to investigate mating compatibility between those distant populations and to describe patterns of spermatophore formation and transfer in pairs of snails from the same or different populations.

Snails were collected from regions of Crete (Heraklion and Lasithi) and Western Greece (Preveza and Corfu) and transferred to the laboratory where mating trials were performed. To observe mating behavior, groups of six snails of the same or two different populations were placed in separate boxes and their mating behaviour was recorded. We recorded the type of pairs that were formed [homotypic (snails from the same population) vs heterotypic (snails from different population)] and mating duration for each pair. After mating a number of heterotypic pairs were killed, the reproductive system was excised and the presence and position of the spermatophore was recorded. Random mating was recorded for the majority of mating trials. Non-random mating was observed in the population of Lasithi. Mutual exchange of spermatophores was observed in all heterotypic pairs examined, while in cases where one of the snails came from a population of Crete a second spermatophore had started to form in the epiphallus.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΠΑΥΣΗ ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ *RHAGOLETIS CERASI*

Λένα Περράκη¹, Νίκος Παπαδόπουλος² και Κάτια Κομητοπούλου¹

¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701. ²Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Εργαστήριο Εντομολογίας και Εφαρμοσμένης Ζωολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Βόλος

Η διάπαυση είναι μία κατάσταση αδράνειας, η οποία καθιστά τα διαχειμάζοντα έντομα ικανά να επιβιώνουν στις χαμηλές θερμοκρασίες. Κατά τη διάπαυση παρατηρούνται μεγάλες αλλαγές επιπέδων έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων των εντόμων και ειδικότερα κάποιων μελών τις οικογένειας των πρωτεϊνών του θερμικού σοκ (Hsps). Οι Hsps γενικά λειτουργούν ως μοριακά τσαπερόνια, δεσμεύοντας άλλες πρωτεΐνες. Στην εργασία αυτή μελετάμε την έκφραση των γονιδίων των πρωτεϊνών του θερμικού σοκ *hsp23*, *hsp27*, *hsp70* και *hsp90* κατά την διάπαυση του εντόμου *Rhagoletis cerasi*. Αρχικά απομονώθηκαν τμήματα των γονιδίων *hsp70* και *hsp90* καθώς και ολόκληρα τα γονίδια *hsp27* και *hsp23* με την τεχνική RT-PCR και την χρήση συντηρητικών ολιγονουκλεοτιδίων εκκινητών. Η σύγκριση της αλληλουχίας των τμημάτων και των γονιδίων με τις αλληλουχίες των ομολόγων τους από άλλους οργανισμούς έδειξε υψηλή συντηρητικότητα. Η έκφραση των γονιδίων του θερμικού σοκ σε προνύμφες, διαπαυσικές και μετα-διαπαυσικές νύμφες καθώς και σε ενήλικα άτομα του *Rhagoletis cerasi* μελετήθηκε με την μέθοδο της ημιποσοτικής PCR. Διαπιστώθηκε ότι οι μικρές Hsps δεν εκφράζονται καθόλου στα στάδια της προνύμφης, ενώ η έκφραση τους αυξάνεται σταδιακά κατά τη διάπαυση μέχρι το στάδιο των διαπαυσικών νυμφών 65 ημερών και αρχίζει να μειώνεται στις διαπαυσικές νύμφες 100 και 130 ημερών καθώς και στις μετα-διαπαυσικές νύμφες και στα ενήλικα άτομα. Η Hsp70 δείχνει επίσης υπερέκφραση κατά τη διάπαυση ενώ η Hsp90 εκφράζεται τόσο στα διαυσιικά όσο και στα μη διαπαυσικά στάδια αλλά τα επίπεδα έκφρασης φαίνεται να είναι χαμηλότερα κατά τη διάπαυση. Το cDNA μόριο του γονιδίου της Hsp27 υποκλωνοποιήθηκε στον φορέα έκφρασης pRSET, η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη υπερεκφράστηκε στο βακτηριακό στέλεχος BL21 της *Escherichia coli* και απομονώθηκε με χρωματογραφία συγγένειας.

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

**REGULATION OF HEAT SHOCK PROTEINS IN THE INSECT
RHAGOLETIS CERASI DURING SUMMER DAYS AND
OVERWINTERING DIAPAUSE**

Lena Perraki¹, Nikos Papadopoulos² and Katia Komitopoulou¹

¹University of Athens, Faculty of Biology, Department of Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 15701. ² University of Thessaly, Laboratory of Entomology and Applied Zoology Department of Agriculture, Crop Production and Rural Environment, Volos

Diapause is a dormancy phase, giving to the overwintering insects the ability to survive in low temperatures. During diapause there is a remarkable change of gene expression. The up-regulation of the heat shock protein family, proposes that they are associated with diapause. Hsps generally function as molecular chaperones by binding to other proteins. Up-regulation of Hsps begins at the onset of diapause and ceases within hours after the insect receives the signal to reinitiate development.

In the present study, fragments of the hsp70, hsp90 genes, as well as the hsp23 and hsp27 genes were isolated by RT-PCR using conservative primers. The comparison of the gene sequences with their counterparts from other insect species showed very high similarity. The expression of the genes encoding heat shock proteins (Hsps) was examined in feeding larvae, overwintering pupae in diapause, post-diapausing pupae and adult flies of the insect *Rhagoletis cerasi* with the method of semiquantitative PCR. Small Hsps expression was not evident at the larvae stages but was up-regulated throughout diapause until 65 days. Small Hsps were still expressed in diapausing pupae of 100 and 130 days, but in lower amounts. Over-expression of Hsp70 was examined during diapause, while Hsp90 was expressed both in non-diapause and diapause stages, although expression levels appear to be lower during diapause. The hsp27 cDNA was subcloned in the expression vector pRSET, the recombinant protein was overexpressed in the bacterial strain BL21 of *Escherichia coli* and purified by affinity chromatography.

This project was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens (70/4/5706 to K.K)

ΑΝΑΦΟΡΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ *ROBO2* ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΚΥΣΤΕΟΟΥΡΗΤΗΡΙΚΗ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗ

Πετρίδη Σταυρούλα¹, Μητσιώνη Γ. Άρτεμις¹, Σιώμου Αικατερίνη², Μπούμπα
Ιωάννα¹, Σιαμοπούλου-Μαυρίδου Αντιγόνη², Γεωργίου Ιωάννης¹

¹Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής και Ανθρώπινης Αναπαραγωγής Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, ²Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου
Ιωαννίνων

Η κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση (ΚΟΠ) και η ΚΟΠ με συνοδό νεφρική υποπλασία-δυσπλασία (ΚΟΠ-ΝΥΔ) μπορεί να προκαλέσουν νεφροπάθεια από παλινδρόμηση με απώτερες συνέπειες την εμφάνιση χρόνιας νεφρικής νόσου σε βρέφη και μικρά παιδιά. Το γονίδιο *ROBO2* συμμετέχει στον έλεγχο της νεφρογένεσης, ενώ έρευνες αναφέρονται στον ρόλο του στην ανάπτυξη ΚΟΠ. Ελέγχθηκαν 103 ασθενείς με την χρήση της SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism, σε δύο διαφορετικές συνθήκες. Τα πρότυπα ζωνώσεων που απέκλιναν από το φυσιολογικό ελέγχονταν με DNA sequencing. Επίσης ελέγχθηκαν 200 μάρτυρες, παρόμοιας ηλικίας με τους ασθενείς, χρησιμοποιώντας περιοριστική ενδονουκλεάση. Πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με το χ^2 τεστ και *in silico* ανάλυση με χρήση των διαδικτυακών προγραμμάτων ESEfinder και SplicePort, για να εκτιμηθεί εάν επηρεάζεται η περιοχή ματίσματος. Εντοπίστηκε το SNP rs9874095(G>A) στο ιντρόνιο1, κοντά στο εξώνιο 2. Οι ασθενείς εμφάνιζαν ετεροζυγωτία (GA) στο 26,2%, ενώ δεν βρέθηκε κανένας ομόζυγος στον πολυμορφισμό. Οι μάρτυρες 32% ήταν ετεροζυγώτες και 3,5% ομοζυγώτες(AA). Οι υπόλοιποι ασθενείς (73,8%) και μάρτυρες (64,5%) ήταν ομόζυγοι στο προγονικό αλληλόμορφο (GG). Ενώ οι ομάδες βρίσκονται σε ισορροπία Hardy-Weinberg, το χ^2 τεστ έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα των αλληλομόρφων, αλλά όχι των γονοτύπων. Η *in silico* ανάλυση έδειξε μικρή πιθανότητα να επηρεάζεται η αντίστοιχη περιοχή ματίσματος. Από τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα οι μεταλλάξεις του γονιδίου *ROBO2* δεν φαίνεται να είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση ΚΟΠ/ΚΟΠ-ΝΥΔ στον πληθυσμό μελέτης. Δεδομένου ότι η ΚΟΠ και η ΚΟΠ-ΝΥΔ είναι πολυπαραγοντικά νοσήματα, ακόμα και ένας πολυμορφισμός, σε συνδυασμό με άλλες γενετικές αλλαγές μπορεί να παίζει ρόλο στον παθολογικό φαινότυπο.

REPORT ON A POLYMORPHISM OF ROBO2 GENE IN CHILDREN WITH VESICoureteric REFLUX

**Petridi Stavroula¹, Mitsioni G. Artemis¹, Siomou Ekaterini², Bouba Ioanna¹,
Siamopoulou-Mauridou Antigoni², Georgiou Ioannis¹**

¹Laboratory of Human Reproductive Genetics, Medical School, University of Ioannina,

²Department of Paediatrics, University Hospital of Ioannina

Vesico-ureteric reflux (VUR) and VUR accompanied by renal hypodysplasia (VUR-RHD) may cause reflux nephropathy, resulting to chronic kidney disease in infants and young children. The ROBO2 gene is involved in nephrogenesis and previous studies have associated the gene with VUR. We examined 103 patients, using SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) in two different running conditions. Subsequently the samples with variations were characterized by direct DNA sequencing. Moreover, 200 controls were screened, at the same age as the patients, using a restriction enzyme. Statistical analysis was performed, using the chi-square test and *in silico* analysis using online programmes ESEfinder and SplicePort, in order to evaluate if the splice site is affected. The SNP rs9874095(G>A) was detected in intron 1, close to exon 2. In the patients' group 26,2% were heterozygous (GA), but no homozygotes for the polymorphism were detected. In the controls' group 32% were heterozygotes and 3,5% homozygotes(AA) for the polymorphism. The remaining patients (73,8%) and controls (64,5%) were homozygous for the ancestral allele(GG). Both groups are in Hardy-Weinberg disequilibrium. The chi-square test demonstrated statistically significant difference between allele frequencies, but not in the genotypes. *In silico* analysis indicate a low possibility for the corresponding splice site to be affected. The results so far indicate that mutations in ROBO2 gene are not a major cause of VUR/VUR-RHD anomalies in our patients. However VUR and VUR-RHD are multifactorial disorders and even a single polymorphism in association with other genetic variations may play a role in the pathogenic phenotype.

ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΤΗΣ ΚΑΣΤΟΡΙΑΣ

Όλγα Πετρίκη, Δήμητρα Μπόμπορη

ΑΠΘ, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Θ 134, 54124 Θεσσαλονίκη

E-mails: opetrika@bio.auth.gr, bobori@bio.auth.gr

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της ιχθυοπανίδας της λίμνης της Καστοριάς σύμφωνα με τις κατευθύνσεις της Οδηγίας 2000/60/ΕΚ και του εγχειρίδιου της Ευρωπαϊκής Επιτροπής Προδιαγραφών για τις δειγματοληψίες ψαριών σε λίμνες (CEN 2005). Πραγματοποιήθηκε μια δειγματοληψία το Σεπτέμβριο του 2010 με απλάδια δίχτυα με πολλαπλά διαμετρήματα ματιών τύπου Nordic (άνοιγμα ματιού 5-55 mm από κόμπο σε κόμπο). Η αλιευτική προσπάθεια καθορίστηκε με βάση την έκταση (27 km²) και το μέγιστο βάθος της λίμνης (9 m) και κατανεμήθηκε σε τρεις διαφορετικές ζώνες βάθους (0-3 m, 3-6 m και 6-9 m). Όλα τα άτομα αναγνωρίστηκαν σε επίπεδο είδους και καταγράφηκαν το ολικό μήκος (TL, cm $\pm$ 0,1) και το σωματικό βάρος (W, g $\pm$ 0,1). Από τα δεδομένα εκτιμήθηκαν: (α) οι συλλήψεις ανά μονάδα αλιευτικής επιφάνειας και μέγεθος ανοίγματος ματιού με βάση τον αριθμό των ατόμων (NPUE, άτομα/100 m²) και το βάρος (WPUE, g/100 m²) για κάθε ζώνη βάθους, και (β) η αριθμητική και κατά βάρος συμμετοχή (%) κάθε είδους στο σύνολο του αλιεύματος καθώς και στο αλίευμα κάθε ζώνης βάθους. Συνολικά αλιεύθηκαν 859 άτομα που ανήκαν σε 7 είδη (*Carassius gibelio*, *Lepomis gibbosus*, *Perca fluviatilis*, *Pseudorasbora parva*, *Rutilus rutilus*, *Silurus glanis* και *Squalius vardarensis*). Οι υψηλότερες τιμές NPUE και WPUE υπολογίστηκαν για το αλίευμα της ζώνης βάθους 0-3 m (128,9 άτομα/100 m² και 3703,1 g/100 m² αντίστοιχα). Το πιο άφθονο είδος τόσο με βάση τον αριθμό των ατόμων όσο και το βάρος ήταν το *Rutilus rutilus* (48,4% και 59,4% αντίστοιχα) και ακολουθούσε το *Perca fluviatilis* (34% και 20,6% αντίστοιχα). Ο μεγαλύτερος αριθμός ατόμων αλιεύθηκε με το δίχτυ των 15,5 mm (31,2%), ενώ με βάση το βάρος τη μεγαλύτερη συμμετοχή στο σύνολο του αλιεύματος είχε το δίχτυ των 19,5 mm (28,1%). Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας αποτελούν τα πρώτα δεδομένα διερεύνησης της ιχθυοπανίδας της λίμνης της Καστοριάς σύμφωνα με τις απαιτήσεις της Οδηγίας 2000/60/ΕΚ και μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για την παρακολούθηση της ιχθυοπανίδας της λίμνης.

ICHTHYOLOGICAL SURVEY IN LAKE KASTORIA

Olga Petriki, Dimitra Bobori

*Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Laboratory of Ichthyology,
POBox 134, 54124 Thessaloniki, Greece*

E-mails: opetriki@bio.auth.gr, bobori@bio.auth.gr

The scope of the present study was to investigate the fish fauna of Lake Kastoria in accordance to the guidelines of Directive 2000/60/EC and the European Committee for Standardization of fish sampling in lakes (CEN 2005). Sampling was conducted in September 2010 with multi-mesh gillnets (Nordic type) (mesh sizes: 5-55 mm, knot to knot). Sampling effort was estimated on lake's surface area (27 km²) and its maximum depth (9 m). Nets were set into three depth strata (0-3 m, 3-6 m and 6-9 m). All specimens were identified to species level and measured for total length (TL, cm $\pm$ 0.1) and weighted (W, g $\pm$ 0.1). The following parameters were estimated: a) the catch per unit of effort based on both the number (NPUE) and the weight (WPUE, g) of specimens caught per 100 m² of net, and per each depth stratum, and b) the percentage contribution in terms of number and biomass of each species to the total catch and to the catch of each depth stratum. A total of 859 specimens were caught, which belonged to seven species (*Carassius gibelio*, *Lepomis gibbosus*, *Perca fluviatilis*, *Pseudorasbora parva*, *Rutilus rutilus*, *Silurus glanis* and *Squalius vardarensis*). The highest NPUE and WPUE values were recorded in the shallowest (0-3 m) depth stratum (128.9 specimens/100 m² and 3703.1 g/100 m², respectively). The most abundant species in terms of number and biomass was *Rutilus rutilus* (48.4% and 59.4%, respectively), followed by *Perca fluviatilis* (34% and 20.6%, respectively). The net with mesh size 15.5 mm caught 31.2% of the total number of specimens, while the net of 19.5 mm contributed the most (28.1%) in terms of biomass. The results of the present study represent the first monitoring data for the fish fauna of Lake Kastoria, in accordance with the requirements of Directive 2000/60/EC and they could be used as baseline data for further development and establishment of a fish monitoring program in the lake.

ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ Coup-TF ΣΤΑ ΔΕΥΤΕΡΟΣΤΟΜΙΑ

Χριστίνα Πετροπούλου, Αγγελική-Φαίδρα Καρπαθάκη και Κωνσταντίνος Φλυτζάνης
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο 26504

Οι Coup-TFs είναι συντηρημένοι μεταγραφικοί παράγοντες, οι οποίοι υπάγονται στην υπεριοικογένεια των υποδοχέων στεροειδών-θυρεοειδών ορμονών. Το γονίδιο *Coup-TF* αποτελείται, σε όλους τους μέχρι σήμερα μελετημένους οργανισμούς, από τρία εξώνια και δύο εσώνια που διακόπτουν την κωδική περιοχή του γονιδίου σε συντηρημένες θέσεις. Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι ο αχινός διαφοροποιείται από αυτό το μοντέλο καθώς το γονίδιο αποτελείται από τέσσερα εξώνια. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι το επιπλέον εξώνιο βρίσκεται μεταξύ του πρώτου και του δεύτερου εξωνίου και έχει μέγεθος 63nt. Στο πρωτογενές μετάγραφο του Coup-TF συμβαίνει εναλλακτικό μάτισμα που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή δύο mRNAs που κωδικοποιούν δύο πρωτεΐνες, οι οποίες διαφέρουν ως προς το μέγεθος λόγω της εισαγωγής 21 επιπρόσθετων αμινοξέων στην καρβοξυτελική περιοχή (CTE) της επικράτειας πρόσδεσης στο DNA (DBD). Το εναλλακτικό μάτισμα είναι συντηρημένο στα εχινοειδή, συμπεράσμα που προέκυψε από το ότι εμφανίζεται στα είδη των αχινών που μελετήθηκαν, *Paracentrotus lividus*, *Sphaerechinus granularis*, *Strongylocentrotus purpuratus* και *Arbacia lixula*. Το εναλλακτικό μάτισμα λαμβάνει χώρα σε όλα τα εμβρυϊκά στάδια από τα αγονιμοποιητά ωάρια έως τον πλουτέα και σε όλους τους ιστούς όπου εκφράζεται το γονίδιο *Coup-TF* (κοιλωματικά κύτταρα, γονάδες, μύες, έντερο). Προηγούμενα πειράματα στο εργαστήριό μας έδειξαν ότι το εναλλακτικό μάτισμα των μεταγράφων του γονιδίου *Coup-TF*, δεν παρατηρείται στα σπονδυλωτά όπως το ποντίκι (*Mus musculus*) και το zebrafish (*Danio rerio*). Με το πρόγραμμα BLAST ψάξαμε στις βάσεις δεδομένων για ομόλογες αλληλουχίες με αυτήν του δεύτερου εξωνίου του γονιδίου *PlCoup-TF* του αχινού *Paracentrotus lividus*. Η αναζήτηση αυτή δεν έδειξε ομόλογη αλληλουχία στα ήδη αλληλουχημένα γονιδιώματα και ESTs με εξαίρεση αυτήν του αχινού *Strongylocentrotus purpuratus*. Από τις βάσεις δεδομένων, γνωρίζουμε επίσης ότι δεν παρατηρείται εναλλακτικό μάτισμα σε Coup-TFs πρωτοστομίων, με εξαίρεση τον οργανισμό *C. elegans*. Για να μελετήσουμε την εξάπλωση του εναλλακτικού ματίσματος στα δευτεροστόμια, επιλέχθηκαν αντιπρόσωποι από τις ομοταξίες του φύλου των Εχινόδερμων (*Strongylocentrotus purpuratus*, *Amphiura filiformis*, *Patiria miniata*, *Marthasterias glacialis*, *Echinaster sepositus*, *Holothuria polii*, *Oxycomanthus japonicus*), του υπόφυλου των ουροχορδωτών (*Ciona intestinalis*) και του φύλου Xenoturbellidae (*Xenoturbella bocki*). Ολικό RNA από ιστούς των οργανισμών αυτών απομονώθηκε και αποτέλεσε το υπόστρωμα για την πραγματοποίηση μιας σειράς πειραμάτων RT-PCR και nested PCR με τη χρήση ειδικά σχεδιασμένων εκφυλισμένων εκκινητών (degenerate primers). Η κλωνοποίηση των προϊόντων έγινε στον πλασμιδιακό φορέα pGEM T-easy και ακολούθησε αλληλούχηση των ενθεμάτων. Τα πειράματά μας έδειξαν ότι το εναλλακτικό μάτισμα είναι συντηρημένο στο φύλο των Εχινόδερμων, αλλά δεν παρουσιάζεται σε άλλες ομάδες των δευτεροστομίων.

SPREAD OF Coup-TF TRANSCRIPTION FACTOR VARIANTS IN DEUTEROSTOMES

Christina Petropoulou, Angelica-Phaedra Karpathaki and Constantin N. Flytzanis
Department of Biology, University of Patras, University Campus, Rio 26504

Coup-TFs are conserved transcription factors, which belong to the steroid-thyroid hormone receptor superfamily. In all organisms studied up to date, the *Coup-TF* gene consists of three exons and two introns that disrupt the gene's coding region at conserved sites. However, the sea urchin has been found to deviate from this model, as the gene is comprised by four exons. Specifically, it has been found that the extra exon lies between the first and second exons and is 63nt long. Alternative splicing takes place in the primary Coup-TF transcript, which results in the production of two mRNAs that encode two proteins, which differ in size due to the insertion of 21 additional amino-acids in the carboxy-terminal extension (CTE) of the DNA-binding domain (DBD). This alternative splicing is conserved in the species of sea urchins that we have studied, *Paracentrotus lividus*, *Sphaerechinus granularis*, *Strongylocentrotus purpuratus* and *Arbacia lixula*. Alternative splicing takes place at all embryonic stages, from unfertilized eggs to the pluteus, and in all tissues where the *Coup-TF* gene is expressed (coelomic cells, gonads, muscles, gut). Previous experiments conducted in our laboratory have demonstrated that alternative splicing of Coup-TF transcripts does not take place in vertebrates like the mouse (*Mus musculus*) and the zebrafish (*Danio rerio*). Using the BLAST program, we searched the databases for sequences homologous to the second exon of the *PlCoup-TF* gene of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. This search failed to turn up any homologous sequences in the already sequenced genomes and ESTs, with the exception of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. From the databases we also know that alternative splicing does not occur in protostome Coup-TF transcripts, with the exception of *C. elegans*. To study the spread of alternative splicing in deuterostomes, representatives of all classes of the phylum Echinodermata (*Strongylocentrotus purpuratus*, *Amphiura filiformis*, *Patiria miniata*, *Marthasterias glacialis*, *Echinaster sepositus*, *Holothuria polii*, *Oxycomanthus japonicus*), the subphylum Urochordata (*Ciona intestinalis*) and the phylum Xenoturbellidae (*Xenoturbella bocki*) were chosen. Total RNA from tissues of each organism was isolated and used as substrate for a series of RT-PCR and nested PCR experiments, using specifically designed degenerate primers. Cloning of the PCR products took place in the vector pGEM T-easy, followed by sequencing of the inserts. Our results demonstrated that the alternative splicing event is conserved in Echinodermata, but not in other deuterostome groups.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΤΗΣ ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ Ε ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΜΕ ΤΟΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ABCA1 ΓΙΑ ΤΟΝ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ HDL

Πετροπούλου Π.Α.¹, Gantz D.L.², Ζαννής Β.Ι.², Κυπραίος Κ.Η.¹

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, Πανεπιστημιούπολη, 26500, Πάτρα. ²Boston University School of Medicine,
Whitaker Cardiovascular Institute, Boston, MA. 02118, USA

Η HDL είναι ένα μίγμα λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων, που ανάλογα με τη σύσταση τους σε λιπίδια μπορούν να είναι δισκοειδή ή σφαιρικά. Η κύρια αθηροπροστατευτική δράση της HDL, οφείλεται στο γεγονός ότι η συγκεκριμένη λιποπρωτεΐνη συλλέγει την περίσσεια χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς και τη μεταφέρει στο ήπαρ όπου καταβολίζεται. Η κύρια πρωτεΐνη της HDL είναι η απολιποπρωτεΐνη A-I (apoA-I). Ωστόσο, όταν απουσιάζει η apoA-I και κατά συνέπεια η τυπική HDL, η απολιποπρωτεΐνη E (apoE) αλληλεπιδρά με τον μεταφορέα λιπιδίων ABCA1 προάγοντας την *de novo* σύνθεση δισκοειδών HDL σωματιδίων. Η apoE αποτελείται από 299 αμινοξέα και είναι κύριο συστατικό των μορίων VLDL, IDL, LDL, HDL και των υπολειμμάτων χυλομικρών. Στην παρούσα μελέτη, στόχος ήταν η εύρεση της περιοχής της apoE που είναι υπεύθυνη για την λειτουργική αλληλεπίδραση με τον ABCA1 για το σχηματισμό HDL. Ανασυνδυασμένοι αδενοϊοί που εξέφραζαν καρβοξυ-τελικές συντετμημένες μορφές της apoE4 (AdGFP-E4 [1-259], AdGFP-E4[1-229].), χορηγήθηκαν σε ApoAI^{-/-} ποντίκια σε δόση 8x10⁸ pfu. Στα λιποπρωτεϊνικά κλάσματα, που προέκυψαν από υπερφυγοκέντρωση των πλασμάτων των ποντικών σε βαθμίδωση πυκνότητας, πραγματοποιήθηκε μια σειρά από απεικονιστικές, μοριακές και βιοχημικές αναλύσεις. Από τις παραπάνω αναλύσεις προέκυψε ότι η καρβοξυτελική περιοχή της apoE που εκτείνεται από τα αμινοξέα 229-299 δεν διαμεσολαβεί το σχηματισμό σωματιδίων HDL *in vivo*, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτή η περιοχή δεν αλληλεπιδρά λειτουργικά με τον ABCA1. Μελέτες με άλλες συντετμημένες μορφές (AdGFP-E4[1-202], AdGFP-E4[1-185]) βρίσκονται σε εξέλιξη με στόχο τον εντοπισμό των περιοχών της apoE που εμπλέκονται στη *de novo* βιοσύνθεση της HDL που περιέχει την απολιποπρωτεΐνη αυτή *in vivo*.

**ANALYSIS OF THE DOMAINS OF APOLIPOPROTEIN E THAT
INTERACT FUNCTIONALLY WITH THE LIPID TRANSPORTER
ABCA1 IN THE FORMATION OF HDL**

Petropoulou P.A.¹, Gantz D.L.², Zannis V.I.², Kypreos K.E.¹

¹Pharmacology Unit, Department of Medicine, School of Health Sciences, University of Patras, Panepistimiopolis, TK. 26500, Patras. ²Boston University School of Medicine, Whitaker Cardiovascular Institute, Boston, MA. 02118, USA

HDL is a mixture of lipoprotein particles that depending on the lipid composition may be discoidal or spherical. The main atheroprotective property of HDL is reverse cholesterol transport, a process that unloads excess cholesterol from peripheral tissues and transports it to the liver for catabolism. The main protein of HDL is apolipoprotein A-I (apoA-I). However, in the absence of apoA-I and consequently classical HDL, apolipoprotein E (apoE) interacts functionally with the lipid transporter ABCA1, promoting the *de novo* synthesis of discoidal HDL-like particles. ApoE consists of 299 aminoacids and is the main component of VLDL, IDL, LDL, HDL particles and chylomicrons remnants. The present study focused on the identification of the domain of apoE that is responsible for the functional interaction with ABCA1 and the formation of apoE-containing HDL. Recombinant attenuated adenoviruses expressing carboxy-terminal truncated forms of apoE4 (AdGFP-E4[1-259], AdGFP-E4[1-229]) were administered to ApoAI deficient mice (ApoAI^{-/-}) at a dose of 8x10⁸ pfu. In the lipoprotein fractions that were obtained from density gradient ultracentrifugation of plasma, a series of imaging, molecular and biochemical analyses were performed. From these analyses, it became apparent that the carboxyterminal domain spanning aminoacids 229-299 of apoE is not involved in the formation of HDL particles *in vivo*, suggesting that this domain does not interact functionally with ABCA1. Studies using additional truncated apoE-expressing adenoviruses (AdGFP-E4[1-202], AdGFP-E4[1-185]) are currently in progress in an attempt to identify those domains of apoE responsible for the *de novo* biogenesis of apoE-containing HDL particles *in vivo*.

ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟΣ ΦΟΡΕΑΣ DNA ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΩΝ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ErCAM ΕΠΙΔΕΙΚΝΥΕΙ ΕΚΦΡΑΣΗ ΣΕ ΔΙΑΜΟΛΥΣΜΕΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Ποιμενίδης Ε, Τιπτιρή-Κουρπέτη Α, Χλίχλια Κ.

*Εργαστήριο Μοριακής Ανοσοβιολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής,
Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100 Αλεξανδρούπολη*

Στα πλαίσια της ανοσοθεραπείας του καρκίνου διεξάγονται έρευνες για την ανάπτυξη DNA εμβολίων, τα οποία θα επιδεικνύουν αποτελεσματική δράση (προφυλακτική ή θεραπευτική) έναντι του καρκίνου και συνάμα θα είναι ασφαλή για τον εμβολιαζόμενο. Υποψήφιος στόχος τέτοιων εμβολίων δύναται να είναι το ογκοσχετιζόμενο αντιγόνο ErCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule), καθώς έχει διαπιστωθεί αυξημένη έκφραση του σε πλήθος καρκινωμάτων, δρα ως ογκογόνος σηματοδοτική πρωτεΐνη, ενέχεται στη μετάσταση και έχει ταυτοποιηθεί ως δείκτης των καρκινικών βλαστικών κυττάρων.

Ως εκ τούτου επελέγη το εν λόγω καρκινικό αντιγόνο για την κατασκευή DNA εμβολίου. Η πλήρης κωδικοποιούσα αλληλουχία του ανθρωπίνου γονιδίου ErCAM προερχομένη εκ της καρκινικής κυτταρικής σειράς DA3-ErCAM κλωνοποιήθη στο πλασμίδιο pEGFP/C1, το οποίο επιτρέπει την έκφραση του ενθέματος σε κύτταρα θηλαστικών υπό τον έλεγχο του υποκινητή του ανθρωπίνου μεγαλοκυτταρικού ιού (CMV). Η κλωνοποίηση του σωστού ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης ελέγχθηκε με ανάλυση με περιοριστικά ένζυμα και με αλληλούχηση. Απώτερος σκοπός και αποτέλεσμα της εν λόγω κλωνοποίησης ήταν η έκφραση της χιμαιρικής πρωτεΐνης EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)-ErCAM.

Κύτταρα της καρκινικής σειράς DA3 διαμολύνθηκαν με το κατασκευασθέν εμβόλιο ErCAM-pEGFP/C1. Με τη χρήση μικροσκοπίας φθορισμού απεδείχθη η έκφραση της ανωτέρω χιμαιρικής πρωτεΐνης στα εν λόγω διαμολυσμένα κύτταρα (in vitro έκφραση). Υπό έρευνα βρίσκεται η *in vivo* έκφραση της EGFP-ErCAM σε μύες BALB/c, καθώς και η προκληθείσα εκ του συγκεκριμένου ανασυνδυασμένου φορέα αντισωματική απόκριση των μυών. Μεταγενέστερο στόχο αποτελεί ο έλεγχος της προληπτικής και της θεραπευτικής δράσης του DNA εμβολίου στο εγκαθιδρυθέν από του εργαστηρίου μας συνγονικό καρκινικό μοντέλο στους BALB/c μύες.

A DNA VACCINE VECTOR ENCODING EPCAM EXHIBITS EXPRESSION IN TRANSFECTED TUMOR CELLS

Poimenidis E, Tiptiri-Kourpeti A, Chlichlia K.

*Laboratory of Molecular Immunology, Department of Molecular Biology & Genetics,
Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis*

In the field of anti-tumor immunotherapy, studies are performed for the development of safe prophylactic and therapeutic DNA vaccines, with the aim to be effective against cancer and selectively eradicate tumor cells in an antigen-specific manner. The tumor-associated antigen EpCAM is considered a promising target of these vaccines, because it is highly expressed on a variety of carcinomas, acts as an oncogenic signaling protein, affects tumor metastasis and has been identified as a marker of cancer stem cells.

We selected this tumor antigen for the construction of a DNA vaccine. The complete coding sequence of the human EpCAM gene - derived from DA3-EpCAM cancer cells - was cloned directly in pEGFP/C1 mammalian expression vector, which allows the C-terminal expression of the insert in fusion with EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein) under the control of the human cytomegalovirus promoter (CMV). Restriction endonuclease analysis and subsequent sequencing verified the correct open reading frame for EpCAM.

Mammary adenocarcinoma cells were transfected with the DNA vaccine construct EpCAM-pEGFP/C1. Immunofluorescence studies with an EpCAM-specific antibody proved expression of the chimeric protein in transiently transfected cells. Currently, the *in vivo* expression of the EGFP-EpCAM in BALB/c mice is under investigation as well as humoral immune responses induced by the recombinant vector. Our aim is to examine the prophylactic and therapeutic action of the EpCAM-expressing DNA vaccine in the syngeneic mammary adenocarcinoma model established in BALB/c mice.

ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΗΣ ΑΘΕΡΙΝΑΣ *Atherina boyeri* Risso, 1810 ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ

Πομάκης Ν.^{1,2}, Κοντζέ Ε.^{1,2}, Κλαουνδάτος Σ.¹, Βιδάλης Κ.³, Γερακούδη Ε.², Μίνος Γ.²

¹Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Οδός Φυτόκου, 38446, Ν. Ιωνία Μαγνησίας, ²Αλεξάνδρειο ΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών, 63200, Ν. Μουδανιά, ³ΤΕΙ Μεσολογγίου, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών & Αλιευτικής Διαχείρισης, Νέα Κτίρια, 30200, Μεσολόγγι

Η οικογένεια *Atherinidae* στη Μεσόγειο και τη Μαύρη θάλασσα αντιπροσωπεύεται κυρίως από το γένος *Atherina* που περιλαμβάνει 3 είδη. Το πιο κοινό, η *Atherina boyeri* (αθερίνα), είναι βραχύβιο είδος, όπου η μέγιστη ηλικία δεν ξεπερνά τα 4 έτη, με σχετικά υψηλό ρυθμό αύξησης. Είναι ένα αρκετά εμπορεύσιμο ευρύαλο είδος που απαντάται στην ανοιχτή θάλασσα, σε λιμνοθάλασσες, εκβολικά συστήματα μέχρι και λίμνες. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε εφάπαξ δειγματοληψία στις 13 Ιανουαρίου 2009 και αλιεύθηκαν 126 ενήλικα άτομα *A. boyeri*, με μηχανότρατα στο Θερμαϊκό κόλπο. Η εκτίμηση της ηλικίας έγινε από τα λέπια όπου ελήφθησαν οι αποστάσεων των ακτίνων (ολική διαγώνια ακτίνα (R_n) και ακτίνες των ετησίων δακτυλίων ($R_1, R_2, \dots, R_n$)) για τον ανάδρομο υπολογισμό του μήκους όπου υπολογίστηκαν τα μήκη ανά ηλικία ως $TL_1=41,01\text{mm}$, $TL_2=65,06\text{mm}$ και $TL_3=88,24\text{mm}$. Επίσης, από τα άτομα ελήφθησαν μετρήσεις του ολικού μήκους (TL) και του ολικού βάρους (W) του σώματος και εκτιμήθηκε η σχέση μήκους-βάρους ως $W=5E-06xL^{2,47}$, εμφανίζοντας το είδος αρνητική αλλομετρική αύξηση ($b=2,47$). Τέλος εκτιμήθηκαν οι παράμετροι αύξησης της εξίσωσης του von Bertalanffy. Το ασύμπτωτο μήκος (L_∞) εκτιμήθηκε ίσο με 129,45mm, μεγαλύτερο σε σχέση με την λίμνη Βιστωνίδα και την λίμνη Τριχωνίδα που εκτιμήθηκε ίσο με 116,97mm και 112,4mm αντίστοιχα. Ο ρυθμός αύξησης (k) εκτιμήθηκε ίσος με 0,44, όπου είναι ελαφρά μεγαλύτερος συγκρινόμενος με άλλες περιοχές της Ελλάδας που μελετήθηκε το είδος (0,35 στη λίμνη Βιστωνίδα, έως 0,42 στη λίμνη Τριχωνίδα). Η αθερίνα εμφάνισε 3 ηλικιακές κλάσεις όπου η ηλικιακή κλάση 3+ κυριαρχεί με ποσοστό 64,3% και ακολουθούν οι άλλες δύο με παρόμοια ποσοστά 2+ (19,8%) και 1+ (15,9%). Οι ανωτέρω διαφορές πιθανόν να οφείλονται στο γεγονός ότι στη συγκεκριμένη περιοχή αλίευσης δεν υπήρχαν μικρού μεγέθους άτομα (<40mm) ή στην επιλεκτικότητα του αλιευτικού εργαλείου.

AGE AND GROWTH OF SAND SMELT *Atherina boyeri* Risso, 1810 POPULATION IN THERMAIKOS GULF

Pomakis N.^{1,2}, Konze E.^{1,2}, Klaoudatos S.¹, Vidalis K.³, Gerakoudi E.², Minos G.²

¹University of Thessaly, Department of Agriculture, Ichthyology & Aquatic Environment, Fytokou Street, 38446, N. Ionia. ²Alexander TEI of Thessaloniki, Department of Fisheries & Aquaculture Technology, 63200, N. Moudania. ³TEI of Messolonghi, Department of Aquaculture & Fisheries Management, Nea Ktiria, 30200, Messolonghi

The *Atherinidae* family is represented in the Mediterranean and the Black sea mainly by the genus *Atherina* that includes 3 species. The most common species, *Atherina boyeri* (sand smelt), is a short-lived (it does not live more than 4 years), with relatively high growth rate. It is a marketable euryhaline species that is found in the open sea, in lagoons, brackish waters and also in fresh water lakes. In the present paper one sampling was performed on 13 January 2009 and 126 adult individuals of *A. boyeri* were fished, with trawler in Thermaikos gulf. For the age estimation scales were used and counts were made to measure the distances of radius (total diagonal radius (R_n) and radius of each annual ring ($R_1, R_2, \dots, R_n$)) for the back calculation of length per age group and these were estimated as $TL_1=41.01\text{mm}$, $TL_2=65.06\text{mm}$ and $TL_3=88.24\text{mm}$. Also, on each individual were measured the total length (TL) and the total weight (W) and the estimated length-weight relationship was $W=E-06 \times L^{2.47}$, appearing negative allometric growth ($b=2.47$). Finally the parameters of von Bertalanffy growth equation were estimated. The ultimate length (L_∞) was estimated as 129.45mm, higher than in Lake Vistonis and Lake Trihonis (116.97mm and 112.4mm respectively). The growth parameter (k) was estimated as 0.44, higher than other places in Greece that this species was studied (0.35 in Vistonis and 0.42 in Trihonis). Sand smelts appeared 3 age groups, where the age group 3+ dominates the population with 64,3% percentage following the other two groups with about equal percentages 2+ (19.8%) και 1+ (15.9%). The above differences in age groups perhaps occur since in the specific fishing area does not exists small size individuals (<40mm) or in fishing gear selectivity.

ΛΟΓΟΣ ΠΑΡΑΒΕΝΘΙΚΩΝ ΠΡΟΣ ΠΕΛΑΓΙΚΑ ΨΑΡΙΑ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ ΚΑΙ ΤΗ ΜΑΥΡΗ ΘΑΛΑΣΣΑ

¹ Πορλού Δ., ^{1,2} Τσίκληρας Α.

¹Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος, ² Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη. Email: tsikliras@uth.gr

Ο λόγος παραβενθικών προς πελαγικά ψάρια (demersal/pelagic, D/P) είναι ένας δείκτης που χρησιμοποιείται για να διερευνηθεί η επίδραση της αλιείας στους οργανισμούς και το οικοσύστημα, καθώς υπολογίζει ποια κατηγορία ειδών αφαιρείται με υψηλότερο ρυθμό από το οικοσύστημα. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η διακύμανση του δείκτη D/P στις συλλήψεις ψαριών (με βάση τα επίσημα στοιχεία που αναφέρονται από τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας, FAO) των επτά αλιευτικών υποπεριοχών της Μεσογείου και των τριών της Μαύρης Θάλασσας για το χρονικό διάστημα 1970-2005. Μαζί με τα παραβενθικά ομαδοποιήθηκαν τα βενθοπελαγικά και τα βενθικά είδη. Στο σύνολο της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας, ο δείκτης D/P ήταν σταθερός με μικρές διακυμάνσεις για το διάστημα 1970-1989 (μέσος D/P=0,17), αυξήθηκε στη μέγιστη τιμή του το 1991 (D/P=0,34) και μειώθηκε έκτοτε. Στις πέντε αλιευτικές υποπεριοχές της Μεσογείου παρατηρήθηκε μείωση του δείκτη D/P (Βαλεαρίδες, Σαρδηνία, Αδριατική, Ιόνιο και Λεβαντίνη) και σε δύο διακύμανση χωρίς τάση (Κόλπος Λεόντων και Αιγαίο). Όσον αφορά τη Μαύρη Θάλασσα, σε μία υποπεριοχή παρατηρήθηκε μείωση του δείκτη D/P (κυρίως Μαύρη Θάλασσα), σε μία αύξηση (Αζοφική) και σε μία διακύμανση χωρίς τάση (Μαρμαράς). Γενικά, η μείωση του δείκτη D/P υποδεικνύει ότι οι οργανισμοί που ζουν κοντά ή πάνω στον πυθμένα λιγοστεύουν σε σχέση με αυτούς που ζουν στην πελαγική ζώνη και ότι η αλιεία βασίζεται ολοένα σε μικρότερους οργανισμούς, χαμηλού τροφικού επιπέδου όπως η σαρδέλα *Sardina pilchardus* και ο γαύρος *Engraulis encrasicolus*. Οι χαμηλές τιμές του δείκτη D/P υποδεικνύουν επίσης ότι, στις περισσότερες περιοχές, παρατηρείται υπερεκμετάλλευση των παραβενθικών, βενθικών και βενθοπελαγικών αποθεμάτων σε σχέση με τα πελαγικά και ότι αυτό οφείλεται στα συρόμενα αλιευτικά εργαλεία.

DEMERSAL-PELAGIC RATIO OF THE MEDITERRANEAN AND BLACK SEA FISHES

¹Porlou D., ^{1,2} Tsikliras A.

¹Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly,
Volos, ²Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki, Thessaloniki. Email: tsikliras@uth.gr

Demersal-pelagic ratio (D/P) is an ecosystem indicator that has been used to assess the effect of fisheries on organisms and ecosystems by measuring which species are removed at a higher rate from the sea. In the present work the D/P variability of fish catches (based on the official records of the Food and Agricultural Organization, FAO) derived from the seven fishing subareas of the Mediterranean and the three subareas of the Black Sea, was estimated for the period 1970-2005. Benthopelagic and benthic species were grouped together with demersal ones. In the combined dataset of the Mediterranean and the Black Sea (i. e., all fishing subareas), the D/P ratio was constant with small fluctuations for the period 1970-1989 (mean D/P=0.17), increased to its maximum value in 1991 (D/P=0.34) and declined thereafter. The D/P ratio declined in five Mediterranean fishing subareas (Balearic islands, Sardinia, Adriatic, Ionian and Levantine) and fluctuated without any trend in two (Lions Gulf and Aegean). As far as the Black Sea is concerned, the D/P ratio declined in the main Black Sea, increased in Azov Sea and fluctuated without any trend in Marmara Sea. In general, a decline in D/P shows that the organisms living near or on the seabed are declining in biomass compared to those inhabiting the pelagic zone. Hence, fisheries catches are gradually relying on smaller, lower trophic level organisms such as the European sardine *Sardina pilchardus* and anchovy *Engraulis encrasicolus*. Low D/P values also imply that, in most areas, the demersal, benthic and benthopelagic species are overexploited by bottom-trawlers and that the large pelagic stocks are either declining or remain stable.

ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΣΕ ΜΥΔΙΑ ΕΚΤΕΘΕΝΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΣΕ ΧΑΛΚΟ

Σοφία Πυθαροπούλου και Δημήτριος Καλπαξής

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Πειραματικές μελέτες έγιναν σε μύδια του είδους *Mytilus galloprovincialis*, που είχαν εκτεθεί σε ενυδρεία για 15 ημέρες σε τρεις συγκεντρώσεις Cu^{2+} (10, 20, and 100 $\mu\text{g/l}$), προστιθεμένου με τη μορφή χλωριούχων αλάτων. Η μελέτη της βιοσυσσώρευσης του Cu^{2+} και των μεταφραστικών αποκρίσεων έγινε σε ιστό του πεπτικού αδένου. Ο χαλκός δεν παρουσίασε σημαντική βιοσυσσώρευση σε χαμηλές συγκεντρώσεις έκθεσης, συσσωρεύτηκε όμως σημαντικά, όταν η έκθεση έγινε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ($\geq 20 \mu\text{g/l}$), χωρίς εμφάνιση φαινομένων κορεσμού. Έκθεση των μυδιών στο Cu^{2+} προκάλεσε μία δοσο- και χρονο-εξαρτώμενη ελάττωση στο ποσοστό πολυ-σωμάτων, η οποία την 15^η ημέρα έκθεσης σε 100 $\mu\text{g/l}$ Cu^{2+} , έφθασε το 19% του control. Αυτό σημαίνει, ότι ο Cu^{2+} είναι ικανός να προκαλεί απορρύθμιση της μετάφρασης. Επειδή ρύθμιση μπορεί να συμβεί σε όλα τα στάδια της μετάφρασης, μία σειρά πειραμάτων έγινε με σκοπό να ελέγξουμε κάθε στάδιο κάτω από την επίδραση του Cu^{2+} . Καταλήξαμε στα εξής:

α) Η έκθεση σε Cu^{2+} δεν επηρεάζει την ενεργότητα των αμινοακυλο-tRNA συνθετασών, όμως μειώνει την αμινοακυλίωση, ίσως λόγω διατάραξης της δομής του tRNA. β) Η πρόσδεση του AcPhe-tRNA στην Ρ-θέση ριβοσωμάτων προγραμματισμένων με πολυ(U) έδειξε παρόμοιο προφίλ αλλαγών, με εκείνο του σχηματισμού 48S ριβοσωματικών συμπλόκων, γεγονός που εισηγείται ότι η απορρύθμιση της μετάφρασης από το Cu^{2+} συμβαίνει κυρίως κατά το στάδιο έναρξης. Υποστηρικτική ένδειξη παρέχεται και από πειράματα ελέγχου της σύζευξης των ριβοσωματικών υπομονάδων. Ωστόσο, η πρόσδεση στην Α-θέση, η ενεργότητα της πεπτιδυλοτρανσφεράσης και η μετατόπιση των υποστρωμάτων υφίστανται επίσης μειώσεις, μικρότερης έκτασης αλλά μετρήσιμες, εισηγούμενες ότι απορρύθμιση μπορεί να συμβαίνει και κατά το στάδιο της επιμήκυνσης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με το ότι η πολυ (Phe)-σύνθεση μειώνεται κατά 25% σε ριβοσώματα από μύδια εκτεθέντα σε 40 $\mu\text{g/l}$ Cu^{2+} για 15 ημέρες. Συμπερασματικά, οι αλλαγές που επάγονται από τον Cu^{2+} στην πρωτεϊνική σύνθεση καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα αποκρίσεων, που καταλήγουν σε εξασθένηση της ολικής μεταφραστικής λειτουργίας. Συνεπώς, αν και ο χαλκός είναι απαραίτητο μέταλλο για τη ζωή, σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να είναι τοξικός.

PROTEIN SYNTHESIS PERTURBATIONS IN MUSSELS EXPERIMENTALLY EXPOSED TO COPPER

Sofia Pytharopoulou and Dimitrios L. Kalpaxis

*Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26504 Patras,
Greece*

Experimental studies were carried out on *Mytilus galloprovincialis* exposed in aquarium for 15 days to three concentrations of Cu^{2+} (10, 20, and 100 $\mu\text{g/l}$) added as chloride salt. Digestive gland tissue was chosen for studying metal bioaccumulation and translation responses. Cu was not accumulated in digestive glands at low exposure concentrations. However, it was significantly accumulated at higher concentrations ($\geq 20 \mu\text{g/l}$), without reaching a saturation plateau. Exposure of mussels to Cu^{2+} resulted in a dose- and time-dependent decrease in the polysome content, which at 15th day of exposure and at the highest metal concentration tested, reached to 19% of the control. This means that Cu^{2+} is capable of down-regulating protein synthesis. As regulatory events generally occur at any step of protein synthesis, a series of experiments were performed to check the function of translation under the influence of this metal. The conclusions drawn from these experiments are as follows:

First, exposure to Cu^{2+} does not influence the activity of aminoacyl-tRNA synthetases, but reduces tRNA charging probably by perturbing the tRNA functional structure. Second, binding of AcPhe-tRNA to the P-site of poly(U)-programmed ribosomes shows a very similar pattern of changes to those followed by 48S ribosomal complex formation, a fact suggesting that regulation of protein synthesis by Cu^{2+} mainly occurs at the initiation phase of translation. Supporting evidence is also coming from experiments testing the association of the small with the large ribosomal subunit in forming 80S ribosome. Nevertheless, A-site binding, peptidyltransferase activity and translocation of substrates undergoes less pronounced but measurable attenuations, suggesting that secondary regulation may also occur at the elongation phase of protein synthesis. The above results agree with the finding that poly(Phe)-synthesis is reduced by 25% in ribosomes isolated from mussels exposed to 100 $\mu\text{g/l}$ Cu^{2+} for 15 days. In conclusion, Cu^{2+} -mediated changes in translational output cover a broad spectrum of responses, leading to a decline in global protein synthesis. Therefore, although Cu^{2+} is an essential metal for life, at high concentrations it can exert toxic effects on marine organisms.

**ΜΕΛΕΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΟΝ
ΠΕΠΤΙΚΟ ΑΔΕΝΑ ΤΩΝ ΜΥΔΙΩΝ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*
ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΟΧΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΟΥ
ΚΕΛΥΦΟΥΣ**

Ραφτοπούλου Ε.Κ. και Δημητριάδης Β.Κ

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

Μύδια του είδους *M. galloprovincialis* συλλέχθηκαν από τη Χαλάστρα τον Ιούνιο και το Δεκέμβριο του 2009. Σε κρυτομές του πεπτικού τους αδένα εφαρμόστηκε ιστοχημεία για τα λυσοσωμικά ένζυμα N-ακετυλ-β-εξοζαμινιδάση (Hex), όξινη φωσφατάση (AcP) και β-γλουκουρονιδάση (β-Gus). Η Hex εντοπίστηκε ομοιογενώς στο εσωτερικό των λυσοσωμάτων, η AcP εμφανίστηκε με τη μορφή κόκκων, κυρίως, στην περιφέρεια των λυσοσωμάτων, ενώ η β-Gus εντοπίστηκε με τη μορφή καφέ πυρήνων στο κέντρο των λυσοσωμάτων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η ιστοχημεία της Hex υποστηρίζεται ως καταλληλότερη προσέγγιση για την εφαρμογή βιομαρτύρων που αφορούν στα λυσοσώματα, όπως η «σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης» και οι «μορφομετρικές αλλαγές των λυσοσωμάτων». Η εποχική παρουσία κόκκων λιποφουσκίνης μειώνει τη δραστηριότητα των τριών λυσοσωμικών ενζύμων και περιορίζει τη δράση τους σε συγκεκριμένα τμήματα του λυσοσωμικού συστήματος. Επίσης, μικρού και μεγάλου μεγέθους μύδια *M. galloprovincialis* με μήκος κελύφους $2,38 \pm 0,15$ cm και $6,58 \pm 0,27$ cm, αντίστοιχα, που προέρχονταν από την ίδια συνάθροιση μυδιών, συλλέχθηκαν από τη Χαλάστρα τον Ιούνιο του 2010. Σε κρυτομές του πεπτικού τους αδένα εφαρμόστηκαν παράμετροι, όπως η «σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης», οι «μορφομετρικές αλλαγές των λυσοσωμάτων», ο υπολογισμός του δείκτη «Lysosomal Response Index (LRI)» και οι «δομικές αλλαγές του επιθηλίου των πεπτικών σωληναρίων». Τα μεγάλα μύδια εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα «stress» σύμφωνα με το δείκτη LRI και πιο έντονες αλλαγές στις κυτταρικές και λυσοσωμικές παραμέτρους, σε σχέση με τα μικρά μύδια. Η διαφορετική απόκριση των μικρών και μεγάλων μυδιών θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε μελέτες βιοπαρακολούθησης της θαλάσσιας ρύπανσης, καθώς είναι δύσκολο σε ορισμένες περιπτώσεις να πραγματοποιηθεί συλλογή ίδιου μεγέθους μυδιών από τους διαφορετικούς δειγματοληπτικούς σταθμούς.

**EVALUATION OF CELLULAR AND LYSOSOMAL PARAMETERS IN
THE DIGESTIVE GLAND OF MUSSELS *MYTILUS*
GALLOPROVINCIALIS, IN RELATION TO SEASONALITY AND
SHELL LENGTH**

Raftopoulou E.K. and Dimitriadis V.K.

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

Mussels *M. galloprovincialis* were collected from Halastra on June and December 2009. Histochemistry of the lysosomal enzymes N-acetyl- β -hexosaminidase (Hex), acid phosphatase (AcP) and β -glucuronidase (β -Gus) was applied in the digestive gland cryosections. The results showed that Hex was homogenously localized in the whole lysosomal area, AcP was presented with the form of granules, mainly, in the periphery of the lysosomes, while β -Gus was localized with the form of brown cores in the centre of the lysosomes. According to the results, Hex histochemistry is supported as more suitable procedure for the biomarkers' application dealing with the digestive gland lysosomes, such as «lysosomal membrane stability» and «morphometrical alterations of lysosomes». The seasonal presence of lipofuscin granules decreased the lysosomal enzymes activity and restricts their action in particular parts of the lysosomal compartment. Additionally, small- and large-sized mussels *M. galloprovincialis* with shell length $2,38 \pm 0,15$ cm and $6,58 \pm 0,27$ cm, respectively, were collected from the same mussel assemblage from Halastra on June 2010. Lysosomal and cellular parameters, such as «lysosomal membrane stability», «morphometrical alterations of lysosomes», evaluation of «Lysosomal Response Index (LRI)» and «structural epithelial changes in the digestive tubules» were applied in the digestive gland cryosections of the two groups of mussels. The large-sized mussels presented higher stress levels according to the results of the LRI and greater alterations of the cellular and lysosomal parameters, in relation to small-sized ones. The different response of cellular and lysosomal parameters between the two groups of mussels should be taken into consideration in biomonitoring studies of marine pollution, since in certain cases the collection of similar-sized mussels is difficult among the different sampling stations.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ γ-ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ HER2/neu ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ TRASTUZUMAB.

Ρεκλός Ι.^{1,2}, Φωτοπούλου Α.³, Καπράνος Ν.⁴, Μαχαίρα Α.¹, Γκριτζάκης Α.¹, Βουτσάς
Ι.¹, Τσιτσιλώνη Ο.², Μπαξεβάνης Κ.¹

¹Κέντρο Ανοσολογίας & Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Νοσοκομείο «Ο Άγιος Σάββας»,
²Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, ³Ακτινολογική
Θεραπευτική Κλινική, Νοσοκομείο «Υγεία», ⁴Τμήμα Μοριακής Ιστοπαθολογίας,
Μαιευτικό & Χειρουργικό Κέντρο «ΜΗΤΕΡΑ», Αθήνα

Μελετήθηκε η επίδραση της γ-ακτινοβολίας στα επίπεδα έκφρασης του υποδοχέα HER2/neu σε κύτταρα τριών κυτταρικών σειρών και η συσχέτισή της με την ογκοκατασταλτική δράση του Trastuzumab. Δύο κυτταρικές σειρές με χαμηλή έκφραση του υποδοχέα (MDA-MB-231 και MDA-MB-435) και μία με πολύ υψηλή έκφραση του υποδοχέα (SKBR3) ακτινοβολήθηκαν με συγκεκριμένες δόσεις γ-ακτινοβολίας. Η έκφραση του υποδοχέα μετρήθηκε με κυτταρομετρία ροής. Ταυτόχρονα, μελετήθηκε η επίδραση της ακτινοβολίας στην ποσότητα του mRNA που κωδικοποιεί για τον υποδοχέα, 6 έως 48 ώρες μετά την ακτινοβολήση με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου. Σε επίπεδο DNA, η επίδραση της ακτινοβολίας μελετήθηκε με φθορίζοντα *in situ* υβριδισμό. Μελετήθηκε επίσης η επίδραση της ακτινοβολίας στην αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού που προκαλείται από το Trastuzumab, μέσω ενσωμάτωσης τριτιωμένης θυμιδίνης στο DNA των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων και στην εξαρτώμενη από αντίσωμα κυτταρομεσολαβητική κυτταροτοξικότητα, χρησιμοποιώντας ως κύτταρα-απαντητές μονοπύρηννα περιφερικού αίματος υγιών δοτών (PBMC), με τη μέθοδο της απελευθέρωσης ⁵¹Cr. Μετά την ακτινοβολήση παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης του υποδοχέα HER2/neu στα κύτταρα MDA-MB-231 και MDA-MB-435 και αύξηση της ποσότητας του mRNA που τον κωδικοποιεί. Παρουσία Trastuzumab παρατηρήθηκε αναστολή του πολλαπλασιασμού και αύξηση της κυτταροτοξικής ικανότητας των PBMC. Αντίθετα, στη σειρά SKBR3 δεν παρατηρήθηκαν διαφορές πριν και μετά την ακτινοβολήση. Συμπερασματικά, η γ-ακτινοβολία προκαλεί αύξηση της έκφρασης του υποδοχέα HER2/neu στα κύτταρα των δύο καρκινικών σειρών με χαμηλή έκφραση του υποδοχέα. Η ογκοκατασταλτική δράση του Trastuzumab εξαρτάται από τα επίπεδα έκφρασης του υποδοχέα HER2/neu.

**THE EFFECT OF γ -RADIATION ON THE EXPRESSION OF THE
RECEPTOR HER2/neu IN CELL LINES AND ON THE
ANTINEOPLASTIC ACTION OF TRASTUZUMAB.**

**Reklos I.^{1,2}, Fotopoulou A.³, Kapranos N.⁴, Mahaira L.¹, Gritzapis A.¹, Voutsas I.¹,
Tsitsilonis O.², Baxevanis C.¹**

¹Cancer Immunology & Immunotherapy Center, «St. Savvas» Hospital, ²Department of
Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, ³Radiology Therapeutic
Clinic, “Hygeia” Hospital, ⁴Department of Molecular Histopathology, “MITERA”
General & Obstetrics/Gynaecology Hospital, Athens

We studied the effect of γ -radiation on the expression of the receptor Her2/neu in three cell lines and its correlation with the tumor-suppressive activity of Trastuzumab. Two cell lines with low expression of the receptor (MDA-MB-231 and MDA-MB-435) and one with very high expression (SKBR3) were irradiated with specific dose of γ -radiation. The expression of the receptor was determined by flow cytometry. The quantity of the mRNA coding for the receptor was measured 6 to 48 hours post-irradiation, using real-time PCR. The effect of irradiation on cellular DNA was assessed with fluorescent *in situ* hybridization (FISH). We also studied the effect of irradiation on the suppression of cell proliferation caused by Trastuzumab, using the [³H]-thymidine incorporation assay. The effect of irradiation on antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by Trastuzumab, using as responder cells peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from healthy donors, was assessed with the ⁵¹Cr release assay. Upon irradiation, we observed an increase in the expression of the Her2/neu receptor in MDA-MB-231 and MDA-MB-435 cells, as well as an increase in the quantity of the mRNA coding for the receptor. Trastuzumab suppressed cell proliferation and increased PBMC cytotoxic activity. No differences prior and post irradiation were observed in SKBR3 cells. Our results show that γ -radiation increases the expression of Her2/neu receptor in the two cell lines with low Her2/neu expression. The antineoplastic action of Trastuzumab depends on the expression of the Her2/neu receptor.

ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΦΟΡΟΥ ΣΤΟ ΧΕΡΣΑΙΟ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟ *Cornu aspersum*

Ρεντζή Μ., Σταθοπούλου Χ., Στάικου Α.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη,

E-mail: astaikou@bio.auth.gr; mrentzi@bio.auth.gr; cstathop@bio.auth.gr

Το *Cornu aspersum* ανήκει στα χερσαία πνευμονοφόρα γαστερόποδα και είναι ταυτόχρονα ερμαφρόδιτο και ετερογονιμοποιούμενο είδος. Η διάρκεια της σύζευξης ποικίλει σε διαφορετικούς πληθυσμούς του είδους από δύο έως και 12 ώρες. Κατά τη σύζευξη τα σαλιγκάρια ανταλλάσσουν αμοιβαία σπέρμα που μεταφέρεται μέσα σε θήκη από χιτίνη που ονομάζεται σπερματοφόρο. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η καταγραφή των σταδίων σχηματισμού και μεταφοράς του σπερματοφόρου σε σαλιγκάρια διαφορετικών πληθυσμών που εμφανίζουν σημαντικά διαφορετική μέση διάρκεια σύζευξης.

Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν σαλιγκάρια από περιοχές της Κρήτης (διάρκεια σύζευξης 8-10 ώρες) και της Ηπείρου (διάρκεια σύζευξης 2-5 ώρες). Η παρατήρηση της συζευκτικής συμπεριφοράς έγινε σε εργαστηριακές συνθήκες. Σε τακτικά χρονικά διαστήματα μετά την έναρξη της σύζευξης ένας αριθμός ζευγαριών θανατώνονταν με βύθιση σε υγρό άζωτο. Ακολουθούσε η εκτομή του αναπαραγωγικού συστήματος η καταγραφή του σταδίου σχηματισμού και η θέση του σπερματοφόρου και τέλος η μέτρηση τμημάτων του αναπαραγωγικού συστήματος και του σπερματοφόρου.

Η έναρξη του σχηματισμού του σπερματοφόρου συμβαίνει αμέσως μετά την σύζευξη και ολοκληρώνεται σε διαφορετικό διάστημα στα σαλιγκάρια των επιμέρους πληθυσμών. Η μεταφορά του σπερματοφόρου μπορεί να συμβαίνει ταυτόχρονα και από τα δύο σαλιγκάρια ή και με κάποια χρονική υστέρηση από το ένα ζώο. Η ολοκλήρωση της μεταφοράς στους πληθυσμούς της Κρήτης παρατηρείται το ελάχιστο μία ή δύο ώρες νωρίτερα από την ολοκλήρωση της σύζευξης και την απομάκρυνση των ατόμων.

SPERMATOPHORE FORMATION AND TRANSFER IN THE LAND SNAIL *Cornu aspersum*

Rentzi M., Stathopoulou C., Staikou A.

Departement of Zoology, School of Biology A.U.Th. , Aristotle University of
Thessaloniki 54124 ,

E-mail: astaikou@bio.auth.gr, mrentzi@bio.auth.gr, cstathop@bio.auth.gr

Cornu aspersum is a simultaneously hermaphroditic and obligatory outcrossing terrestrial gastropod. Copulation duration in different populations of the species varies between two and twelve hours. During copulation snails exchange spermatophores which are formed in the epiphallus of the reproductive system and contain huge amounts of sperm. The present study examined the patterns of spermatophore formation and transfer in snails from populations which differed in copulation duration.

Snails were collected from regions of Crete (copulation duration 8-10 hours) and Western Greece (copulation duration 2-5 hours) and transferred to the laboratory where mating trials were performed. Previous studies had shown that copulation duration in Cretan populations ranged from eight to ten hours, while in populations from western Greece copulation duration ranged from two to five hours. Snail pairs were killed in liquid nitrogen at regular time intervals after the initiation of copulation, their reproductive system was excised, and the presence and position of the spermatophore was recorded. Male and female parts of the reproductive system as well as parts of the spermatophore were measured.

Our results indicate that spermatophore formation begins within the five first minutes after intromission has been achieved. Complete formation of the spermatophore was registered two hours after the beginning of copulation. Mutual transfer of spermatophores was in most of the cases synchronous. Completion of spermatophore transfer differed among populations studied. In snails from populations from Crete spermatophore transfer was completed two hours before the ending of copulation.

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ mRNA ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ ΣΤΟ *C. ELEGANS*

Άρης Ρουσάκης, Άννα Βλαντή, Φοίβος Μπορμπόλης, Άντα Τσιρώνη, Πόπη Σύντρυχάκη

Τδρμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωρανού Εφεσίου 4, 11527, Αθήνα

Μελέτες σε πολλούς οργανισμούς-μοντέλα έχουν δείξει τη θετική συσχέτιση της πτώσης του ρυθμού πρωτεϊνοσύνθεσης με τη μακροζωία. Προκειμένου να διερευνήσουμε περαιτέρω τη σχέση αυτή, μελετάμε το ρόλο κυτταρικών παραγόντων μεταβολισμού των μηνυμάτων RNA (mRNA) στη διαδικασία γήρανσης του νηματώδους *C. elegans*. Μια μορφή ριβονουκλεοπρωτεϊνικών σωματιδίων (mRNPs), που έχουν βρεθεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποθήκευση, την αποσιώπηση ή την αποικοδόμηση των mRNAs στο κυτταρόπλασμα όλων των ευκαρυωτικών κυττάρων είναι τα σωματίδια π (mRNA-processing bodies, PB). Επιπλέον, μια δεύτερη μορφή mRNP σωματιδίων τα οποία σχηματίζονται μόνο κάτω από συνθήκες στρες, λόγω αναστολής της πρωτεϊνοσύνθεσης, και περιέχουν μη-μεταφραζόμενα mRNAs, είναι γνωστά ως κοκκία στρες (stress granules, SGs). Για να διερευνήσουμε τη σχέση των παραπάνω mRNP σωματιδίων με την γήρανση, μελετήσαμε αρχικά την επίδραση που έχουν αλλαγές στη σύστασή τους στη διάρκεια ζωής των σκουληκιών και την απόκρισή τους σε στρες, χρησιμοποιώντας στελέχη που έφεραν ελλείψεις σε γονίδια που κωδικοποιούν για συστατικά των PBs και SGs. Όλα τα μεταλλαγμένα στελέχη εμφανίζουν αναπτυξιακά προβλήματα, μειωμένη γονιμότητα και διάρκεια ζωής σε σχέση με στελέχη φυσικού τύπου. Απενεργοποίησή τους μετα-αναπτυξιακά μέσω RNAi επίσης μειώνει τη διάρκεια ζωής, αλλά σε διαφορετικό βαθμό και με τρόπο που εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Στην παρούσα φάση, ελέγχουμε το ρόλο κάθε ιστού στη μακροζωία μέσω της στοχευμένης απενεργοποίησης γονιδίων των PBs και SGs με RNAi σε συγκεκριμένους ιστούς. Επιπλέον, με τη βοήθεια χημικών φθοριζουσών πρωτεϊνών, παρατηρήσαμε αυξημένο σχηματισμό PBs σε απόκριση στο θερμικό σοκ και σε μεταβολές της μετάφρασης ή/και της αποικοδόμησης του mRNA. Παράλληλα, ο σχηματισμός των PBs αυξάνεται με την ηλικία, ανεξάρτητα από μεταγραφική επαγωγή, και χωρίς να είναι ακόμα γνωστό αν συμβάλλει στη γήρανση ή λειτουργεί προστατευτικά ως προς αυτή. Τέλος μελετάμε ποια είναι η επίδραση αλλαγών στα PBs στη διάρκεια ζωής και την απόκριση σε στρες σε γνωστά μακρόβια στελέχη.

mRNA METABOLISM AND AGEING IN *C. ELEGANS*

Aris Rousakis, Anna Vlant, Fivos Borbolis, Anda Tsironi and Popi Syntichaki

*Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou, 115
27 Athens*

Studies in many organisms have established a link between lower protein synthesis rates and increased lifespan. To further explore this correlation we are studying the role of cellular factors involved in mRNA metabolism in the ageing process of *C. elegans*. Many studies have revealed the key role of specific mRNP particles, called mRNA-processing bodies (PBs), in the storage, silencing or degradation of the bulk mRNAs in the cytoplasm of all eukaryotic cells. In addition, a second form of mRNP particles that form only under stress conditions, due to induced general protein synthesis inhibition, and contain stalled mRNAs, are known as stress granules (SGs). The relationship of the above cytoplasmic mRNP particles with the ageing process has not yet been examined. To address this, we first studied the effects of direct alterations of these mRNP particles in longevity and stress resistance of the worms, using null alleles of several genes encoding orthologs of PB and SG components. In all tested mutant strains we observed developmental defects, lower brood size and shorter lifespan, compared to WT. Inactivation of these genes post-developmentally by RNAi also reduced the lifespan of WT worms, albeit to different extent and in a temperature-dependent manner. We are currently testing the contribution of each tissue in longevity through targeted RNAi of PB and SG genes in specific tissues. We have also generated various fluorescent reporter fusion proteins to monitor PBs and SGs in transgenic nematodes. We observed induced formation of PBs in various somatic cells in response to heat-shock as well as to alterations in mRNA translation or degradation. Moreover, the formation of PBs was increased with age and this was shown to be independent of transcriptional induction. We are currently testing whether this accumulation of PBs with age has a causative or a protective role in the ageing process and which are the pattern and the effect of PBs alterations in the longevity and stress response of known long-lived mutants.

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΒΑΡΕΩΝ ΑΛΥΣΙΔΩΝ (HCABS) ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΟΜΙΚΗ ΦΥΤΩΝ: “SMALL IS BEAUTIFUL”

Ρούσσης Α.*

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, aroussis@biol.uoa.gr

Τα *Camilideae* περιέχουν στο ανοσοποιητικό τους ρεπερτόριο μία μοναδική κλάση αντισωμάτων, από την οποία απουσιάζουν οι ελαφριές αλυσίδες και αποτελείται ομοδιμερή βαρέων αλυσίδων. Τα αντισώματα βαρέων αλυσίδων (HCABs) εκφράζονται μετά από VDJ ανασυνδυασμό και απαιτούν εξειδικευμένα γ-γονίδια. Απομονώνονται εύκολα από τον ορό, και η περιοχή δέσμευσης του αντιγόνου η οποία διαμορφώνεται από μία μόνο επικράτεια μπορεί να αναγνωρίσει περιοχές-στόχους χαμηλής αντιγονικότητας. Η επικράτεια αυτή των HCABs ονομάζεται μεταβλητή επικράτεια των HCABs (VHH). Τα VHHs μπορούν να απομονωθούν εύκολα από βιβλιοθήκες phage display (βιβλιοθήκες έκφρασης στην επιφάνεια νηματοειδών βακτηριοφάγων) όπου έχει κλωνοποιηθεί το αναδιαταγμένο σύνολο των V-γονιδίων, από ένα ανοσοποιημένο ζώο. Διαθέτουν μία σειρά βιοφυσικών ιδιοτήτων που τους προσδίδει ιδιαίτερα πλεονεκτήματα σε μία ποικιλία ιατρικών και βιοτεχνολογικών εφαρμογών. Τα “μονοκλωνικά” VHHs παράγονται πολύ εύκολα στην *E. coli*, διαθέτουν εξαιρετική σταθερότητα και διαλυτότητα και αναγνωρίζουν το αντιγόνο με μεγάλη εξειδίκευση και συγγένεια. Συνδυάζοντας την τεχνολογία έκφρασης αντισωμάτων σε βακτηριοφάγους και τις μοναδικές ιδιότητες των VHH, κατασκευάζουμε βιβλιοθήκες αντισωμάτων ενάντια στο πρωτέομα φυτών-μοντέλων όπως τα *Physcomitrella patens*, *Lotus japonicus*, *Arabidopsis thaliana* and *Eruca sativa*. Σε μία πρώτη προσπάθεια, απομονώσαμε τέσσερα διαφορετικά VHHs ενάντια στην φυτική πρωτεΐνη SBP1 (selenium binding protein 1) και τα εκφράζουμε μαζί με το αντιγόνο (SBP1) παροδικά, ως ενδο-αντισώματα (intrabodies) σε φύλλα καπνού, χρησιμοποιώντας την τεχνική της συμπληρωματικότητας του διμοριακού φθορισμού (BiFC)). Η προσέγγιση αυτή αποτελεί το αρχικό βήμα μιας διαδικασίας αντίστροφης πρωτεομικής με την οποία θα είναι δυνατό να εντοπίζουμε ενδιαφέροντες πρωτεϊνικούς στόχους.

*Προσκεκλημένος ομιλητής

HEAVY CHAIN ANTIBODIES (HCABS) IN PLANT PROTEOMICS: “SMALL IS BEAUTIFUL”

Roussis A.*

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, aroussis@biol.uoa.gr

In the mid-1990s, it was reported that Camelids contain in their serum a unique class of antibodies composed solely of a heavy-chain homodimer. These so-called heavy-chain antibodies (HCAbs) are expressed after a VDJ rearrangement and require dedicated constant γ -genes. They are easily purified from serum, and their antigen binding fragment interacts with parts of the target that are less antigenic to conventional antibodies. Since the antigen-binding site of the camelid HCAb is formed by a single domain, it is referred to as variable domain of heavy chain of HCAb (VHH). VHHs are easily retrieved after panning of a phage-displayed rearranged V-gene pool cloned from an immunized camelid. The single-domain antigen binding entities possess certain biophysical properties that offer particular advantages in various medical and biotechnological applications. They are well produced in bacteria, they are very stable and highly soluble, and bind their cognate antigen with high affinity and specificity. We are developing a strategy based on VHHs and phage display technology to generate VHH formatted libraries against model plant proteomes, like *Physcomitrella patens*, *Lotus japonicus*, *Arabidopsis thaliana* and *Eruca sativa*. We will use these libraries as sources of highly specific “monoclonal” VHHs with characteristics specified each time by the design of the panning procedure. In a first attempt, we have successfully screened for binders that recognize epitopes on the plant selenium binding protein SBP1. We are transiently expressing the anti-SBP1 VHHs as intrabodies in *Tobacco benthamiana* leaves and use Bimolecular Fluorescence Complementation (BiFC) as the first step towards a reverse proteomics approach where interesting patterns of VHH-plant protein interactions may reveal interesting targets. Furthermore, these libraries can provide a valuable monoclonal antibody source for proteins of plant origin.

*Invited speaker

ΑΝΑΓΩΓΗ ΤΟΥ Cr(VI) ΣΕ Cr(III) ΑΠΟ ΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ S3/K

Σάκουλα Δ., Παντζαρτζή Χ., Κοτταρά Α., Σκούρας Ζ. και Γιάγκου Μ.

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

Το βακτηριακό στέλεχος S3/K απομονώθηκε από την ενεργό ιλύ μονάδας επεξεργασίας αστικών λυμάτων και έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε υψηλές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου Cr(VI). Η ικανότητα αυτή οφείλεται τόσο σε μηχανισμούς ανθεκτικότητας στο Cr(VI) όσο και αποτοξικοποίησής του. Το S3/K συνθέτει ένα ισχυρό κυτταρικό τοίχωμα ενώ ταυτόχρονα παράγει ένζυμα που ανάγουν το Cr(VI) σε Cr(III). Επίσης, στο γονιδίωμα του S3/K ανιχνεύθηκαν τα γονίδια *chrA* και *chrC* τα οποία συμμετέχουν στους μηχανισμούς εξωκυτταρικής μεταφοράς του χρωμίου και στην προστασία ενάντια στο οξειδωτικό stress, αντίστοιχα. Διερευνήθηκε η ύπαρξη και άλλων γονιδίων που σχετίζονται με την ενζυμική αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) αλλά και με την ύπαρξη πιθανών μηχανισμών επιδιόρθωσης του γενετικού υλικού από τις τοξικές επιδράσεις του χρωμίου. Με PCR ενισχύθηκαν τμήματα των γονιδίων *yieF* και *recA*, τα οποία συμμετέχουν στο μηχανισμό ενζυματικής αναγωγής του Cr(VI) και στο μηχανισμό επιδιόρθωσης του DNA, αντίστοιχα. Συνεπώς, το στέλεχος S3/K διαθέτει συνολικά 5 διαφορετικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας-αποτοξικοποίησης στο Cr(VI). Διερευνήθηκε επίσης η ικανότητα του στελέχους αυτού να σταθεροποιείται σε συγκεκριμένα υποστρώματα σε στήλες που περιέχουν υαλοβάμβακα, κυτταρίνη, πολυστηρένιο ή σίδηρο. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν προσκόλληση του στελέχους με ταυτόχρονη αναγωγή Cr(VI) συγκέντρωσης μέχρι και 250 mg/l σε 24 ώρες. Συμπερασματικά, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση του μικροοργανισμού καθώς παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως πιθανό μέσο για τη διαχείριση και βιοαπορρύπανση λυμάτων επιβαρυνμένων με Cr(VI).

REDUCTION OF Cr(VI) TO Cr(III) FROM THE BACTERIAL STRAIN S3/K

*Sakoula D., Pantzartzi C., Kottara A., Scouras Z. and Yiangou M.
Dept. of Genetics, Dev. & Molecular Biology, School of Biology, AUTH*

The bacterial strain S3/K, isolated from activated sludge wastewater treatment plant has the capacity to grow at high concentrations of hexavalent chromium Cr(VI). This ability is due to both mechanisms of resistance to Cr(VI) and detoxification. The S3/K composes a strong cell wall while exhibits Cr(VI) to Cr(III) reducing activity. In addition, S3/K strain genome contains *chrA* and *chrC* genes that are involved in the mechanisms of extracellular transport of chromium and oxidative stress protection respectively. We investigated the existence of additional genes exhibiting Cr(VI) to Cr(III) reducing activity as well as DNA damage protective mechanisms caused by chromium compounds. Fragments of *yieF* and *recA* genes that participate in the mechanisms of enzymatic reduction of Cr(VI) and DNA repair, respectively, were amplified by PCR. Thus, the strain S3/K strain exhibits 5 different detoxification-resistance mechanisms to Cr(VI). It was also investigated the ability of this strain to be stabilized in specific substrates such as columns containing glass wool, cellulose, polystyrene or iron. Our data showed adhesion of the strain with simultaneous reduction of up to 250 mg / l Cr(VI) in 24 hours. In conclusion, further experimentation is required and it is of particular interest to investigate its potential use for managing and bioremediation of wastewater containing Cr (VI).

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ PHYB ΣΕ ΜΗ-ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Σαπλαούρα Ε.¹, Mahn M.², Schäfer E.², Kunkel T.², Ριζοπούλου Σ.¹

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, 157 84, Αθήνα

²Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, Albert-Ludwigs-University of
Freiburg, Schaenzlestrasse 1, D-79104 Freiburg, Germany

E-mail: elletta7@hotmail.com, srhizop@biol.uoa.gr

Το φυτόχρωμα (phy) είναι ο πιο σημαντικός φωτοδέκτης των φυτών και απαντάται σε δύο αλληλομετατρέπομενες μορφές: Pr και Pfr. Η Pr μορφή εντοπίζεται στο κυτόπλασμα ενώ η Pfr μορφή συσσωρεύεται στον πυρήνα, όπου αλληλεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες ρυθμίζοντας τη γονιδιακή έκφραση. Η μετατόπιση αυτή είναι απαραίτητη για τη μεταγωγή του σήματος. Στην περίπτωση του phyB, ο μηχανισμός μεταφοράς δεν είναι πλήρως κατανοητός. Το αμινο-τελικό άκρο (450 κατάλοιπα) phyB (N450) λειτουργεί ως φωτοδέκτης αλλά δεν περιλαμβάνει κλασσικό σήμα πυρηνικής εντόπισης (NLS). Επομένως, πιθανόν απαιτείται ένας πρωτεϊνικός μεταφορέας για να εισαχθεί στον πυρήνα. Προκειμένου να μελετηθεί η μεταφορά του phyB στον πυρήνα, δημιουργήθηκε ένα μη-κυτταρικό σύστημα αποτελούμενο από απομονωμένους πυρήνες του μονοκύτταρου χλωροφύκου *Acetabularia acetabulum*. Σε αυτό το σύστημα, η πρωτεΐνη PIF3 (Phytochrome Interacting Factor 3, ένας μεταγραφικός παράγοντας) είχε την ικανότητα να προσδένεται με το N450 άκρο και να δρα ως πρωτεΐνη-μεταφορέας. Εξετάστηκαν δύο διαφορετικές μεταλλάξεις του phyB N450 για να διαπιστωθεί αν η φωσφορυλίωση συγκεκριμένων καταλοίπων (θέσεις 23-25 και 86) σερίνης (S) επηρεάζει την συγγένεια πρόσδεσης μεταξύ phyB και PIF3. Στο ένα μετάλλαγμα, η σερίνη αντικαταστάθηκε από αλανίνη (S-A), ένα αμινοξύ που δεν φωσφορυλιώνεται, και στο άλλο, από ασπαρτικό οξύ (S-D), το οποίο μιμείται την κατάσταση φωσφορυλίωσης. Επίσης, εξετάστηκε ο φυσικός τύπος phyB και χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας. Ύστερα από σήμανση με Alexa Fluor®488, το phyB μεταφέρθηκε στους απομονωμένους πυρήνες *Acetabularia* έπειτα από ενεργοποίηση με ανοιχτό κόκκινο φως. Η Pfr μορφή αποκαλύπτει τις θέσεις πρόσδεσης για το PIF3 και επιτρέπει την εισαγωγή στον πυρήνα χρησιμοποιώντας το NLS του PIF3, όπως διαπιστώθηκε με μικροσκοπία φθορισμού κάτω από υπεριώδες (UV) φως. Η σύγκριση των διαφορετικών phyB έδειξε μικρή αύξηση της συγγένειας πρόσδεσης για την μη-φωσφορυλιωμένη μορφή (S-A) και συμφωνεί με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από *in-vitro* δοκιμές κατακρήμνισης χρησιμοποιώντας phyB και PIF3.

STUDYING THE INTERACTION OF PHYB MUTANTS IN A CELL-FREE SYSTEM

Saplaoura E.¹, Mahn M.², Schäfer E.², Kunkel T.², Rhizopoulou S.¹

¹Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis,
157 84, Athens, Greece

²Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, Albert-Ludwigs-University of
Freiburg, Schaenzlestrasse 1, D-79104 Freiburg, Germany
E-mail: elletta7@hotmail.com, srhizop@biol.uoa.gr

Phytochromes (phy) are the most important red and far-red photoreceptors in plants and they exist in two photo-interconvertible conformational states: an inactive Pr form and an active Pfr form. Phytochromes in the Pr form localize in the cytoplasm while phytochromes in the Pfr form accumulate in the nucleus, where they interact with transcription factors to regulate gene expression. This translocation is an essential step in phytochrome signal transduction. In case of phyB, the transport mechanism is not yet fully understood. The N-terminal 450-residue fragment of phyB (N450) acts as a functional photoreceptor, but it does not contain a classical nuclear localization signal (NLS). Therefore, phyB (N450) probably requires transport facilitators for its nuclear import. To investigate phyB import we generated a cell free system consisting of isolated nuclei from the unicellular green alga *Acetabularia acetabulum*. In this system, PIF3 (Phytochrome Interacting Factor 3, a transcription factor) was able to bind to the fragment and act as a helper protein for the import. Two different mutants of phyB N450 were tested to examine whether phosphorylation of certain serine (S) residues (position 23-25 and 86) affects the binding affinity between phyB and PIF3. In one mutant, serine was replaced by alanine (S-A mutant), an amino acid that cannot be phosphorylated. To mimic phosphorylation the same serines were replaced by aspartic acid (S-D mutant) in the second phyB (N450) version. In the comparative transport assays the wild type of phyB served as a control. After purification and labeling with Alexa Fluor[®]488, phyB was transported into the isolated *Acetabularia* nuclei after activation with red light. The results indicate that Pfr conformation of phyB exposes the binding positions for PIF3 and allows the transport to the nucleus using the NLS of PIF3. Import was ascertained by fluorescence microscopy, under UV light. The comparison of the different phyB proteins showed a slight increase of the transport efficiency of the non-phosphorylated phyB (S-A). These results are in accordance with those from the *in-vitro* affinity precipitation tests between phyB and PIF3.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΦΡΑΓΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΥΔΡΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΙΧΘΥΟΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ ΠΟΤΑΜΙΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ: Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΝΕΣΤΟΥ

Σαπουνίδης Α^{1,2}, Κουτράκης Μ², Καμίδης Ν² & Λεονάρδος, Ι¹.

¹ Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

² ΕΘΙΑΓΕ - Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Νέα Πέραμος, 64007, Καβάλα

Τα φράγματα, μικρά ή μεγάλα, έχουν παρόμοια αρνητική επίδραση όχι μόνο στην υδρολογία και την οικολογία των ποταμών αλλά και στους πληθυσμούς ψαριών που διαβιούν σε αυτόν.

Όσον αφορά τη βιοποικιλότητα, στο ποτάμιο σύστημα του Νέστου και στις Φ/Λ βρέθηκαν συνολικά 23 είδη που ανήκουν σε 11 οικογένειες. Η μειωμένη βιοποικιλότητα στη Φ/Λ Πλατανόβρυσης (8 είδη έναντι 12 στη Φ/Λ Θησαυρού και 17 στο ποτάμιο σύστημα) πιθανώς οφείλεται στην απομόνωση του συγκεκριμένου οικοσυστήματος από τη δημιουργία των φραγμάτων, αλλά και μικρών υδατοφραγμών, όπως αναβαθμοί κ.ά. που εμποδίζουν τις μετακινήσεις μεταναστευτικών και άλλων ειδών. Πρόβλημα στο ποταμό Νέστο, κατάντη των φραγμάτων, δημιουργείται και από την μειωμένη θερμοκρασία σε σχέση με το ανάντη, επιδρώντας στην ποιοτική σύσταση της ιχθυοπανίδας της περιοχής.

Επιπλέον, η μορφο-ανατομική μελέτη των διαχωρισθέντων πληθυσμών τεσσάρων από τα πιο άφθονα είδη του Νέστου, εντόπισε διαφορές μεταξύ των ανάντη και κατάντη των φραγμάτων πληθυσμών δυο ειδών. Τα χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν τους πληθυσμούς αυτούς είναι κατά βάση κολυμβητικά χαρακτηριστικά. Η διαφοροποίηση αυτή πιθανόν να οφείλεται στη προσπάθειά τους να αντιμετωπίσουν την αυξημένη ροή που προκαλείται από τη λειτουργία των φραγμάτων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν επίσης την παρουσία έντονης θερμικής στρωμάτωσης στις φραγμαλίμενες (Φ/Λ) κατά το καλοκαίρι, ενώ το φθινόπωρο η στήλη του νερού παρουσιάστηκε σχετικά ομογενοποιημένη. Η θερμοκρασία κατάντη των φραγμαλιμνών παρουσιάστηκε μειωμένη κατά 9 °C. Όσον αφορά τα θρεπτικά άλατα, παρατηρήθηκε βαθμιαία μείωση των νιτρικών, φωσφορικών, πυριτικών και αμμωνιακών αλάτων στην επιφάνεια των φραγμαλιμνών με ταυτόχρονη αύξηση των συγκεντρώσεων τους στον πυθμένα. Το γεγονός αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την μεταβολή των συγκεντρώσεων των εν λόγω θρεπτικών κατάντη των φραγμάτων.

DAMS' INTERVENTIONS IN THE HYDROLOGY AND THE ICHTHYOFAUNA OF RIVERINE SYSTEMS

Sapounidis A^{1,2}., Koutrakis M²., Kamidis N². & Leonardos I¹.

*¹ Department of Biological Applications and Technology, University of Ioannina,
Ioannina.*

²Fisheries Research Institute, Nea peramos, 64007, Kavala

Dams, large or small, have a similar negative effect not only on the hydrology and the ecology of rivers but also on the fish populations that inhabit them.

Concerning the biodiversity of the riverine system and of the dam-lakes that exist in Nestos river, 23 species were found in total, which are divided into 11 families. The reduced biodiversity in Platanovrisi dam-lake (8 species, in contrast to 12 species in Thisavros dam-lake and 17 in the riverine part of Nestos) it could be caused by the isolation of the ecosystem because of the dams' construction and also by the presence of small flood-gates, weirs, etc., thus preventing the upstream and downstream movement of migratory species. Moreover, another problem for the fishfauna downstream the dams is raised also from the reduced water temperature in relation to the temperature upstream the dams, which affects the qualitative composition of the fishfauna.

Moreover, the morpho-anatomical study of four of the most abundant species of the river, the populations of which were separated due to the construction of the dams revealed the presence of differences between the upstream and downstream population in two of them. The characteristics that differentiated upstream and downstream populations of these species seem to affect their swimming abilities. This variation is probably due to their efforts to address the increased flow caused by the operation of dams.

The results also showed the presence of a thermal stratification in the dam-lakes in summer while in autumn the water column appeared to be relatively homogenous. The water temperature downstream of the dams found to be reduced by 9 °C. As for nutrient salts concerned, reduced nitrate, phosphate, ammonium and silicate values were detected in the surface layer of the dam-lakes, together with the simultaneous concentration increase at the bottom layer. This has as a result the change of their concentrations downstream of the dams.

ΕΝΑΣ ΝΕΟΣ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΖΩΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ (BARCODING)

**Κωνσταντίνα Σαπρή, Κωνσταντίνος Σταμάτης, Θεολογία Σαραφίδου, Ζήσης
Μαμούρης**

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26, 41221,
Λάρισα

Το DNA barcoding είναι μια μέθοδος που εφαρμόζεται για την ταυτοποίηση οργανισμών σε μοριακό επίπεδο, τη μελέτη της βιοποικιλότητας, φυλογενετικές αναλύσεις, την ιχνηλασιμότητα διατροφικών προϊόντων κ.λπ. Η μέθοδος βασίζεται στην ύπαρξη μικρών τυποποιημένων αλληλουχιών στο DNA των οργανισμών, μοναδικών για το κάθε είδος, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως «ετικέτες» ταυτοποίησης. Συνεπώς, το τμήμα DNA που θα χρησιμοποιηθεί ως barcode θα πρέπει να έχει τέτοιο ρυθμό μεταλλαξιγένεσης που να είναι τόσο αργός ώστε να ελαχιστοποιείται η ενδο-ειδική διαφοροποίηση αλλά παράλληλα να είναι και αρκετά ταχύς ώστε να τονίζεται η δια-ειδική διαφοροποίηση. Για αυτόν το λόγο, το μιτοχονδριακό γονιδίωμα θεωρείται ιδανικό ως πηγή μοριακών δεικτών για την ταυτοποίηση ζωικών ειδών. Σήμερα, για την ταυτοποίηση ζωικών ειδών χρησιμοποιείται ευρύτατα το γονίδιο της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (COI).

Στο πλαίσιο της ταυτοποίησης εναλλακτικών αλλά και συμπληρωματικών μοριακών δεικτών ταυτοποίησης ειδών, διερευνήθηκε *in silico* η αλληλουχία γονιδίων του μιτοχονδριακού γονιδιώματος τουλάχιστον 100 διαφορετικών ζωικών ειδών ώστε να ταυτοποιηθούν υψηλά συντηρημένες αλληλουχίες (ώστε να χρησιμοποιηθούν για το σχεδιασμό εκκινητών κατάλληλων για όλα τα είδη) εκατέρωθεν πολυμορφικών, μεταξύ των ειδών, αλληλουχιών. Έτσι, επιλέχθηκε τμήμα DNA του γονιδίου 16S rRNA το οποίο ελέγχθηκε με PCR και αλληλούχηση σε δείγματα ~90 ζωικών ειδών, συμπεριλαμβανομένων θηλαστικών, πτηνών, ερπετών, ψαριών και μαλακίων. Ο έλεγχος ενδοειδικού πολυμορφισμού πραγματοποιήθηκε με ανάλυση PCR-SSCP σε δείγματα διαφορετικών ατόμων του ίδιου είδους. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, φαίνεται πως το γονίδιο 16S rRNA του μιτοχονδριακού γονιδιώματος πληροί τις προϋποθέσεις ώστε να λάβει το χαρακτήρα του παγκόσμιου μοριακού δείκτη για την ταυτοποίηση ζωικών ειδών.

A NEW MOLECULAR MARKER FOR THE IDENTIFICATION OF ANIMAL SPECIES (BARCODING)

Constantina Sarri, Costas Stamatis, Theologia Sarafidou, Zissis Mamuris

*Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26,
41221, Larissa, Greece*

DNA barcoding is a method for the identification of organisms at the molecular level, the study of biodiversity, phylogenetic analysis, traceability of food products etc. The principal of the method is based on the existence of small DNA sequences, unique for each species, that can be used as identification 'tags'. Therefore, the DNA segment to be used as a barcode should have a mutagenesis rate, slow enough to minimize intraspecies differentiation but also fast enough to emphasize the interspecific differentiation. For this reason, the mitochondrial genome is considered ideal as a source of molecular markers suitable to identify animal species. Today, oxidase subunit I of cytochrome c (COI) gene is used widely for the identification of species.

In the context of the identification of alternative and complementary molecular markers suitable for barcoding, the mitochondrial gene sequences of ~100 different species were analyzed *in silico* in order to identify highly conserved sequences (to be used as universal primers) that flank polymorphic, between species, sequences. Thus, a segment of 16S rRNA gene was selected, amplified by PCR and sequenced in DNA samples from ~90 different species, including mammals, birds, reptiles, fishes and mollusks. The intraspecies putative polymorphism was analyzed by PCR-SSCP in different samples of the same species. Our results suggest that the mitochondrial *16S rRNA* gene is an appropriate universal molecular marker for species identification.

CK2 – ΜΙΑ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗ ΚΙΝΑΣΗ ΜΕ ΠΟΛΛΑ ΠΡΟΣΩΠΑ

Ryszard Szyska

*Department of Molecular Biology, Institute of Biotechnology, John Paul II Catholic
University of Lublin. Lublin, Poland, szyskar@kul.pl*

Η CK2 είναι μια καθολικά εκφραζόμενη πρωτεϊνική κινάση Ser / Thr με εκατοντάδες υποστρώματα, κυρίως πρωτεΐνες που επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων, την πρωτεϊνοσύνθεση, τη μεταγωγή σήματος, τον πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και τη διαφοροποίηση κυττάρων. Η CK2 κινάση χρησιμοποιεί ATP ή GTP ως δότη φωσφόρου και οι θέσεις φωσφορυλίωσης περιέχουν την αλληλουχία Ser/Thr-XX-Asp/Glu/pSer, διαφορετική από άλλων πρωτεϊνικών κινασών. Το CK2 ολοένζυμο αποτελείται από δύο καταλυτικές υπομονάδες (αα, α'α' ή αα') και ένα διμερές δύο ρυθμιστικών β υπομονάδων, των οποίων η ακριβής λειτουργία δεν είναι πλήρως κατανοητή. Αν και οι β υπομονάδες επηρεάζουν πολλές ιδιότητες της CK2, οι απομονωμένες καταλυτικές υπομονάδες και το ολοένζυμο είναι συνεχώς ενεργά, γεγονός πιθανόν υπεύθυνο για την ογκογόνο δράση της CK2. Οι β υπομονάδες μπορούν να υποστούν αναστρέψιμη αποσύνδεση υπό φυσιολογικές συνθήκες και να λειτουργήσουν ως πλατφόρμα αγκύρωσης για πρωτεΐνες-υποστρώματα και ενεργοποιητές. Η απορύθμιση της CK2 σχετίζεται με τον καρκίνο: η έκφραση και η ενεργότητα της αυξάνεται σε πολλές μορφές καρκίνου, όπως καρκίνος της κεφαλής και του τραχήλου, του πνεύμονα, του προστάτη και του ανοσοποιητικού συστήματος. Η απορύθμιση της CK2 σχετίζεται επίσης με την καταστολή της απόπτωσης, ενισχύοντας έντονα την αποπτωτική ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων. Τελευταία έχουν καταβληθεί σημαντικές προσπάθειες για την ανάπτυξη ειδικών, κυτταρικά διαπερατών αναστολέων της CK2 με υψηλή εξειδίκευση ως προς τη συντηρητική θέση δέσμευσης του ATP: μικρές χημικές ενώσεις που ενεργούν ως μιμητές αδενίνης, (αλογονωμένα παράγωγα του βενζιμιδαζολίου, συμπυκνωμένα πολυφαινολικά παράγωγα, ενώσεις με βάση την ινδικινάζολίνη). Πολλά εργαστήρια ενδιαφέρονται επίσης για την ταυτοποίηση CK2 αναστολέων με διαφορετικό μηχανισμό δράσης, π.χ. στόχευση της θέσης δέσμευσης του υποστρώματος ή της CK2β υπομονάδος, είτε παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης των υπομονάδων.

CK2 - A PROTEIN KINASE WITH MANY FACES

Ryszard Szyska

*Department of Molecular Biology, Institute of Biotechnology, John Paul II Catholic
University of Lublin, Lublin, Poland, szyskar@kul.pl*

CK2 is a ubiquitously expressed Ser/Thr protein kinase with hundreds of substrates, mostly proteins affecting gene expression, protein synthesis, signal transduction, proliferation, apoptosis and cell differentiation. The CK2 phosphoacceptor sites contain the consensus sequence Ser/Thr-X-X-Asp/Glu/pSer, distinct from other protein kinases. CK2 utilizes either ATP or GTP as a phosphate donor. The CK2 holoenzyme is composed of two catalytic subunits ($\alpha\alpha$, $\alpha'\alpha'$ or $\alpha\alpha'$), and a dimer of two regulatory β subunits, whose precise function is still poorly understood. Although the β subunits affect many properties of CK2, both the isolated catalytic subunits and the holoenzyme are constitutively active, which is probably responsible for the oncogenic potential of CK2. The β subunits can undergo reversible dissociation under physiological conditions and play a role as anchoring elements and/or as a docking platform for protein substrates and effectors. Deregulation of CK2 is functionally linked to cancer: CK2 expression and activity are elevated in many cancers, including cancers of the head and neck, lung, prostate and immune system. Deregulation of CK2 is also associated with suppression of apoptosis, strongly enhancing apoptotic sensitivity of cancer cells. Therefore, considerable efforts have been made in recent years to develop specific and cell-permeable CK2 inhibitors, the majority of which interact with the conserved ATP-binding site. This class of inhibitors includes small chemical compounds acting as adenine mimics, such as halogenated benzimidazole derivatives, condensed polyphenolic derivatives, and indiquinazoline-based compounds that display high specificity for CK2 and efficiency in nanomolar concentrations. During the last years many laboratories show an increasing interest in identifying more specific CK2 inhibitors that do not directly compete with ATP and exhibit different mechanism of action e.g. targeting substrate-binding site, targeting the CK2 β subunits or disrupting the subunit interaction.

**ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΟΙ ΜΥΕΣ ΕΠΙΤΡΕΠΟΥΝ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ
ΣΗΜΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ
ΤΟΥ TGFβ IN-VIVO**

Πασχάλης Σιδεράς Αθανάσιος

*Ιδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, Κέντρο Ανοσολογίας και
Μεταμοσχεύσεων, Αθήνα*

Σε προέχουσα θέση ανάμεσα στα σηματοδοτικά συστήματα που ρυθμίζουν θεμελιώδεις βιολογικές λειτουργίες όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και ο θάνατος, δεσπόζει το σηματοδοτικό σύστημα της υπερ-οικογένειας κυτταροκινών του «Αυξητικού παράγοντα των Όγκων-β» (TGFβ). Οι κυτταροκίνες αυτές επάγουν πλυθώρα κυτταρικών αποκρίσεων, ανάλογα με το γενετικό υπόβαθρο και το μικρο-περιβάλλον των κυττάρων στόχων τους. Η ανακάλυψη όλων των πρωτεϊνών της υπερ-οικογένειας αυτής, όλων των μεμβρανικών υποδοχέων και των εξειδικευμένων ενδοκυττάρων υποστρωμάτων τους, έφερε δραματική πρόοδο στην κατανόηση των μηχανισμών μέσω των οποίων σηματοδότηση από τους υποδοχείς μετατρέπεται σε πρόγραμμα γονιδιακής ρύθμισης στο κυτταρικό επίπεδο. Όμως, η λειτουργία του σηματοδοτικού αυτού συστήματος στο επίπεδο των ιστών και οργάνων είναι ακόμη ελλιπής, ειδικά στο σύστημα των σπονδυλωτών. Αυτό, ανάμεσα σε άλλα, οφείλεται και στην αδυναμία παρακολούθησης του συστήματος αυτού in-situ και συνεπώς στην απουσία ενός ολοκληρωμένου χωρο-χρονικού «χάρτη» της in-vivo δράσης του.

Για να παρακάμψουμε το πρόβλημα αυτό, χρησιμοποιήσαμε γονιδιακούς υποκινητές που αποκρίνονται ειδικά σε σηματοδότηση από TGFb/Activin και BMPs και αναπτύξαμε διπλά διαγονιδιακούς μύες που επιτρέπουν την άμεση μελέτη των δύο βασικών σκελών του TGFβ συστήματος. Στα πειραματόζωα αυτά σηματοδότηση μέσω του TGFβ/Activin ενεργοποιούμενου σκέλους οδηγεί σε έκφραση της πρωτεΐνης αναφοράς RFP ενώ ενεργοποίηση μέσω του BMP σκέλους οδηγεί σε έκφραση της πρωτεΐνης αναφοράς GFP. Ανάλυση των διπλών διαγονιδιακών μας επέτρεψε για πρώτη φορά να παρακολουθήσουμε in-situ κύτταρα αποκρινόμενα στον TGFβ ή/και τους BMPs σε διάφορους ιστούς και όργανα και να αναλύσουμε το χωρο-χρονικό πρότυπο ενεργοποίησής τους.

**TRANSGENIC ANIMALS ALLOW DIRECT MONITORING TGF β -
SUPERFAMILY MEDIATED SIGNALING IN-VIVO.**

Paschalis Sideras

*Biomedical Research Foundation, Academy of Athens, Centre for Immunology &
Transplantations, Athens, Greece*

Prominent place among the signaling systems that regulate fundamental processes for life such as cell proliferation, differentiation and death, is occupied by the Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) family of cytokines. These proteins can trigger a bewildering diversity of cellular responses, depending on the genetic makeup and environment of the target cell. The identification of all the ligands, membrane receptors and their intracellular substrates, has allowed dramatic progress in understanding how these signals are converted into programs of gene regulation and function at the cellular level. However, understanding how these signals are integrated at the level of the tissues and organs is still lagging, especially in vertebrates.

One obstacle is the inability to monitor in-situ the activity of these pathways and thus construct a functional spatio-temporal map. To get around this difficulty, we have used TGF β /Activin and BMP responsive promoters to develop double reporter transgenic animals that allow visualization of the two major branches of the TGF β superfamily signaling system, namely the TGF β /Activin mediated branch by monitoring expression of the RFP reporter protein and BMP mediated signaling monitoring expression of the GFP reporter protein. Analysis of the double reporter animals allowed us for the first time to visualize TGF β and/or BMP responding cells in different tissues and analyze their spatio-temporal pattern of expression.

**ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΥΠΟΒΑΘΜΙΣΗ ΦΩΤΟΛΥΤΙΚΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΩΝ
ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΤΗΣ
2-ΧΛΩΡΟΠΥΡΙΔΙΝΗΣ ΚΑΙ 2-ΥΔΡΟΞΥΠΥΡΙΔΙΝΗΣ**

Σκουτέλης Χ., Παπαδάκη Μ., Βλαστός Δ.*

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

Οι χλωριωμένες πυριδίνες χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη βιομηχανία φαρμάκων και αγροχημικών. Έχουν ανιχνευθεί σε βιομηχανικά απόβλητα, σε ποτάμια, ακόμα και σε πόσιμο νερό. Ως ρύποι είναι έμμονοι. Η παρούσα μελέτη αφορά στη φωτολυτική διάσπαση σε συνδυασμό με τη γενοτοξική υποβάθμιση επεξεργασμένων υδατικών διαλυμάτων 2-χλωροπυριδίνης (2-CPY) και 2-υδροξυπυριδίνης (2-HPY). Αξίζει να αναφερθεί ότι η 2-CPY σχηματίζεται ως δευτερογενής ρύπος κατά τη διάσπαση φυτοφαρμάκων όπως το imidacloprid, ενώ η 2-HPY αποτελεί κύριο προϊόν της φωτολυτικής διάσπασης 2-αλογονωμένων πυριδινών. Η γενοτοξική δράση των μελετώμενων ρύπων προσδιορίστηκε με την τεχνική των μικροπυρήνων (micronuclei, MN) με τη χρήση κυτταροχλασίνης-B (CBMN assay), σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων. Η συγκεκριμένη τεχνική, ανιχνεύει χρωμοσωματικά θραύσματα ή/και ολόκληρα χρωμοσώματα τα οποία δεν ενσωματώνονται στους θυγατρικούς πυρήνες και εμφανίζονται ως μικρές πυρηνικές δομές, μικροπυρήνες, στο κυτταρόπλασμα διπύρηνων μεσοφασικών κυττάρων. Εξετάστηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις (10, 50 και 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$) της 2-CPY και παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική επαγωγή MN στη συγκέντρωση 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Η γενοτοξική δράση της 2-HPY, εξετάστηκε σε συγκεντρώσεις 5, 10, 50, 100, 200 και 400 $\mu\text{g ml}^{-1}$ και σε όλες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική επαγωγή MN. Πραγματοποιήθηκαν φωτολυτικά πειράματα σε υδατικά διαλύματα 0.2 L με 1.8-2 g L⁻¹ 2-CPY ή 0.8 g L⁻¹ 2-HPY, με UV στα 254 nm, σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου με ανακυκλοφορία, στο φυσικό pH του διαλύματος, με ταυτόχρονη μέτρηση της συγκέντρωσης του υποστρώματος, του οργανικού άνθρακα και της γενοτοξικότητας του διαλύματος. Παρατηρήθηκε ότι η γενοτοξικότητα του φωτο-κατεργαζόμενου διαλύματος της 2-CPY μεγιστοποιήθηκε στο μέγιστο της συγκέντρωσης της παραχθείσας 2-HPY αλλά παρατεταμένη φωτο-κατεργασία οδήγησε στην υποβάθμιση της γενοτοξικότητας των διαλυμάτων και των δυο ουσιών στο επίπεδο του μάρτυρα.

GENOTOXICITY ELIMINATION OF PHOTOLYTICALLY TREATED 2-CHLOROPYRIDINE AND 2-HYDROXYPYRIDINE IN AQUEOUS SOLUTIONS

Skoutelis C., Papadaki M., Vlastos D. *

*Department of Environmental and Natural Resources Management, University of
Ioannina, Seferi 2, 30100 Agrinio, *email: dvlastos@cc.uoi.gr*

Chlorinated pyridines are extensively used in the pharmaceutical and agrochemical industry. They have been identified in process streams wastewaters, in rivers, even as trace organic contaminants in drinking water. As pollutants they are persistent. The photolytic destruction and the genotoxicity reduction of 2-chloropyridine (2-CPY) and 2-hydroxypyridine (2-HPY) in aqueous solutions were studied. 2-CPY appears to be formed as a secondary pollutant during the decomposition of specific insecticides, such as imidacloprid. 2-HPY is a major first-stage product formed upon the photolytic destruction of 2-halogenated pyridines. The genotoxicity study employed the cytokinesis block micronucleous (CBMN) assay for the detection of micronuclei (MN) in the cytoplasm of interphase cells. Micronuclei may originate from acentric chromosome fragments or whole chromosomes that are unable to migrate to the poles during the anaphase stage of cell division. 10, 50 and 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 2-CPY concentration treatments were tested in cultured human lymphocytes applying the CBMN assay. It was found that the concentration of 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of 2-CPY was genotoxic compared with the control. Genotoxicity of 2-HPY in water was studied in the range of 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ to 400 $\mu\text{g ml}^{-1}$. All solution concentrations were found to be genotoxic. Independent photolytic experiments of 0.2 L with 1.8-2 g L⁻¹ of 2-CPY or 0.8 g L⁻¹ of 2-HPY in water were conducted by means of UV irradiation at 254 nm in a batch reactor with internal recycle, at solution ambient pH. Substrate concentration, solution total organic carbon concentration and solution genotoxicity were measured as a function of treatment time. Results showed that 2-CPY solution genotoxicity was maintained even after 2-CPY complete removal while its maximum genotoxicity and cytotoxicity were encountered when 2-HPY, the primary intermediate of 2-CPY photolysis, peaked. Solutions employing 2-HPY as original substrate were also genotoxic even after 2-HPY had been removed. The genotoxicity of both 2-CPY and 2-HPY solutions was reduced near to the control level after prolonged UV irradiation.

**ΒΑΘΥΜΕΤΡΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑΤΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΤΩΝ
ΕΙΔΩΝ *TRIPTERYGION DELAISI* ΚΑΙ *TRIPTERYGION*
TRIPTERONOTUS (PISCES) ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ**

Γεώργιος Σκούφας¹ & Αναστασία Τσιρίκα²

¹Α.Τ.Ε.Ι.Θ., Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών, Παράρτημα Νέων
Μουδανιών, Ηλεκτρ. Ταχ.: skoufas@aqua.teithe.gr; ²Εργαστήριο Εφαρμοσμένης
Εδαφολογίας, Γεωπονική Σχολή Α.Π.Θ. GR – 54124 Ηλεκτρ. Ταχ.:
atsirika@agro.auth.gr

Τα ψάρια των ειδών *Tripterygion delaisi*, Cadenat & Blache, 1971 και *Tripterygion tripteronotus* (Riso, 1810) αν και είναι κοινά στις ελληνικές θάλασσες, εντούτοις είναι ελάχιστα μελετημένα στο Αιγαίο, αλλά και γενικότερα στην Ανατολική Μεσόγειο. Τα δύο είδη παρουσιάζουν διακριτή βαθυμετρική κατανομή, το *T. tripteronotus* συναντάται κοντά στην επιφάνεια (0-3m) ενώ το *T. delaisi* βαθύτερα (5-20m). Αν και τα θηλυκά άτομα είναι δυσδιάκριτα μεταξύ τους, εντούτοις τα αρσενικά των δύο ειδών διαφέρουν χαρακτηριστικά μεταξύ τους: το *T. tripteronotus* εμφανίζει κόκκινο σώμα και μαύρο κεφάλι, ενώ το *T. delaisi* κίτρινο σώμα και μαύρο κεφάλι. Και τα δύο είδη εμφανίζουν έντονη χωροκρατική συμπεριφορά.

Εξαιτίας του φάσματος απορρόφησης του κόκκινου είναι εύκολο να εξηγηθεί, γιατί το *T. tripteronotus* δε μπορεί να εδραιωθεί βαθύτερα. Η υπόθεση εργασίας της παρούσας έρευνας αφορά στο ερώτημα γιατί το *T. delaisi* δε θα μπορούσε να εδραιωθεί σε μικρότερα βάθη. Η μελέτη διεξήχθη στη θαλάσσια περιοχή της Ακτής Καλογριάς (Σιθωνία, Χαλκιδική) από το 2006 έως το 2009, χρησιμοποιώντας μη καταστροφικές μεθόδους στο πεδίο, με αυτόνομη κατάδυση. Αρσενικά άτομα του είδους *T. delaisi*, έπειτα από νάρκωση με MS222, μεταφερόταν σε βάθη από 3 έως 5 m, σε σημεία όπου δεν υπήρχε παρουσία του συγγενικού είδους. Κανένα από τα 38 άτομα του πειράματος δεν εδραιώθηκε στο νέο περιβάλλον. Ανακτώντας τη δραστηριότητά τους, έπειτα από τη νάρκωση, μετακινούνταν σε μεγαλύτερα βάθη.

Ως μία γενική παρατήρηση που προκύπτει είναι ότι το κίτρινο χρώμα φαίνεται να αποτελεί μειονέκτημα στα μικρά βάθη, ιδιαίτερα σε οργανισμούς με χωροκρατική συμπεριφορά. Πιθανότατα σχετίζεται με την κάλυψη του υποστρώματος από φωτόφιλα φύκη, όπως αυτά του γένους *Dictyota* και *Cystoseira*, των οποίων τα φαιοκίτρινα χρώματα καθιστούν δυσδιάκριτο το κίτρινο.

**BATHYMETRIC DISTRIBUTION AND COLOUR PATTERNS OF
TRIPTERYGION DELAISI AND TRIPTERYGION TRIPTERONOTUS
(PISCES) FROM NORTH AEGEAN SEA**

Georgios Skoufas¹ & Anastasia Tsirika²

¹A.T.E.I.Th., Department of Fisheries and Aquacultures Technology, Nea Moudania, E-mail address: skoufas@aqua.teithe.gr; ²Aristotle University of Thessaloniki, School of Agronomy, Laboratory of Applied Soil Science, GR- 54124, Greece, E-mail address: atsirika@agro.auth.gr

The fish species *Tripterygion delaisi*, Cadenat & Blache, 1971 and *Tripterygion tripteronotus* (Riso, 1810), although common in the Greek seas, are poorly studied in the Aegean Sea and the Eastern Mediterranean in general. The two species exhibit distinct bathymetric distribution: *T. tripteronotus* is found near the surface (0-3m), whereas *T. delaisi* occupies deeper waters (5-20m). Although females are indistinguishable between the two species, the males have distinctive characteristics: *T. tripteronotus* males display red body and black head, while *T. delaisi* males have a yellow body and a black head. Both species show significant territorial behaviour.

The appearance of *T. tripteronotus* in shallow waters can be explained by the absorption spectrum of red colour. One of the most important scientific questions of this research is why *T. delaisi* can not occupy shallower sites. The current study was conducted in the coastal area Kalogria (Sithonia, Halkidiki) from 2006 to 2009, using non-destructive *in situ* methods with scuba diving. Males of *T. delaisi* species were moved, after anaesthesia with MS222, to depths of 3 to 5 m, in places where individuals from the relative species were absent. None of the 38 males, participating in the experiment, occupied the new environment. As soon as they regained their activity they moved to deeper areas.

As a general observation, it seems that the yellow colour acts as a disadvantage in shallow sites, especially for organisms with territorial behaviour. This could be related to the dominance at shallow areas of brown algae, like species of *Dictyota* and *Cystoseira* genus, which have a yellow-brown colour and make the yellow colour undistinguishable.

ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΗΜΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *TELESTES PLEUROBIPUNCTATUS* (STEPHANIDIS, 1939) ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΑΡΑΧΘΟ ΚΑΙ ΛΟΥΡΟ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΑΣΜΑΤΑ

Σούλη Κωνσταντίνα, Λιούσια Βαρβάρα & Ιωάννης Δ. Λεονάρδος
Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα

Το είδος *Telestes pleurobipunctatus* (Stephanidis, 1939) ανήκει στην οικογένεια των Κυπρινοειδών. Πρόκειται για ενδημικό είδος των ποταμών της Δυτικής Ελλάδας, το οποίο έχει χαρακτηριστεί ως χαμηλού ενδιαφέροντος σύμφωνα με την λίστα απειλούμενων ειδών του IUCN. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της δομής των πληθυσμών του είδους σε δύο από τα σημαντικότερα ποτάμια της Βορειοδυτικής Ελλάδας, τον Καλαμά και τον Λούρο. Τα δείγματα συλλέχθηκαν με τη χρήση ηλεκτραλείας στο Καλαμά το 2007 και στο Λούρο το 2009 και συντηρήθηκαν σε διάλυμα ουδετεροποιημένης φορμόλης 4%. Σε κάθε άτομο προσδιορίστηκε το φύλο με μακροσκοπική εξέταση των γονάδων. Επίσης μετρήθηκε το σταθερό μήκος (σε cm) και το ολικό βάρος (σε gr). Στον ποταμό Καλαμά συλλέχθηκαν 233 άτομα, εκ των οποίων τα 73 άτομα ήταν θηλυκά (31.3%), τα 126 αρσενικά (54.5%) και 33 αδιευκρίνιστου φύλου (14.2%). Το μήκος των ατόμων κυμάνθηκε από 2.6 (αρσενικό άτομο) έως 10.8 cm (θηλυκό άτομο) ενώ το βάρος από 0.4 έως 27.1 gr. Στον ποταμό Λούρο η αναλογία φύλων διέφερε καθώς συλλέχθηκαν 205 άτομα, εκ των οποίων τα 132 άτομα ήταν θηλυκά (64.4%), τα 63 αρσενικά (30.7%) και 10 αδιευκρίνιστου φύλου (4.9%). Το μήκος των ατόμων κυμάνθηκε από 3 (αδιευκρίνιστου φύλου) έως 12 cm (θηλυκό άτομο) ενώ το βάρος από 0.5 έως 38.2 gr. Η τιμή του συντελεστή b της σχέσης μήκους-βάρους δεν διέφερε στατιστικά ανάμεσα στα δύο ποτάμια ($F_{1,436}=0.437$, $P>0.005$). Στον Καλαμά η τιμή του b ήταν 3.19 (95% CI 3.15-3.25) και στον Λούρο 3.17 (95% CI 3.13-3.21) γεγονός που υποδηλώνει θετική αλλομετρική αύξηση του είδους στα υπό μελέτη οικοσυστήματα.

**POPULATION STRUCTURE OF THE ENDEMIC FISH SPECIES
TELESTES PLEUROBIPUNCTATUS (STEPHANIDIS, 1939) IN
KALAMAS AND LOUROS RIVER: PRELIMINARY RESULTS**

Souli Konstantina, Liouisia Varvara & Ioannis D. Leonardos

*Laboratory of Zoology, Biological Applications and Technology Dept., University of
Ioannina, 45110 Ioannina*

Telestes pleurobipunctatus (Stephanidis, 1939) is a species of ray-finned fish in the Cyprinidae family. It is endemic fish of Western Greece. Its natural habitats are rivers and it is classified as Least Concern (LC) according to the IUCN red list. The aim of the present study was to explore the population structure of *Telestes pleurobipunctatus* in two major rivers of Western Greece, Kalamas and Louros. Samples were collected using an electrofishing device in Kalamas and Louros in the years 2007 and 2009 respectively. They were preserved in neutralized formalin solution 4%. The sex was determined by examination of the gonad macroscopically. Standard length (SL) and total body weight were measured to the nearest 0.1 cm and 0.01 gr respectively. In Kalamas River 233 specimens were collected. Of the captured specimens, 73 were females (31.3%), 126 were males (54.5%) and 33 unidentified (14.2%). The observed length of the population ranged from 2.6 (male) to 10.8 cm (female), while the weight ranged from 0.4-27.1 gr. In Louros River the sex ratio was quite opposite. The population consisted of 205 specimens, of which 132 were females (64.4%), 63 were males (30.7%) and 10 unidentified (4.9%). The observed length of the population ranged from 3 (unsexed) to 12 cm (female), while the weight ranged from 0.5-38.2 gr. The value of the exponent b did not differ significantly among the two rivers ($F_{1,436}=0.437$, $P>0.005$). In Kalamas river the value of the exponent b was 3.19 (95% CI 3.15-3.25) and in Louros river 3.17 (95% CI 3.135-3.21) displaying a positive allometric growth.

**ΜΕΛΕΤΗ *IN VITRO* ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙ-
ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΒΟΣΤΡΥΧΟ
ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΜΠΕΛΟΥ
(*VITIS VINIFERA*)**

**Δ. Στάγκος¹, Α. Ματάκος¹, Ε. Κερμελιώτου¹, Α. Αποστόλου², Σ. Χαρουτουνιάν², Δ.
Κουρέτας¹**

¹Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26 &
Αιόλου, Λάρισα 41221

²Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 11855

Η άμπελος (*Vitis vinifera*) είναι ένα από τα φυτά του οποίου ο καρπός (τα σταφύλια) και το κύριο προϊόν του (το κρασί) παρουσιάζουν σημαντικές βιολογικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, μελέτες έχουν δείξει ότι εκχυλίσματα αμπέλου έχουν αντικαρκινική δράση. Όμως, οι περισσότερες μελέτες έχουν γίνει σε εκχυλίσματα από γίγαρτα. Ωστόσο, δεν έχουν μελετηθεί καθόλου εκχυλίσματα από τους βόστρυχους της αμπέλου παρά το γεγονός ότι πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει την ύπαρξη σε αυτούς βιοδραστικών φυτοχημικών συστατικών. Έτσι στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση εκχυλίσματος από βόστρυχους της ποικιλίας Ασσύρτικο Σαντορίνης στην ανάπτυξη ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του ήπατος (HepG2) καθώς και η πιθανή αντι-αγγειογενετική δράση του εκχυλίσματος σε ενδοθηλιακά κύτταρα (EAhy926) με τη μέθοδο 'Tube formation assay'. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το εκχύλισμα βόστρυχου μπορούσε να αναστείλει την αύξηση των καρκινικών ηπατοκυττάρων με IC50 ίσο με 80 μg/ml. Επιπλέον, το εκχύλισμα επάγει την απόπτωση των καρκινικών ηπατικών κυττάρων σε συγκέντρωση 100 μg/ml κατά περίπου 270%, η οποία οφειλόταν σε ενεργοποίηση των κασπασών. Επιπλέον, εξετάστηκε και η δράση φυτικών πολυφαινόλων που περιείχονταν στο εκχύλισμα. Από τις εξεταζόμενες πολυφαινόλες η κερκετίνη και η trans-ρεσβερατρόλη σε συγκέντρωση του 1μM ανέστειλαν την κυτταρική αύξηση κατά 73% και η 70% αντίστοιχα. Τέλος, στο 'Tube formation assay' το εκχύλισμα ανέστειλε τον σχηματισμό σωληνίσκων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε συγκεντρώσεις 50 και 100 μg/ml κατά 60% και 90% αντίστοιχα γεγονός που δείχνει ότι διαθέτει αντι-αγγειογενετική δράση. Άρα, τα αποτελέσματα δείχνουν για πρώτη φορά ότι εκχυλίσματα από βόστρυχο έχουν σημαντικές χημειοπροστατευτικές ιδιότητες και συνεπώς παρουσιάζει ενδιαφέρον η περαιτέρω μελέτη και αξιοποίησή τους.

**IN VITRO STUDY OF CHEMOPREVENTIVE AND ANTI-
ANGIOGENIC ACTIVITY OF STEM EXTRACT FROM GREEK
GRAPE VARIETY (*VITIS VINIFERA*)**

**D. Stagos¹, A. Matakos¹, E. Kermeliotou¹, A. Apostolou², S. Haroutounian², D.
Kouretas¹**

¹Department of Biochemistry & Biotechnology, Ploutonos 26 & Aioulou, Larissa 41221

²Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, Athens 11855

Grape vine (*Vitis vinifera*) is one of the plants whose fruit (grapes) and its main product (wine) exhibit important biological properties. For example, a number of studies have shown that grape extracts possess anti-carcinogenic activity. Most of these studies have been carried out in grape seed extracts. However, grape stem extracts have not been studied so far, although recent studies have shown that they contain bioactive phytochemical compounds. Thus, in the present study, it was examined the effects of stem extract from the Assyrtiko Santorini grape variety on the growth of human hepatocarcinogenic cells (HepG2) as well as its potential anti-angiogenic activity in human endothelial cells (EAhy926) using the 'Tube formation assay'. The results showed that the grape stem extract inhibited the growth of cancer cells with IC50 value equal to 80 µg/ml. Moreover, the extract induced apoptosis in cancer liver cells at a concentration of 100 µg/ml by about 270%, which was due to the caspases activation. In addition, it was examined the effects of plant polyphenols found in the extract on the growth of HepG2 cells. From the tested plant polyphenols, quercetin and trans-resveratrol inhibited cell growth at a concentration of 1 µM by 73% and 70% respectively. Finally, in the 'Tube formation assay', the extract inhibited tube formation by human endothelial cells at concentrations of 50 and 100 µg/ml by 60% and 90% respectively indicating a potential anti-angiogenic activity. Consequently, the present results showed for the first time that extracts from grape stem have important chemopreventive properties and so it is worthwhile their further study and exploitation.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΟΞΙΑΣ (*Fagus sylvatica* L.) ΣΤΟ ΟΡΟΣ ΜΕΝΟΙΚΙΟ

Σταμέλλου, Σ.¹, Τσιριπιδής, Ι.¹, Παπαγεωργίου, Α.², Δρούζας, Α.¹

¹ Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ. 104, 54124, Θεσσαλονίκη,
e-mail: sstamell@bio.auth.gr, tsiripid@bio.auth.gr, drouzas@bio.auth.gr

² Εργαστήριο Δασικής Γενετικής, Τμήμα Δασολογίας και Διαχείρισης Περιβάλλοντος και
Φυσικών Πόρων, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68200, Ορεστιάδα,
e-mail: apapage@fmenr.duth.gr

Η οξιά (*Fagus sylvatica* L.) είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα και σημαντικά δασικά είδη της Ευρώπης, τόσο από οικολογική, όσο και από οικονομική άποψη. Στην Ελλάδα, παρότι βρίσκεται στα νοτιότερα όρια εξάπλωσής της στην Ευρώπη, απαντάται σε ένα μεγάλο εύρος οικολογικών συνθηκών και εμφανίζει αξιοσημείωτη γενετική ποικιλότητα, σε αντίθεση με τη μικρή ποικιλότητα που εμφανίζει στην κεντρική Ευρώπη. Οι ελληνικοί πληθυσμοί αποτελούν ιδανικό υλικό για τη χρήση μοριακών δεικτών στη μελέτη της μεταπαγετώδους εξάπλωσης της οξιάς, γιατί σύμφωνα με προηγούμενες έρευνες έχει προταθεί η παρουσία καταφυγίων στη Βαλκανική χερσόνησο και στην Ελλάδα, καθώς και η ύπαρξη διαφορετικών μεταναστευτικών πορειών στην τελευταία. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η μοριακή ποικιλότητα των δασών οξιάς σε τοπικό επίπεδο, στο όρος Μενοίκιο (βόρειο-ανατολική Ελλάδα). Για το σκοπό αυτό, συλλέχθηκαν δείγματα από 180 δένδρα οξιάς (συνολικά 60 πληθυσμοί), που καλύπτουν την εξάπλωση του είδους στο όρος Μενοίκιο, και αναλύθηκε η γενετική ποικιλότητα με τη χρήση μοριακών δεικτών SSR του χλωροπλαστικού DNA. Οι 26 από τους 60 πληθυσμούς ήταν πολυμορφικοί και παρατηρήθηκε ότι υψηλό ποσοστό της συνολικής γενετικής ποικιλότητας οφείλεται σε διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών ($G_{st} = 0,57$). Επιπλέον, βρέθηκαν συνολικά οχτώ απλότυποι, από τους οποίους ένας καταγράφεται για πρώτη φορά στον ελληνικό χώρο. Τα παραπάνω αποτελέσματα αποτελούν ένδειξη παρουσίας μικροκαταφυγίου στο όρος Μενοίκιο, χωρίς να αποκλείεται το ενδεχόμενο το όρος αυτό να αποτελεί περιοχή συνάντησης διαφορετικών μεταναστευτικών πορειών της οξιάς.

MOLECULAR DIVERSITY OF EUROPEAN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) ON MT. MENOIKIO (GREECE)

Stamellou, S.¹, Tsiripidis, I.¹, Papageorgiou, A.², Drouzas, A.¹

¹ Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki,

e-mail: ssamell@bio.auth.gr, tsiripid@bio.auth.gr, drouzas@bio.auth.gr

² Forest Genetics Laboratory, Department of Forestry and Management of the
Environment and Natural Resources, Democritus University of Thrace, 68200,
Orestiada, e-mail: apapage@fmenr.duth.gr

European beech (*Fagus sylvatica* L.) is one of the most widespread and important forest species in Europe, both from an ecological and an economic aspect. In Greece, one of the southern limits of *Fagus* distribution in Europe, beech forests are found in a wide range of habitats and they exhibit a remarkable genetic diversity, in contrast to the beech forests of central Europe. Greek populations provide an excellent material to study the postglacial recolonization of beech with the use of molecular markers, since previous studies have proposed the existence of beech refugia in the Balkan peninsula and in Greece as well as different recolonization routes in Greece. The present work aims at studying the molecular diversity of beech forests at a local scale, on Mt. Menoikio (north-eastern Greece). Samples from 180 beech trees (60 populations in total), covering the entire range of the species in the study area, were collected, and the genetic diversity was estimated with the use of SSR markers of chloroplast DNA. The 26 out of the 60 populations were polymorphic and the genetic differentiation among them was high ($G_{st} = 0,57$). Furthermore, in total, eight haplotypes were found, one of which is recorded for the first time in Greece. The above results indicate the presence of a beech microrefugium in the study area, while the possibility that Mt. Menoikio is a region where different recolonization routes of beech met, can not be excluded.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ Pea ΚΑΙ Elk ΣΤΟΝ ΑΧΙΝΟ *Paracentrotus lividus*

Ανδριάνα Σταμοπούλου, Λαμπρινή Καλαμπόκη* και Κωνσταντίνος Ν. Φλυτζάνης.
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο 26504

Οι μεταγραφικοί παράγοντες Pea και Elk ανήκουν στην οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων Ets, οι οποίοι απαντώνται σε όλα τα μετάζωα και προσδένονται στο στοιχείο απόκρισης GGAA/T. Πρόσφατες μελέτες του εργαστηρίου μας ανέδειξαν ένα Ets στοιχείο απόκρισης στη ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου *Coup-TF* του αχινού *P. lividus*. Οι Coup-TFs είναι συντηρημένοι μεταγραφικοί παράγοντες οι οποίοι απαντώνται από την Ύδρα μέχρι τα ανώτερα θηλαστικά και τον άνθρωπο και συμβάλλουν στην οργανογένεση και την νευρογένεση. Μετάλλαξη του Ets στοιχείου απόκρισης της ρυθμιστικής περιοχής του γονιδίου *Coup-TF*, προκαλεί αλλαγή στο πρότυπο έκφρασης του γονιδίου αναφοράς *GFP* σε διαγονιδιακά έμβρυα αχινού. Συγκεκριμένα, η έκφραση στο στοματικό εξώδερμα του πλουτέα (όπου εκφράζεται το ενδογενές γονίδιο *Coup-TF*) ήταν πολύ μειωμένη. Επομένως, ο μεταγραφικός παράγοντας που προσδένεται στο συγκεκριμένο στοιχείο απόκρισης λειτουργεί ως θετικός ρυθμιστής του γονιδίου *PlCoup-TF*. Από την οικογένεια των Ets μεταγραφικών παραγόντων μελετήσαμε τους παράγοντες Pea και Elk, διότι εκφράζονται στο στοματικό εξώδερμα του πλουτέα στο συγγενικό είδος *Strongylocentrotus purpuratus*. Απομονώσαμε τα cDNAs *PIPea* και *PIElk* με RT-PCR από ολικό εμβρυϊκό RNA πλουτέα, και τα κλωνοποιήσαμε στον φορέα pGEM T-Easy. Η αλληλούχιση των κλώνων έδειξε ότι περιέχουν ολόκληρη την κωδική περιοχή των αντίστοιχων γονιδίων. Το αναπτυξιακό πρότυπο της έκφρασης των ενδογενών γονιδίων σε έξι αναπτυξιακά στάδια (από ωάριο μέχρι πλουτέα) πραγματοποιήθηκε με RT-PCR, *in situ* υβριδοποίηση και q-PCR. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι τα γονίδια *PIPea* και *PIElk* εκφράζονται σε συγκεκριμένες κυτταρικές στοιβάδες του εμβρύου σε όλα τα εμβρυϊκά στάδια, σε διαφορετικές ωστόσο ποσότητες και αναλογίες. Πραγματοποιήθηκε η παραγωγή των δύο αντίστοιχων πρωτεϊνών *in vitro* και μελετάται η πρόσδεσή τους στο στοιχείο απόκρισης της ρυθμιστικής περιοχής του *PlCoup-TF* με πειράματα EMSA.

*Η Λαμπρινή Καλαμπόκη είναι υπότροφος του Ιδρύματος 'Αλέξανδρος Σ. Ωνάσης'

STUDY OF THE TRANSCRIPTION FACTORS Pea AND Elk IN THE SEA URCHIN *Paracentrotus lividus*

Andriana Stamopoulou, Lamprini Kalampoki*, and Constantin N. Flytzanis

Department of Biology, University of Patras, University Campus, Rio 26504

The transcription factors Pea and Elk belong to the Ets family of transcription factors, members of which exist in all metazoan and bind to the GGAA/T response element. A similar response element was found in the upstream regulatory region of the *PlCoup-TF* gene. Coup-TFs are conserved transcription factors among metazoans, from Hydra to humans, and play an important role in organogenesis and neurogenesis. Recent studies from our laboratory have shown that a mutation of this response element affects the embryonic expression pattern of the reporter *GFP* gene in transgenic sea urchin embryos. Specifically, the mutation results in a reduced expression in the oral ectoderm of the pluteus (the cell lineage where the endogenous *PlCoup-TF* gene is expressed). Therefore, the transcription factor that binds this response element acts as a positive regulator of the gene. Of the Ets family, we studied the transcription factors Pea and Elk, which are expressed specifically in the oral ectoderm at the pluteus stage of the related sea urchin species *Strongylocentrotus purpuratus*. Using RT-PCR and total pluteus RNA we isolated and cloned the corresponding cDNAs in the plasmid vector pGEM T-Easy. Sequencing of selected clones showed that they contain the entire coding sequence of *PIPea* and *PIElk* respectively. The developmental expression pattern of the two genes was analyzed at six embryonic stages (egg through pluteus), using RT-PCR, *in situ* hybridization and real time qPCR. Our results indicate that the two genes, *PIPea* and *PIElk*, are expressed in specific embryonic territories at all embryonic stages, in different however quantities and relative ratios. The two proteins were produced by *in vitro* transcription and translation and are currently tested for *in vitro* DNA binding, using the Ets upstream response element and EMSAs.

*Lamprini Kalampoki is a fellow of the 'Alexander S. Onassis' foundation

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΟΣΤΑΤΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ mRNA
ΙΣΟΜΟΡΦΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΚΡΕΪΝΗΣ *KLK11* ΣΕ
ΙΣΤΟΥΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΣΤΟΥ**

*Παναγιώτα Στεφανοπούλου¹, Κλείτα Μιχαηλίδου¹, Αλέξανδρος Τζοβάρας²,
Αλέξανδρος Αρδαβάνης² και Ανδρέας Σκορίλας¹.*

*¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα.*

²Α΄ Ογκολογικό-Παθολογικό Τμήμα, Νοσοκομείο "Ο Άγιος Σάββας", Αθήνα.

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τη συχνότερη νεοπλασία στο γυναικείο πληθυσμό. Οι καλλικρεΐνες (*KLKs*) συνιστούν μια από τις μεγαλύτερες οικογένειες πρωτεασών στον άνθρωπο. Το γονίδιο *KLK11* αποτελεί νέο μέλος της οικογένειας των *KLKs*. Η καλλικρεΐνη-3, το γνωστό PSA, που αποτελεί τον πλέον αποδεκτό μοριακό δείκτη στον καρκίνο του προστάτη, διαθέτει επίσης προγνωστική αξία και στον καρκίνο του μαστού.

Σκοπός: Η μελέτη της έκφρασης, σε επίπεδο mRNA, της προστατικού τύπου ισομορφής του γονιδίου *KLK11* στον καρκίνο του μαστού.

Υλικά και μέθοδοι: Αρχικά, συλλέχθηκαν 60 δείγματα ιστών μαστού: 30 καρκινικά, καθώς και τα αντίστοιχα 30 από παρακείμενο φυσιολογικό ιστό του ίδιου ασθενή από το Α΄ Ογκολογικό-Παθολογικό Τμήμα του Νοσοκομείου «Ο Άγιος Σάββας». Απομονώθηκε ολικό RNA, και μετά τον έλεγχο της ποιότητας και της ποσότητάς του, παρασκευάστηκε cDNA με τη μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφής. Η μελέτη έκφρασης της προστατικού τύπου ισομορφής του γονιδίου *KLK11* έγινε με ανάλυση προϊόντων PCR σε πηκτή αγαρόζης και πυκνομέτρηση. Το *HPRT1* χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς για την κανονικοποίηση των αποτελεσμάτων.

Αποτελέσματα-Συμπεράσματα: Η προστατικού τύπου mRNA ισομορφή του γονιδίου *KLK11* εκφράζεται στις καρκινικές κυτταρικές σειρές μαστού BT474 και MCF7. Επιπρόσθετα, το συγκεκριμένο μετάγραφο εκφράζεται σε διαφορετικά επίπεδα σε καρκινικούς ιστούς και σε παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς ασθενών με καρκίνο του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, σε ένα στατιστικά σημαντικό ποσοστό ιστών η έκφρασή του παρατηρήθηκε να είναι μειωμένη στο καρκινικό μέρος σε σχέση με το υγιές ($p=0.028$). Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν την πιθανή συμμετοχή της έκφρασης του γονιδίου *KLK11* στην εξέλιξη του καρκίνου του μαστού και, ενδεχομένως, την κλινική του αξία ως μοριακού δείκτη.

Ευχαριστίες: Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα "Καποδίστριας" του Ειδικού Λογαριασμού Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών.

EXPRESSION ANALYSIS OF THE PROSTATE TYPE mRNA ISOFORM OF THE KALLIKREIN-RELATED PEPTIDASE GENE *KLK11* IN BREAST TISSUES

Panagiota Stefanopoulou¹, Kleita Michaelidou¹, Alexandros Tzovaras², Alexandros Ardavanis² and Andreas Scorilas¹

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis, Athens, Greece

²First Department of Medical Oncology, "Saint Savvas", Anticancer Hospital, Athens

Breast cancer is the most prevalent malignancy among women. Kallikrein-related peptidases comprise the largest contiguous family of serine proteases in the human genome. *KLK11* gene is a newly discovered member of the *KLK* family. *KLK3*, broadly known as PSA is regarded as the most valuable tumor biomarker for prostate cancer; however it has also been found to exhibit significant prognostic potential for breast cancer.

Purpose: The expression analysis, at the mRNA level, of the prostate type mRNA isoform of *KLK11* gene in breast tumors and corresponding healthy specimens as well as in human breast cancer cell lines.

Materials and methods: 60 normal matched breast tumor tissues were collected from the First Department of Medical Oncology, at "Saint Savvas", Anticancer Hospital. Total RNA was extracted, and after quality and quantity control, cDNA was synthesized using the reverse transcription method. The study of the expression levels of *KLK11* prostate type mRNA isoform was made via analysis of the PCR products in agarose gel. *HPRT1* gene was used as a housekeeping gene for normalization.

Results: Expression of the prostate type isoform of the *KLK11* gene was observed in the breast cancer cell lines BT474 and MCF7. Additionally, expression of the aforementioned *KLK11* mRNA transcript was detected at different levels in breast cancer tissues and in normal counterparts. More precisely, the expression levels of *KLK11* prostate type mRNA isoform were found to be reduced in the cancer compared to healthy tissue part. This difference was statistically significant ($p=0.028$). These results suggest the potential implication of *KLK11* gene expression in breast cancer and its putative clinical value as a biomarker.

Acknowledgements: This work was supported through the research grant "KAPODISTRIAS" of the University of Athens.

Η ΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ ΠΕΛΑΓΙΚΩΝ CTENOPHORA ΚΑΙ ΤΩΝ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ECHIUURA ΚΑΙ Η ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΕΚΕΙΝΕΣ ΤΩΝ ΓΕΙΤΟΝΙΚΩΝ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ

Στεφανούδης Πάρις-Βασίλειος, Θεόδωρος Τζώμος & Αθανάσιος Κούκουρας
Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541
24, Θεσσαλονίκη

Μετά από λεπτομερή ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας, δημιουργήθηκαν ελεγμένοι κατάλογοι των πελαγικών Ctenophora και των βενθικών Echiuura που είναι γνωστά μέχρι σήμερα από το Αιγαίο, αλλά και από τις υπόλοιπες γεωγραφικές περιοχές της Μεσογείου και τη Μαύρη Θάλασσα. Όλα τα είδη που έχουν καταγραφεί, καταχωρήθηκαν σε μία βάση δεδομένων μαζί με τη σχετική πρώτη βιβλιογραφική αναφορά από την κάθε γεωγραφική περιοχή ξεχωριστά. Η βάση δεδομένων ονομάζεται “Ελληνική Βιοποικιλότητα” και είναι προσβάσιμη στη διαδικτυακή διεύθυνση <http://greekbiodiversity.web.auth.gr/>.

Όσον αφορά τα κτενοφόρα, σε ολόκληρη τη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα βρέθηκαν 38 είδη. Το μεγαλύτερο ποσοστό βρέθηκε στη Δυτική Μεσόγειο με 37 είδη (97,36%) και ακολουθούν: η Αδριατική Θάλασσα με 16 είδη (42,11%), η Μαύρη Θάλασσα με 9 είδη (23,68%), το Αιγαίο Πέλαγος και η Κεντρική Μεσόγειος με 4 είδη (10,53%) και η Θάλασσα του Λεβάντε με 1 είδος (2,63%). Η φτωχή πανίδα των Ctenophora του Αιγαίου είναι αποτέλεσμα κυρίως της μικρής δειγματοληπτικής προσπάθειας που έχει γίνει στην περιοχή για το συγκεκριμένο ταξινόμημα. Επομένως, οι οποιεσδήποτε συγκρίσεις έχουν περιορισμένη αξία για την εκτίμηση των χωρικών διαβαθμίσεων της βιοποικιλότητας του ταξινομήματος αυτού.

Όσον αφορά τα εχιούρα, σε ολόκληρη τη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα βρέθηκαν 11 είδη. Στη Δυτική Μεσόγειο βρέθηκαν και τα 11 είδη (100%) και ακολουθούν: η Αδριατική Θάλασσα με 5 είδη (45,45%), το Αιγαίο Πέλαγος με 3 είδη (27,27%), η Κεντρική Μεσόγειος και η Θάλασσα του Λεβάντε με 2 είδη (18,18%) και τέλος η Μαύρη Θάλασσα στην οποία δεν βρέθηκε κανένα εχιούρο. Ο μικρός αριθμός ειδών εχιούρων του Αιγαίου θα πρέπει να αποδοθεί κυρίως στον αντίστοιχο μικρό αριθμό ειδών που απαρτίζουν ολόκληρο το ταξινόμημα.

THE PELAGIC CTENOPHORA AND BENTHIC ECHIURA FAUNA OF THE AEGEAN AND COMPARISON WITH THOSE OF THE NEIGHBOURING GEORGRAPHICAL AREAS

Stefanoudis Paris-Vasileios, Theodoros Tzomos & Athanasios Koukouras

*Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of Thessaloniki, 541
24, Thessaloniki.*

After a detailed review of the relevant literature, a checklist of the pelagic ctenophore and benthic echiuran species known to date from the Aegean Sea and the other regions of the Mediterranean and the Black Sea was created. Every species that has been recorded was registered in a database along with the relevant publication reporting it for the first time from every geographical area separately. The database is called “Greek Biodiversity” and is available in the following internet address: <http://greekbiodiversity.web.auth.gr/>.

Regarding ctenophores, a total of 38 species was found in the Mediterranean and the Black Sea. 37 species (97.36%) were recorded from the Western Mediterranean, 16 species (42.11%) from the Adriatic Sea, 9 species (23.68%) from the Black Sea, 4 species (10.53%) from the Aegean Sea and the Central Mediterranean respectively and 1 species (2.63%) from the Levantine Basin. The poor ctenophore fauna of Aegean Sea should mainly be attributed to the reduced intensity of the sampling effort for the certain taxon. Therefore, the above comparisons have limited value in assessing the spatial gradients of the biodiversity of this taxon.

Concerning echiurans, a total of 11 species was found in the Mediterranean and the Black Sea. The Western Mediterranean hosts the highest species number (100%), while 5 species (45.45%) were recorded from the Adriatic Sea, 3 species (27.27%) from the Aegean Sea and 2 species (18.18%) from both the Central Mediterranean and the Levantine Basin. Black Sea lacks of echiuran species. The reduced number of echiuran species in the Aegean Sea should be attributed to the small species number that consists the whole taxon.

ΔΙΑΤΡΟΦΗ, ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΙΧΘΥΟΣ *Boops boops* L. ΣΤΟ ΝΗΣΙΩΤΙΚΟ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ ΤΩΝ ΚΥΚΛΑΔΩΝ

Συμεών Ε., Μεγαλοφώνου Π.

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας-Θαλάσσιας Βιολογίας,
Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784, Ελλάδα

Για την μελέτη της διατροφής, της ηλικίας και της αύξησης της γόπας, *Boops boops* L., έγιναν δειγματοληψίες στα αλιεύματα μηχανότρατας από το νησιωτικό σύμπλεγμα των Κυκλάδων κατά τα έτη 2009 και 2010.

Σε ένα σύνολο 492 ατόμων, ολικού μήκους 71-248 mm, εξετάστηκαν τα στομαχικά περιεχόμενα και αναγνωρίστηκαν 28 τροφικές ομάδες. Οι μετρήσεις της ποιοτικής και ποσοτικής ανάλυσης, χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των τροφικών δεικτών οι οποίοι αφορούν στην πληρότητα των στομάχων (SF=3.74), το ποσοστό κενότητας (V=32%), το ποσοστό συχνότητας εμφάνισης (%F) και την σχετική και ειδική αφθονία (%A και % P αντίστοιχα) της κάθε τροφικής ομάδας, όχι μόνο για το σύνολο των ατόμων αλλά και ανάλογα με το φύλο και την κλάση μεγέθους στην οποία ανήκουν. Οι κύριες τροφικές ομάδες που εντοπίστηκαν με την χρήση των δεικτών είναι προνύμφες Καρκινοειδών (%F=66.13, %A=32.63, %P=34.3), Καλανοειδή Κωπήποδα (%F=41.53, %A=7.97, %P=12.71), Αμφίποδα (%F=41.13, %A=2.7, %P=4.01), Μυσιδώδη (%F=30.65, %A=5.86, %P=12.21), Πολύχαιτοι (%F=28.84, %A=5.61, %P=15.59), Υδρόζωα (%F=26.8, %A=1.01, %P=3.46), Κωπήποδα της οικογένειας Coryceidae (%F=26.21, %A=8.17, %P=16.92), Χαιτόγναθα (%F=25.4, %A=15.07, %P=2.21), προνύμφες Γαστερόποδων (%F=24.6, %A=1.01, %P=2.21) και *Lucifer* sp. (%F=15.73, %A=4.14, %P=14.56). Με την βοήθεια γραφικών μεθόδων αποδείχθηκε ότι η γόπα παρουσιάζει γενικευμένη στρατηγική διατροφής, με πολλές τροφικές ομάδες να είναι σημαντικές και με ευρύ πεδίο θήρευσης, αποτέλεσμα που αντικατοπτρίζει την συμπεριφορά και των δύο φύλων. Ωστόσο, ο υπολογισμός του δείκτη Pianca's ($a=0.33$) έδειξε ότι υπάρχει διαφοροποίηση στην επιλογή των τροφικών ομάδων μεταξύ θηλυκών και αρσενικών ατόμων. Με βάση το μέσο βάρος των στομαχικών περιεχομένων, έγινε βαθμονόμηση των τροφικών ομάδων και βρέθηκε η σχετική επικράτησή τους στην διαίτα της γόπας. Επίσης, η χρήση του δείκτη TROPH (TROPH=3.3) ανέδειξε το τροφικό επίπεδο του είδους στον οικολογικό θώκο της περιοχής.

Η εκτίμηση της ηλικίας των 492 ατόμων επιτεύχθηκε με την ανάγνωση των ετήσιων δακτυλίων σε ολόκληρους ωτόλιθους, οι οποίοι είχαν εμποτιστεί σε διάλυμα γλυκερόλης. Στο δείγμα υπήρχαν άτομα ηλικίας από 0⁺ έως 9⁺ ετών. Για την επιβεβαίωση της εγκυρότητας της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε υπολογίστηκε η μηνιαία διακύμανση του περιθωρίου των ωτολίων. Για την εκτίμηση της αύξησης του είδους υπολογίστηκαν οι παράμετροι von Bertalanffy. Επίσης, υπολογίστηκαν η σχέση μήκους-βάρους και ο δείκτης ευρωστίας ανά εποχή, φύλο και ηλικιακή ομάδα.

Ευχαριστούμε τον κ. Αρκουμάνη Παναγιώτη για την χορήγηση των δειγμάτων και τον ΕΛΚΕ για τη χρηματοδότηση αναλωσίμων.

DIET, AGE AND GROWTH OF *Boops boops* L. IN THE CYCLADES ISLAND GROUP

Simeon E., Megalophonou P.

University of Athens, Department of Biology, Section of Zoology-Marine Biology,
Panepistimioupoli, Athens 15784, Greece

For the study of the diet, age and growth of the bogue, *Boops boops* L., samples were collected from the trawl fishery from the Cyclades island group during the years 2009 and 2010.

The stomach contents of 492 specimens, ranging from 71 to 248 mm in total length, were analysed and 48 trophic categories were recognised. The results from the qualitative and quantitative analysis were used for the calculation of trophic indexes, which comprise the fullness of the stomachs (SF=3.74), the vacuity percentage (V=32%), the percentage occurrence (%F), the percentage abundance and the prey-specific abundance (%A and %P respectively), not only for the total sample, but as well as, by sex and size group. The main trophic categories that were appointed using the trophic indexes were the Crustacean larvae (%F=66.13, %A=32.63, %P=34.3), Calanoids Copepods (%F=41.53, %A=7.97, %P=12.71), Amphipods (%F=41.13, %A=2.7, %P=4.01), Mysidae (%F=30.65, %A=5.86, %P=12.21), Polychaetes (%F=28.84, %A=5.61, %P=15.59), Hydrozoa (%F=26.8, %A=1.01, %P=3.46), Copepods of the Coryceidae family (%F=26.21, %A=8.17, %P=16.92), Chaetognaths (%F=25.4, %A=15.07, %P=44.28), Gastropods larvae (%F=24.6, %A=1.01, %P=2.21), *Lucifer* sp. (%F=15.73, %A=4.14, %P=14.56). With the assistance of graphical methods it was indicated that both males and females exhibits a generalized feeding strategy, with many trophic categories of high importance and with a high niche width. However, differential choices in trophic categories between males and females were revealed calculating Pianca's index ($a=0.33$). According, to the mean weight of the stomach contents, there was also, an attribution of points for each trophic category, so that their relative importance would be estimated for the bogue's diet. Likewise, the evaluation of the TROPH index (TROPH=3.3) is of great importance, so that the trophic level of the species would be pointed to the ecology of the area.

Age determination was achieved by reading annuli rings on whole otoliths of 492 specimens, immersed in glycerol solution. Ages ranged from 0⁺ to 9⁺ years. For the ageing method validation, the monthly variance of the marginal increment was calculated. The von Bertalanffy growth parameters, the length weight relationships and the condition factors by season, sex and age group were estimated.

We thank Mr Arkoumanis Panagiotis for the supply of the samples and ELKE for the funding of consumables (Project Kapodistrias 70/4/7802).

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΩΝ ECP2 ΚΑΙ ECP7 (ENT CONTAINING PROTEINS) ΣΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ *ARABIDOPSIS THALIANA* ΣΕ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΑΛΑΤΟΤΗΤΑΣ

Συμεωνίδου Ανθή, Καλδής Αθανάσιος, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη

Η επικράτεια ENT (EMSY N-Terminal) βρέθηκε πρώτα στο αμινοτελικό άκρο της πρωτεΐνης EMSY του ανθρώπου και σχετίζεται με τη ρύθμιση της χρωματίνης. Η EMSY παίζει ρόλο στην επιδιόρθωση του DNA και ρυθμίζει μέσω της ENT τη μεταγραφική δραστηριότητα του μεταγραφικού παράγοντα BRCA2 (Breast Cancer 2). Ενώ στα θηλαστικά η επικράτεια ENT βρέθηκε μόνο στην EMSY, στο *Arabidopsis thaliana* έχουν βρεθεί 9 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που φέρουν την επικράτεια ENT. Στα φυτά, οι ENT επικράτειες συνοδεύονται σχεδόν πάντα από την επικράτεια AGENET η οποία σχετίζεται επίσης με τις ομοιοπολικές τροποποιήσεις της δομής της χρωματίνης. Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η διερεύνηση του ρόλου των πρωτεϊνών που περιέχουν την επικράτεια ENT, ECP2 και ECP7 στην αύξηση της ρίζας του *Arabidopsis thaliana* σε καταπόνηση αλατότητας. Χρησιμοποιήθηκαν μη λειτουργικά μεταλλάγματα των γονιδίων *ECP2* (*ecp2-1*, *ecp2-2*) και *ECP7* (*ecp7-1*) καθώς και τα διπλά μεταλλάγματα *ecp2-1;ecp7-1* και *ecp2-2;ecp7-1* σε διάφορες συγκεντρώσεις NaCl. Μετρήθηκε η αύξηση της ρίζας των *ecp* μεταλλαγμάτων σε σχέση με τον άγριο τύπο. Απουσία αλατότητας, τα απλά μεταλλάγματα εμφανίζουν ελαφριά μείωση στην αύξηση της ρίζας σε σχέση με τον άγριο τύπο. Αντίθετα τα διπλά μεταλλάγματα εμφανίζουν μεγαλύτερη αύξηση της ρίζας σε σχέση με τον άγριο τύπο. Σε υψηλές συγκεντρώσεις NaCl τα διπλά μεταλλάγματα εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία, ενώ τα απλά μεταλλάγματα δείχνουν μικρή ανθεκτικότητα σε σχέση με τον άγριο τύπο. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι πρωτεΐνες ECP2 και ECP7 δρουν μαζί ως θετικοί ρυθμιστές της αύξησης της ρίζας σε καταπόνηση αλατότητας.

**THE EFFECT OF TRANSCRIPTIONAL ADAPTORS ECP2 AND ECP7
(ENT CONTAINING PROTEINS) IN ROOT GROWTH OF
ARABIDOPSIS THALIANA UNDER SALT STRESS**

Symeonidou Anthi, Kaldis Athanasios, Vlachonasios Konstantinos

*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of
Thessaloniki, 54124, Thessaloniki*

The ENT (EMSY N-Terminal) domain was found first in the amino terminus of the human protein EMSY and is related to chromatin regulation. EMSY plays a role in DNA repair and regulates through ENT domain the activity of transcription factor BRCA2 (Breast Cancer 2). While in mammals, the ENT domain was found only in the EMSY, in *Arabidopsis thaliana* have been found that 9 genes encode proteins that bear ENT domain. In plants, the ENT domains almost always are accompanied by AGENET domain which is also related to the covalent modifications of chromatin structure. The purpose of this study was to investigate the role of proteins containing the ENT domain, ECP2 and ECP7 in root growth of *Arabidopsis thaliana* under salt stress. We used single loss-of-function mutants of ECP2 (*ecp2-1*, *ecp2-2*) and ECP7 (*ecp7-1*) genes and the double mutants *ecp2-1;ecp7-1* and *ecp2-2;ecp7-1* at various concentrations of NaCl. The root growth of *ecp* mutants was measured in comparison to wild type plants. In the absence of salinity, the single mutants displayed a slightly reduced root growth compared with wild type plants. In contrast, the double mutants showed increased root growth than the wild type. At high concentrations of salinity double mutants were hypersensitivity, while the single mutants displayed a moderate resistance in comparison to wild type. These results indicate that ECP2 and ECP7 proteins act together as positive regulators of root growth under salt stress.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΔΥΟ
ΥΠΕΡΟΞΕΙΡΕΔΟΞΙΝΩΝ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΑ *RHAGOLETIS CERASI* ΚΑΙ
*CERATITIS CAPITATA***

Βάλια Ταμπακοπούλου¹, Νίκος Παπαδόπουλος² και Κάτια Κομητοπούλου¹

¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,
Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701. ²Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Εργαστήριο Εντομολογίας
και Εφαρμοσμένης Ζωολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού
Περιβάλλοντος, Βόλος

Η οικογένεια των πρωτεϊνών που παρουσιάζουν θειο-εξαρτώμενη ενεργότητα υπεροξειδάσης, αναφέρονται ως υπεροξειρεδοξίνες (Prx) και έχουν προσδιοριστεί σε πολλούς προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Οι Prx πρωτεΐνες παρέχουν προστασία έναντι στις οξειδωτικές βλάβες που προκαλούν οι δραστικές ελεύθερες ρίζες (ROS) που απελευθερώνονται στα κύτταρα κατά τον μεταβολισμό. Σε αυτή τη μελέτη προσδιορίστηκαν τα ορθόλογα γονίδια της υπεροξειρεδοξίνης 2540 και της υπεροξειδάσης της θειορεδοξίνης της Δροσόφιλας, στα έντομα *Ceratitis capitata* (Ccprx2540 και Cctrx) και *Rhagoletis cerasi* (Rcprx2540 και Rctrx). Ο Ccprx2540 cDNA κλώνος κωδικοποιεί 221 αμινοξέα και έχει ένα κατάλοιπο κυστεΐνης που είναι χαρακτηριστικό της οικογένειας των υπεροξειρεδοξινών, ενώ ο Cctrx cDNA κλώνος κωδικοποιεί 195 αμινοξέα. Και τα δύο πεπτίδια παρουσιάζουν υψηλή ομολογία με τα ορθόλογα τους της *Drosophila melanogaster*. Ανάλυση της έκφρασης του γονιδίου Ccprx2540 με ημιποσοτική PCR σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια του εντόμου *Ceratitis capitata*, όπως τα έμβρυα, προνύμφες, λευκές νύμφες, καφέ νύμφες και ενήλικα άτομα, έδειξε ίση ποσότητα μεταγράφων σε όλα τα στάδια. Αντίστοιχη ανάλυση της έκφρασης του ορθόλογου γονιδίου Rcprx2540 στο *Rhagoletis cerasi*, σε προνύμφες, διαπauσικές νύμφες, μεταδιαπauσικές νύμφες και ενήλικα άτομα έδειξε επίσης την ισοδύναμη παρουσία των μεταγράφων του γονιδίου σε όλα τα στάδια. Τα cDNA μόρια των γονιδίων Ccprx2540 και Cctrx υποκλωνοποιήθηκαν στον φορέα έκφρασης pRSET και οι ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες θα υπερεκφραστούν στο βακτηριακό στέλεχος BL21 της *Escherichia coli*. Απώτερος σκοπός της μελέτης είναι να εξεταστεί ο προστατευτικός ρόλος των πρωτεϊνών αυτών κατά του οξειδωτικού στρες.

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

ISOLATION AND EXPRESSION OF TWO PEROXIREDOXIN GENES IN THE INSECTS *CERATITIS CAPITATA* AND *RAGOLETIS CERASI*

Valia Tampakopoulou¹, Nikos Papadopoulos² and Katia Komitopoulou¹

¹University of Athens, Faculty of Biology, Department of Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 15701. ² University of Thessaly, Laboratory of Entomology and Applied Zoology Department of Agriculture, Crop Production and Rural Environment, Volos

The family of proteins, exhibiting thiol-dependent peroxidase activity, referred to as peroxiredoxins (Prx), has been identified in a variety of prokaryotic and eukaryotic species. Prx proteins perform a vital physiological role in protection against oxidative damage by intracellularly generated reactive oxygen species (ROS) during metabolism. Purified recombinant proteins were shown to reduce H₂O₂ in the presence of dithiothreitol (DTT) as a thiol donor. In this work, two peroxiredoxin genes were identified in *Ceratitis capitata* (*Ccprx2540*, *Cctrx*) and *Rhagoletis cerasi* (*Rcprx2540*, *Rctrx*), two world-wide pests of commercially important fruits. *Ccprx2540* cDNA clone contains an open reading frame encoding 221 amino acid residues and possesses one cysteine residue that is characteristic of the 1-Cys subgroup of the peroxiredoxin family, while *Cctrx* cDNA contains an open reading frame encoding 195 amino acid residues. Both peptides present high similarity to their counterparts of *Drosophila melanogaster*. Semiquantitative PCR analysis of the *Ccprx2540* expression in various developmental stages of *Ceratitis capitata* such as embryos, larvae, white pupae, brown pupae and adults, revealed its presence in all stages. Similar analysis of the *Rcprx2540* ortholog in *Rhagoletis cerasi* feeding larvae, overwintering pupae in diapause, post-diapausing pupae and adult flies showed constitutive expression of the enzyme. The *Ccprx2540* and *Cctrx* cDNAs were subcloned in the expression vector pRSET and the recombinant proteins will be over-expressed in the bacterial strain BL21 of *Escherichia coli*. Our purpose is to examine the protective role of these proteins against oxidative stress.

This project was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens (70/4/5706 to K.K)

ΠΡΩΤΕΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΜΥΟΣ

Ταρασλιά Β¹, Κουσκούκης Α¹, Αναγνωστόπουλος ΑΚ¹, Βουγάς Κ¹, Παπαδοπούλου Α¹, Μαργαρίτης ΑΧ², Τσάγκαρης ΓΘ¹

¹Ερευνητική Μονάδα Πρωτεωμικής, Τδρμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωράνου Εφέσιου 4. 11527 Αθήνα

²Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15701, Αθήνα

Η πρωτεωμική χρησιμοποιείται ευρέως για τη διερεύνηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου του εγκεφάλου. Με την εφαρμογή αυτής της ανάλυσης έχουν διερευνηθεί εκτεταμένα το πρωτεωμικό περιεχόμενο και σχετικές λειτουργίες του εγκεφάλου σε διάφορα πειραματικά μοντέλα. Στην παρούσα εργασία με μεθόδους πρωτεωμικής αναλύθηκε εις βάθος εγκέφαλος φυσιολογικού μυός. Ενήλικοι μύες 12 εβδομάδων θανατώθηκαν και ο εγκέφαλος χωρίστηκε ανατομικά και απομονώθηκαν τα τμήματα: οσφρητικός λοβός, μεσεγκέφαλος, φλοιός, ιππόκαμπος και προμήκης μυελός. Η ανάλυση των πρωτεϊνών έγινε με ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων. Η πρώτη διάσταση έγινε σε ταινίες ισοηλεκτρικού σημείου 3-10 και 4-7 και η δεύτερη διάσταση σε πήκτωμα ακρυλαμίδης 12% το οποίο βάφτηκε με Κυανού της Κουμασίνης. Οι εικόνες των πηκτωμάτων ανά περιοχή εγκεφάλου επεξεργάστηκαν με χρήση του λογισμικού PD Quest. Όλες οι κηλίδες αποκόπηκαν από τα πηκτώματα με τη χρήση ειδικού μηχανικού ρομπότ και επώαστηκαν με τρυψίνη. Τα παραγόμενα πεπτίδια αναλύθηκαν με MALDI-TOF/MS και η ταυτοποίηση των πρωτεϊνών έγινε με τη χρήση του προγράμματος Mascot. Οι ταυτοποιημένες πρωτεΐνες τοποθετήθηκαν σε έναν ανατομικό χάρτη εγκεφάλου μυός, με τελικό στόχος τη δημιουργία μιας βάσης δεδομένων όπου θα καταχωρηθούν όλες οι πρωτεΐνες που προέκυψαν από την ταυτοποίηση σε σχέση με την ανατομία του.

PROTEOMIC ANALYSIS OF REGIONS OF MOUSE BRAIN

***Taraslia V,¹ Kouskoulis A,¹ Anagnostopoulos AK,¹ Vougas K,¹ Papadopoulou A,¹
Margaritis LH,² Tsangaris GT¹***

*¹Biomedical Research Foundation, Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou, 115 27
Athens*

*²Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens,
Athens 15701, Greece*

Proteomic analysis has been used widely for the identification of protein expression in the brain. By applying this analysis, the protein content and the brain functions have been studied extensively in several models. In the present study normal mouse brain was analyzed using proteomic methods. Adult mice, 12 weeks old, were sacrificed and the brain parts were separated anatomically to the following regions: cortex, olfactory bulb, hippocampus, midbrain and medulla. Protein analysis of these regions was conducted by two dimensional gel electrophoresis. For the first dimension IPG strips of pI 3-10 and 4-7 were used and the second dimension was performed in 12%acrylamide gel, followed by Coomassie Blue stain. PD Quest software was used to analyze the gel images per region. All the spots were excised from the gels using a specific robot and incubated with trypsin. The peptides were processed with MALDI TOF/MS and the protein identification was carried out using the Mascot software. The identified proteins will be placed into a map of brain anatomy of mouse in order to create a database of the mouse brain proteome related to the brain anatomy.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΜΕ ΤΗ ΝΟΣΟ ALZHEIMER

**Μ. Τερζενίδου¹, Κ. Παπαδημητρίου¹, Ν. Σαχίνη¹, Γ. Χατζηγεωργίου², Ζ. Μαμούρης¹
και Α. Ζίφα¹**

¹Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, και ²Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 41221 Λάρισα

Τα μιτοχόνδρια είναι απαραίτητα στην παραγωγή ενέργειας. Μεταλλάξεις στο DNA τους οδηγούν σε ποικίλες παθολογικές καταστάσεις. Σημαντικότερες είναι οι μεταλλάξεις στα γονίδια των tRNA, καθώς μπορούν να επηρεάσουν συνολικά την πρωτεϊνοσύνθεση του μιτοχονδρίου. Όργανα τα οποία εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την οξειδωτική φωσφορυλίωση, όπως το νευρικό σύστημα, είναι πολύ ευαίσθητα σε μεταλλάξεις του mtDNA. Επιπλέον, τα μιτοχόνδρια ρυθμίζουν την απόπτωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) μέσω του μεταπτωτικού πόρου μιτοχονδριακής διαπερατότητας. Ασθένειες που έχουν συνδεθεί με μιτοχονδριακές μεταλλάξεις είναι μεταξύ άλλων νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως Parkinson και Alzheimer.

Στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν τα γονίδια που κωδικοποιούν για tRNAs σε 50 δείγματα ασθενών με Alzheimer και 50 δείγματα υγιών ατόμων. Βρέθηκαν 26 μεταλλάξεις σε 32 από τους ασθενείς: 11 από αυτές βρέθηκαν σε γονίδια tRNA ενώ οι υπόλοιπες 15 εντοπίστηκαν σε παρακείμενες περιοχές. Πιο συγκεκριμένα: 4/50 εμφάνισαν τη μετάλλαξη T12190C στο tRNA^{His} (8%), 3/50 εμφάνισαν τη μετάλλαξη A12308G στο tRNA^{Leu} (6%, OR=0.35), 2/50 εμφάνισαν τις μεταλλάξεις A15924G (OR=1.34), G15928A (OR=0.5) και C15946T στο tRNA^{Thr} (4%), 3/50 εμφάνισαν τη μετάλλαξη G8251A στο γονίδιο COII (6%, OR=2.86), 10/50 εμφάνισαν τη μετάλλαξη A10398G στο γονίδιο ND3 (20%), 3/50 εμφάνισαν τη μετάλλαξη ins568-572 (3C) στο D-loop (6%, OR=1.74), ενώ 5/50 εμφάνισαν τη μετάλλαξη G8292A (10%, OR=7.15) και 2/50 εμφάνισαν τη μετάλλαξη A15954C (4%) σε μη κωδικές περιοχές.

Από το σύνολο των μεταλλάξεων, 5 έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με Alzheimer, 5 ανιχνεύθηκαν για 1^η φορά, ενώ 7 βρέθηκαν και σε υγιή άτομα σε μικρότερο ποσοστό. Κανένας από τους ασθενείς δεν μπορεί να καταταχθεί σε κάποιο απλότυπο, ωστόσο οι μεταλλάξεις φαίνεται να παίζουν ρόλο στην προδιάθεση για Alzheimer λόγω του σημαντικού ρόλου των μιτοχονδρίων στην διαδικασία της απόπτωσης.

MITOCHONDRIAL MUTATIONS ASSOCIATION WITH ALZHEIMER'S DISEASE

***M. Terzenidou¹, K. Papadimitriou¹, N. Sachini¹, G. Xatzigeorgiou², Z. Mamouris¹
and A. Zifa¹***

*¹Department of Biochemistry and Biotechnology and ² Department of of
Medicine University of Thessaly, 41221 Larissa*

The mitochondrion is essential for energy production. Mutations in its DNA result in various pathological conditions. Among the mutations of mtDNA, those in tRNA genes play a more important role, since they can affect the protein synthesis of mitochondria as a whole. Organs that depend greatly on oxidative phosphorylation, such as the nervous system, are very susceptible to mutations of mtDNA. In addition, mitochondria act as control centers that regulate apoptosis (programmed cell death) through the mitochondrial permeability transition pore (mtPTP). Diseases which are associated with mitochondrial mutations are, among others, neurodegenerative diseases such as Parkinson and Alzheimer's Disease.

In the present study 50 samples of patients with Alzheimer's Disease (case) and 50 samples of healthy individuals (control) were analyzed. We found 26 mutations in 32 of the patients: 11 of those were found in tRNA genes while the remaining 15 were found in nearby areas. More specific: 4/50 had the mutation T12190C in tRNA^{His} (8%), 3/50 had the mutation A12308G in tRNA^{Leu} (6%, OR=0.35), 2/50 had the mutations A15924G (OR=1.34), G15928A (OR=0.5) and C15946T in tRNA^{Thr} (4%), 3/50 had the mutation G8251A in COII gene (6%, OR=2.86), 10/50 had the mutation A10398G in ND3 gene (20%), 3/50 had the mutation ins568-572 (3C) in D-loop (6%, OR=1.74), while 5/50 had the mutation G8292A (10%, OR=7.15) and 2/50 had the mutation A15954C (4%) in non-coding regions.

Of the total of mutations, 5 have been mentioned in Alzheimer patients, 5 were detected for the first time, while 7 were also found in controls at a lower rate. None of the patients can be classified in haplotypes. However, mitochondrial mutations appear to play a role in predisposition to Alzheimer's Disease because of the very important role of mitochondria in the process of apoptosis.

DNA ΕΜΒΟΛΙΟ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΕΙ ΤΗ ΝΕΥΡΟΠΛΑΣΤΙΝΗ ΕΠΑΓΕΙ ΑΝΤΙΓΟΝΟ-ΕΙΔΙΚΕΣ ΑΝΤΙΣΩΜΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΣΕ BALB/C ΜΥΕΣ

Τιπτιρή-Κουρπέτη Α¹, Ποιμενίδης Ε¹, Υψηλάντης Π², Σιμόπουλος Κ² & Χλίχλια Κ¹

¹Εργαστήριο Μοριακής Ανοσοβιολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής,
Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100 Αλεξανδρούπολη

²Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής & Χειρουργικής Έρευνας, Τμήμα Ιατρικής,
Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100 Αλεξανδρούπολη

Τα DNA εμβόλια που στοχεύουν καρκινικά αντιγόνα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επαγωγή αποτελεσματικών αντιγονο-ειδικών ανοσολογικών αποκρίσεων για αντικαρκινική προστασία. Η νευροπλαστίνη (NPTN) είναι ένα νέο καρκινικό αντιγόνο που ταυτοποιήθηκε πρωτομικά από ογκοπρωτείνες επιλεγμένες με βάση τη συγγένεια με μια ανασυνδυασμένη μεταβλητή αλυσίδα αντισώματος. Εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στην πλειονότητα των μεταστατικών καρκινωμάτων του μαστού και ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών των μορίων προσκόλλησης

Η NPTN επιλέχθηκε για το σχεδιασμό και ανάπτυξη εμβολίων που στοχεύουν το αδenoκαρκίνωμα. Ανιχνεύθηκε σε δύο κυτταρικές σειρές αδenoκαρκινώματος ποντικού και το cDNA της κλωνοποιήθηκε σε φορέα έκφρασης (pEGFP/C1) όπου συνεκφράζεται με το GFP υπό το έλεγχο του υποκινητή CMV.

Η έκφραση του NPTN ανιχνεύθηκε σε μετασχηματισμένες καρκινικές κυτταρικές σειρές με τον φορέα mNPTN-pEGFP/C1 σε αντίθεση με μη μετασχηματισμένες σειρές ή κυτταρικές σειρές μετασχηματισμένες μόνο με τον φορέα pEGFP. Το εμβόλιο mNPTN-pEGFP/C1 χορηγήθηκε ενδομυϊκά σε BALB/c μύες και 48 ώρες αργότερα η έκφραση του mNPTN ταυτοποιήθηκε *in vivo* με RT-PCR. Επιπρόσθετα, μύες ανοσοποιήθηκαν με το συγκεκριμένο DNA εμβόλιο χορηγώντας τον ανασυνδυασμένο φορέα σε δύο δόσεις. Οι ανοσοποιημένοι μύες θυσιάστηκαν και συλλέχθηκε ορός, όπου ανιχνεύθηκαν αντισώματα αντιγονο-ειδικά για την νευροπλαστίνη.

Αυτή τη στιγμή πραγματοποιούνται μελέτες για να ελεγχθεί η προληπτική δράση του εμβολίου σε συνγονικό πειραματικό μοντέλο καρκίνου του μαστού. Στόχος είναι η επιλεκτική καταστροφή καρκινικών κυττάρων που εκφράζουν τη νευροπλαστίνη μετά από διέγερση των κατάλληλων αντιγονο-ειδικών ανοσολογικών αποκρίσεων.

A DNA VACCINE VECTOR ENCODING NEUROPLASTIN RAISES ANTIGEN-SPECIFIC ANTIBODY RESPONSES IN BALB/C MICE

Tiptiri-Kourpeti A¹, Poimenidis E¹, Ypsilantis P², Simopoulos C² & Chlichlia K¹
¹Laboratory of Molecular Immunology, Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis
²Laboratory of Experimental Surgery & Surgical Research, School of Medicine, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis

DNA vaccination targeting tumor antigens represents an attractive technology to induce strong antigen-specific immune responses as well as protective efficacy against a variety of tumors. Neuroplastin (NPTN) was identified as a novel candidate tumor antigen using proteomic identification of affinity selected tumor proteins with a recombinant variable heavy chain antibody. NPTN is a glycoprotein belonging to the immunoglobulin superfamily of cell adhesion molecules and was found to be highly expressed in the majority of metastatic breast carcinomas.

We selected this tumor antigen to design vaccine constructs targeting mammary adenocarcinoma. We identified murine NPTN gene in two murine adenocarcinoma cell lines and the complete cDNA sequence was cloned directly in a mammalian expression vector (pEGFP/C1) in fusion with GFP under control of the CMV promoter. Expression of NPTN was detected in several cell lines transfected with the mNPTN-pEGFP/C1 construct while no expression was detected in non transfected cells and cells transfected with the empty vector. The DNA vaccine construct mNPTN-pEGFP/C1 was administered in BALB/c mice and RT-PCR analysis confirmed *in vivo* mNPTN expression 48 hours following an intramuscular injection. In addition, BALB/c mice were immunized with the respective DNA vaccine construct for two subsequent times. Serum was obtained and examined for the presence of antigen-specific antibodies. Strong neuroplastin-specific antibodies were detected in serum from immunized mice. Thus, antigen-specific antibody responses were identified.

A syngeneic experimental breast cancer model was developed in order to evaluate the protective efficacy of the NPTN vaccine construct in mice. The protective effect of the neuroplastin-expressing vector is currently under investigation. We aim to direct NPTN-specific anti-tumor immune responses in order to inhibit *in vivo* mammary adenocarcinoma cell growth.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΩΝ DNA ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΩΝ ΑΥΤΟΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

**Τούλης Βασίλειος, Δαβή Βαρβάρα, Ντίνα Όλγα-Μαρία, Ρούσκας Κωνσταντίνος,
Κουβάτση Αναστασία**

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

Οι μικροδορυφορικοί δείκτες (STRs) είναι υψηλά επαναλαμβανόμενες περιοχές του DNA με μοτίβο επαναλήψεων 2-6 ζεύγη βάσεων, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από μεγάλο βαθμό πολυμορφισμού. Χρησιμοποιούνται ευρύτατα σε πληθυσμιακές μελέτες και σε μελέτες ανάλυσης σύνδεσης για πολλές ασθένειες, καθώς επίσης και στη διερεύνηση ιατροδικαστικών υποθέσεων. Στην παρούσα μελέτη αναλύθηκαν 180 μη συγγενικά άτομα του ελληνικού πληθυσμού (με καταγωγή για τρεις γενιές τουλάχιστον από την ίδια περιοχή) για 8 μικροδορυφορικούς δείκτες των αυτοσωμάτων, τους δείκτες: FGA, D7S820, D10S1248, D14S1434, D16S539, D18S51, D21S11, και D22S1045. Η ταυτοποίηση των αλληλομόρφων των δεικτών έγινε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης και ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης με χρώση νιτρικού αργύρου. Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλα στατιστικά πακέτα. Ο αριθμός των αλληλομόρφων που ανιχνεύτηκαν ανά γενετικό δείκτη κυμαίνεται από επτά (7) έως δέκα-πέντε (15). Ο πληθυσμός βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg για όλους τους γενετικούς δείκτες που μελετήθηκαν. Ο παρατηρούμενος βαθμός ετεροζυγωτίας κυμαίνεται από 0,698 έως 0,887 με μέση τιμή 0,813. Οι δύο πιο πολυμορφικοί δείκτες είναι οι FGA και D18S51. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων συγκρίθηκαν με εκείνες άλλων ευρωπαϊκών πληθυσμών και δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Ο μεγάλος βαθμός πολυμορφισμού και οι ψηλές τιμές που προκύπτουν για τις ιατροδικαστικές παραμέτρους (πχ διακριτική ικανότητα) καθιστούν τους παραπάνω γενετικούς δείκτες κατάλληλους για πληθυσμιακές μελέτες και ιατροδικαστικές αναλύσεις στον ελληνικό πληθυσμό.

ANALYSIS OF AUTOSOMAL MICROSATELLITE LOCI IN THE GREEK POPULATION

***Toulis Vasileios, Davi Varvara, Ntina Olga-Maria, Rouskas Konstantinos,
Kouvatsi Anastasia***

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

Macrosatellites (STRs) are tandemly repeated regions of DNA, widespread throughout the genome, which have core repeats of 2-6 bp, and are highly polymorphic. They are important in several fields including population genetics, linkage analysis and human identity testing. In the present study 180 unrelated individuals of the Greek population (originated from the same geographical region for at least three generations) were analyzed for 8 microsatellite loci located in the autosomes. The loci are the: FGA, D7S820, D10S1248, D14S1434, D16S539, D18S51, D21S11, and D22S1045. The allele identification was done by PCR analysis followed by polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining. The appropriate statistical packages were used for the analysis of the results. The number of alleles detected per locus range between seven (7) and fifteen (15). The population is found to be in Hardy-Weinberg equilibrium for all the tested loci. The observed degree of heterozygosity ranges from 0.698 to 0.887, with an average value of 0.813. FGA και D18S51 are the most polymorphic loci. The calculated allele frequencies were compared with those from other European populations and no significant difference was found. The high degree of heterozygosity and the high value of forensic parameters (eg power of discrimination) make these markers useful for population studies and forensic applications in the Greek population.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΣΤΡΑΓΓΙΣΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΧΥΤΑ ΚΑΙ ΟΙ ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΤΟΞΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥΣ ΣΕ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

Τσαρπαλή Βασιλική¹, Κονταλή Ματίνα¹ και Στέφανος Νταϊλιάνης¹

*¹ Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 26500, Πάτρα*

Η παρούσα εργασία αφορά τη μελέτη της σύστασης των στραγγισμάτων από χώρους υγειονομικής ταφής απορριμμάτων (ΧΥΤΑ), καθώς και των πιθανών βιολογικών επιπτώσεων μιας τυχαίας ή εκ προμελέτης εναπόθεσης/διαρροής του σε υδάτινα οικοσυστήματα. Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός της σύστασης στραγγισμάτων που συλλέχτηκαν από το ΧΥΤΑ του Δ. Αιγιαλείας (Ν. Αχαΐας) έδειξε σημαντικά αυξημένα επίπεδα οργανικών και ανόργανων ρυπογόνων ουσιών. Συγκεκριμένα, οι αυξημένες τιμές BOD₅ και COD, ιόντων χλωρίου και φαινολικών ουσιών, σε συνδυασμό με τα αυξημένα επίπεδα βαρέων μετάλλων καθιστούν απαγορευτική τη διάθεση των στραγγισμάτων στο περιβάλλον. Επιπλέον, ο έλεγχος τοξικότητας που πραγματοποιήθηκε στο ανόστρακο καρκινοειδές των γλυκών νερών *Thamnocephalus platyurus* (με τη μορφή βιοτεστ Thamnotoxkit FTM) έδειξε πολύ τοξική δράση του δείγματος (χαμηλές τιμές LC₅₀), σύμφωνα με τις μονάδες TU (TU=11,25).

***ANALYSIS OF LEACHATE CONTENT AND ITS TOXICITY IN AQUATIC
ENVIRONMENT WITH THE USE OF BIOTESTS***

Tsarpali Basiliki¹, Kontali Matina¹ and Dailianis Stefanos¹

*¹ Section of Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of
Patras, 26 500, Greece*

Leachates are hardly treated by-product generated in landfills and constitute an important environmental problem, since its disposal into watercourses could lead to deterioration of natural water bodies, pollution and environmental degradation. This study investigates the physicochemical parameters of landfill leachates as well as its potential toxic effects on aquatic organisms. Specifically, leachates are characterized by high organic load, since increased BOD₅ and COD values was measured. Moreover, increased concentrations of chloride ions, phenolic compounds and heavy metals measured in samples collected from a landfill (Municipality of Aigialeia, Achaia, Greece) widowed prohibitory the disposal of untreated leachates into water sources. The aforementioned hypothesis was further reinforced by the fact that toxicity test performed with the use of organisms-bioindicators, such as *Thamnocephalus platyurus* (microbiotest Thamnotoxkit FTM), showed increased LC₅₀ values (TU=11.25).

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΙΤΗΡΕΣΙΟΥ ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΑΝΗΛΙΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΚΡΑΝΙΟΥ (*Argyrosomus regius*)

Τσεργά Ε.^{1,*}, Κουσίδου Ε.^{1,*}, Χατζηφώτης Σ.², Αντωνοπούλου Ε.¹

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ., 54 124 Θεσσαλονίκη

²Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., 710 03 Ηράκλειο

Η λιπιδική σύσταση των σιτηρεσίων αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας και βασικών λιπαρών οξέων για το ψάρι. Το νεοεισερχόμενο είδος στην Ευρωπαϊκή ιχθυοκαλλιέργεια, ο κρανιός, φαίνεται να έχει μέτριες απαιτήσεις λιπιδικής σύστασης του σιτηρεσίου του σύμφωνα με τους Chatzifotis *et al.* (2010). Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η επίδραση τριών ισοπρωτεϊνικών σιτηρεσίων με διαφορετική περιεκτικότητα σε λίπος (13, 17 και 21%) για 16 εβδομάδες, στην ηπατική δραστικότητα των ενζύμων, αφυδρογονάση του μαλικού οξέος και λιπάση, σε ανήλικα άτομα με αρχικό βάρος σώματος $229,7 \pm 1,4$ g. Επίσης, με ανοσοδοκιμασία κατά Western προσδιορίστηκε η επίδραση των σιτηρεσίων στην έκφραση των πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος (hsp70 και hsp90) και στη φωσφορυλίωση των μιτογόνων πρωτεϊνικών κινασών (MAPKs) p38 MAPK, JNK και ERK (πιθανοί δείκτες ηπατικής καταπόνησης). Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η μεγαλύτερη ενζυμική δραστικότητα τόσο της αφυδρογονάσης του μαλικού οξέος όσο και της λιπάσης εμφανίζεται στο σιτηρέσιο χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος. Όσον αφορά στις πρωτεΐνες, η hsp70 εκφράζεται περισσότερο στα ψάρια που τρέφονταν με τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος, ενώ η hsp90 στο σιτηρέσιο εκείνων με ενδιάμεση περιεκτικότητα σε λίπος. Παρόμοια με τη hsp90, η φωσφορυλίωση της p38 MAPK επάγεται στην ενδιάμεση κατάσταση. Για τις πρωτεΐνες JNK και ERK παρατηρήθηκε ότι τόσο η ERK όσο και η JNK παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη έκφραση στα άτομα που σιτίστηκαν με σιτηρέσια υψηλής λιπιδικής περιεκτικότητας. Αντιθέτως, η φωσφορυλίωση των ERK και JNK επάγεται στα άτομα που σιτίστηκαν με σιτηρέσια ενδιάμεσης λιπιδικής περιεκτικότητας. Περαιτέρω διερεύνηση κρίνεται αναγκαία για να προσδιοριστεί ο ρόλος των εξεταζόμενων πρωτεϊνών.

*έχουν συνεισφέρει ισομερώς στην εργασία

EFFECT OF DIFFERENT LIPID CONTENT DIETS ON THE LIVER OF MEAGRE (*Argyrosomus regius*) JUVENILES

^{1*}Tserga E., ^{1*}Kousidou E., ²Chatzifotis S., ¹Antonopoulou E.

¹ *Department of Zoology, School of Biology, faculty of Physics and Mathematics,
Aristotle University of Thessaloniki*

² *Institute of Aquaculture, Hellenic Centre for Marine Research of Crete, Heraklio*

Dietary lipids are an important source of energy and essential fatty acids for the fish. The newly introduced European aquaculture species, meagre appears to have medium lipid requirements according to Chatzifotis *et al.* (2010). In the present study, the effect of three isonitrogenous diets containing 13, 17, 21% lipids for 16 weeks was investigated on the hepatic enzymatic activity of dehydrogenase of malic acid (MDH) and lipase, in juvenile meagres with a body weight of 229.7 ± 1.4 g. Moreover, the effect of these diets on the expression of the heat shock proteins (hsp70 and hsp90) and on the phosphorylation of members of mitogen-activated protein (MAP) kinases (MAPK) such as p38 MAPK, JNK and ERK was determined using Western blotting in order to use them as hepatic stress indicators. The results indicated that the highest enzymatic activity of both MDH and lipase appears to the fish that were fed with the lowest lipid (13%) content in their diets. As far as proteins are concerned, hsp70 was expressed more in the fish group with high lipid content in their diets, while hsp90 in those of medium lipid content. This is similar to the results found for the phosphorylated p38 MAPK which was induced in the medium lipid content. Concerning the expression of JNK and ERK proteins, a significant increase was found in both total JNK and total ERK in fish fed with diets of high lipid content. On the contrary, the phosphorylation of both JNK and ERK were higher in the medium lipid content group. More investigation is needed in order to identify the role of the above proteins.

**have contributed equally to this work*

Η ΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ BRYOZOA ΚΑΙ NEMERTEA ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΕΚΕΙΝΕΣ ΤΩΝ ΓΕΙΤΟΝΙΚΩΝ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ

Τσέρτον Μ.Ι., Χριστοδούλου Μ. & Α. Κούκουρας
Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη

Η λεπτομερής ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας και η μελέτη του αντίστοιχου υλικού του ζωολογικού μουσείου του Τομέα Ζωολογίας, επέτρεψαν τη δημιουργία μιας ελεγμένης λίστας των βρυόζων και των νημέρτιων της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας. Όλα τα είδη που έχουν καταγραφεί, καταχωρήθηκαν σε μια βάση δεδομένων μαζί με τη σχετική πρώτη βιβλιογραφική αναφορά από τις περιοχές αυτές. Η βάση δεδομένων ονομάζεται “Ελληνική Βιοποικιλότητα” και είναι προσβάσιμη στη διαδικτυακή διεύθυνση: <http://greek-biodiversity.web.auth.gr>.

Στο Αιγαίο Πέλαγος καταγράφηκαν 172 είδη βρυόζων ενώ συνολικά στη Μεσόγειο και στη Μαύρη Θάλασσα καταγράφηκαν 481 είδη. Το υψηλότερο ποσοστό ειδών βρέθηκε στη Δυτική Μεσόγειο (78,6 %). Στην Κεντρική Μεσόγειο και στην Αδριατική Θάλασσα βρέθηκαν 50,7 % και 52,8 % αντίστοιχα. Επίσης, στη Θάλασσα του Λεβάντε και στη Μαύρη Θάλασσα βρέθηκαν 23,1 % και 3,7 % αντίστοιχα, ενώ στο Αιγαίο Πέλαγος βρέθηκαν 35,7 % από το σύνολο των γνωστών ειδών της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα φαίνεται ότι ο αριθμός των ειδών των βρυόζων μειώνεται από τη δυτική προς την ανατολική Μεσόγειο, ενώ ο υψηλός αριθμός ειδών στη Δυτική Μεσόγειο μπορεί να αποδοθεί στην άμεση επικοινωνία με τον Ατλαντικό Ωκεανό καθώς και στην ιστορικά πιο εντατική ερευνητική προσπάθεια στη περιοχή αυτή.

Όσον αφορά τα Νημέρτια, στο Αιγαίο Πέλαγος καταγράφηκαν μόνο 5 είδη, ενώ από ολόκληρη τη Μεσόγειο είναι γνωστά 227 είδη. Το υψηλότερο ποσοστό ειδών βρέθηκε στη Δυτική Μεσόγειο (69,2 %) ενώ στην Κεντρική Μεσόγειο και στην Αδριατική Θάλασσα βρέθηκαν 13,7 % και 22,9 % αντίστοιχα. Τέλος, στη Θάλασσα του Λεβάντε και στη Μαύρη Θάλασσα βρέθηκαν 0,4 % και 23,3 % αντίστοιχα, ενώ στο Αιγαίο Πέλαγος βρέθηκαν 2,2 % από το σύνολο των γνωστών ειδών στις περιοχές αυτές. Ο μικρός αριθμός ειδών που έχουν αναφερθεί από το Αιγαίο Πέλαγος, μπορεί να αποδοθεί τόσο στις ανεπαρκείς δειγματοληπτικές προσπάθειες, όσο και στη δυσκολία προσδιορισμού των ζώων αυτών από μη εξειδικευμένους συστηματικούς ζωολόγους.

THE BRYOZOAN AND NEMERTEAN FAUNA OF THE AEGEAN SEA AND COMPARISON WITH THOSE OF THE NEIGHBOURING AREAS

Tsertou M.I., Christodoulou M. & A. Koukouras

Department of Zoology, School of Biology, A.U.TH., 541 24 Thessaloniki

A detailed review of the relative literature and the study of associated material deposited in the Zoological Museum of the Department of Zoology enabled the creation of a validated checklist of the Mediterranean and Black Sea bryozoans and nemerteans. Every species that has been recorded was registered in a database along with the relevant publication reporting it for the first time from these areas. The database is called "Greek Biodiversity" and is available in the internet address: <http://greek-biodiversity.web.auth.gr>.

One hundred seventy two (172) bryozoan species are recorded from the Aegean Sea while in the Mediterranean and the Black Sea a total of 481 species is recorded. The highest species percentage is found in the Western Basin (78.6 %). In the Central Mediterranean and the Adriatic Sea 50.7 % and 52.8 % respectively, of the known Mediterranean-Black Sea species is found. Additionally, in the Levantine Basin and the Black Sea 23.1 % and 3.7 %, respectively is found, while in the Aegean Sea 37.5 % of the known Mediterranean-Black Sea species is found. According to the considered data it seems that the number of bryozoans species decreases from the western towards the eastern Mediterranean Sea, while the high species number in the Western Mediterranean could be attributed to the direct communication of the basin with the Atlantic Ocean and the historically more intensive research effort in this area.

Concerning Nemertea, only five (5) species are recorded from the Aegean Sea while from all the Mediterranean Sea a total of 227 species is recorded. The highest species percentage is found in the Western Mediterranean (69.2 %), while in the Central Mediterranean and the Adriatic Seas 13.7 % and 22.9 % respectively, of the known Mediterranean-Black Sea species is found. Finally, in the Levantine Basin and the Black Sea 0.4 % and 23.3 % respectively is found while in the Aegean 2.2 % of the known species is recorded. The low species number reported from Aegean Sea could be attributed both to insufficient sampling efforts and to the difficulty of the identification of these animals by non-specialist systematic zoologists.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΥΝΟΔΩΝ ΚΑΙ
ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ
ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ
ΑΥΞΗΜΕΝΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ**

**Νίκη Ι. Τσιλίδου, Μαριάννα Η. Αντωνέλου, Ελένη Ν. Τσακίρη, Ισιδώρα Παपाσιδέρη
& Ιωάννης Π. Τρουγκάκος**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ζωγράφου, 15784, Αθήνα*

Η διατήρηση της ομοιοστασίας του πρωτεόματος εξασφαλίζεται σε σημαντικό βαθμό μέσω των μοριακών συνοδών και των κύριων κυτταρικών πρωτεολυτικών συστημάτων, δηλαδή του πρωτεασώματος και του λυσοσώματος. Η απολιποπρωτεΐνη J/Clusterin (CLU) είναι μια ετεροδιμερής εκκρινόμενη γλυκοπρωτεΐνη που εμφανίζει δράση μοριακής συνοδού και σχετίζεται με διαταραχές οι οποίες παρουσιάζουν αυξημένο οξειδωτικό στρες, όπως η γήρανση, η αθηροσκλήρωση, ο καρκίνος και οι νευροεκφυλιστικές νόσοι. Το πρωτεάσωμα αποτελείται από τα σύμπλοκα 20S (καταλυτικό) και 19S (ρυθμιστικό) και συμμετέχει στην αποδόμηση τόσο φυσιολογικών πρωτεϊνών με μικρό χρόνο ημιζωής όσο και αποδιαταγμένων, οξειδωμένων ή δυσλειτουργικών πρωτεϊνών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν τα επίπεδα έκφρασης της CLU καθώς και του 20S και 19S πρωτεασώματος σε ανθρώπινα ερυθροκύτταρα τόσο κατά τη διάρκεια της γήρανσης όσο και σε συνθήκες αυξημένου ενδογενούς οξειδωτικού στρες λόγω νεφρικής ανεπάρκειας. Τα προκαταρκτικά μας αποτελέσματα δεικνύουν αύξηση των επιπέδων έκφρασης της CLU στη μέση ηλικία και συνεχή σταδιακή αύξηση των επιπέδων έκφρασης των πρωτεασωματικών υπομονάδων του 20S και του 19S πρωτεασώματος κατά τη γήρανση. Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης των πρωτεασωματικών υπομονάδων του 20S και 19S πρωτεασώματος σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια. Οι τρέχουσες μελέτες μας εστιάζονται στην ανάλυση των κυτταρικών-μοριακών μηχανισμών που αφορούν στη ρύθμιση μοριακών συνοδών και πρωτεολυτικών συστημάτων σε ερυθροκύτταρα θηλαστικών.

**ANALYSIS OF MOLECULAR CHAPERONES AND PROTEOLYTIC
SYSTEMS EXPRESSION LEVELS IN HUMAN ERYTHROCYTES
DURING AGEING OR INCREASED ORGANISMAL OXIDATIVE
STRESS**

***Niki I. Tsilidou, Marianna H. Antonelou, Eleni N. Tsakiri, Issidora S. Papassideri &
Ioannis P. Trougakos***

*Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, National &
Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou, Athens 15784, Greece*

Cells have evolved to obtain diverse repairing or detoxifying mechanisms to prevent biomolecules deterioration and cellular destabilization. These mechanisms constitute the proteostasis network. The main counterparts of this network are the various molecular chaperones, the ubiquitin-proteasome system and lysosome-autophagy. Apolipoprotein J/Clusterin (CLU) is an extracellular molecular chaperone that has been functionally involved in ageing and various age-related diseases including atherosclerosis, cancer and neurodegeneration. The proteasome is a non-lysosomal threonine protease being composed from the 20S catalytic and the 19S regulatory complexes. The 20S particle is capped in both sides by the 19S regulatory complexes giving rise to 26S proteasome that performs the ATP/ubiquitin-dependent protein degradation of normal proteins. Moreover, proteasome degrades denatured, misfolded, abnormal, or otherwise damaged proteins. In the current study we analyzed CLU and 20S, 19S proteasome expression levels in human erythrocytes derived from donors of various ages as well as from patients with renal failure. Our preliminary studies showed higher CLU expression levels in middle-aged donors and a continuous increased in 20S and 19S proteasome expression levels during ageing. Moreover, we found higher expression levels of proteasome in erythrocytes obtained from patients with chronic renal failure. Our current studies aim to reveal the molecular mechanisms involved in molecular chaperones and proteolytic systems regulation in mammalian erythrocytes.

**ΕΝΑΣ ΠΙΘΑΝΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟ ΤΗΣ
ΚΥΣΤΑΤΙΝΗΣ C, ΜΙΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ
ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΗ ΑΜΥΛΟΕΙΔΗ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ
ΑΓΓΕΙΟΠΑΘΕΙΑ ΙΣΛΑΝΔΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ, ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΔΥΟ
ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΜΕ ΤΑΣΗ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΣΗΣ**

Τσιολάκη, Π.Α., Οικονομίδου, Β.Α. και Χαμόδρακας, Σ.Ι.

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

Μία από τις πρωτεΐνες που σχηματίζουν αμυλοειδή ινίδια, η ανθρώπινη κυστατίνη C, παρουσιάζει την ικανότητα να διμερίζεται και να ολιγομερίζεται με ανταλλαγή δομικά αυτοτελών περιοχών των μονομερών της. Φυσιολογικά, το μονομερές της ανθρώπινης κυστατίνης C, μιάς πρωτεΐνης μικρού μοριακού βάρους που ανήκει στον τύπο 2 της οικογένειας των κυστατινών, αποτελείται από 120 αμινοξικά κατάλοιπα και λειτουργεί ως ισχυρός αναστολέας των κυστεϊνικών πρωτεασών. Ο μηχανισμός της τρισδιάστατης ανταλλαγής δομικά αυτοτελών περιοχών εμπλέκεται στη διαδικασία δημιουργίας αμυλοειδών ινιδίων σε μέλη οικογενειών μιας συγκεκριμένης γεωγραφικής περιοχής της Ισλανδίας. Ο ολιγομερισμός αυτός της κυστατίνης C σχετίζεται με την παθοφυσιολογία μιας αυτοσωμικής επικρατούς αμυλοείδωσης, με το όνομα κληρονομούμενη αμυλοειδής εγκεφαλική αγγειοπάθεια Ισλανδικού τύπου, στην οποία μια μεταλλαγή λευκίνης σε γλουταμίνη στη θέση 68 προκαλεί την εναπόθεση αμυλοειδών στα αγγεία του εγκεφάλου οδηγώντας σε εγκεφαλικές αιμορραγίες κατά την πρώιμη ενηλικίωση. Προβλέψεις με χρήση του AMYLPRED, ενός εργαλείου πρόγνωσης αμυλοειδογενών καθοριστών από την αλληλουχία μιάς πρωτεΐνης, που αναπτύχθηκε από το εργαστήριό μας, μας οδήγησαν στη σύνθεση και πειραματική μελέτη δύο, προβλεφθέντων ως αμυλοειδογενών καθοριστών, πεπτιδίων-αναλόγων, τμημάτων της κυστατίνης C. Παρουσιάζουμε εδώ δεδομένα περίθλασης ακτίνων X, Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Διέλευσης (αρνητική χρώση), φασματοσκοπίας υπερερύθρου και πολωτικής μικροσκοπίας που υποδηλώνουν ότι τα πεπτίδια που έχουν προβλεφθεί σχηματίζουν χαρακτηριστικά ινίδια που εκπληρώνουν τα τρία διαγνωστικά κριτήρια των αμυλοειδών ινιδίων. Με το πρόγραμμα μοριακών γραφικών PyMol δημιουργήσαμε ένα πιθανό μοντέλο, που βασίζεται στις κρυσταλλογραφικά 'λυμένες' δομές της κυστατίνης C και στα παραπάνω πειραματικά δεδομένα και αφορά τον μηχανισμό δημιουργίας αμυλοειδών ινιδίων από την ανθρώπινη κυστατίνη C.

A POSSIBLE MECHANISM FOR POLYMERIZATION OF CYSTATIN C, A PROTEIN ASSOCIATED WITH ICELANDIC HEREDITARY CEREBRAL AMYLOID ANGIOPATHY, INVOLVES TWO AGGREGATION-PRONE PEPTIDES

Tsiolaki, P.L, Iconomidou, V.A. and Hamodrakas, S.J

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

Amyloidogenic proteins like Human Cystatin C (HCC) have been shown to form dimers and oligomers by exchange of subdomains of the monomeric proteins. Normally, the HCC monomer, a low molecular type 2 cystatin consists of 120 amino acid residues and functions as a potent inhibitor of cysteine proteases. The so-called 3D-domain swapping process has also been suggested to play a role in the generation of amyloid fibrils observed within families originating from one geographical area in Iceland. This oligomerization of HCC is involved in the pathophysiology of an autosomal dominant form of amyloidosis, namely Icelandic hereditary cerebral amyloid angiopathy (IHCAA), in which an L68Q mutant is deposited as amyloid in brain arteries causing brain hemorrhage in early adulthood. Predictions on the sequence of cystatin C, utilizing AMYLPRED, an amyloidogenic determinant prediction algorithm developed in our lab, led us to synthesize and experimentally study two predicted such peptides. We present here data from X-ray fibre diffraction, Transmission Electron Microscopy (negative staining), ATR FT-IR spectroscopy and polarizing microscopy, indicating that the predicted amyloidogenic peptides form fibrils, fulfilling all three characteristic diagnostic criteria of amyloid fibrils. Utilizing PyMol, a molecular graphics program, a possible 3D-model is proposed to explain the mechanism of formation of amyloid fibrils by cystatin C, based on the crystallographically solved crystal structures of cystatin C and on the obtained experimental data. This model may be the basis for future attempts to design drugs against IHCAA.

**ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΓΙΒΒΕΡΕΛΛΙΝΩΝ ΣΤΟ *ARABIDOPSIS THALIANA*
- ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΔΙΠΛΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ
ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ *GCN5* ΚΑΙ ΤΟΥ
ΑΡΝΗΤΙΚΟΥ ΡΥΘΜΙΣΤΗ ΤΗΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΤΩΝ
ΓΙΒΒΕΡΕΛΛΙΝΩΝ *RGA***

Τσομπάνη Δήμητρα, Καλδής Αθανάσιος, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη

Οι Γιββερελλίνες (GA) είναι ενδογενείς φυτικές ορμόνες, ρυθμιστές της αύξησης και της ανάπτυξης. Οι DELLA πρωτεΐνες αποτελούν μέλος της υπεροικογένειας των GRAS ρυθμιστικών πρωτεϊνών, και δρουν ως αρνητικοί ρυθμιστές στο μονοπάτι σηματοδότησης των GA. Το *Arabidopsis thaliana* περιέχει 5 DELLA γονίδια: *RGA*, *GAI*, *RGA-Like 1 (RGL1)*, *RGL2* και *RGL3*. Απουσία GA οι DELLA πρωτεΐνες καταστέλλουν τις αποκρίσεις του φυτού σε GA. Αντιθέτως, παρουσία GA οι DELLA πρωτεΐνες αποικοδομούνται μέσω του 26S πρωτεασώματος. Το γονίδιο *GCN5* κωδικοποιεί μια ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών και συμμετέχει στη μεταγραφική ρύθμιση των γονιδίων μέσω του συμπλόκου SAGA. Στο *Arabidopsis* μη- λειτουργικά μεταλλάγματα *gcn5* εμφανίζουν αναπτυξιακά προβλήματα όπως νανισμό, καθυστερημένη αύξηση ριζικού συστήματος, μειωμένη κυριαρχία της κορυφής, οδοντωτά φύλλα, κοντά πέταλα και στήμονες στα άνθη, και αυξημένη στείριότητα. Πολλά από τα παραπάνω σχετίζονται με τις αποκρίσεις των φυτών σε GA, υποδηλώνοντας πιθανά προβλήματα στη σηματοδότηση τους. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο μοριακός χαρακτηρισμός διπλών μεταλλαγμάτων μεταξύ των γονιδίων *GCN5* και *RGA* στο *Arabidopsis thaliana*. Τα διπλά *gcn5-6 rga-t2* εμφάνισαν μερική καταστολή των φαινοτύπων του *gcn5-6* ως προς το ύψος του φυτού και την ανάπτυξη των ανθέων καθώς και τα προβλήματα στείριότητας. Αντίθετα παραμένουν τα οδοντωτά φύλλα και η κυριαρχία της κορυφής. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι ένα μέρος των αναπτυξιακών προβλημάτων του *gcn5-6* οφείλεται στη παρουσία του *RGA* και στη προβληματική σηματοδότηση των GA.

**GIBBERELLIN SIGNALING IN *ARABIDOPSIS THALIANA* –
CHARACTERIZATION OF DOUBLE MUTANTS OF THE HISTONE
ACETYLTRANSFERASE *GCN5* AND THE NEGATIVE REGULATOR
OF GA SIGNALING *RGA***

Tsompani Dimitra, Kaldis Athanasios, Vlachonasios Konstantinos

*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of
Thessaloniki, 54124, Thessaloniki*

Gibberellins are endogenous plant hormones, which regulate plant growth and development. DELLA proteins are a subfamily of plant-specific GRAS family regulatory proteins and function as negative regulators of the GA signaling pathway. Arabidopsis contains 5 DELLA protein genes; *RGA*, *GAI*, *RGA-Like1* (*RGL1*), *RGL2* and *RGL3*. Once GA is present in the plant cell, DELLA proteins are polyubiquitinated and then degraded by 26S proteasome. *GCN5* encodes a histone acetyltransferase that functions as transcriptional regulator through SAGA complex. In Arabidopsis loss of function mutants of *GCN5* display developmental problems such as dwarfism, delayed root growth, reduced apical dominance, serrated leaves, short petals and stamens and infertile flowers. Most of the above phenotypes are correlated with plant responses to GA, indicating possible problems in GA signaling. In this report, we studied the molecular characterization of double mutations of *GCN5* and *RGA* gene in *Arabidopsis thaliana*. The double mutants *gcn5-6 rga-t2* show partial suppression of the *gcn5-6* phenotypes and particularly in plant height and flower development as well as infertility. The double *gcn5-6 rga-t2* still have serrated leaves and reduced apical dominance, suggesting that *RGA* and gibberellins are not responsible for these traits. These results indicate that the developmental problems of *gcn5-6* mutants are partially arise from the presence of *RGA* and its negative regulation on gibberellin signaling.

Η ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΞΑΣΘΕΝΟΥΣ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΟΥΣ ΚΑΙ ΤΟ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ ΔΙΚΤΥΟ ΦΥΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Φάτσιου Μαρία, Μελισσά Πελαγία, Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης, Ελευθερίου
Π. Ελευθέριος

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη, e-mail: eelefth@bio.auth.gr

Μετά από επίδραση χρωμίου (Cr) σε διάφορα φυτικά είδη έχουν αναφερθεί μη διαχωρισμός των μιτωτικών χρωματοσωμάτων, άτυπη οργάνωση του ενδοπλασματικού δικτύου (ΕΔ) και αλλοιώσεις στη μορφή των φυτικών ιστών. Ωστόσο, δεν έχει ακόμη εντοπιστεί ένας πιθανός ενδοκυτταρικός μηχανισμός στη λειτουργία του οποίου ενδέχεται να παρεμβαίνει το Cr. Είναι πολύ γνωστό ότι οι μικροσωληνίσκοι των φυτικών κυττάρων συντονίζουν την κυτταρική διαίρεση και μορφογένεση, ενώ το ΕΔ καταλαμβάνει καίριες θέσεις κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Με έμμεσο ανοσοφθορισμό μελετήθηκε συγκριτικά η επίδραση του Cr στους μικροσωληνίσκους και το ΕΔ των φυτών *Lens culinaris* (φακή) και *Allium cepa* (κρεμμύδι). Μετά από επίδραση 250 μM εξασθενούς χρωμίου ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) για 24 και 48 ώρες παρατηρήθηκαν έντονες αλλαγές στην οργάνωση τόσο των μικροσωληνίσκων όσο και του ΕΔ. Σε κύτταρα φακής χαρακτηριστική ήταν η ισχυρή δεσμίδωση των περιφερειακών μεσοφασικών μικροσωληνίσκων αλλά και των ομάδων των μιτωτικών φάσεων, η καθυστέρηση στην ωρίμανση της προ-προφασικής ζώνης και οι πολυπολικές μεταφασικές άτρακτοι. Το ΕΔ ακολουθούσε στις φάσεις της μίτωσης τους μικροσωληνίσκους. Αντίθετα, στο κρεμμύδι οι μικροσωληνίσκοι και το ΕΔ εμφανίζονταν αποδιοργανωμένα. Φαίνεται λοιπόν ότι στη φακή το Cr επάγει τη σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων. Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η παραπάνω υπόθεση ελέγχθηκε πειραματικά η πιθανή ύπαρξη ακετυλιωμένης α-σωληνίνης, που χαρακτηρίζει σταθερούς μικροσωληνίσκους, και εξετάστηκε η ευαισθησία αυτών στην αποδιοργανωτική δράση της ορυζαλίνης. Βρέθηκε ότι οι επηρεασμένοι με Cr μικροσωληνίσκοι ήταν έντονα ακετυλιωμένοι και ανθεκτικοί σε αποπολυμερισμό με ορυζαλίνη. Συμπεραίνεται ότι ο παρατηρούμενος ατελής ή μη διαχωρισμός των χρωματοσωμάτων πιθανόν οφείλεται στη σταθερότητα των μικροσωληνίσκων στη φακή, ενώ στο κρεμμύδι σε αποδιοργάνωση αυτών.

THE TOXIC EFFECT OF HEXAVALENT CHROMIUM ON MICROTUBULES AND THE ENDOPLASMIC RETICULUM OF PLANT CELLS

**Fatsiou Maria, Melissa Pelagia, Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis, Eleftheriou P.
Eleftherios**

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

After treatment with chromium (Cr) of several plant species, a non-segregation of chromosomes during mitosis, atypical organization of endoplasmic reticulum (ER) and malformation of plant tissues have been reported. However, a presumed cellular mechanism to which Cr may intervene has not yet been recognized. It is well known that microtubules in plant cells are involved in cell division and morphogenesis, while ER occupies strategic locations during mitosis. In the present study the effects of Cr on the microtubules and ER of the plant species *Lens culinaris* (lentil) and *Allium cepa* (onion) were comparatively investigated by indirect immunofluorescence. After exposure to 250 μ M of hexavalent chromium ($K_2Cr_2O_7$) for 24 and 48 hours, severe changes in the organization of both microtubules and ER were observed. In lentil cells Cr treatment caused a strong bundling of interphase cortical microtubules and of the mitotic microtubule arrays, a delay in the maturation of the pre-prophase band and the formation of multipolar metaphase spindles; ER was accompanying microtubules in the mitotic phases. On the other hand, in onion microtubules and ER appeared highly disorganized. It seems then that Cr in lentil induces the stabilization of microtubules. To confirm this hypothesis, it was experimentally examined the presumed existence of elevated acetylated α -tubulin, that indicates stable microtubules. Also, their sensitivity to the disorganizing action of oryzalin was studied. Results revealed that Cr-affected microtubules were highly acetylated and more resistant to the depolymerizing effect of oryzalin. It is then concluded that the visualized incorrect segregation of chromosomes after Cr treatment is presumably due to the microtubule stabilization in the lentil and to their disorganization in onion.

Η ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ TPX2 ΣΕ ΔΙΑΙΡΟΥΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΠΤΕΡΙΔΟΦΥΤΟΥ *Asplenium nidus*

Χανουμίδου Κωνσταντίνα, Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης, Παντερής
Εμμανουήλ, Ελευθερίου Π. Ελευθέριος

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη, e-mail: epanter@bio.auth.gr

Η πρωτεΐνη TPX2 είναι κεντρικός ρυθμιστής του σχηματισμού της μιτωτικής ατράκτου στα ζωικά και φυτικά κύτταρα. Στα φυτά, η ενδοκυτταρική της κατανομή έχει μελετηθεί στα αγγειόσπερμα *Arabidopsis thaliana* και *Nicotiana tabacum*, αλλά όχι σε πτεριδόφυτα. Στην εργασία αυτή διερευνήθηκε η κατανομή της στις διάφορες φάσεις της κυτταρικής διαίρεσης βλαστητικών κυττάρων του πτεριδοφύτου *Asplenium nidus*. Με ανοσοαποτύπωση κατά Western εξακριβώθηκε η ύπαρξη μιας πρωτεΐνης ομόλογης της AtTPX2 σε αυτό, που αποτελεί την πρώτη αναφορά στα πτεριδόφυτα. Με έμμεσο ανοσοφθορισμό και συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης ακτίνων laser βρέθηκε ότι, όπως και στο *Arabidopsis thaliana*, η TPX2 εξέρχεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα πριν την πρόφαση και συνεντοπίζεται με τους περιπυρηνικούς μικροσωληνίσκους που συγκροτούν την προφασική άτρακτο. Κατά τη μετάφαση και ανάφαση η TPX2 εντοπίζεται στην άτρακτο. Ωστόσο, ενώ στο *Arabidopsis thaliana* στο τέλος της ανάφασης η TPX2 αποικοδομείται, στο *Asplenium nidus* παραμένει και εντοπίζεται στο φραγμοπλάστη κατά την κυτοκίνηση και γύρω από τους θυγατρικούς πυρήνες κατά τη μετατελόφαση. Μετά την ολοκλήρωση της κυτοκίνησης, η TPX2 εντοπίζεται στο νέο κυτταρικό τοίχωμα μαζί με τον πληθυσμό των μικροσωληνίσκων που το επενδύουν. Είναι πιθανό ότι η παρουσία της εκεί σχετίζεται με δράση Κέντρων Οργάνωσης Μικροσωληνίσκων, υπεύθυνων για τη συγκρότηση των παραπάνω μικροσωληνίσκων, οι οποίοι είναι χαρακτηριστικοί των πτεριδοφύτων.

THE DISTRIBUTION OF TPX2 PROTEIN IN DIVIDING CELLS OF THE PTEROPHYTE *Asplenium nidus*

**Chanoumidou Konstantina, Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis, Panteris
Emmanouel, Eleftheriou P. Eleftherios**

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24
Thessaloniki, e-mail: epanter@bio.auth.gr

TPX2 is a primary regulator of mitotic spindle assembly in vertebrate and plant cells. In plants, the intracellular distribution of this protein has been studied in the angiosperms *Arabidopsis thaliana* and *Nicotiana tabacum*, but not in pterophytes. In this study we have investigated its distribution during cell division in mitotic vegetative cells of the pterophyte *Asplenium nidus*. A homolog of AtTPX2 was identified by Western blotting in this plant, which is the first report for TPX2 in ferns. Observations with CLSM after immunolocalization revealed that, as it occurs in *Arabidopsis thaliana*, in *Asplenium nidus* TPX2 is exported from the nucleus before prophase and is localized on the perinuclear microtubules that constitute the prophase spindle. In both metaphase and anaphase, TPX2 is located in the spindle. However, while in *Arabidopsis thaliana* TPX2 is rapidly degraded at the end of anaphase, in *Asplenium nidus* it persists and is located in the phragmoplast during cytokinesis, and around the daughter nuclei at metateloanaphase. After the completion of cytokinesis, TPX2 is located along the new cell wall, colocalized with the population of microtubules that line it. The presence of TPX2 there may be related with the activity of Microtubule Organizing Centres, responsible for the nucleation of the above microtubule array, which is characteristic of pterophytes.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΣΙΩΠΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΠΟΑΔΕΝΥΛΑΣΩΝ CNOT6
(CCR4A) ΚΑΙ ΤΗΣ CNOT8 (CAF1B) ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ
ΠΟΥ ΡΥΘΜΙΖΟΥΝ ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ.**

**Χατζηλεοντιάδου Δ.¹, Μαραγκοζίδης Π.¹, Λάμπρου Μ.², Πουρνάρας Σ.²,
Γουργουλιάνης Κ.Ι., Μπαλατσός Ν.Α.¹.**

¹Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Ελλάδα

²Τμήμα Μικροβιολογίας, Πανεπιστήμιο Λάρισας Ιατρική Σχολή,
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ελλάδα

Το πρώτο και καθοριστικό βήμα για την αποικοδόμηση των ευκαρυωτικών mRNAs είναι η βράχυνση των πολυ(A) ουρών τους από τις αποαδενυλάσες. Στον άνθρωπο έχουν ταυτοποιηθεί και προβλεφθεί εννέα αποαδενυλάσες, χωρίς ωστόσο να είναι σαφές γιατί έχουμε τόσα ένζυμα που καταλύουν την ίδια αντίδραση. Έχει προταθεί πως ειδικές αποαδενυλάσες στοχεύουν συγκεκριμένες ομάδες mRNAs, ή πως διάφορες από αυτές δρουν στο ίδιο mRNA με επικαλυπτόμενες λειτουργίες. Για να κατανοήσουμε τη βιολογική σημασία της ύπαρξης πολλών αποαδενυλασών, τις αποσιωπούμε μία προς μία και αναλύουμε την έκφραση των υπολοίπων αποαδενυλασών, καθώς και γονιδίων που μετέχουν σε κρίσιμα κυτταρικά μονοπάτια. Στην παρούσα εργασία εστιάζομαστε στο κυριότερο σύμπλοκο αποαδενυλίωσης CCR4-NOT στον άνθρωπο, αποσιωπώντας με shRNAs δύο από τις καταλυτικές του υπομονάδες, τις αποαδενυλάσες CNOT6 (CCR4a) και CNOT8 (CAF1b), σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα Hep2. Ως εσωτερικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν γονίδια ιστονών που δεν φέρουν πολυ(A) ουρές και η β-ακτίνη. Η ανάλυση με RT-qPCR αποκάλυψε πως η έκφραση των αποαδενυλασών CNOT6L, PARN, PARNL και PAN2 μεταβάλλεται σημαντικά, είτε αυξανόμενη είτε μειούμενη. Σημειώνεται πως οι αλλαγές της έκφρασης των αποαδενυλασών ήταν διαφορετικές στην αποσιώπηση της CNOT6 από αυτές της CNOT8. Ανάλογες παρατηρήσεις έγιναν για τα γονίδια p53, c-MYC και RAS, τον μεταφορέα γλυκόζης GLUT1, τον HIF-1α, και τον BTG2 όπου σχετίζεται με την αποαδενυλίωση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως οι CNOT6 και CNOT8 συμμετέχουν ενεργά στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, πιθανόν συμμετέχοντας στην αποικοδόμηση συγκεκριμένων mRNAs. Ιδιαίτερα δε και λαμβάνοντας υπόψη προηγούμενες ανακοινώσεις μας και εργασίες από άλλα εργαστήρια, φαίνεται πως οι αποαδενυλάσες δρουν ενορχηστρωμένα για τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης.

**EFFECT OF CNOT6 AND CNOT8 DEADENYLASE SILENCING ON
THE EXPRESSION OF ESSENTIAL GENES THAT REGULATE
MAJOR CELLULAR PATHWAYS**

***Chatzileontiadou D.¹, Maragozidis P.¹, Labrou M.², Pournaras S.², Gourgoulialis
K.I., Balatsos N.A.A.¹***

¹Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, Greece

*²Department of Microbiology and ³Respiratory Medicine Department,
University of Thessaly Medical School, University Hospital of Larissa, Greece*

The first and rate-limiting step in eukaryotic mRNA decay is the shortening of the poly(A) tail by deadenylases. In humans, at least nine deadenylases have been recognized so far, yet it is not clear what is the advantage to have so many enzymes catalyzing the same reaction. It is hypothesised that specific deadenylases may target unique subsets of mRNAs, or multiple deadenylases can act on the same mRNA, with discrete but overlapping functions. To understand the biological significance of the diversity of these enzymes we silence each one of them and analyse the effect on the mRNA expression of the other deadenylases, as well as of specific reporter genes that are essential for several major cellular pathways. Herein, we focus on CCR4-NOT, the major deadenylation complex in humans, and we silence two of its catalytic subunits, the deadenylases CNOT6 (CCR4a) and CNOT8 (CAF1b), using shRNAs in Hep2 cancer cells. Histone mRNAs lacking poly(A) tail and b-actin were used for normalization. RT-qPCR analysis revealed that CNOT6 or CNOT8 silencing altered, either increasing or reducing, the expression of CNOT6L, PARN, PARNL and PAN2 deadenylases. Importantly, the profile of the alterations for CNOT6 silencing was different than the one observed for CNOT8. The silencing also affected the expression of most of the receptor genes studied, including p53, c-MYC and RAS genes, the glucose transporter GLUT1, the hypoxia-induced factor HIF-1 α , and the antiproliferative factor BTG2. The findings presented in this work indicate that CNOT6 and CNOT8 are actively involved in gene expression regulation, most likely by triggering the degradation of specific mRNAs. Importantly, taken together with reports by other laboratories and our previous observations, it is suggested that deadenylases may act in concert to regulate gene expression.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΣΤΟΛΕΑ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α ΣΕ
ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΚΡΟΡΡΙΖΙΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ
*Pisum sativum***

Χεριανίδου Άννα, Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης, Ελευθερίου Π. Ελευθέριος
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24
Θεσσαλονίκη, e-mail: eelefth@bio.auth.gr

Η δισφαινόλη Α (BPA, bisphenol A) είναι μια οργανική χημική ένωση που χρησιμοποιείται για την παρασκευή πολυκαρβονικών πλαστικών. Αποτελεί ρυπαντή χερσαίων και υδάτινων οικοσυστημάτων, και είναι επικίνδυνη για τον ανθρώπινο οργανισμό καθώς επιφέρει ενδοκρινολογικές διαταραχές μιμούμενη τη δράση των στεροειδών ορμονών. Σε φυτικά κύτταρα έχειδειχθεί ότι η BPA επηρεάζει την αναπαραγωγική ικανότητα των ανώτερων φυτών, προκαλώντας διαταραχή στην παραγωγή στεροειδών ορμονών. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι η BPA *in vitro* εμπλέκεται στον πολυμερισμό και τον αποπολυμερισμό των μικροσωληνίσκων. Χρησιμοποιώντας ως πειραματικό υλικό το φυτό *Pisum sativum* (μπιζέλι) μελετήσαμε τις επιδράσεις διαφόρων συγκεντρώσεων BPA (10, 20, 50 και 100 mg/L) στην επιμήκυνση της ρίζας. Η BPA μειώνει το ρυθμό επιμήκυνσης της ρίζας, ενώ στη συγκέντρωση των 50 mg/L και περισσότερο των 100 mg/L την αναστέλλει πλήρως. Για αυτό το λόγο προχωρήσαμε σε ανοσοσήμανση της σωληνίνης, όπου παρατηρήθηκε ότι μετά από επίδραση 100 mg/L για 3 ώρες επηρεάζονται τα συστήματα των μικροσωληνίσκων όλων των φάσεων του κυτταρικού κύκλου. Συγκεκριμένα, παρουσία BPA οι μεσοφασικοί περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι αντικαθίστανται από ένα δίκτυο δακτυλιωτών ή άμορφων σχηματισμών σωληνίνης. Η προ-προφασική ζώνη μικροσωληνίσκων αποδιοργανώνεται, ενώ συχνά αποτελείται από δακτυλιωτούς σχηματισμούς. Η προφασική άτρακτος απουσιάζει και οι μεταφασικές άτρακτοι εμφανίζονται διαταραγμένες παρουσιάζοντας συχνά σημειακές συγκλίσεις στην περιοχή των πόλων, οι οποίες διατηρούνται και στην ανάφαση. Ο φραγμοπλάστης εμφανίζεται άτυπα οργανωμένος και σε ορισμένες περιπτώσεις ατελής και κατακερματισμένος. Η μελέτη αυτή δείχνει ότι η επίδραση της BPA στους μικροσωληνίσκους φυτικών κυττάρων φαίνεται ότι είναι υπεύθυνη για τον ατελή ή μη σωστό διαχωρισμό των χρωματοσωμάτων, την αναστολή της μίτωσης και τη δημιουργία πολυπλοειδών πυρήνων.

EFFECTS OF THE INHIBITOR BISPHENOL A ON MERISTEMATIC ROOT TIP CELLS OF *Pisum sativum*

Cherianidou Anna, Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis, Eleftheriou P. Eleftherios
Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24
Thessaloniki, e-mail: eelefh@bio.auth.gr

Bisphenol A (BPA) is an organic chemical compound used in the production of polycarbonic plastics. It is a pollutant of land and aquatic ecosystems and is dangerous for humans since it disrupts the endocrine system mimicking the effects of steroid hormones. Studies in plant cells have shown that BPA affects the reproduction of higher plants by disturbing the production of steroids. Also, *in vitro* it was shown that BPA impairs microtubule polymerization and depolymerization. Using the plant *Pisum sativum* (pea) as experimental material, we studied the effects of different concentrations of BPA (10, 20, 50 and 100 mg/L) on root elongation. It was found that BPA reduced the elongation rate of roots and at the concentration of 50 mg/L and especially of 100 mg/L completely suspended it. Depending on these results, we further carried out a tubulin immunolocalization for the visualization of microtubules. It was observed that after a 3 hour treatment with 100 mg/L BPA all microtubule systems of the cell cycle phases were severely affected. In particular, in the presence of BPA interphase cortical microtubules were substituted with a network of ring-like or amorphous tubulin conformations. Pre-prophase bands appeared degraded and often consisted of ring-like tubulin structures. The prophase spindle was absent, while the metaphase spindle was distorted displaying atypical pointed spindle pole convergences, which were also detected in anaphase. The phragmoplasts were disorganized and occasionally incomplete and fragmented. This study shows that the detrimental effects of BPA on plant cell microtubules might explain the incorrect or incomplete segregation of daughter chromosomes, the suspension of mitosis and the production of polyploid nuclei.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *SALMO DENTEX* ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΒΟΪΔΟΜΑΤΗ

Αργυρώ Χριστοδουλάκη, Γκένας Χρήστος & Λεονάρδος Ιωάννης

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα, email: ileonard@cc.uoi.gr*

Η πέστροφα του ποταμού Βοϊδομάτη, *Salmo dentex*, απαντάται σε συγκεκριμένα μέρη του ποταμού, συνήθως σε βαθουλώματα κάτω από καταρράκτες, με βαθύ και καθαρό νερό με περιδινήσεις. Τα τελευταία χρόνια ο πληθυσμός της έχει εμφανίσει μείωση.

Ο σκοπός της εργασίας ήταν να καθορίσει τη σύνθεση της διαίτας, τις αλλαγές στη διατροφή σύμφωνα με την εποχή, την ηλικία και το φύλο και τη διατροφική στρατηγική του είδους.

Για την μελέτη της διατροφής της πραγματοποιήθηκαν μηνιαίες δειγματοληψίες στον Ποταμό Βοϊδομάτη από τον Αύγουστο 2004 - Ιούλιο 2005.

Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου της πέστροφας συμπεριελάμβανε 18 τροφικές κατηγορίες, με τις λάρβες Chironomidae και τα ενήλικα άτομα Ephemeroptera και Zygoptera να παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη κατανάλωση.

Οι εποχιακές μεταβολές στη διαθεσιμότητα των τροφικών πόρων προκάλεσαν αλλαγές στα πρότυπα κατανάλωσης των λειών αποκαλύπτοντας μια τάση για πιο γενικευμένη διατροφή κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Οι πέστροφες έδειξαν μια συνεπή αλλά μέτρια μεταστροφή προς μεγαλύτερες λείες καθώς αυξάνονταν το μέγεθος του σώματος τους.

Σύμφωνα με τη γραφική μέθοδο Costello, ο πληθυσμός της πέστροφας συγκροτείται από εξειδικευμένα άτομα τα οποία τρέφονται με συγκεκριμένους τύπους λειών (λάρβες Chironomidae και ενήλικα άτομα Ephemeroptera και Zygoptera). Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν άτομα που καταναλώνουν σποραδικά άλλες λείες (λάρβες Bibliocephala, ενήλικα Plecoptera και Coleoptera).

DIET OF *SALMO DENTEX* IN VOIDOMATIS RIVER

Argiro Christodoulaki, Christos Gkenas and Ioannis Leonardos

*Laboratory Zoology, Department of Biological Applications and Technology,
University of Ioannina, 45110, Ioannina, e-mail: ileonard@uoi.gr*

Brown Trout of River Voidomatis, *Salmo dentex*, can be found in certain parts of the river, usually in hollows beneath waterfalls, deep and pure water with swirling. In recent years the population has experienced a decrease.

The purpose of our study was to define the diet composition, seasonal, age and sex related changes in diet and feeding strategy of the species.

A 12-months (August 2004 – July 2005) study was made on the diet of Brown trout in River Voidomatis.

The analysis of the stomach content of trout included 18 types of prey with Chironomidae larvae and Ephemeroptera and Zygoptera adults as the most consumed taxa.

Seasonal changes in food resource availability elicited changes in food utilization patterns, revealing a trend to a more generalist feeding during summer. Brown trout showed a consistent, but moderate, shift towards larger prey with increased body size.

According to the modified Costello graphical method, the trout population is formed by specialist individuals that feed on preferential prey types (e.g. Chironomidae larvae and Ephemeroptera and Zygoptera adults). Nevertheless, they consume some occasional prey (Bibliocephala larvae, Plecoptera and Coleoptera adults).

ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΑΠΟ ΤΟ ΣΠΗΛΑΙΟ ΝΤΑΒΕΛΗ (ΠΕΝΤΕΛΙΚΟ ΟΡΟΣ, ΑΤΤΙΚΗ). ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ – ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ

Χριστοδούλου Μαρία, Λαμπρινού Βασιλική, Πανταζίδου Ανδριανή
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής,
Πανεπιστημιούπολη 15701, Αθήνα

Στην παρούσα εργασία μελετώνται τα κυανοβακτήρια του μη αξιοποιημένου σπηλαίου Νταβέλη. Τα κυανοβακτήρια είναι προκαρυωτικοί, φωτοσυνθετικοί, ευρύοικοι μικροοργανισμοί με παγκόσμια εξάπλωση, συνιστούν δε την κυρίαρχη ομάδα φωτοσυνθετικής μικροχλωρίδας στα σπήλαια και γενικά σε υπόγεια οικοσυστήματα. Για τη μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκαν τρεις δειγματοληψίες. Η παρουσία ευδιάκριτων, ποικιλόχρωμων αναπτύξεων κυανοβακτηρίων του σπηλαίου ήταν το κριτήριο επιλογής των 4 δειγματοληπτικών θέσεων. Σε κάθε δειγματοληψία συλλέχθηκαν συνολικά 12 δείγματα, από την είσοδο έως το εσωτερικό του σπηλαίου. Σε κάθε θέση, μετρήθηκαν αβιοτικές παράμετροι (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτοσυνθετικώς ενεργή ακτινοβολία) και συλλέχθηκε υλικό, μέρος του οποίου διατηρήθηκε σε φορμόλη και το υπόλοιπο αναπτύχθηκε στο εργαστήριο, σε κατάλληλες συνθήκες και κατάλληλο θρεπτικό διάλυμα (BG11). Μετά από μικροσκοπική παρατήρηση φυσικού και καλλιεργημένου υλικού προσδιορίστηκαν περίπου 30 είδη, με επικράτηση των κοκκοειδών και απλών νηματοειδών μορφών. Διαπιστώθηκε ότι, μορφολογικές αποκλίσεις από την τυπική περιγραφή παρουσίαζαν 5 είδη ενώ, 2 είδη δεν κατέστη δυνατόν να ταυτοποιηθούν με βάση την υπάρχουσα βιβλιογραφία, παρά την ανάπτυξη τους σε καλλιεργητικό μέσο (BG11). Συγκεκριμένα, το ταξινομικό αυτό πρόβλημα αφορά στους μορφότυπους *Pseudanabaena* sp. και *Nostoc* sp. και για την επίλυση του, απαιτείται η μελέτη της ταξινομικής τους θέσης με τη χρήση μοριακών τεχνικών. Μεταξύ των ευρεθέντων ειδών είναι και τα *Chroococcidiopsis kashayi* και *Pseudanabaena spelaea* που αναπτύσσονται αποκλειστικά σε σπήλαια, ενώ τα υπόλοιπα κυανοβακτήρια συναντώνται σε ποικίλα λιθόβια διυγρυνόμενα ενδιαιτήματα. Η κυανοβακτηριοχλωρίδα του σπηλαίου Νταβέλη (30 είδη) συγκρινόμενη με εκείνη (22 είδη) του επίσης μη αξιοποιημένου και παρομοίων διαστάσεων σπηλαίου Λεοντάρι (Υμηττός, Αττική) παρουσιάζει μεγαλύτερη ποικιλότητα και μόνο 5 είδη κοινά.

CYANOBACTERIA FROM CAVE NTAVELI (PENTELI MOUNTAIN) DIVERSITY- ECOLOGY

Christodoulou Maria, Lamprinou Vasiliki, Pantazidou Andriani
University of Athens, Faculty of Biology, Department of Ecology and Systematics,
Panepistimiopolis 15701, Athens

The aim of the present work is the study of the cyanobacteria of the non-exploited cave Ntaveli. These photosynthetic prokaryotes can be found all over the world and consist the dominant group of photosynthetic microflora in caves and hypogean ecosystems in general. Samples were collected during a survey in three campaigns. Four sampling sites, from the entrance to the interior of the cave, were selected based on the presence of distinct, variously colored, developments of cyanobacteria on the decoration and the limestone rocks. In every campaign 12 samples were collected. At every sampling site abiotic parameters (temperature, relative humidity, Photosynthetic Active Radiation) were measured. The collected material was partly fixed with formaldehyde solution 2.5% and partly kept alive for culturing in laboratory conditions using the suitable culture medium (BG11). Approximately 30 species were identified after microscopic observation of both natural and cultured material, with chroococcalean and oscillatoriacean been the dominant morphotypes. It was found that 5 species show morphological deviations from their typical description, while 2 other species could not be identified based on the existing literature, despite their growth in appropriate medium (BG11). This taxonomic issue refers to the morphotypes *Pseudanabaena* sp. and *Nostoc* sp. In order to resolve the problem the use of molecular techniques is necessary. Among the identified species were also found *Chroococcidiopsis kashayi* and *Pseudanabaena spelaea* that develop exclusively in caves, while the other cyanobacteria are usually known from wet rocks. The cyanoprokaryotic microflora (30 species) of the cave Ntaveli shows greater diversity (22 species) than the one of the also non-exploited and of similar size cave Leontari (Hymmetos mountain, Attica). Only 5 species were found in common between these two caves.

**ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΗΝ
ΛΕΚΑΝΗ ΑΠΟΡΡΟΗΣ ΤΟΥ ΟΛΥΝΘΙΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ
(ΧΑΛΚΙΔΙΚΗ)**

Μ. Μαργαρίτης¹, Π. Δαουλιτζής²

1 ΑΠΘ, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας

2 ΑΠΘ, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Γεωλογίας,

Σκοπός της μελέτης είναι η εφαρμογή της ευρωπαϊκής Οδηγίας 2000/60/ΕΚ για την εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας των επιφανειακών ρέοντων υδάτων του Ολύνθιου ποταμού, μέσω φυσικοχημικών, υδρομορφολογικών και βιολογικών στοιχείων. Η λεκάνη του ποταμού χωρίζεται στα δύο, καθώς το βόρειο τμήμα καλύπτεται από δάση και ημιφυσικές περιοχές ενώ το νότιο από αγροτικές (Corine Land Cover, 2000).

Η απεικόνιση των χωρικών δεδομένων στην περιοχή μελέτης έγινε με τη χρήση των Γεωγραφικών Συστημάτων Πληροφοριών (ArcGis 9.3.1). Ο χαρακτηρισμός των τύπων του υδρογραφικού δικτύου έγινε με το Σύστημα Β (Οδηγία – Πλαίσιο) και σε συνάρτηση με τις ανθρωπογενείς πιέσεις στην περιοχή προέκυψαν επτά σταθμοί δειγματοληψίας, (Αγία Παρασκευή, Παλαιόκαστρο, Βατόνια, Καβρόλακας, Λουζίκι, Ανάντη και Κατάντη Σκατόλακα). Στους 7 σταθμούς έγινε συλλογή βενθικών μακροασπονδύλων (Μάιος 2010) με τη μέθοδο «3 λεπτών λακτίσματος – σάρωσης», υπολογίστηκε ο δείκτης τροποποίησης (HMS), οι φυσικοχημικές παράμετροι μετρήθηκαν στο πεδίο, ενώ οι συγκεντρώσεις ιόντων του νερού προσδιορίστηκαν στο Διαβαλκανικό Κέντρο Περιβάλλοντος. Η οικολογική ποιότητα των υδάτων σύμφωνα με το Ελληνικό Σύστημα Αξιολόγησης (ΕΣΑ) χαρακτηρίστηκε ως «καλή» μέχρι την περιοχή του Πολυγύρου, ενώ πριν τον Σκατόλακα υποβαθμίζεται σε «μέτρια» και μετά σε «ελλιπής». Ο μέσος δείκτης τροποποίησης κατάταξε το ποτάμι στη κατηγορία “σχεδόν φυσικό – μικρή τροποποίηση”, ενώ από τις φυσικοχημικές παράμετροι μόνο οι συγκεντρώσεις των ιόντων φωσφόρου είναι πάνω από τα όρια σε δύο σταθμούς. Η στατιστική επεξεργασία των βιολογικών παραμέτρων έγινε με τη μη ιεραρχική ομαδοποίηση Fuzzy, όπου ο κάθε σταθμός κατηγοριοποιήθηκε σε διαφορετική ομάδα, λόγω της ανανέωσης από παραποτάμους, καθώς οι σταθμοί δειγματοληψίας ήταν ανάντη και κατάντη των συμβολών παραποτάμων. Το υδατικό ισοζύγιο της λεκάνης απορροής υπολογίστηκε ως ελλειμματικό με δεδομένα των μετεωρολογικών σταθμών του Αγίου Μάμα, του Πολυγύρου και του Αγίου Προδρόμου.

ECOLOGICAL WATER QUALITY AND MANAGEMENT AT OLINTHIOS RIVER BASIN (CHALKIDIKI)

M. Margaritis¹, P. Daoultzis²,

*1 Aristotle University, Faculty of Science, School of Biology, Department of
Zoology*

2 Aristotle University, Faculty of Science, School of Geology

The purpose of this study is to implement European Directive 2000/60/EC on the assessment of ecological quality of surface water in the river Olinthios (Chalkidiki), via physicochemical, hydromorphological and biological data. The river basin of Olinthios is separated at Poligiros area and is covered by forests and semi-natural areas at north and rural areas at south (Corine Land Cover, 2000).

Geographic Information Systems (ArcGis 9.3.1) were extensively used in order to visualise the data that collected and recorded in the study. The identification of the types of hydrographic network was by the System B (Directive - Framework) and in connection with human pressures obtained seven sampling stations (Agia Paraskeui, Palaiokastros, Vatonia, Kavrolakas, Louziki and Upstream and Downstream Skatolakas). At 7 stations were collected benthic macroinvertebrates (May 2010) using the “3 minutes kick and swipe”, the index HMS was calculated, the physicochemical parameters were measured in the field and the ion of water were estimated in the Balkan Environment Center. The ecological quality of waters identified with the Greek Evaluation System (HES) and characterized as “good” until Poligiros area, whereas before Skatolakas station is downgraded to “moderate” and after to “poor”. The HMS index categorized the river as “semi-natural” and the physicochemical parameters are under limits except to phosphorous ions in two stations. Statistical analysis of biological parameters was conducted throw Fuzzy, where each station is categorized into different group, because of the continuous renewal from streams and all sampling stations are in stream junction. The water balance of the basin was calculated as “poor” using data of meteorological stations Agios Mamas, Poligiros and Agios Prodromos.

EYPETHPIO

A-Z

Alakhras R.	8
Al-Abed Y.	218
Baier A. 30, 68	30, 68
Borges P.A.V. 204	202
Courty J.	216
Crespo L.Pereira F.	202
Gantz D.L.	260
Grimm S.	86
Grune T.	86
Heizmann B.	148
Hobeika E.	14
Höhn A.	86
Infantino S.	148
Kolaitis R.-M.	68
Kunkel T.	282
Lehr S.	94
Leicht D.	14
Levit E.	14
Mahn M.	282
Marec F.	220
Planas J.V.	98
Pereira F.	202
Quader H.	160
Rego C.	202
Reth M.	14, 148
Schäfer E.	282,
Sichova J.	220
Szyszk R.	30, 68
288	
-A-	
Αγγελή Ι.Κ.	66, 80, 84
Αγιαννιτόπουλος Κ.	206
Αδαμάκης Σ.Ι.Δ.	2, 4, 334, 336, 340
Αϊδινίδου Α.	6
Αλεξίου Κ.	10
Αλεπόρου-Μαρίνου Β.	138
Αναγνωστόπουλος Α.Κ.	314
Αναστασιάδου Χ.	232
Αναστασίου Θ.	12
Αναστασοπούλου Β.	14

Αναστοπούλου Ι.	16
Ανδρεά Α.	18
Ανέστης Α.	228
Ανεστόπουλος Ι.	20
Αντωνέλου Μ.	328
Αντωνίου Γ.	22
Αντωνοπούλου Ε.	98, 324
Αποστολάκος Π.	160
Αποστόλου Α.	298
Αποστόλου Π.	24
Αρβανιτίδης Χ.	12
Αργυρίδης Ν.	122
Αρδαβάνης Α.	304
Αυγουστάτος Δ.	26
Αυτζή Χ.	28
-B-	
Βαλάκος Ε.Δ.	54, 132
Βαλλή Α.-Θ.	32
Βαρβέρης Θ.Θ.	34, 36, 146
Βαρδάκη Ι.	38
Βαρθολομαίου Ε.	40
Βαρθολομάτος Γ.	174
Βασιλειάδης Σ.	134
Βασιλόπουλος Γ.	178
Βαφειάδου Α.	42
Βεκρέλλης Κ.	188
Βελέντζας Α.Δ.	236
Βελέντζας Π.Δ.	236
Βελετζά Σ.	22, 116
Βιδάλης Κ.	264
Βικάτου Ε.	44
Βλαντή Α.	276
Βλαστός Δ.	292
Βλαχάκη Κ.	118
Βλαχονάσιος Κ.	310, 332
Βουγάς Κ.	314
Βουδούρης Κ.	214
Βουλγαρίδου Γ.-Π.	46
Βούρβου Ε.	196
Βούρκα Αικ.	92
Βουτσάς Ι.	272

Βράσκου Γ.	98		
Βώκου Δ.	144, 184, 194, 210	-E-	
		Ελευθερίου Π.Ε	2, 4, 334, 336, 340
-Γ-		Ευαγγελόπουλος Α.	146
Γαϊτανάκη Κ.	66, 80, 84		
Γαλάνης Α.	118, 222	-Ζ-	
Γαλάτης Β.	160	Ζαννής Β.Ι.	260
Γαλάτου Ε.	48	Ζαφειρίου Ε.	178
Γαληνού-Μητσούδη Σ.	76	Ζαχαράκη Π.	82
Γερακούδη Ε.	264	Ζηκάκη Κ.	84
Γερόπουλος Α.	50	Ζίφα Α.	110, 316
Γεωργίου Ι.	254	Ζου Ζ.	168
Γεωργολόπουλος Γ.	52	Ζούρος Ε.	152
Γιάγκου Μ.	280	Ζώης Χ.	20
Γιαννακοπούλου Ε.	54		
Γιαννακού Χ.	56	-Η-	
Γιανναπάς Μ.	58	Ηλιάκη Κ.Η.	86
Γιαννέλου Π.Κ.	60	Ηλιόπουλος Κ.	16, 182
Γιάννης Α.	168		
Γιαννούκας Α.	22	-Θ-	
Γιώβος Ι.	62	Θάνος Δ.	88
Γκάνιας Κ.	62, 64, 234	Θάνος Κ.	90
Γκένας Χ.	342	Θεοδωροπούλου Μ.Κ.	106, 154, 158, 208
Γκιώκας Σ.	132	Θεοφανούδη Α.	92
Γκόνου Ε.	66		
Γκριτζάκης Α.	272	-Ι-	
Γολεγού Ε.	68	Ιατρού Γ.	32
Γουργουλιάνης Κ.Ι.	338	Ιμσιρίδου Α.	76
Γραμματικόπουλος Γ.	240	Ίτζιου Αικ.	200
		Ιωαννίδης Ε.	40
		Ιωάννου Κ.	72, 216,
-Δ-			
Δαβή Β.	320	-Κ-	
Δαμουλάκη Α.	70	Κάβο Α.	94
Δάνα Ε.	72	Καϊτετζίδου Ε.	98
Δασκαλοπούλου Δ.	76	Κακάσης Σ.	100
Δασκαλοπούλου Ε.	74	Καλαθάκη Μ.	102
Δημητρακόπουλος Π.	78	Καλαμπόκη Λ.	104, 302
Δημητριάδης Β.Κ.	200, 270	Καλδής Α.	310, 332
Δημητριάδης Χ.	34	Καλντρεμτζίου Μ.	106
Δημόπουλος Ν.Α.	8, 82	Καλογιάννη Μ.	142
Δρακουλιά Α.	80	Καλπαξής Δ.Λ.	96, 156, 268
Δροσοπούλου Ε.	40, 126, 140, 220		
Δρούζας Α.	52, 108, 300		

Καμηνιώτη Α.	108		246, 306,
Καμίδης Ν.	284		326
Καμπούρης Ι.	110	Κουρέτα Μ.	134, 136
Καπράνος Ν.	272	Κουρέτας Δ.	298
Καραγιαννακίδου Β.	56	Κουρκουτάς Ι.	222
Καραγιαννίδου Θ.	112	Κουσιδίου Ε.	324
Καραδήμου Γ.	2	Κούσκου Μ.	138
Καραμολέγκου Μ.Η.	114	Κουσκούκης Α.	314
Καρανικόλα Κ.	116	Κουσουλάκος Σ.	198, 244
Καραπέτσας Α.	118, 222	Κούστας Ευ.	66
Καραχάλιου Χ.	72	Κουτράκης Μ.	74, 284
Καρνής Λ.	120	Κουτσίδου Μ.	140
Καρπαθάκη Α.Φ.	258	Κουτσογιαννάκη Σ.	142
Κάρτα Ε.	42	Κουτσουνίκου Χ.	144, 162
Καρύδας Θ.	122	Κουτσούμπας Δ.	34, 146
Κατσαρές Β.	76	Κραββαρίτη Λ.	152
Κατσιάπη Μ.	92	Κρασγαάκη-Κρύγκερ Σ.	178
Κατσιμάρδος Γ.Δ.	124	Κρίγκας Ν.	194, 210
Κατσώρης Π.	216	Κρίκκη Ι.	148
Κερμελιώτου Α.	298	Κρικώνη Σ.	150
Κερσελίδου Δ.	126	Κρικώνας Κ.	40
Κισκήρα Χ.	182	Κυζιρίδου Μ.	46
Κίτσος Μ.-Σ.	50	Κυπαρίσσης Α.	240
Κλαουδάτος Σ.	264	Κυπραίος Κ.Η.	94, 260
Κοίλιας Χ.	44, 182	Κυριακού Ε.	152
Κοκκίνη Σ.	108	Κυριακού Ε.Ι.	26
Κοκκόσης Α.	26	Κωνσταντοπούλου Μ.	162
Κόκολη Φ.	128	Κωστής Β.Δ.	154
Κόλλια Π.	138	Κωστομητσόπουλος Ν.	198, 226
Κομητοπούλου Κ.	252, 312	Κωστοπούλου Ο.Ν.	96, 156
Κόνσουλας Χ.	150		
Κονταλή Μ.	322	-Α-	
Κοντζέ Ε.	264	Λαβίδας Η.Δ.	158
Κοντογιάννης Δ.	130	Λαζαρίδης Μ.	22
Κορκολοπούλου Π.	180	Λαζαρίδου Μ.	92
Κορομηλά Θ.	138	Λάζου Α.	48, 212
Κοτσακιάζης Π.	132	Λάμνησου Κ.	206
Κοτσανίδης Ι.	136	Λάμπρη Π.Ν.	202
Κοτταρά Α.	280	Λάμπροθ Μ.	338
Κουβάτση Α.	112, 320	Λαμπρινού Β.	344
Κουβέλης Β.Ν.	224	Λαμπροπούλου Μ.	134, 136
Κουγιανού-Κουτσούκου Σ.	30, 68	Λεονάρδος Ι.Δ.	74, 128,
Κουγιουμτζίδου Κ.	92		176, 232,
Κουκουράκης Μ.	20		284, 296,
Κούκουρας Α.	12, 50,		342
		Λεοντής Α.	60

Λιακούλη Ζ.	180	Μαυροφρύδη Ο.	190, 192
Λιάπη Ε.	80	Μαχαίρα Λ.	272
Λιάσκο Ρ.	176	Μεγαλοφώνου Π.	308
Λιβανίου Ε.	72	Μελαχροινού Κ.	188
Λιβανός Π.	160	Μελισσά Π.	334
Λιναρδάκη Ζ.	26	Μεντέλη Β.	194
Λιούλια Ε.	144, 162	Μερμελέκας Γ.	196
Λιούσια Β.	128, 296	Μεσσήνη Μ.	44
Λούκα Μ.	138	Μεταξάκης Μ.	146
Λούρος Ν.Ν.	164	Μηνά Δ.	198
Λυμπεράκης Π.	166	Μητσιώνη Α.Γ.	254
Λυράκη Ρ.	30	Μίνος Γ.	122, 264
		Μιχαλίδης Β.	228
		Μιχαλίδου Κ.	304
		Μοναστηριώτης Χ.	116
		Μοσχοβάκη-Φιλιππίδου Φ.	200
		Μουρίκη Μ.	44
		Μουρίκης Α.	202
		Μουστάκα Μ.	92
		Μουτόπουλος Δ.Κ.	202
		Μπαγιάτης Β.	178
		Μπάγκος Π.Γ.	106
		Μπαζιώτη Γ.	144
		Μπακαλιγιάννη Α.	206
		Μπάκου Β.Ε.	236
		Μπαλατσός Ν.Α.	338
		Μπαλτούμας Φ.Α.	208
		Μπάντη Α.	210
		Μπαξεβάνης Κ.	272
		Μπαρλάκα Ε.	212
		Μπατζάκας Ι.Ε.	34, 36, 146
		Μπέης Ι.	66, 80, 84
		Μπέτζιου Μ.	214
		Μπίρμπας Χ.	216
		Μπιρμπίλης Α.	218
		Μποζατζή Π.	94
		Μποζιάρης Ι.Σ.	100
		Μπόμπορη Δ.	28, 34, 42, 256
		Μπορμπόλης Φ.	276
		Μπουγιούκου Α.	198
		Μπούμπα Ι.	254
		Μπρουζιώτης Θ.	92
		Μωυσίδης Κ.	40
-Μ-			
Μαβίδης Μ.	50		
Μαγγίνας Α.	206		
Μαδεμτζόγλου Δ.	144, 162		
Μαζαράκη-Αινιάνος Ζ	168		
Μακρή Σ.	40		
Μακρής Α.	170		
Μαλαμίδου Α.	134, 136		
Μαλτέζος Ε.	116		
Μαμούρης Ζ.	110, 178, 286, 316		
Μαντά Α.Κ.	172		
Μάντζιου Σ.	174		
Μάντζο Θ.	46		
Μαντζώρου Δ.	176		
Μανώλης Σ.Κ.	16, 44, 182		
Μανώλικά Ε.Μ.	178		
Μαραβελής Γ.	180		
Μαραγκοζίδης Π.	338		
Μαράκη Αικ.	182		
Μαργαρίτη Μ.	26		
Μαργαρίτη Χ.	184		
Μαργαρίτης Λ.Χ.	150, 172, 198, 226, 236, 244, 314		
Μαρκόπουλος Γ.	174		
Μαρκούλη Χ.	186		
Μαρτζούκου Ο.	188		
Ματάκος Α.	298		
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π.	144, 162, 220		
Μαυροειδή Π.	190		

-N-		Παπαζαφείρη Π.	188, 190, 192
Νάκου Ι.	220	Παπαθεοδώρου Ε.	184
Νικολάου Α.	222	Παπαμεντζελόπουλος Σ.	206
Νικολαρόπουλος Σ.Σ.	8	Παπανάγνου Ε.Ε.	244
Νικολοπούλου Π.	92	Παπάνας Ν.	116
Νίνου Ι.Β.	244	Παπαντωνάτος Ι.	146
Νουτσόπουλος Δ.	174	Παπαπετρόπουλος Α	168
Νταϊλιάνης Σ.	58, 120, 322	Παπασιδέρη Ι.Σ.	38, 86, 180, 236, 328
Ντάκης Α.	232	Παπασωτηρίου Ι.	24
Ντερτιλή Μ.	224	Παπουτσή Δ.	112
Ντζούνη Μ.Π.	226	Παππά Α.	20, 46, 134
Ντίνα Ό.-Μ.	320	Παππά Κ.Μ.	18, 70
Ντόκου Α.	228	Παρασκευοπούλου Σ.	246
Ξηρογιαννοπούλου Π.	54	Παρλαπάνη Φ.	100
Ξυλούρη Μ.	188	Παρμακέλης Α.	132, 202, 248
-Ο-		Παρωνίδης Π.	250
Οικονομίδου Β.Α.	60, 114, 164, 330	Παρώνης Ε.	218
Οικονόμου Α.	230	Πασπαλτσής Γ.	186
Οικονόμου Αν.	232	Πατέρα Σ.	22
Ορφανίδης Γ.	214	Πατετσίνη Ε.	214
Ορφανίδης Σ.	234	Πατσατσή Α	178
-Π-		Πατσούρης Ε.	38, 180
Πάλλιου Ε.	38	Παυλίδου Θ.	144
Πανά Ε.	214	Παφίλης Π.	54
Παναγιωτίδης Γ.-Δ.	46	Περράκη Λ.	252
Παναγιωτίδης Μ.	20	Πετρίδη Σ.	254
Πανταζή Α.Δ.	236	Πετρίκη Ο.	28, 256
Πανταζίδου Α.	344	Πετροπούλου Π.Α.	260
Πανταζοπούλου Β.	238	Πετροπούλου Χ.	258
Παντελέρη Ρ.	162	Ποιμενίδης Ε.	262, 318
Παντερής Εμμ.	2, 4, 336	Πομάκης Ν.	264
Παντζαρτζή Χ.	40, 126, 140, 280	Πορλού Δ.	266
Παπαγεωργίου Α.	300	Πουνάρας Σ.	110, 338
Παπαδάκη Μ.	292	Πράττης Ι.	40
Παπαδάκη Σ.	240	Πυθαροπούλου Σ.	268
Παπαδημητρίου Κ.	316	Πωπέρ Μ.	4
Παπαδόπουλος Α.Ι.	6, 186	-Ρ-	
Παπαδόπουλος Ν.	252, 312	Ραλλίδης Λ.	94
Παπαδοπούλου Α.	314	Ραφτοπούλου Ε.Κ.	270
Παπαδοπούλου Ν.	242	Ρεκλός Ι.	272

Ρεντζή Μ.	250, 274	Στεφάνου Γ.	8, 82
Ριζοπούλου Σ.	282	Στεφανούδης Π.Β.	306
Ροδάκης Γ.Κ.	152	Στραβοπόδης Δ.Ι.	236
Ρουσάκης Α.	276	Συμεών Ε.	308
Ρούσκας Κ.	320	Συμεωνίδου Α.	310
Ρουσσάκη-Σούλτσε Α.Β.	178	Συντυχάκη Π.	276
Ρούσσης Α	278	Συρανίδου Ε.	246
		Σωτηριάδης Δ	178
-Σ-		-Τ-	
Σαγώνας Κ.	54	Ταμπακοπούλου Β.	312
Σαέττα Α.	38, 180	Ταρασλιά Β.	314
Σακελλαρίου Σ.	38, 180	Τερζενίδου Μ.	110, 316
Σάκουλα Δ.	280	Τζαβάρας Θ.	174
Σαμαρά Π.	72, 218	Τζοβάρας Α.	304
Σανδαλτζόπουλος Ρ.	118	Τζώμος Θ.	306
Σαξάμη Γ.	222	Τιπτιρή-Κουρπέτη Α.	262, 318
Σαπλαούρα Ε.	282	Τολούδη Μ.	24
Σαπουνίδης Α.	284	Τόσκα Α	178
Σαραφίδου Θ.	178, 286	Τούλης Β.	112, 320
Σαρρή Κ.	286	Τριάντης Κ.	202
Σαχίνη Ν.	316	Τρουγκάκος Ι.Π.	86, 172, 328
Σιαμοπούλου-Μαυρίδου Α.	254	Τρυπιάνης Γ.	116
Σιδεράς Π.	290	Τσάγκαρης Γ.Θ.	314
Σίδερης Δ.	168	Τσακίρη Ε.Ν.	86, 172, 328
Σιδηρά Μ.	222	Τσαρπαλή Β.	322
Σιμόπουλος Κ.	22, 134, 136, 318	Τσέργα Α.	38
Σιώμου Α.	254	Τσεργά Ε.	324
Σκορίλας Α.	304	Τσέρτου Μ.Ι.	326
Σκούρας Ζ.Γ.	40, 126, 1	Τσίκληρας Α.	10, 74, 266
Σκουτέλης Χ.	292	Τσικρικά Π.	94,
Σκούφας Γ.	62, 64, 294	Τσιλίδου Ν.Ι.	328
Σούλη Κ.	296	Τσιολάκη Π.Λ.	330
Σοφianoπούλου Β.	238	Τσιρίκα Α.	294
Στάγκος Δ.	298	Τσιριπίδης Ι.	56, 300
Σταθοπούλου Χ.	250, 274	Τσιρώνη Α.	276
Στάικου Α.	250, 274	Τσιτσιλώνη Ο.	14, 72, 148, 218, 272
Σταματάκης Α.	198	Τσιφτσής Σ.	56
Σταμάτης Κ.	286	Τσιώλη Π.	38, 180
Σταμέλλου Σ.	300	Τσομπάνη Δ.	332
Σταμοπούλου Α.	302	Τσούμας Δ.	26
Στεργίου Κ.Ι.	204		
Στεφανής Λ.	188		
Στεφανοπούλου Π.	304		

Τσούπρας Α.Β.	70	Χαλυβοπούλου Π.	110
Τύπας Μ.Α.	224	Χαμόδρακας Σ.Ι.	6, 60, 114, 124, 154,158, 164, 208, 330
-Υ-			
Υψηλάντης Π.	318	Χανουμίδου Κ.	336
-Φ-		Χαντζηανδρέου Η.	38
Φάτσιου Μ.	334	Χαρουτουνιάν Σ.	298
Φερλέμη Α.Β.	26	Χατζηγεωργίου Γ.	110,316
Φλυτζάνης Κ.Ν.	104, 258, 302	Χατζηιωάννου Μ.	24
Φραγκοπούλου Α.Φ.	198	Χατζηλεοντιάδου Δ.	338
Φριλίγγος Σ.	196	Χατζηφώτης Σ.	324
Φωτόπουλος Μ.	216	Χεριανίδου Α.	340
Φωτοπούλου Α.	272	Χλίχλια Κ.	134, 136, 262, 318
		Χριστοδουλάκη Α.	342
		Χριστοδούλου Μ.	344
		Χριστοδούλου Μαγ.	12, 50, 246, 326
-Χ-			

