Ελληνική Εταιρεία
Βιολογικών Επιστημών

35^{0} Επιστημονικό Συνέδριο

35th ANNUAL CONFERENCE

ΠΡΑΚΤΙΚΑ - PROCEEDINGS

Ναύπλιο 23-25 Μαΐου 2013 Nafplio May 23-25 2013



Υπό την αιγίδα των Πανεπιστημίων,Αθηνών, Θεσσαλονίκης, Ιωαννίνων και Πατρών

Η σελίδα αυτή δεν τυπώνεται

1ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

HELLENIC SOCIETY FOR BIOLOGICAL SCIENCES

35ο ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
35th ANNUAL CONFERENCE

ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

23-25 Μαΐου 2013

May 23-25, 2013

ΝΑΥΠΛΙΟ
NAFPLIO

ΕΚΔΟΤΗΣ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
Πρόεδρος: Αν. Καθηγητής Σπυρίδων Ευθυμιόπουλος
Γραμματεία: Επίκουρος Καθηγήτης Παναγιώτης Παφίλης
Διεύθυνση: Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15784 Πανπιστιμιόπολη
Ιλισια, Αθήνα. Τηλ. 2107274544 ,FAX: 2107274622

E-mails

Πρόεδρος: Σ. Ευθυμιόπουλος (**efthis@biol.uoa.gr**)
Αντιπρόεδρος: Α. Λάζου (**lazou@bio.auth.gr**)
Γεν. Γραμματέας: Π.Παφίλης (**ppafil@biol.uoa.gr**)
Ειδ. Γραμματέας: Σ. Νταϊλάνης (**sdailanis@upatras.gr**)
Ταμίας: Σ.Κ. Μανώλης (**smanol@biol.uoa.gr**)
Μέλη: Λ. Μαργαρίτης (**lmargar@biol.uoa.gr**)
Ι. Λεονάρδος (**ileonard@cc.uoi.gr**)

Πληροφορίες: **eebe-2008@biol.uoa.gr**

Ιστοσελίδα: **http://www.eebe/gr/**

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2013

ΧΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

INTERXPO LTD
DIOPHAR A.E.
ALMI TANKERS S.A.
ΔΗΜΟΣ ΝΑΥΠΛΙΑΙΩΝ
ΕΚΔΟΣΕΙΣ Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ

Διοικητικό Συμβούλιο ΕΕΒΕ (2012-2014)
Hellenic Society for Biological Sciences Board

Πρόεδρος:	**Σ. Ευθυμιόπουλος**
Αντιπρόεδρος:	**Α. Λάζου**
Γεν. Γραμματέας:	**Π.Παφίλης**
Ειδ. Γραμματέας:	**Σ. Νταϊλάνης**
(Ταμίας:	**Σ.Κ. Μανώλης**
Μέλη:	**Λ. Μαργαρίτης**
	Ι. Λεονάρδος

Οργανωτική Επιτροπή
(Organizing Committee)

Πρόεδρος: Ισίδωρος Μπέης
Μέλη :
Παναγιώτης Παφίλης
Αντιγόνη Λάζου
Σωτήρης Μανώλης
Σύλβια Παπαβασιλείου
Ευστράτιος Βαλάκος
Αθανάσιος Τσίκληρας
Ιωάννης Λεονάρδος
Στέφανος Νταϊλάνης

ΧΑΙΡΕΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ
Καθηγητή Ι.Δ. Μπέη

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Το 35° ετήσιο επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών διοργανώνεται φέτος στα Ναύπλιο, από 23 μέχρι 25 Μαΐου 2013. Το Ναύπλιο επιλέχθηκε ως τόπος διεξαγωγής του Συνεδρίου, γιατί αφενός μεν διαθέτει την απαιτούμενη υποδομή και αφετέρου έχει πολλές ομορφιές φυσικές και δόμησης που κάνουν την 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 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 193. 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 35 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 1ο 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.
Τα ψηφιοποιημένα Πρακτικά όλων των προηγούμενων συνεδρίων μπορεί να τα βρει κάποιος στην ιστοσελίδα της Ε.Ε.Β.Ε. (http://www.eebe.gr), μαζί με τα Πρακτικά του 35ου Συνεδρίου.

Τα πρακτικά του συνεδρίου δίδονται σε ηλεκτρονική μορφή (CD) που επιμελήθηκαν ο Αν. Καθηγητής του Τμήματος Βιολογίας του Ε.Κ.Π.Α. κ. Ευστράτιος Βαλάκος και η Δρ. κ. Σ. Παπαβασιλείου. 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 10 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. Τέλος για πρώτη φορά φέτος καθορίστηκαν θεματικές ενότητες, όπου οι σύνεδροι μπορούν να εντάξουν την εργασία τους ανάλογα με το ερευνητικό τους αντικείμενο. Πιστεύουμε ότι αυτή η καινοτομία θα δώσει την ευκαιρία για καλύτερη επικοινωνία ανάμεσα σε ομάδες που δραστηριοποιούνται σε παρόμοια αντικείμενα.

Το Συνέδριο αρχίζει την Πέμπτη 23 Μαΐου στις 12.00 με τις εγγραφές των συνέδρων και την ανάρτηση των posters. Η 1η συνεδρία έχει προγραμματιστεί για τις 17.30 και οι συνεδρίες ολοκληρώνονται το Σάββατο 25 Μαΐου στις 20:30. Το συνέδριο θα πραγματοποιηθεί στο θέατρο Βουλευτικόν.

Εκ μέρους της Οργανωτικής Επιτροπής θα ήθελα να ευχαριστήσω το Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, το Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, το Πανεπιστήμιο Πατρών και το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,, υπό

την αιγίδα των οποίων διεξάγεται το συνέδριο, καθώς επίσης τον Δήμο Ναυπλιαίων 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 στο πανέμορφο Ναύπλιο και καλή επιτυχία σε όλους εκείνους που θα παρουσιάσουν τη δουλειά τους.

Ναύπλιο Μάιος 2013
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
Σύλβια Παπαβασιλείου

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

1

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΧΡΥΣΟΥ ΤΣΑΚΑΛΙΟΥ Canis aureus,Linnaeus 1758, ΣΤΟ ΝΗΣΙ ΤΗΣ ΣΑΜΟΥ

Dunford Carolyn, Trayler Amy, Γεώργιος Γιαννάτος, Αναστασία Μήλιου, Βασίλειος Αναγνώστου

/ Archipelagos, Institute of Marine Conservation, P.O. 42, Pythagorio, 83103, Samos, Greece - 2/ Biosphera, NGO company for the study and management of Natural and man-made environment, Aidiniou 40, Dafni, 17236, Athens

Η Σάμος είναι το τελευταίο νησί της Μεσογείου, που εξακολουθεί να φιλοξενεί ένα σημαντικό πληθυσμό τσακαλιού. Οι πληθυσμοί του είδους μειώθηκαν σημαντικά σε πολλά μέρη της Ελλάδας από τα τέλη της δεκαετίας του '70 μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του '90, ωστόσο έπειτα σταθεροποιήθηκαν και μάλιστα σε ορισμένες περιοχές αυξήθηκαν τοπικά. Κύριοι λόγοι για τη μείωση του πληθυσμού θεωρούνται η εντατικοποίηση της γεωργίας, η αλλαγή στις κτηνοτροφικές πρακτικές, καθώς και οι ηθελημένες θανατώσεις με τη χρήση δηλητηρίου. Οι υπάρχοντες, σποραδικοί, πληθυσμοί του τσακαλιού βρίσκονται κυρίως γύρω από παράκτιες και πεδινές εκτάσεις που δεν απέχουν πολύ από ανθρώπινους οικισμούς. Η συνεχιζόμενη έρευνα του Χρυσού Τσακαλιού στη Σάμο, πραγματοποιείται στο πλαίσιο έρευνας του Ινστιτούτου Θαλάσσιας Προστασίας «ΑΡΧΙΠΕΛΑΓΟΣ», με στόχο την εφαρμογή μέτρων για την προστασία της βιοποικιλότητας του ΒΑ Αιγαίου. Για την καταγραφή του πληθυσμού χρησιμοποιείται μια ακουστική μέθοδος, η οποία είναι ευρέως αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα για τη μελέτη του τσακαλιού. Οι σταθμοί μελέτης επιλέχθηκαν να έχουν ευρύ ακουστικό πεδίο και λίγα εμπόδια για τη μεγιστοποίηση της διασποράς και καθαρότητας του ήχου, ενώ η καταγραφή έγινε κατά τη διάρκεια της νύχτας, σε συνθήκες άπνοιας. Τα τσακάλια καταγράφηκαν κυρίως στην ανατολική πλευρά του νησιού, η οποία είναι ημιορεινή, με πυκνό αγροτικό πληθυσμό, με γεωργικές εκμεταλλεύσεις μικρής κλίμακας και εκτατική κτηνοτροφία αιγοπροβάτων. Δεν καταγράφηκαν τσακάλια σε υψόμετρο μεγαλύτερο των 600m, ενώ οι υψηλότερες πυκνότητες παρατηρήθηκαν σε υψόμετρο μεταξύ 100 και 200m. Λίγες ομάδες τσακαλιών καταγράφηκαν σε υψόμετρο χαμηλότερο των 50m,στη ΝΑ Σάμο κοντά σε υγρότοπους. Οι περισσότερες ομάδες που καταγράφηκαν (60%) βρίσκονταν σε απόσταση μεγαλύτερη από 1500m από οικισμούς, ενώ σπάνιες ήταν οι περιπτώσεις που καταγράφηκαν τσακάλια σε απόσταση μικρότερη των 500m. Συνολικά η μελέτη αυτή δίνει στοιχεία για 24 ομάδες τσακαλιού το 2011 και 28 ομάδες το 2013, ενώ η πρώτη έρευνα για τον πληθυσμό στη Σάμο έδωσε μια εκτίμηση 13-20 ομάδων την περίοδο 2001-2003. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι ο πληθυσμός του τσακαλιού στο νησί της Σάμου έχει αυξηθεί. Λέξεις Κλειδιά: Τσακάλι, Μεσόγειος, Σάμος

EXAMING THE POPULATION STATUS AND DISTRIBUTION OF THE GOLDEN JACKAL Canis aureus,Linnaeus 1758, ON SAMOS ISLAND

Dunford Carolyn[1], TraylerAmy[1], Georgios Giannatos[2], Anastasia Miliou1, Vasileios Anagnostou[1]

1/ Archipelagos, Institute of Marine Conservation, P.O. 42, Pythagorio, 83103, Samos, Greece - 2/ Biosphera, NGO company for the study and management of Natural and man-made environment, Aidiniou 40, Dafni, 17236, Athens

Samos is the last Mediterranean Island that still hosts a sizeable Golden Jackal population .The species was on decline in many parts of Greece from late 70s until early '90s however it was stabilized after that and even increased locally. Reasons for decline considered agriculture intensification, change of animal husbandry and extensive use of poison to control varmint species. The existing fragmented jackal populations are based largely around coastal and lowland areas not far from human settlements. This study of the Golden Jackals of Samos, is part of the on-going research by Archipelagos Institute of Marine Conservation, aiming at measureapplications for the conservation of the biodiversity of the NE Aegean. For this research a widely accepted acoustic method of census was used for surveying the species population. Broadcast stations were selected with open vantage points and few obstructions to maximise sound dispersal and clear, windless nights were strongly favoured for surveys. The jackals are found mostly on the eastern side of the island which is less mountainous, has higher rural human population, low intensity but widespread agriculture and widespread small stock raising. No jackal groups have been recorded at more than 600m asl and the highest population densities were recorded between 100m and 200m asl altitude range. Some jackals were found below 50m asl in the southeast of the island near wetlands. Most groups (60%) were recorded over 1500m away from settlements while jackal groups closer than 500m were exceptional. Overall, this study gives evidence for 24 groups in 2011 and an estimate of 28 territorial groups in 2013 while the first survey for species in 2001-3 gave an estimation of 13 -20 groups. The results of the survey therefore show that the population of the Golden Jackal is increasing on the island of Samos. Key Words: Jackal, Mediterranean, Samos

ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΝΔΙΑΙΤΗΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΕΝΗΛΙΚΑ ΚΑΙ ΝΕΑΡΑ ΑΤΟΜΑ ΤΟΥ ΚΟΙΝΟΥ ΧΑΜΑΙΛΕΟΝΤΑ Chamaeleo chamaeleon, Linnaeus 1758, ΣΤΗ ΣΑΜΟ

Thornton Hazel, Pieters Elise, Lhubert Marie, Otaegi Enara, Μήλιου Αναστασία
Archipelagos, Institute of Marine Conservation, P.O. 42, Pythagorio, 83103, Samos, Greece

Samos Island, in the eastern Aegean, is the only part of Greece to support known populations of Common chameleon (Chamaeleo chamaeleon). Despite being listed as a priority species by the European Community Habitats Directive, C. chamaeleon face a plethora of threats, of which habitat destruction is one of the most significant. With C. chamaeleon known to show an ontogenetic habitat shift, this study focuses on the vegetation preference exhibited by adult and juvenile C. chamaeleon. The survey area covered 13741m2 and consisted of riverbed and semi-agricultural habitats. There were 42 surveys conducted during the course of 1 year. Perch vegetation was recorded for each individual, along with GPS coordinates and morphometric measurements, including snout-vent length (SVL). A total of 133 C. chamaeleon individuals, consisting of 62 adults (SVL range: 6.7-14.9 cm) and 71 juveniles (SVL range: 3-6 cm), were observed perching on 16 different plant species. Within this stable population the two age classes showed a significant difference in vegetation preference. Whilst adult chameleons showed preference for trees, such as Platanus orientalis, juveniles preferred bushes, such as Rubux fructicosus. Abundance of adult and juveniles also fluctuated seasonally. 56% of the adults were observed during summer, with none in spring. Contrastingly, 45% of the juveniles were observed in autumn and spring, with only 8% observed during summer. From these results, it is clear that the C. chamaeleon population on Samos island exhibits an ontogenetic habitat shift, whilst the continued habitat destruction on the island is expected to have a devastating effect on the population of C. chamaeleon.

HABITAT SELECTION OF ADULT AND JUVENILE COMMON CHAMELEON Chameleo chamaeleon, Linnaeus 1758, ON SAMOS ISLAND

Thornton Hazel, Pieters Elise, Lhubert Marie, Otaegi Enara, Miliou Anastasia
Archipelagos, Institute of Marine Conservation, P.O. 42, Pythagorio, 83103, Samos, Greece

Το νησί της Σάμου, αποτελεί τη μοναδική περιοχή της Ελλάδας όπου επιβιώνουν γνωστοί πληθυσμοί του κοινού Χαμαιλέοντα (Chamaeleo chamaeleon). Παρά το γεγονός ότι αναφέρεται ως είδος προτεραιότητας από την Ευρωπαϊκή Οδηγία περί Οικοτόπων (92/43/ ΕΟΚ), το είδος αυτό αντιμετωπίζει πληθώρα απειλών, από τις οποίες σημαντικότερη είναι η καταστροφή των βιοτόπων. Η μελέτη αυτή εστιάζει στο συσχετισμό ανάμεσα στα διάφορα είδη χλωρίδας όπου καταγράφονται τα ανήλικα και ώριμα άτομα. Η έρευνα επικεντρώθηκε σε ημι-γεωργικές εκτάσεις και σε κοίτη ποταμοχειμάρρου, καλύπτοντας συνολική έκταση 13741m2. Διεξήχθησαν 42 αποστολές σε ένα ετήσιο κύκλο δειγματοληψιών. Από κάθε αποστολή συλλέχθηκε δείγμα από το φυτό που καταγράφονταν το άτομο, καταγράφηκαν επίσης οι συντεταγμένες, καθώς και η βιομετρία του ατόμου. Το σύνολο των 133 ατόμων που μελετήθηκαν, περιελάμβανε 62 ενήλικα (εύρος μήκους: 6,7-14,9cm) και 71 ανήλικα άτομα (εύρος μήκους: 3-6cm), τα οποία καταγράφηκαν σε 16 διαφορετικά είδη φυτών. Οι δύο ηλικιακές κλάσεις έδειξαν σημαντική διαφορά στην προτίμηση του τύπου βλάστησης που επιλέγουν. Τα ενήλικα άτομα έδειξαν προτίμηση σε δενδρώδη βλάστηση όπως, το Platanus orientalis, ενώ τα νεαρά φάνηκε να προτιμούν θάμνους όπως, το Rubux fructicosus. Παρατηρήθηκε επίσης εποχιακή διακύμανση της δομής του πληθυσμού. Το 56% των ενήλικων ατόμων παρατηρήθηκαν το φθινόπωρο και την άνοιξη, ενώ μόνο 8% καταγράφηκε το καλοκαίρι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο πληθυσμός του C. chamaeleon στο νησί της Σάμου παρουσιάζει οντογενετικές μετατοπίσεις στους οικοτόπους, ενώ η συνεχιζόμενη υποβάθμιση των οικοτόπων στο νησί αναμένεται να προκαλέσει σημαντικές συνέπειες στον πληθυσμό του είδους.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΕΝΟΣ ΜΠΕΫΣΙΑΝΟΥ ΠΟΛΥΕΙΔΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΣΤΑ ΑΠΟΘΕΜΑΤΑ ΤΡΙΩΝ ΕΙΔΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΚΥΚΛΑΔΩΝ

Whitlock Rebecca [1], Αποστολίδης Χάρης [2], Μουτόπουλος Κ. Δημήτριος [3], Κωνσταντίνος Ι. Στεργίου [2], Mäntyniemi Samu [4]

1/Finnish Game and Fisheries Research Institute, Turku, Finland 2/Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα 3/Εργαστήριο Υδροβιολογίας και Αλιευτικής Διαχείρισης, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Μεσολογγίου, Μεσολόγγι, Ελλάδα 4/Fisheries and Environmental Management Group (FEM), Department of Environmental Sciences, University of Helsinki, Helsinki, Finland

Η Μεσογειακή αλεία χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεγάλου αριθμού ειδών και τη χρήση πολλών εργαλείων, αλλά ταυτόχρονα και από μικρή διαθεσιμότητα αλιευτικών δεδομένων. Συνεπώς, η χρήση όλης της διαθέσιμης πληροφορίας, χρησιμοποιώντας κατάλληλες μεθόδους, είναι σημαντική ώστε να βελτιωθούν οι προβλέψεις για την κατάσταση και τη δυναμική των ιχθυαποθεμάτων. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουμε την εφαρμογή ενός πολυειδικού Μπεϋσιανού μοντέλου πληθυσμιακής δυναμικής στα αποθέματα του μπακαλιάρου (Merluccius merluccius), του μπαρμπουνιού (Mullus surmuletus) και του σπάρου (Diplodus annularis) στην περιοχή των Κυκλάδων, με στόχο την εκτίμηση της κατάστασής τους. Το μοντέλο βασίστηκε σε διαθέσιμα αλιευτικά δεδομένα για την περίοδο μεταξύ 1950 και 2007 και εκ των προτέρων κατανομές πιθανοτήτων προερχόμενες από εξαγωγή της γνώσης των ειδικών και μετα-ανάλυση της δημοσιευμένης πληροφορίας. Συγκεκριμένα, η εξαγωγή της γνώσης των ειδικών χρησιμοποιήθηκε στην εκτίμηση εκ των προτέρων κατανομών πιθανοτήτων για τις παραμέτρους των σχέσεων αποθέματος-στρατολόγησης και της επιλεκτικότητας των αλιευτικών εργαλείων, ενώ οι εκ των προτέρων κατανομές πιθανοτήτων των βιολογικών παραμέτρων (π.χ. μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμανσης, παράμετροι αύξησης) βασίστηκαν στα αποτελέσματα μιας ιεραρχικής μετα-ανάλυσης των δημοσιευμένων εκτιμήσεων για τα μελετούμενα είδη στη Μεσόγειο. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα από την εφαρμογή του μοντέλου έδειξαν ότι όταν η φυσική θνησιμότητα διατηρήθηκε σταθερή τα αποθέματα του μπακαλιάρου και του μπαρμπουνιού μειώθηκαν. Όταν η φυσική θνησιμότητα εκτιμήθηκε από το μοντέλο τα αποθέματα και των τριών ειδών παρέμεναν σχετικά σταθερά σε σχέση με το χρόνο. Το συγκεκριμένο μοντέλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτόχρονη διερεύνηση των επιπτώσεων της εφαρμογής συγκεκριμένων διαχειριστικών μέτρων (π.χ. ρύθμιση της αλιευτικής προσπάθειας) στα τρία μελετούμενα είδη.

APLLICATION OF A BAYESIAN MULTISPECIES POPULATION DYNAMICS MODEL ON THE STOCKS OF THREE FISH SPECIES IN CYCLADES

Whitlock Rebecca [1], Apostolidis Charis [2], , Stergiou I. Konstantinos [2], Mäntyniemi Samu [4]
1/Finnish Game and Fisheries Research Institute, Turku, Finland 2/Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece 3/Laboratory of Hydrobiology and Fisheries Management, Department of Aquaculture and Fisheries Management, Technological Educational Institute of Mesolonghi, Mesolonghi, Greece 4/ Fisheries and Environmental Management Group (FEM), Department of Environmental Sciences, University of Helsinki, Helsinki, Finland

Mediterranean fisheries are multispecies, multigear and at the same time extremely data-poor. Hence, using all available information, by applying adequate methods, is important in order to improve predictions on fish stock status and dynamics. Herein, we present a multispecies bayesian population dynamic model applied to the stocks of European hake (Merluccius merluccius), surmullet (Mullus surmuletus) and annular sea bream (Diplodus annularis) in Cyclades (Aegean Sea), in order to assess their status. The model was based on available fisheries related data (e.g. catches) for the period between 1950 and 2007 and prior probability distributions derived from elicitation of expert opinion and meta-analysis of published information. In specific, elicitation of expert opinion was used to formulate prior probability distributions for the parameters of both species stock-recruitment relationships and selectivity of the main gears used in the fishery, while priors for biological parameters (e.g. length at maturity, growth parameters) where formed based on the results of hierarchical meta-analysis of published estimates for the species in the Mediterranean. Preliminary results of the model indicated that when natural mortality was held constant, Merluccius merluccius and Mullus surmuletus stocks declined, while when natural mortality was estimated by the model, stocks of all three species were relatively stable over time. The multispecies model can be used to understand the effects of specific management measures, such as effort control, to the stocks of all the modeled species simultaneously.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ TIP60 ΣΤΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ HIV-1 ΚΑΙ ΤΗΣ IL-2

Αγγελετοπούλου Ιωάννα, Παναγούλιας Ιωάννης, Γεωργακόπουλος Τάσος, Μουζάκη Αθανασία

Αιματολογικό Τμήμα, Παθολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο, Πάτρα

Η ακετυλοτρανσφεράση Tip60 προσδιορίστηκε ως αλληλεπιδρούσα πρωτεΐνη με την πρωτεΐνη TAT του HIV-1. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων η Tip60 επάγει τη μεταγραφική ενεργότητα διαφόρων γονιδίων, δρώντας ως συνενεργοποιητής της μεταγραφής. Ωστόσο, μπορεί να δρα και σαν καταστολέας της μεταγραφής άλλων γονιδίων. Σκοπός μας, στην παρούσα εργασία, ήταν η μελέτη του προφίλ έκφρασης της ακετυλοτρανσφεράσης T ip60 σε πληθυσμούς T βοηθητικών παρθενικών (CD3+CD4+CD45RA+) και T βοηθητικών μνημονικών (CD3+CD4+CD45RO+) λεμφοκύτταρων καθώς και η επίδρασή της στην μεταγραφή του HIV-1 και της IL-2 (λόγω κοινής μεταγραφικής ρύθμισης). Για τον λόγο αυτό απομονώσαμε από ολικό αίμα και από αίμα από ομφάλιο λώρο CD3+CD4+CD45RO+ και CD3+CD4+CD45RA+ T βοηθητικά λεμφοκύτταρα αντίστοιχα. Σε αυτά εξετάσαμε με RT-PCR την έκφραση του tip60 mRNA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το tip60 mRNA συντίθεται περισσότερο στα CD3+CD4+CD45RO+ λεμφοκύτταρα σε σχέση με τα CD3+CD4+CD45RA+. Ύστερα από ενεργοποίηση των κυττάρων η σύνθεση του mRNA αυξάνεται στα μνημονικά λεμφοκύτταρα ενώ στα παρθενικά παραμένει αμετάβλητη. Παρόμοιο μοτίβο έκφρασης του tip60 mRNA με τα CD3+CD4+CD45RA+ παρατηρήσαμε και για την T λευχαιμική κυτταρική σειρά Jurkat. Με Western blot, σε ολικά πρωτεϊνικά εκχυλίσματα από κύτταρα Jurkat, διαπιστώσαμε ότι το μοτίβο έκφρασης παραμένει ίδιο και σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Περαιτέρω, υπερέκφραση της T ip60 σε κύτταρα Jurkat επάγει την μεταγραφή της IL-2. Μέσω πειραμάτων CAT-assays σε κύτταρα Jurkat, τα οποία είχαμε συνδιαμολύνει με αυξανόμενες ποσότητες του πλασμιδίου υπερέκφρασης της T ip60 και του πλασμιδίου αναφοράς CAT, που βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο του HIV-1-LTR, διαπιστώσαμε ότι η υπερέκφραση της T ip60 αυξάνει τη μεταγραφική ενεργότητα του υποκινητή του HIV-1. Έτσι προτείνουμε ότι υπάρχει διαφορική έκφραση της Tip60 ανάμεσα στα T βοηθητικά παρθενικά και στα T βοηθητικά μνημονικά κύτταρα και ότι ο παράγοντας Tip60 δρα ως ενεργοποιητής της μεταγραφής του ιού HIV-1 και της IL-2.

THE ROLE OF ACETYLTRANSFERASE TIP60 IN HIV-1 AND IL-2 TRANSCRIPTIONAL REGULATION

Aggeletopoulou Ioanna, Panagoulias Ioannis, Georgakopoulos Tassos, Mouzaki Athanasia

Division of Hematology, Dpt. of Internal Medicine, Medical School, University of Patras, Rio, Patras

Tip60 acetyltransferase was originally identified as an interacting protein with the HIV-1 TAT protein. In the majority of cases Tip60 enhances the transcriptional induction of several genes by acting as a co-activator of transcription. However, it is able to suppress the transcription of other genes. In this work, our aim was to study the expression profile of Tip60 acetyltransferase in naive T helper (CD3+CD4+CD45RA+) and memory T helper (CD3+CD4+CD45RO+) lymphocytes and its effect on the transcription of HIV-1 and IL -2 (due to their common transcriptional regulation). To this end, we isolated from human peripheral blood and cord blood, CD3+CD4+CD45RO+ and CD3+CD4+CD45RA+ T helper lymphocytes and we examined the expression of tip60 at the transcriptional level by RT-PCR. The results showed that tip60 mRNA expression levels were higher in CD3+CD4+CD45RO+ compared to CD3+CD4+CD45RA+ Th cells. Following cell activation, the transcriptional expression of TIP60 is increased in memory Th cells, whereas in naive Th and Jurkat cells remained unchanged. The same profile of tip60 expression with that at transcriptional level in naive Th and Jurkat cells, was observed at protein level, in total Jurkat protein extracts. Furthermore, overexpression of Tip60 in Jurkat cells, induced the transcription of IL-2. Transfection experiments in Jurkat cells showed that overexpression of Tip60 increased also the transcriptional activity of HIV-1. For this reason, we co-transfected Jurkat cells with different amounts of overexpressed Tip60 in the presence of a CAT reporter gene, the expression of which is driven by the HIV-1 LTR. Our results showed that there was a differential expression of Tip60 between naïve and memory helper T cells and that Tip60 acts as a co-activator of transcription after induction of both HIV-1 LTR and IL-2.

ΤΟ ΠΑΡΑΔΟΞΟ ΤΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΗ ΚΑΡΔΙΑ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda*: ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΗΣ p38-MAPK ΚΑΙ ΤΩΝ ΚΑΛΠΑΪΝΩΝ

Αγγελή Ιωάννα-Κατερίνα, Ζαχαρίας Τριαντάφυλλος, Παπαπαύλου Γεωργία, Γαϊτανάκη Κατερίνα, Μπέης Ισίδωρος

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, , Πανεπιστημιούπολη, 15784, Αθήνα

Ο όρος ‘παράδοξο του ασβεστίου’ περιγράφει τις καταστροφικές επιπτώσεις που προκαλούνται στην καρδιά λόγω της μαζικής εισροής Ca2+, η οποία έπεται μιας περιόδου έλλειψης ασβεστίου. Ανάμεσα σε αυτές περιλαμβάνονται η απώλεια της μηχανικής και ηλεκτρικής δραστηριότητας της καρδιάς, η απώλεια ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών και ενεργειακών αποθεμάτων και η διαταραχή των σαρκομεριδίων. Παρόλα αυτά, οι ακριβείς μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που πυροδοτούνται κατά το παράδοξο του ασβεστίου παραμένουν άγνωστοι. Έτσι, στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκαν τα εμπλεκόμενα σηματοδοτικά μονοπάτια στην απομονωμένη καρδιά του βατράχου του είδους Rana ridibunda. Δείχθηκε ότι το παράδοξο του ασβεστίου επάγει σε σημαντικό βαθμό την ενεργοποίηση μελών της οικογένειας των MAPKs (p43-ERK, JNKs και p38-MAPK). Η αυξημένη δραστικότητα της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) στο διάλυμα έκλουσης αποτελεί ένδειξη νέκρωσης, ωστόσο ανιχνεύθηκαν επίσης θραύση της πολυ(ADP-ριβόζη) πολυμεράσης (PARP) και αύξηση των επιπέδων της Bax καθώς και χρώση αποπτωτικών πυρήνων με τη μέθοδο TUNEL, σημαντικά ευρήματα που συνηγορούν στην απόπτωση των καρδιακών κυττάρων σ’ αυτές τις συνθήκες. Επιπλέον, η χρήση του MDL28170, ενός ειδικού αναστολέα της δραστικότητας των καλπαϊνών, επιβεβαίωσε την εμπλοκή αυτών των πρωτεασών στην επαγωγή του φαινομένου. Παράλληλα, δείχθηκε ότι ποικίλα δισθενή ιόντα ασκούν προστατευτικό ρόλο έναντι της επαγωγής του παραδόξου του ασβεστίου, οδηγώντας σε σημαντική ανάκτηση της μηχανικής δραστηριότητας της καρδιάς του βατράχου. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι αναστολή της p38-MAPK με χρήση του SB203580 ανέστειλε σχεδόν πλήρως την επαγόμενη από το παράδοξο του ασβεστίου απόπτωση. Αυτό υποδεικνύει ότι η p38-MAPK παίζει σημαντικό προ-αποπτωτικό ρόλο, συμβάλλοντας στη δυσλειτουργία του μυοκαρδίου και το θάνατο των κυττάρων. Συνοψίζοντας, είναι η πρώτη φορά που δείχθηκε ότι το παράδοξο του ασβεστίου προκαλεί απόπτωση στα αμφίβια, με την p38-MAPK και τις καλπαΐνες να διαδραματίζουν κομβικό ρόλο. Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από πρόγραμμα του Ε.Λ.Κ.Ε (ΕΚΠΑ-70/4/11242).

CALCIUM PARADOX INDUCES APOPTOSIS IN THE ISOLATED PERFUSED Rana ridibunda HEART; INVOLVEMENT OF p38-MAPK AND CALPAIN

Aggli I.K., Zacharias T., Papapavlou G., Gaitanaki A., Beis I.
Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, , Panepistimioupolis, 15784, Athens

"Calcium paradox" as a term describes the deleterious effects conferred to a heart perfused with a calcium-free solution followed by repletion, including loss of mechanical activity and sarcomere disruption. Of note, the signal transduction mechanisms triggered by the calcium paradox remain elusive. Therefore, in the present study, we probed into these signaling pathways, in the isolated perfused Rana ridibunda heart. The calcium paradox was found to markedly induce activation of members of the MAPKs (p43-ERK, JNKs and p38-MAPK). Lactate dehydrogenase (LDH) release in the perfusate was indicative of necrosis; nevertheless, we also identified poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) fragmentation, a significant increase in Bax levels and apoptotic nuclei using TUNEL assay. Furthermore, using MDL28170, a selective inhibitor of calpain activity, a role for this protease was revealed. In addition, various divalent cations were shown to exert a protective effect against the calcium paradox, favoring recovery of the frog heart's mechanical activity. Interestingly, inhibition of p38-MAPK with SB203580, alleviated the calcium paradox-conferred apoptosis. This result indicates that p38-MAPK plays a pro-apoptotic role, contributing to the resulting myocardial dysfunction and cell death. Collectively, this is to our knowledge the first time that the calcium paradox has been shown to induce apoptosis in amphibians, with p38-MAPK and calpain playing a significant role. This work was funded by a grant from the Special Research Account (University of Athens-70/4/11242)

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ ΤΟΥ ΝΕΟΥ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ BCL2L12 ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΥΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Παναγιώτης Αδαμόπουλος[1], Χρήστος Κ. Κοντός[1], Ιορδάνης Ν. Παπαδόπουλος[2], Αλέξανδρος Αρδαβάνης[3], Ανδρέας Σκορίλας[1]

1/Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15701, Αθήνα-2/Δ' Χειρουργική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αττικόν, Ρίμινι 1, Χαϊδάρι, 12462, Αθήνα-3/Α΄ Ογκολογικό - Παθολογικό Τμήμα, Νοσοκομείο Ο Άγιος Σάββας, Λ.Αλεξάνδρας 171, 11522, Αθήνα.

Εισαγωγή: Το γονίδιο BCL2L12 είναι ένα νέο μέλος της οικογένειας BCL2, τα μέλη της οποίας διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στην απόπτωση και, συνεπώς, εμπλέκονται στην παθοβιολογία του καρκίνου. Το BCL2L12 εκφράζεται σε πολλούς ιστούς. Μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί 13 εναλλακτικά μετάγραφα του συγκεκριμένου αποπτωτικού γονιδίου, τα περισσότερα εκ των οποίων προβλέπεται ότι κωδικοποιούν λειτουργικές πρωτεϊνικές ισομορφές, ορισμένες εκ των οποίων θεωρούνται προαποπτωτικές ενώ άλλες ως αντιαποπτωτικές. Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η μελέτη και η κλινική αξιολόγηση της έκφρασης δυο εναλλακτικών μεταγράφων του γονιδίου BCL2L12 στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Υλικά και μέθοδοι: Καλλιεργήθηκαν επτά καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ομογενοποίηση καρκινικών και παρακείμενων φυσιολογικών ιστολογικών δειγμάτων παχέος εντέρου. Ακολούθησε απομόνωση ολικού RNA από τα ομογενοποιήματα και τις κυτταρικές σειρές, και φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της συγκέντρωσής του. Στη συνέχεια έγινε σύνθεση cDNA με αντίστροφη μεταγραφή του poly(A)-RNA, και ενίσχυση των μεταγράφων των γονιδίων GAPDH και BCL2L12. Τα προϊόντα της αντίδρασης PCR ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 3%. Επίσης, ποσοτικοποιήθηκε η έκφραση mRNA του κύριου μετάγραφου του γονιδίου BCL2L12 με μεθοδολογία ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο. Ακολούθησε εκτενής βιοστατιστική ανάλυση και κλινική αξιολόγηση. Αποτελέσματα: Το γονίδιο BCL2L12 βρέθηκε να εκφράζεται στις επτά καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου που μελετήθηκαν, αλλά τα επίπεδα των κύριων μεταγράφων του διαφέρουν μεταξύ των σειρών αυτών. Η έκφραση των μεταγράφων αυτών βρέθηκε αυξημένη στα καρκινικά δείγματα, σε σχέση με τα αντίστοιχα μη καρκινικά δείγματα. Επιπλέον, η έκφραση του γονιδίου BCL2L12 σχετίζεται, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, με καθιερωμένους κλινικοπαθολογικούς παράγοντες και έχει πιθανή προγνωστική αξία. Συμπεράσματα: Τα μετάγραφα του γονιδίου BCL2L12 αποτελούν πιθανούς βιοδείκτες για τον καρκίνο παχέος εντέρου. Η ανάλυση της έκφρασής τους στον καρκίνο παχέος εντέρου χρήζει περαιτέρω μελέτης και κλινικής αξιολόγησης. Ευχαριστίες: Μέρος της παρούσας έρευνας χρηματοδοτήθηκε από την Εταιρεία Ογκολόγων – Παθολόγων Ελλάδας (Ε.Ο.Π.Ε.).

EXPRESSION ANALYSIS AND STUDY OF SPLICE VARIANTS OF THE NOVEL APOPTOSIS-RELATED GENE BCL2L12 IN GASTROINTESTINAL CANCER CELLS AND TISSUES

Panagiotis Adamopoulos[1], Christos K. Kontos[1], Iordanis N. Papadopoulos[2], Alexandros Ardavanis[3], Andreas Scorilas[1]

1/Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15701, Athens-2/Fourth Surgery Department, Attikon University General Hospital, 1 Rimini St., Haidari, 12462, Athens-3/First Department of Medical Oncology, Saint Savvas Anticancer Hospital, 171 Alexandras Av., 11522, Athens.

Introduction: The BCL2L12 gene is a new member of the BCL2 family; members of this family play a major role in apoptosis and are therefore involved in the pathobiology of cancer. BCL2L12 is expressed in many tissues. To date, we have discovered 13 alternative transcripts of this gene, most of which are considered to encode functional protein isoforms with either a pro- or an anti-apoptotic role. Purpose: The aim of the current study was the investigation and clinical evaluation of the expression of two alternative transcripts of the BCL2L12 gene in colorectal cancer. Materials and methods: Seven colorectal cancer cell lines were subcultured. Furthermore, fresh frozen colon tumors and adjacent normal colonic tissue specimens were homogenized. Total RNA was extracted from homogenized tissues and cancer cell lines, and its concentration was determined spectrophotometrically. Next, cDNA synthesis was performed via reverse transcription of poly (A)-RNA, and amplification of GAPDH and BCL2L12 transcripts was carried out. All PCR products were electrophoresed on 3% agarose gel. In addition, the levels of the major BCL2L12 transcript gene were quantified using quantitative real-time PCR. Finally, extensive biostatistical analysis and clinical evaluation were performed. Results: The BCL2L12 gene was found to be expressed in the seven colorectal cancer cell lines that were studied, but its major transcript levels were different among these cell lines. The expression of these transcripts was higher in colon tumors compared to their non-cancerous counterparts. Furthermore, BCL2L12 expression is significantly associated with established clinicopathological factors and has a potential prognostic value in colorectal cancer. Conclusions: BCL2L12 transcripts constitute potential biomarkers in colorectal cancer. Their expression analysis in colorectal cancer merits further study and clinical evaluation. Acknowledgements: Part of this research project was funded by the Society of Oncologists – Pathologists of Greece (E.O.P.E.).

ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΤΙΓΟΝΟ-ΕΙΔΙΚΗΣ Τ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΒΑΣΙΣΜΕΝΗΣ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΩΝ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΙΔΙΚΩΝ ΓΙΑ ΑΝΟΣΟΓΟΝΙΚΟΥΣ ΙΙΚΟΥΣ ΕΠΙΤΟΠΟΥΣ

Αναστασία Αλατάκη [1,2], Tina Kube [2], Kathleen Schiller [2], Αγγελική Τιπτιρή-Κουρπέτη [1], Μαγδαληνή Κιζιρίδου [2], Κατερίνα Χλίχλια [1], Andreas M. Kaufmann [2]
Εργαστήριο Μοριακής Ανοσοβιολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, 68100 Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

Τα κυτταροτοξικά CD8+ Τ λεμφοκύτταρα (CTL) δρουν έναντι ενδοκυτταρικών παθογόνων, όπως ιών και καρκινικών κυττάρων επαγώμενων από ιό, μέσω πεπτιδίων που παρουσιάζονται από το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας τάξης Ι (MHC I). Στην παρούσα μελέτη αναπτύξαμε μία ευαίσθητη μέθοδο για να ποσοτικοποιήσουμε αντιγονο-ειδικά CTL μέσω της κυτταρολυτικής τους δράσης χρησιμοποιώντας μία δοκιμασία κυτταροτοξικότητας βασισμένη στην κυτταρομετρία ροής, την φλουορόλυση μέσω διαμόλυνσης πλασμιδίου (PTF). Η φωσφοπρωτεΐνη 65 του κυτταρομεγαλοϊού κλωνοποιήθηκε στον ανασυνδυασμένο φορέα έκφρασης, pC-GFP2A-Ubi-CMV (GFP), ενώ ο pC-dsRed 2A-Ubi (dsRED) χρησιμοποιήθηκε ως φορέας ελέγχου. Ανθρώπινα Τ κύτταρα (απομονωμένα από HLA-A2 δότη) ειδικά για τον ανοσοεπικρατή επίτοπο της φωσφοπρωτεΐνης 65 του κυτταρομεγαλοϊού (pp65) ενεργοποιήθηκαν σε συνκαλλιέργεια με κύτταρα περιφερικού αίματος μετά από φόρτωση του συνθετικού πεπτιδίου CMVpp65495-503. Για τον προσδιορισμό της κυτταρολυτικής δράσης, χρησιμοποιήθηκαν ως ειδικά κύτταρα-στόχοι τα Κ-562 που εκφράζουν σταθερά τα HLA-A2 (K-A2) και η αυτόλογη Β-λεμφοβλαστοειδή κυτταρική σειρά (B-LCL) – και τα δύο διαμολυσμένα με τον GFP/CMVpp65-φορέα, ενώ κύτταρα διαμολυσμένα με τον dsRED-φορέα χρησιμοποιήθηκαν ως κύτταρα ελέγχου. Τα ειδικά κύτταρα και τα κύτταρα ελέγχου επωάστηκαν είτε μόνα τους είτε με την παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων ενεργοποιημένων CTL κυττάρων. Ο αριθμός των ζωντανών GFP-θετικών/dsRed-διαμολυσμένων κυττάρων-στόχων προσδιορίστηκε μέσω κυτταρομετρίας ροής για τρεις συνεχόμενες ημέρες και φαίνεται να είναι αντιστρόφως ανάλογος του αριθμού των ειδικών CTL και του χρόνου επώασης. Επιπλέον, αποδείχτηκε ότι τα Τ κύτταρα, τα οποία έχουν ενεργοποιηθεί δύο φορές με το πεπτίδιο CMV είναι ικανά να εξαλείψουν αποτελεσματικότερα τα κύτταρα-στόχους συγκριτικά με τα Τ κύτταρα που έχουν ενεργοποιηθεί μόνο μία φορά ή καθόλου. Συμπερασματικά, παρατηρήθηκε μία σημαντική αντιγονο-ειδική κυτταροτοξική δράση των Τ κυττάρων έναντι ενός ανοσογονικού ιικού πεπτιδίου. Κατά συνέπεια, αυτή η λειτουργική προσέγγιση επιτρέπει τον έλεγχο της παρουσίας αντιγονο-ειδικών CD8+ Τ κυττάρων μετά από μόλυνση ή εμβολιασμό.

MONITORING ANTIGEN-SPECIFIC T CELL IMMUNITY: A CYTOMETRY-BASED CYTOTOXIC T CELL ASSAY AGAINST IMMUNOGENIC VIRAL EPITOPES

Anastasia Alataki [1,2], Tina Kube [2], Kathleen Schiller [2], Angeliki Tiptiri-Kourpeti [1], Magdalini Kiziridou [2], Katerina Chlichlia [1], Andreas M. Kaufmann [2]

Laboratory of Molecular Immunobiology, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University Campus-Dragana, 68100 Alexandroupolis, Greece

Cytotoxic CD8+ T lymphocytes (CTL) can act against intracellular pathogens, like viruses, and virus-induced tumor cells through peptides presented by the major histocompatibility complex class I (MHC I). Here, we describe a sensitive method to quantify epitope-specific CTL by their cytolytic activity using a flow cytometry-based CTL assay, called plasmid transfection fluorolysis (PTF). The cytomegalovirus (CMV) phosphoprotein 65 was cloned into a recombinant expression construct, pC-GFP2A-Ubi-CMV (GFP), whereas pC-dsRed 2A-Ubi (dsRED) was used as control vector. Human T cells (isolated from a HLA-A2 donor) specific for the immunodominant epitope of the cytomegalovirus (CMV)-derived phosphoprotein 65 (pp65) were stimulated in co-culture with peripheral blood cells loaded with the synthetic peptide CMVpp65495-503. For determining the cytolytic activity, K-562 cells stably expressing HLA-A2 (K-A2) and the autologous B-lymphoblastoid cell line (B-LCL) both transfected with the GFP/CMVpp65-expressing vector were used as specific target cells, while dsRED-transfected cells served as control. Specific and control target cells were co-incubated either alone or in the presence of titrated CTL numbers, previously stimulated with the CMVpp65495-503 peptide. The number of live GFP-positive/dsRed-transfected target cells was determined by flow cytometry for three consecutive days and shown to be inversely proportional to the number of specific CTL and the time period of incubation. Finally, our experiments show that T cells stimulated twice with the CMV peptide are able to more effectively kill target cells compared to T cells that have been stimulated only once or unstimulated cells. Consequently, a significant specific cytotoxic T cell activity against an immunogenic viral peptide was detected. Thus, this functional approach enables monitoring of epitope-specific CD8+ T cell cytotoxicity for quantification of antigen-specific immunity after infection or vaccination.

ΕΜΒΟΛΙΑ DNA ΠΟΥ ΣΤΟΧΕΥΟΥΝ ΤΗ SURVIVIN ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΜΑΣΤΟΥ ΣΕ ΣΥΝΓΟΝΙΚΟΥΣ ΜΥΕΣ

Αναστασία Αλατάκη [1,5], Αγγελική Τιπτιρή-Κουρπέτη [1,5], Μαρία Κουρέτα [1], Πέτρος Υψηλάντης [2], Κωνσταντίνος Σιμόπουλος [2], Αγγελική Ξαγοράρη [3], Andreas M. Kaufmann [4], Κατερίνα Χλίχλια [1]*

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

Τα εμβόλια DNA αποτελούν μία πρόσφατα αναπτυγμένη ανοσοθεραπευτική μέθοδο εμβολιασμού για αντικαρκινική θεραπεία, όπου μπορεί να προκληθεί χυμική και κυτταρομεσολαβητική ανοσοαπόκριση. Η επαγωγή ειδικών ανοσολογικών αποκρίσεων έναντι αντιγόνων εκφραζόμενων σε καρκινικά κύτταρα μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη του όγκου και να οδηγήσει σε αποβολή του όγκου. Για την κατασκευή ενός ισχυρού αντικαρκινικού εμβολίου DNA κατά του αδενοκαρκινώματος μαστού, επιλέχθηκε το καθολικό καρκινικό αντιγόνο survivin/BIRC5. Αποτελεί μέλος της οικογένειας γονιδίων των αναστολέων της απόπτωσης (IAP) και εμπλέκεται στην καταστολή του αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου και στη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης. Η Survivin είναι παρούσα κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής εμβρυικής ανάπτυξης, ενώ σε φυσιολογικά κύτταρα ενήλικων ατόμων είναι σχεδόν μη ανιχνεύσιμη. Παρόλα αυτά φαίνεται να υπερεκφράζεται στα περισσότερα καρκινικά κύτταρα και ιστούς. Στόχος της έρευνας ήταν η μελέτη ανασυνδυασμένων πλασμιδιακών φορέων που εκφράζουν τη Survivin/BIRC5 και η δυνητική προστατευτική τους δράση σε προκλινικό μοντέλο αδενοκαρκινώματος μαστού. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα με τα εμβόλια DNA pEGFP/C1-BIRC5 και pRK7-BIRC5, προκειμένου να εξεταστεί η in vitro έκφρασή τους σε διαμολυσμένα κύτταρα DA3 και η in vivo έκφρασή τους σε ανοσοποιημένους μύες, με Real-Time PCR και συνεστιακό μικροσκόπιο φθορισμού. Επιπλέον, οι ανοσοποιημένοι μύες παρήγαγαν αντισώματα ειδικά για τη Survivin/BIRC5. Η Survivin ανιχνεύτηκε τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον πυρήνα κυττάρων DA3 με ορό ανοσοποιημένων ποντικών. Τέλος, εξετάστηκε η ανοσοπροφυλακτική δράση των εμβολίων DNA σε συνγονικό καρκινικό μοντέλο αδενοκαρκινώματος μαστού σε μύες BALB/c. Παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική μείωση 66.7% και 56.5% στο μέγεθος του καρκινικού όγκου στην ομάδα των ανοσοποιημένων με τη survivin/BIRC5 μυών συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου, στις οποίες είχε χορηγηθεί PBS και απλός φορέας, αντίστοιχα. Αυτή την περίοδο βρίσκεται σε εξέλιξη η έρευνα για τις υποκείμενες ογκο-ειδικές ανοσοαποκρίσεις, που είναι υπεύθυνες για την αναστολή της ανάπτυξης του όγκου.

ισότιμη συμβολή συγγραφέων / equally contributing authors
*corresponding author: achlichl@mbg.duth.gr

DNA VACCINES TARGETING SURVIVIN INHIBIT GROWTH OF MAMMARY ADENOCARCINOMA IN SYNGENEIC MICE

Anastasia Alataki [1,5], Angeliki Tiptiri-Kourpeti [1,5], Maria Koureta [1], Petros Ypsilantis [2], Constantinos Simopoulos [2], Angeliki Xagorari [3], Andreas M. Kaufmann [4], Katerina Chlichlia [1]

Laboratory of Molecular Immunobiology, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University Campus-Dragana, 68100 Alexandroupolis, Greece

DNA vaccination is a recently developed immunotherapeutic approach that can be applied against a variety of tumors, in which antigen-specific cellular as well as humoral immune responses can be generated. The induction of specific immune responses directed against antigens expressed in tumor cells can inhibit tumor growth and lead to tumor rejection. For generating a powerful anti-cancer DNA vaccine against mammary adenocarcinoma, the universal tumor antigen survivin/BIRC5 was selected. This is a member of the inhibitor of apoptosis (IAP) gene family that has been implicated in suppression of apoptotic cell death and regulation of cell division. Survivin is present during normal fetal development, but almost undetectable in terminally differentiated normal adult tissues. However, survivin is abundantly expressed in most cancer cells and tissues. The aim of the project was the study of DNA constructs expressing survivin/BIRC5 and their potential protective effect against breast cancer. The DNA vaccine constructs pEGFP/C1-BIRC5 and pRK7/BIRC5 were examined for their in vitro expression in transfected DA3 cells and for their in vivo expression in injected mice, by real-time PCR and confocal immunofluorescence analysis. Our data show that immunized mice produce antibodies specific for survivin/BIRC5. Using sera from immunized mice Survivin presence was detected both in cytoplasm and nucleus of DA3 cells. The immune-prophylactic action of the DNA vaccine constructs was examined in a syngeneic mammary adenocarcinoma model in BALB/c mice. A statistically significant reduction of 66.7% and 56.5% in the mean tumor volume was observed in the group of mice immunized with survivin/BIRC5 compared to the PBS-treated or vector-immunized control group, respectively. We are currently investigating the underlying tumor-specific immune responses responsible for the inhibitory effect in tumor growth.

ΦΑΙΝΟΤΥΠΗΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΣΕ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΩΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Σπυρίδων Αλέξης [1], Ελένη Μαρινάκη [1], Μαρία Ρόδη[2], Σωτήριος Τσάκας [1], Ελευθερία Ροσμαράκη [1]

1/Εργαστήριο Ανοσοβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών - 2/Εργαστήριο Ανοσοαιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK κύτταρα) είναι ένας τύπος κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων που συμμετέχουν στις φυσικές ανοσοαποκρίσεις. Καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα ή κύτταρα προσβεβλημένα από ιούς είτε με άμεση κυτταροτοξικότητα είτε με έκκριση διαφόρων χημειοκινών και κυτταροκινών (TNF-α και IFN-γ). Τα NK-T κύτταρα είναι μια ετερογενής ομάδα Τ κυττάρων που φέρει υποδοχείς των Τ κυττάρων (TCRs) αλλά παρουσιάζει και ιδιότητες των NK. Κατά την ενεργοποίηση τους τα NK-T κύτταρα παράγουν μεγάλες ποσότητες IFN-γ, IL-4, καθώς και άλλες κυτταροκίνες και χημειοκίνες. Στην εργασία αυτή προσδιορίστηκαν τα ποσοστά των NK και NK-T κυττάρων στο αίμα αιμοκαθαρώμενων ασθενών. Η μελέτη έγινε με κυτταρομετρία ροής σε απομονωμένα περιφερικά μονοπύρηνα κύτταρα από ολικό αίμα, με χρήση φικόλης. Παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού των NK, ενώ τα NK-T κύτταρα παρέμειναν σε φυσιολογικά επίπεδα. Στη συνέχεια μελετήθηκε η κυτταροτοξικότητα των NK και η έκφραση της κυτταροκίνης TNF-α. Τα NK κύτταρα διεγείρονται με τη λευχαιμική κυτταρική σειρά K562 και η εμφάνιση CD107α αποτελεί έμμεσο δείκτη της κυτταροτοξικότητας. Με κυτταρομετρία ροής διαπιστώθηκε αύξηση της κυτταροτοξικότητας στην αιμοκάθαρση. Τέλος μελετήθηκε η έκφραση του TNF-α με τη μέθοδο CBA από ολικά μονοπύρηνα κύτταρα, όπου παρατηρήθηκε αύξηση. Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, στην αιμοκάθαρση αν και το ποσοστό των NK κυττάρων μειώνεται, αυτά εμφανίζουν αυξημένη κυτταροτοξικότητα και λειτουργικότητα. Από την άλλη το ποσοστό των NK-T κύτταρων δεν παρουσιάζει μεταβολή στους ασθενείς αυτούς. Σύμφωνα με μελέτες μεγάλο ποσοστό ασθενών εμφανίζει συχνά φλεγμονές λόγω διαφόρων παραγόντων και αυτό μπορεί να δικαιολογήσει αυτή την αύξηση.

PHENOTYPIC ANALYSIS AND FUNCTIONALITY OF INNATE IMMUNE CELLS IN PATIENTS UNDERGOING HEMODIALYSI

Spiridon Alexis [1], Eleni Marinaki [1], Maria Rodi[2], Sotirios Tsakas S [1], Eleutheria Rosmaraki [1]
1/Laboratory of Immunobiology, Department of Biology, University of Patras - 2/Laboratory of Immunohematology, Department of Medicine, University of Patras

Natural killer (NK) cells, a group of cytotoxic lymphocytes, participate in natural immune responses. They destroy cancer cells or cells infected by viruses with either direct cytotoxicity or secretion of various chemokines and cytokines (TNF-α, IFN-γ). NK-T cells, an heterogeneous group of T cells, express T cell receptors (TCRs) and present some properties of NK cells too. Upon activation, the NK-T cells produce large quantities of IFN-γ and IL-4 among others. In this research the percentage of both NK and NK-T cells was defined, in the blood of renal patients undergoing hemodialysis. The study was processed with flow cytometry in isolated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from whole blood using Ficoll. A decrease in the percentage of NK cells was observed, while the NK-T cells percentage remained at the same levels. In addition, we studied the cytotoxicity of NK cells and the expression of the cytokine TNF-α. NK cells were stimulated by the leukemic cell line K562 and CD107α was used as an indirect indicator of cytotoxicity. By using flow cytometry an increase of cytotoxicity was noted, in patients undergoing hemodialysis. Moreover the expression of TNF-α was studied with the method of CBA from the whole population of PBMCs and was found to be increased. In conclusion, although the percentage of NK cells is decreased, they present an enhanced cytotoxicity and functionality. On the other hand, the NK-T cells showed no change. According to previous studies, a high percentage of patients often shows inflammation due to various factors and this may explain this increase.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗΣ ΣΕ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΔΙΚΑΣΤΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ

Αναστοπούλου Ιωάννα, Ζορμπά Ελένη, Μωραΐτης Κωνσταντίνος
Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ Μ. Ασίας 75, Γουδή 11527, Αθήνα.

Η βρουκέλλωση είναι η πιο κοινή ζωοανθρωπονόσος με περισσότερα από 500.000 νέα περιστατικά ετησίως και προκαλείται από αρνητικά κατά Gram βακτήρια του γένους Brucella. Η νόσος συνήθως προκαλεί αλλοιώσεις στα οστά, οι οποίες είναι πιο συχνές και πιο εκσεσημασμένες κατά τη χρόνια και την υποξεία μορφή. Ενώ στην Ελλάδα η μέση ετήσια επίπτωση είναι χαμηλή (18 περιστατικά ανά 1.000.000 άτομα) με το ποσοστό συνεχώς να μειώνεται, σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες η βρουκέλλωση συνεχίζει να συνιστά μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται οι αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν σε σκελετικό υλικό δύο δικαστικών υποθέσεων που απεστάλησαν στη Μονάδα Δικαστικής Ανθρωπολογίας του Εργαστηρίου Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ για ανθρωπολογική εξέταση. Κατά τη μακροσκοπική εξέταση των οσφυϊκών σπονδύλων των δύο ατόμων διαπιστώθηκαν αλλοιώσεις στις παρυφές των σπονδυλικών σωμάτων με ίχνη οστικής αναδόμησης και παρειακής οστεοσκλήρυνσης που ήταν συμβατές με βρουκέλλωση. Η παρουσία των εν λόγω αλλοιώσεων σε συνδυασμό με άλλα συνοδά ευρήματα που προέκυψαν κατά την ανθρωπολογική εξέταση και την διενεργηθείσα προανάκριση συνέβαλαν τελικά στην ταυτοποίηση των δύο ατόμων. Η εμφάνιση της νόσου στα δύο άτομα κατέδειξε την πιθανή αλλοδαπή καταγωγή τους, καθώς το εν λόγω νόσημα έχει σχεδόν εκριζωθεί από την Ελλάδα. Επιπροσθέτως, στην παρούσα εργασία περιγράφονται τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα που επιτρέπουν τη διαφορική διάγνωση της βρουκέλλωσης από τη φυματίωση σε σκελετικό υλικό.

EVIDENCE OF BRUCELLOCIS IN SKELETAL REMAINS OF FORENSIC INTEREST

Anastopoulou Ioanna, Zorba Eleni, Moraitis Konstantinos
Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine, University of Athens. 75 M.Asias St., 11527 Athens, Greece.

Brucellosis is the most prevalent zoonosis worldwide with more than 500.000 new cases annually, caused by gram-negative bacteria of the genus Brucella. The disease can often cause bone lesions which are more frequent and more evident during the chronic and subacute stages. While in Greece the mean annual report is low (18 cases per 1.000.000 people) and the rate is constantly declining, in many developing countries brucellosis continues to be a major public health problem. The aim of this study is to present the skeletal lesions which were observed in two forensic cases submitted to the Forensic Anthropology Unit at the Department of Forensic Medicine and Toxicology, Medical School, University of Athens for anthropological evaluation. During the macroscopic examination of the lumbar vertebrae in both cases, vertebral body marginal lesions with bone remodeling and osteosclerotic reaction compatible with brucellosis were observed. The presence of these particular lesions, in conjunction with other associated findings which occurred during the anthropological evaluation and the police investigation finally contributed to both individuals' positive identification. The disease manifestation indicated the individuals' possible foreign origin, as brucellosis has almost been eradicated in Greece. Moreover, in the present study, the characteristics which enable the differential diagnosis of brucellosis from tuberculosis in skeletal remains are described.

Η ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗ ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΗΝ EZH2, ΜΙΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΠΟΥ ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Ανεστόπουλος Ιωάννης[1] Αριστείδης Σφακιανός, Μιχάλης Παναγιωτίδης[2], DavidJ. Kroll[3], Αγλαΐα Παππά[3]

1/Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100 Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα - 2/Heriot Watt University, School of Life Sciences, Edinburgh, Scotland UK - 3/Department of Pharmaceutical Sciences, College of Science & Technology, Biomanufacturing Research Institute and Technology Enterprise (BRITE), North Carolina Central University, Durham, NC 27707

Η σιλιμπινίνη αποτελεί διαστερεοϊσομερικό δείγμα δυο ενώσεων από το εκχυλίσμα γαϊδουράγκαθου (Silybum marianum L.) έχοντας επιδείξει σημαντική προκλινική δράση έναντι του καρκινώματος του προστάτη. Η αντικαρκινική και χημειοπροληπτική δράση της σιλιμπινίνης, έχει συνδεθεί με πλειάδα δράσεων στον κυτταρικό κύκλο, την απόπτωση και σε μιτογονικά σηματοδοτικά μονοπάτια εξαρτώμενων από υποδοχείς. Στην παρούσα εργασία υποθέσαμε ότι μερικές από τις ποικίλες δράσεις της σιλιμπινίνης πιθανών να οφείλονται στην ικανότητά της να παρεμβαίνει στους επιγενετικούς μηχανισμούς των καρκινικών κυττάρων του προστάτη. Η σιλιμπινίνη σε κλινικά εφικτές δόσεις (25-75 μg/ml) μειώνει την έκφραση των μελών του συμπλόκου PRC2 (EZH2, EED, SUZ12), που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση μέσω τροποποιήσεων της χρωματίνης, στις κυτταρικές σειρές DU145 και PC3 καρκινώματος προστάτη. Η πρωτεΐνη Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), σημαντικό μέλος της ομάδας των polycomb πρωτεϊνών, υπερεκφράζεται σε τοπικό και μεταστατικό καρκίνο προστάτη (ανθρώπινα δείγματα και κυτταρικές σειρές), σε αντίθεση με τον φυσιολογικό ιστό ή και την καλοήθη υπερπλασία. Επώαση με σιλιμπινίνη προκάλεσε μείωση της EZH2 σε κύτταρα DU145, που συσχετίστηκε με απώλεια της φωσφορυλίωσης της EZH2 (θέση Ser-21). Παράλληλα, παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα τρι-μεθυλιωμένης ιστόνης Η 3 σε κατάλοιπα λυσίνης-27 (3MK27) με ανάλυση κατά Western. Ανάλυση ανοσοφθορισμού κυττάρων PC3 με επίδραση σιλιμπινίνης, επιβεβαίωσε την ταυτόχρονη μείωση της EZH2 και την αύξηση των επιπέδων 3MK27. Οι αλλαγές αυτές σχετίστηκαν με τη σημαντική μείωση της έκφρασης του ρυθμιζόμενου από την EZH2 γονιδίου HOXA9. Συνολικά, η σιλιμπινίνη μειώνει μια σημαντική επιγενετική ρυθμιστική πρωτεΐνη που υπερεκφράζεται στο καρκίνωμα του προστάτη και μεταβάλλει την ισορροπία της μεθυλίωσης των ιστονών, μειώνοντας τη φωσφορυλίωση της EZH2. Με αυτόν τον τρόπο, η αποδιοργάνωση μιας κεντρικής διαδικασίας της χρωματινικής διαμόρφωσης και γονιδιακής έκφρασης, πιθανώς να είναι υπεύθυνη για μερικές από τις ποικίλες αντικαρκινικές δράσεις της σιλιμπινίνης στον καρκίνο του προστάτη.

SILIBININ MODULATES EZH2, A MAJOR EPIGENETIC REGULATORY PROTEIN OVER-EXPRESSED IN PROSTATE CARCINOMA

Anestopoulos Ioannis[1], Aristidis Sfakianos[1] ,Mihalis I. Panayiotidis[2], David J.Kroll[3], Aglaia Pappa[1]

1/Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece - 2/Heriot Watt University, School of Life Sciences, Edinburgh, Scotland UK - 3/3Department of Pharmaceutical Sciences, College of Science & Technology, Biomanufacturing Research Institute and Technology Enterprise (BRITE), North Carolina Central University, Durham, NC 27707

Silibinin is diastereoisomeric mixture of two compounds from the extract of milk thistle (Silybum marianum L.) that has exhibited considerable preclinical activity against prostate carcinoma. The antitumor and cancer chemopreventive activity of silibinin has been associated with a variety of effects on the cell cycle, apoptosis, and receptor-dependent mitogenic signaling pathways. In the current report, we hypothesized that some of these diverse actions of silibinin may be due to its ability to interfere with the epigenetic mechanisms in prostate cancer cells. Silibinin at clinically-achievable concentrations (25-75 μg/mL) was shown to reduce the expression of PRC2 complex members (EZH2, EED, SUZ12), that regulate gene expression via chromatin modifications, in prostate carcinoma cell lines, DU145 and PC3. Enhancer of zeste human homolog 2 (EZH2) protein, a major component of the polycomb group proteins is over-expressed in local and metastatic prostate carcinoma (human specimens and cell lines), unlike normal tissue or benign hypertrophy. Silibinin treatment caused depletion of EZH2 in DU145 cells, which was associated with loss of EZH2 phosphorylation at serine-21. In parallel, were observed increased levels of histone H3 trimethylation at lysine-27 residues (3MK27), as indicated by immunoblotting. Immunofluorescence analysis of silibinin-treated PC-3 cells confirmed the concomitant reduction of EZH2 and increase of 3MK27. Functionally, these changes were associated with a substantial decrease in expression of the EZH2-regulated gene, HOXA9. Taken together, silibinin appears to deplete a major epigenetic regulatory protein that is overexpressed in prostate carcinoma and alter the balance of histone methylation by reducing EZH2 phosphorylation. In this way, disruption of a central process in chromatin conformation and gene expression may be responsible for some of the diverse anticancer effects of silibinin in prostate cancer.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ - ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟ ΛΑΒΡΑΚΙ (*Dicentrarchus labrax*)

Ευθυμία Αντωνοπούλου [1], Ελισσάβετ Κεντεποζίδου [1], Κωνσταντίνος Φειδάντσης [1], Χρυσούλα Ρουφίδου [1], Σμαράγδα Δεσπότη [1]), Σταύρος Χατζηφώτης [2]
(1)Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα, (2) Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Ιχθυοκαλλιέργειας. Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, 71003 Ηράκλειο, Ελλάδα

Τόσο τα εκτρεφόμενα ψάρια, όσο και αυτά των άγριων πληθυσμών συχνά υπόκεινται σε περιόδους ασιτίας. Ωστόσο, η επίδραση της ασιτίας στην πρόκληση καταπόνησης σε ιστούς των ψαριών έχει μελετηθεί ελάχιστα. Ως δείκτες καταπόνησης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος (Hsps) και οι ενεργοποιούμενες από μιτογόνα πρωτεϊνικές κινάσες (MAPKs). Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκε η πιθανή πρόκληση στρες στα ψάρια, ως συνέπεια της ασιτίας. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η επίδραση διαφορετικών πρωτοκόλλων ασιτίας και ασιτίας/επανασίτισης (1 μήνας τροφή/ 3 μήνες ασιτία - 1T/3A και 2 μήνες ασιτία/ 2 μήνες τροφή – 2A/2T), στην επαγωγή των πρωτεϊνών Hsp70, Hsp90, p38 MAPK και ERKs στο έντερο, το ήπαρ, τον ερυθρό και λευκό μυ του λαβρακιού (Dicentrarchus labrax). Στο έντερο, παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα ERKs τόσο στα άτομα της κατάστασης 1T/3A, όσο και στην 2A/2T, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Στο ήπαρ παρατηρήθηκε μειωμένη φωσφορυλίωση της p38 MAPK κατά την ασιτία και ασιτία/επανασίτιση, αυξημένη έκφραση της Hsp90 μόνο κατά την ασιτία/ επανασίτιση, ενώ η επαγωγή της Hsp70 μειώθηκε κατά την ασιτία/επανασίτιση και αυξήθηκε κατά την περίοδο της ασιτίας. Στον ερυθρό μυ παρατηρήθηκε το ίδιο πρότυπο έκφρασης για τις Hsps, ενώ η ενεργοποίηση της p38 MAPK μειώθηκε μόνο στην κατάσταση 2A/2T. Τέλος, στο λευκό μυ σημειώθηκε αυξημένη ενεργοποίηση της p38 MAPK και μειωμένα επίπεδα της Hsp90 και στις δύο πειραματικές διατροφικές καταστάσεις. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν την ύπαρξη ιστοειδικού προτύπου κυτταρικής απόκρισης, κάτω από μακροχρόνιες καταστάσεις ασιτίας και επανασίτισης. Πιθανόν η μείωση των ελεύθερων αμινοξέων κατά την ασιτία δεν αρκεί για να προκαλέσει επαγωγή των Hsps σε όλους τους ιστούς του ψαριού. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα MAPKs σε συγκεκριμένες περιπτώσεις πιθανόν να σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνικής έκφρασης, λόγω υψηλότερων απαιτήσεων σε πρωτεΐνες.

EFFECT OF STARVATION AND RE-FEEDING IN INDUCTION OF PROTEINS-INDICATORS OF STRESS IN EUROPEAN SEA BASS (Dicentrarchus labrax)

Efthimia Antonopoulou [1], Elissavet Kentepozidou [1], Konstantinos Feidantsis[1], Chrysoula Roufidou [1], Smaragda Despoti [1], Stavros Chatzifotis [2]

(1)Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki, Greece, (2)Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Hellenic Center for Marine Research, 71003 Heraklion, Crete, Greece

Both farmed and wild fish populations often undergo periods of fasting. However, information on the effect of fasting in the induction of stress in fish tissues is scarce. Heat shock proteins (Hsps) and Mitogen Activated Protein Kinases (MAPKs) can be used as stress indicators. In the present study, we investigated the potential induction of stress in fish, as a consequence of fasting. Specifically, we studied the effect of different regimes of starvation and starvation/ re-feeding (1 month feeding/ 3 months starvation – 1F/3S, and 2 months starvation/ 2 months re-feeding – 2S/2F) on the induction of the Hsp70, Hsp90, p38 MAPK and ERK proteins in the intestine, the liver, the red and white muscle of sea bass (Dicentrarchus labrax). In the intestine, increased levels of ERKs were observed in both 1F/3S and 2S/2F groups compared to control group. In the liver, decreased p38 MAPK phosphorylation was observed during starvation and starvation/re-feeding, whereas Hsp90 levels were increased only during starvation/re-feeding, and Hsp70 induction decreased in the starvation/re-feeding group and increased during starvation. In the red muscle, the same pattern was observed for the expression levels of Hsps, whereas phosphorylation of p38 MAPK decreased in the 2S/2F group. Finally, in the white muscle, increased p38 MAPK activation and decreased Hsp90 levels were observed in both feeding conditions. These results indicate a tissue-specific pattern of cellular response, under long-term starvation and re-feeding regimes. Probably, the amino acid restriction because of food deprivation was not severe enough to elicit heat shock response in all examined tissues of sea bass. Moreover, the increased MAPK levels in specific cases may be associated with higher protein expression due to higher protein demand.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΩΣΜΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΤΑΥΡΙΝΗΣ ΣΕ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΜΥΟΒΛΑΣΤΩΝ H9C2

Αντωνίου Παναγιώτης, Ευαγγελάκος Ιωάννης, Μανώλη Μαρία - Τ., Αγγελή Ιωάννα-Κατερίνα, Γαϊτανάκη Κατερίνα, Μπένης Ισίδωρος

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

Η διατήρηση της ωσμωτικής ισορροπίας έχει ζωτική σημασία για την επιβίωση των κυττάρων. Πολλοί παράγοντες μπορούν να διαταράξουν αυτή την ισορροπία προκαλώντας ωσμωτικό στρες, επάγοντας παράλληλα την ενεργοποίηση πληθώρας σηματοδοτικών μονοπατιών. Η ταυρίνη, ένα αμινοξύ που υπάρχει φυσιολογικά σε ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωση στα καρδιακά μυοκύτταρα, φαίνεται να έχει ωσμωρυθμιστική δράση. Καθώς οι ενεργοποιούμενες από μιτογόνα πρωτεϊνικές κινάσες (mitogen-activated protein kinases - MAPKs) διαδραματίζουν κομβικό ρόλο στη μεταγωγή στρεσογόνων σημάτων, στην παρούσα μελέτη κρίθηκε σκόπιμη η διερεύνηση της πιθανής ενεργοποίησης μιας υπο-οικογένειάς τους: των ERKs (extracellular signal-regulated kinases) μετά από επίδραση ταυρίνης και ωσμωτικού στρες (υψηλή συγκέντρωση NaCl). Ειδικότερα, έγινε προσπάθεια προσδιορισμού των επιπέδων φωσφορυλίωσης (δηλαδή ενεργοποίησης) των ERKs, σε καρδιακούς μυοβλάστες H9c2. Ανάλυση κατά Western έδειξε ότι οι ERKs ενεργοποιούνται με δοσο- και χρονο-εξαρτώμενο τρόπο. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μέγιστη ενεργοποίηση των κινασών μετά από επίδραση 100mM και 200 mM NaCl καθώς και 1mM ταυρίνης στα 15, 60 και 30 λεπτά, αντίστοιχα. Παράλληλα, μελετήθηκαν τα ολικά επίπεδα έκφρασης της οξυγενάσης της αίμης (HOX-1), μιας πρωτεΐνης με κυτταροπροστατευτικό ρόλο, που προηγούμενες μελέτες μας έχουν καταδείξει ότι ενεργοποιείται κάτω από συνθήκες οξειδωτικού στρες στα H9c2 κύτταρα. Επομένως, η αύξηση των επιπέδων της HOX-1 που παρατηρήθηκε, υποδεικνύει την πιθανή επαγωγή οξειδωτικού στρες κάτω από τις μελετούμενες συνθήκες. Ακολούθως, διερευνήθηκε ο πιθανός ρόλος της ταυρίνης που έχει βρεθεί ότι μπορεί να δρα αντισταθμίζοντας είτε οξειδοαναγωγικές είτε ωσμωμοριακές διακυμάνσεις. Με χρήση διαφόρων αναστολέων εξετάστηκε επίσης η εμπλοκή και άλλων σηματοδοτικών τελεστών στις παρατηρούμενες αποκρίσεις. Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από πρόγραμμα του Ε.Λ.Κ.Ε του ΕΚΠΑ [70/4/11242]

STUDY OF THE EFFECT OF OSMOTICS STRESS AND TAURINE ON SIGNALLING PATHWAYS IN H9C2 CARDIAC MYOBLASTS

Antoniou P., Evagelakos I., Manoli M.T., Aggeli I.K., Gaitanaki. K., Beis I.
Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis, 157 84, Athens

Preservation of osmotic balance is of fundamental importance for cellular survival. Many factors can disrupt this equilibrium inducing osmotic stress, via triggering of a plethora of signaling pathways. Taurine, an amino acid that is found in high levels in cardiac myocytes has been reported to regulate osmotic equilibrium. Since MAPKs (mitogen-activated protein kinases) are known to play a fundamental role in transduction of stressful signals, in the present study we decided to probe into the potential activation of one of their sub-family: ERKs (extracellular signal-regulated kinases), after treatment with taurine and osmotic stress (high concentration of NaCl). In particular, we examined ERKs phosphorylation (thus activation) levels in H9c2 cardiac myoblasts. Western blot analysis showed that ERKs are activated in a dose- and time-dependent manner. ERKs were maximally activated by 100mM and 200mM NaCl, as well as by 1mM taurine after 15, 60 and 30 minutes, respectively. Subsequently, we studied the total protein expression levels of heme oxygenase-1 (HOX-1), a protein exerting a cytoprotective role, that previous studies of ours have shown it to be stimulated under conditions of oxidative stress, in H9c2 cells. The upregulation of HOX-1 protein levels observed is probably indicative of oxidative stress stimulation, under the interventions investigated. We next assessed the physiological role of taurine, which has been found to act either as an osmo-regulator or as an antioxidant. Using various inhibitors, an effort was also made to determine other signaling effectors involved in the responses triggered. This work was funded by a grant from the Special Research Account of the University of Athens [70/4/11242]

ΣΥΝΔΡΟΜΟ MUENKE : ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

Αποστολοπούλου Δ.[1,2], Α. Στρατουδάκης[3], Α. Χατζάκη[2], Ο. Καξίρα[3], Κ. Παναγόπουλος[3], Π. Κόλλια[1], Β. Αλεπόρου[1]

1 Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών 2 Τμήμα Γενετικής και Μοριακής Βιολογίας, ΜΗΤΕΡΑ Ιδιωτική Γενική, Μαιευτική-Γυναικολογική και Παιδιατρική Κλινική, Αθήνα 3 Ελληνικό Κρανιοπροσωπικό Κέντρο©, ΜΗΤΕΡΑ Ιδιωτική Γενική, Μαιευτική-Γυναικολογική και Παιδιατρική Κλινική, Αθήνα

Η κρανιοσυνοστέωση, η πρόωρη σύντηξη των κρανιακών ραφών, με συχνότητα εμφάνισης 1 στις 2100-2500 γεννήσεις, αποτελεί πρωτεύον κλινικό χαρακτηριστικό σε περισσότερα από 150 σύνδρομα. Τα υπεύθυνα γονίδια για τα συχνότερα σύνδρομα κρανιοσυνοστέωσης Apert, Crouzon, Pfeiffer, Muenke, Saethre-Chotzen και Κρανιομετωπορινικό (CFNS) είναι τα FGFR1-3, TWIST1 και EFNB1. Σχεδόν όλα τα σύνδρομα κρανιοσυνοστέωσης παρουσιάζουν κλινική και γενετική ετερογένεια, γεγονός που συχνά καθιστά δύσκολη την ακριβή διάγνωση, καθώς επίσης και την ανίχνευση του γενετικού αίτιου του συνδρόμου. Το σύνδρομο Muenke (MIM #602849) καθορίζεται από την ύπαρξη της μεταλλαγής P250R στο γονίδιο FGFR3 σε ετεροζυγωτία και η κλινική του εικόνα παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια, με κυριότερο χαρακτηριστικό την μονόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη συνοστέωση της στεφανιαίας ραφής. Για την παρούσα μελέτη συλλέχθηκε περιφερικό αίμα και απομονώθηκε DNA από 47 ασθενείς με κρανιοπροσωπικές ανωμαλίες που προσήλθαν στο Ελληνικό Κρανιοπροσωπικό Κέντρο©. Πραγματοποιήθηκε ενίσχυση με PCR τμημάτων των γονιδίων FGFR1-3, TWIST1 και EFNB1 και στη συνέχεια ανάλυση αλληλουχίας DNA (sequencing), πέψη με περιοριστικά ένζυμα και MLPA προκειμένου να ταυτοποιηθούν οι υποκείμενες μοριακές βλάβες. Σε 2 (#42: συνοστέωση της αριστερής στεφανιαίας ραφής και #53: συνοστέωση της δεξιάς στεφανιαίας ραφής) από τους 47 ασθενείς εντοπίστηκε η μεταλλαγή P250R στο γονίδιο FGFR3. Κατά την περαιτέρω ανάλυση της οικογένειας του ασθενούς #53 βρέθηκε ότι ο πατέρας του, ο οποίος εμφάνιζε βραχυκεφαλία λόγω αμφοτερόπλευρης συνοστέωσης της στεφανιαίας ραφής και η πατρική γιαγιά, η οποία είχε πολύ ήπια δεξιά πλαγιοκεφαλία, που διαπιστώθηκε μετά από επισταμένο κλινικό έλεγχο, έφεραν την ίδια μεταλλαγή. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας επιβεβαιώνουν τη σημασία του μοριακού ελέγχου στη διάγνωση του συνδρόμου Muenke προκειμένου να διακριθεί από τις περιπτώσεις μη συνδρομικής συνοστέωσης της στεφανιαίας ραφής και υποδεικνύουν την κλινική του ετερογένεια, ακόμα και στα μέλη της ίδιας οικογένειας.

MUENKE SYNDROME: CLINICAL HETEROGENEITY AND THE IMPORTANCE OF MOLECULAR DIAGNOSIS

Apostolopoulou D. [1,2], Stratoudakis A.[3],Chatzaki A.[2], Koxira O.[3], Panagopoulos K.[3], Kollia P.[1], Aleporou V.[1]

1. Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, School of Physical Sciences, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece 2. Department of Genetics and Molecular Biology, "MITERA" General, Maternity and Children Hospital, Athens, Greece 3. Hellenic Craniofacial Center, "MITERA" General, Maternity and Children Hospital, Athens, Greece

Craniosynostosis, the premature fusion of cranial sutures, with a birth prevalence of 1/2100-2500, is a major clinical feature of over 150 syndromes. Genes responsible for the most common craniosynostosis syndromes Apert, Crouzon, Pfeiffer, Muenke, Saethre-Chotzen and Craniofrontonasal syndrome (CFNS) are FGFR1-3, TWIST1 and EFNB1. Almost all craniosynostosis syndromes show clinical and genetic heterogeneity, which makes both clinical and genetic diagnosis difficult. Muenke syndrome (MIM #602849) is defined by the heterozygous presence of P250R mutation in FGFR3 gene and its clinical picture shows significant heterogeneity, with uni- or bilateral coronal synostosis as major feature. For the present study peripheral blood was drawn and DNA was isolated from 47 patients who were referred to the Hellenic Craniofacial Center. PCR of selected parts of FGFR1-3, TWIST1 and EFNB1 genes was performed, followed by DNA sequencing, restriction enzyme digestion and MLPA, in order to identify the underlying genetic cause. In 2 (#42: left coronal synostosis and #53: right coronal synostosis) of 47 patients P250R mutation in FGFR3 gene was found. In the subsequent family analysis of patient #53, his father who had brachycephaly due to bilateral coronal synostosis, and the paternal grand-mother who had very mild right plagiocephaly, which was ascertained after thorough clinical evaluation, carried the same mutation. The results of the present study confirm the importance of molecular testing for the diagnosis of Muenke syndrome, in order to be distinguished from non-syndromic coronal synostosis and indicate its clinical heterogeneity, even among the members of the same family.

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ZnO ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΕΙΔΗ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Αραβαντινού Ανδριάνα Φ., Βασιλική Τσαρπαλή, Στέφανος Νταϊλιάνης, Ιωάννης Δ. Μαναριώτης

Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα, Ελλάδα

Περισσότερα από 1300 προϊόντα καθημερινής χρήσης που κυκλοφορούν παγκοσμίως περιέχουν νανοσωματίδια (nanoparticles/NPs) διαφορετικών υλικών, μεγέθους 1-100 nm, τα οποία χαρακτηρίζονται από βελτιωμένες ιδιότητες σε σύγκριση με τα συμβατικά προϊόντα. Τα NPs βρίσκουν ευρεία εφαρμογή σε πολλά προϊόντα, όπως καλλυντικά, επιστρώσεις υλικών, και χρωστικές ουσίες τα οποία απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Πρόσφατα, NPs έχουν βρεθεί σε αστικά λύματα τα οποία οδηγούνται σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, και στη συνέχεια διατίθενται σε υδάτινους αποδέκτες. Καθώς η χρήση των NPs αυξάνεται, με άγνωστες συνέπειες για το περιβάλλον και τον άνθρωπο, ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να διερευνηθεί η επίδραση των NPs σε υδρόβια είδη, όπως μονοκύτταρα μικροφύκη, προκειμένου να αξιολογηθούν οι επιπτώσεις τους στην παράκτια τροφική αλυσίδα και τα οικοσυστήματα που υποστηρίζουν, καθώς και σε φυσικά συστήματα επεξεργασίας λυμάτων. Πιο συγκεκριμένα, διερευνήθηκε η τοξική επίδραση ZnO NPs στα μικροφύκη Dunaliella tertiolecta, Tetraselmis suesica και Chlorococcum sp. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, τα μικροφύκη εμφάνισαν διαφορετικές ρυθμούς αύξησης, μετά από έκθεση για 24, 48, 72 και 96 h σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ZnO NPs (0,001, 0,01, 0,1, 1 και 10 mM). Συγκεκριμένα, τα φύκη που εκτέθηκαν σε συγκεντρώσεις ZnO NPs από 0,001 έως 0,1 mM παρουσίασαν αυξημένα ποσοστά παρεμπόδισης της ανάπτυξής τους σε όλες τις περιπτώσεις, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (από 1 έως 10 mM) παρατηρήθηκε υπερβολική λύση των κυττάρων, πιθανώς λόγω διαταραχών που εμφανίστηκαν στη δομή και λειτουργία των κυττάρων. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναδεικνύουν όχι μόνο τις τοξικές επιπτώσεις που μπορεί να επιφέρουν τα ZnO NPs, αλλά και την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη των μακροχρόνιων επιπτώσεών τους στους οργανισμούς του υδάτινου περιβάλλοντος.

ZINC OXIDE (ZNO) NANOPARTICLES TOXIC POTENCY ON DIFFERENT MICROALGAE SPECIES

Aranvantinou A.F., Tsaparli V., Ntailanis S., Manariotis I.
University of Patras, 265 00 Patras, Greece

More than 1,300 products globally contain nanoparticles (NPs) of different materials (size of 1 to 100 nm), which are characterized by more improved properties than those found in conventional products. In fact, NPs are widely used in many products such as cosmetics, material coatings, and pigments, while it has been reported their presence in municipal wastewater and wastewater treatment plants, which are consequently discharged to receiving bodies. The aim of the present study was to investigate the potential toxic effect of NPs, such as ZnO NPs, on three unicellular microalgae species, such as Dunaliella tertiolecta, Tetraselmis suesica, and Chlorococcum sp., widely used for performing toxicity tests, in order to assess NPs impact on both the coastal food chain and the ecosystems that they support, as well as on the natural wastewater treatment systems. According to the results of the present study, the microalgae species exposed to different concentrations of ZnO NPs (0.001, 0.01, 0.1, 1, and 10 mM) for 24, 48, 72 and 96 h, showed significant differences on their growth rates. Specifically, algae exposed to concentrations of ZnO NPs ranged within 0.001 to 0.1 mM showed a significant inhibition of their growth, as obtained by the increased inhibitory concentration values (IC) in all cases, while at higher concentrations (from 1 to 10 mM) an excessive lysis was observed in all cases, probably due to disturbances occurred in cellular structure and function. These findings reveal not only the toxic potential of Zno NPs on microalgae species but the need for further studies concerning the long-term effects of NPs on aquatic organisms from different trophic levels.

ΜΙΑ ΝΕΑ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΟΜΑΔΩΝ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Αργυροπούλου Βασιλική, Γεωργίου Χρήστος
1Εργαστήριο Βιοχημείας, Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τ.Κ. 26500, Ρίο, Πάτρα

Το οξειδωτικό στρες είναι μια κατάσταση στην οποία βρίσκονται τα κύτταρα όταν σε αυτά η αντιοξειδωτική άμυνα υπερκεράζεται έναντι των οξειδωτικών εκθέσεων και χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση των ελευθέρων ριζών, οι οποίες προκαλούν καταστροφές στα βιο(μακρο)μόρια του κυττάρου (λιπίδια, νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες). Το οξειδωτικό στρες φαίνεται να εμπλέκεται στους μηχανισμούς τόσο φυσιολογικών (διαφοροποίηση, γήρανση), όσο και παθολογικών καταστάσεων (νευροεκφυλιστικές παθήσεις). Η ερευνά μας αφορά την ανάπτυξη δύο νέων μεθοδολογιών για την ποσοτικοποίηση καρβονυλομάδων σε πρωτεΐνες. Οι καρβονυλομάδες δημιουργούνται στα αμινοξέα των πρωτεϊνών, ύστερα από έκθεση των κυττάρων/οργανισμών σε συνθήκες υψηλού οξειδωτικού στρες. Ως εκ τούτου, οι πρωτεϊνικές καρβονυλομάδες και ιδιαίτερα η ακριβής ποσοτικοποίησή τους, αποτελούν σημαντικό δείκτη εκτίμησης της οξειδωτικής βλάβης στους οργανισμούς. Η ήδη υπάρχουσα φωτομετρική μέθοδος, που στηρίζεται στην αντίδραση των καρβονυλομάδων με το αντιδραστήριο 2,4,-dinitrophenylhydrazine (DNPH) παρουσιάζει αρκετά μειονεκτήματα. Τα βασικότερα είναι: (1) η μη φωτομετρική διαφοροποίηση της προκύπτουσας υδραζόνης από το ελεύθερο DNPH, σε συνδυασμό με την απομόνωσή του μέσω πρωτεϊνικής καταβύθισης και ανεπαρκούς πλυσίματος του πρωτεϊνικού ιζήματος για την απομάκρυνση του μη ειδικά συνδεδεμένου DNPH στην πρωτεΐνη, και (2) η επαναδιάσπαση του δεσμού της υδραζόνης σε όξινο pH. Ως εκ τούτου, δεν μπορεί η κλασική μέθοδος του DNPH να χρησιμοποιηθεί με ακρίβεια. Η νέα φθορισμομετρική μέθοδος που προτείνουμε ξεπερνά τα μειονεκτήματα της κλασικής μεθόδου. Χρησιμοποιεί ένα νέο αντιδραστήριο, το Rhodamine B Hydrazine (RBH), με το οποίο ξεπερνά όλα τα μειονεκτήματα των προηγούμενων μεθόδων και επιπλέον μας δίνει μεγαλύτερη ευαισθησία (λιγότερη ποσότητα πρωτεΐνης). Έτσι, η ακριβής ποσοτικοποίηση των καρβονυλομάδων με το RBH που παράγονται στις πρωτεΐνες είναι πλέον δυνατή σε σύντομο χρονικό διάστημα και μας δίνουν μία εκτίμηση της οξειδωτικής βλάβης που έχει υποστεί το βιολογικό δείγμα.

A NOVEL METHODOLOGY FOR THE QUANTIFICATION OF CARBONYLS AS AN INDICATOR OF PROTEIN PEROXIDATION IN ORGANISMS

Argiropoulou Vasiliki, Georgiou Christos
Laboratory of Biochemistry, Section of Genetics, Cell Biology and Development, Department of Biology, University of Patras, Z.P. 26500, Rio, Patras

Oxidative stress is a situation when the cells are characterized by an overcome of the antioxidant defense by oxidative attacks, which leads to the appearance of free radicals, that cause damages to the bio (macro) molecules of the cell (lipids, nucleic acids, proteins). Oxidative stress is involved in the mechanisms of both physiological (differentiation, aging) and pathological conditions (neurodegenerative diseases). Our research concerns the development of two novel methodologies for the quantification of carbonyl groups in proteins. Carbonyl groups are created in the amino acids of proteins, following the exposure of cells/organisms under high oxidative stress conditions. Therefore, protein carbonyls and especially their precise quantification is an important indicator of oxidative damage in organisms. The existing photometric method, based on the reaction of carbonyl groups with the reagent 2,4,-dinitrophenylhydrazine (DNPH) presents several disadvantages. The main disadvantages are: (1) the non-photometric variation of the resulting hydrazone from the free DNPH reagent, coupled with its isolation via protein precipitation and insufficient washing of the protein precipitate to remove non-specifically bound DNPH to the protein, and (2) the hydrolysis of the hydrazone bond at acidic pH. Therefore, the typical biochemical DNPH-based-method cannot be used accurately. The novel fluorimetric method proposed overcomes the disadvantages of the classical method. The assay is based on a new reagent, Rhodamine B Hydrazine (RBH), which overcomes all the aforementioned disadvantages of the previous methods and further results in higher sensitivity (detection of less amount of protein). Thus, the accurate quantification of protein carbonyl groups with RBH is now possible in a short time and gives us an estimate of the oxidative damage in any biological sample.

Η ΦΩΤΙΑ ΣΤΑ ΔΑΣΙΚΑ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ. ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΣΧΕΣΕΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΟΡΙΩΝ ΑΝΤΟΧΗΣ

Αριανούτσου Μαργαρίτα

Τομέας Οικολογίας – Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Αθήνα, marianou@biol.uoa.gr, http://uaeco.biol.uoa.gr

Κάθε χρόνο καίγονται περίπου 500.000 x 104 τετραγωνικά μέτρα στη Νότια Ευρώπη προκαλώντας σημαντικές οικολογικές και κοινωνικο-οικονομικές ζημιές. Μεταβολές που έχουν σημειωθεί τις τελευταίες δεκαετίες στα πρότυπα χρήσεων γης έχουν πολλαπλασιάσει τον κίνδυνο εκδήλωσης πυρκαγιών. Από την άλλη πλευρά, τροποποίηση στο καθεστώς της φωτιάς αναμένεται να συμβεί υπό τις συνθήκες που σχετίζονται με την κλιματική αλλαγή καθώς όλα τα μοντέλα προβλέπουν αύξηση της μέσης θερμοκρασίας, μείωση των βροχοτττώσεων και ένταση των ακραίων καιρικών φαινομένων. Τα τελευταία δεδομένα στην Ελλάδα αναφέρουν αφενός μεν συχνότερα περιστατικά φωτιάς στα θερμόβια μεσογειακά δασικά οικοσυστήματα και αφετέρου μεγαλύτερης έκτασης και συχνότερα περιστατικά στα ορεινά δασικά οικοσυστήματα. Η σύγχρονη οικολογική έρευνα καλείται πλέον να απαντήσει στο σύνθετο ερώτημα πόσο και υπό ποιες προϋποθέσεις μπορούν τα δασικά οικοσυστήματα να απαντήσουν στις συνθήκες του νέου καθεστώτος φωτιάς που αντιμετωπίζουν. Η έρευνα έχει στραφεί πλέον τόσο στη συγκέντρωση της βασικής οικολογικής γνώσης για τις επιπτώσεις της φωτιάς στα ορεινά δασικά οικοσυστήματα όσο και στη χρήση νέων μεθοδολογικών εργαλείων πρόβλεψης της δυναμικής των οικοσυστημάτων και της απόκρισής τους στο νέο καθεστώς διαταραχής. Στην παρούσα εισήγηση αναφέρονται παραδείγματα 1) νέων ευρημάτων που εμπλουτίζουν την γνώση μας σχετικά με τις οικολογικές σχέσεις των ορεινών δασικών οικοσυστημάτων (ελατοδάση, δάση Μαύρης πεύκης) με τη φωτιά, 2) εφαρμογές Συστημάτων Γεωγραφικής Πληροφορίας (GIS) στην πρόβλεψη της απόκρισης των θερμόβιων μεσογειακών δασών σε μεγάλη χωρική κλίματα υπό συνθήκες ποικίλου καθεστώτος φωτιάς και 3) εφαρμογές οικολογικών μοντέλων στην πρόβλεψη της δυναμικής δασών ορεινών κωνοφόρων υπό το νέο καθεστώς της φωτιάς που ενδέχεται να προκαλέσει η κλιματική αλλαγή.

FIRE IN FOREST ECOSYSTEMS OF GREECE. INVESTIGATING FOR RELATIONSHIPS AND PREDICTING RESILIENCE

Arianoutsou Margarita

Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens 15784, marianou@biol.uoa.gr, http://uaeco.biol.uoa.gr

Every year, approximately 500,000 x 104 m2 of land are burned in the countries of Southern Europe causing substantial ecological and socio-economic impacts. General circulation models agree in their prediction of an overall higher average temperature for the Mediterranean Basin accompanied by decreased precipitation and modified rainfall patterns. Land use changes occurred in the last decades increased fire risk and danger. There is evidence of more frequent fires in the fire-prone Mediterranean vegetation belt and an increase in the number and size of fire events occurring in the cool mountain, non-fire prone forest ecosystems. Contemporary research is now focusing on investigating the ecology of newly-fire effected forest ecosystems, as well as on the development and application of modern methodological tools able to predict forest dynamics and resilience under the altered fire regime. The current lecture presents examples of 1) new research findings related to fire ecology of mountain forest ecosystems of Greece (fir forests, Black pine forests), 2) applications of GIS for predicting levels of resilience in the fire–prone coniferous ecosystems at the landscape level and 3) of predictions on-fire prone coniferous forest ecosystems dynamics under climate change with the use of ecological modelling.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΗΠΑΤΟΣ ΣΕ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΕΣ ΤΣΙΠΟΥΡΕΣ *Sparus aurata*

Βαλαρούτσου Ε., Βουδαντά Ε., Μεντέ Ε., Βερίλλης Π.
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπισήμιο Θεσσαλίας.

Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό την παρατήρηση των επιδράσεων διαφορετικών τροφών στο ήπαρ του είδους Sparus aurata (τσιπούρα). Στο συγκεκριμένο είδος χορηγήθηκαν 3 είδη τροφής, βιολογική, εργαστηριακή και εμπορική επί 41 ημέρες. Η βιολογική περιελάμβανε ιχθυάλευρο 63% και ιχθυέλαιο 9%, η εργαστηριακή περιελάμβανε ιχθυάλευρο 55% και ιχθυέλαιο 9% και σογιάλευρο 10%. Η εμπορική περιελάμβανε ιχθυάλευρο 50 %, ιχθυέλαιο 14%, και σογιάλευρο 16%. Ιστοτεμαχίδια ήπατος λήφθηκαν από 3 ιχθύες ανά διαφορετικό είδος τροφής, μονιμοποιήθηκαν με εμβάπτιση σε διάλυμα 2,5% γλουταραλδεΰδης σε κακοδυλικό νάτριο και εγκλείστηκαν σε εποξική ρητίνη. Ημίλεπτες τομές πάχους 2 – 3 μm χρωματίστηκαν με μπλε του τολουϊδενίου και εξετάστηκαν με οπτικό μικροσκόπιο. Λεπτές τομές πάχους 40-80 nm προετοιμάστηκαν για παρατήρηση σε ηλεκτρονιό μικροσκόπιο διελεύσεως. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στο ήπαρ τσιπούρων που ετράφησαν με τα 3 διαφορετικά είδη σιτηρεσίων. Η γενική ιστολογική εικόνα ήταν φυσιολογική. Οι πυρήνες ήταν κεντρικοί, σφαιρικοί, περιείχαν εμφανή ετεροχρωματίνη και ευδιάκριτο πυρηνίσκο. Παρατηρήθηκαν χοληφόροι πόροι με ομοιόμορφο τοίχωμα και παγκρεατικές νησίδες με παρουσία εκκριτικών κοκκιων στα αδενοκύτταρα. Ο αριθμός των εκκριτικών αυτών κοκκίων ήταν παρόμοιος και για τα τρία διαφορετικά είδη σιτηρεσίων, υποδηλώνοντας την ομοιότητα στη διατροφική κατάσταση όλων των εξεταζόμενων ιχθύων. Οι ηπατικές δοκίδες είχαν το φυσιολογικό πάχος των 1-2 κυττάρων. Ωστόσο, σημειώθηκαν διαφορές στη συχνότητα και το μέγεθος των λιποσταγονιδίων των ηπατοκυττάρων καθώς στην εμπορική τροφή ήταν εμφανώς μεγαλύτερα και περισσότερα σε σχέση με τα άλλα 2 σιτηρέσια. Πιθανόν, αυτό συμβαίνει διότι η εμπορική τροφή περιέχει μεγάλα ποσοστά ιχθυελαίου και αλεύρων φυτικής προέλευσης, κυρίως σόγιας, τα οποία δεν είναι αρκετά εύπεπτα και περιέχουν αντί – διατροφικούς παράγοντες (ουσίες – παρεμποδιστές πρωτεασών). Εάν το ποσοστό των λιπών στην τροφή υπερβαίνει την ικανότητα των ηπατοκυττάρων να οξειδώσουν τα λιπαρά οξέα, επιτελείται μαζική παραγωγή και εναπόθεση τριγλυκεριδίων στα λιποσταγονίδια των ηπατοκυττάρων, δημιουργώντας έτσι στεάτωση.

LIVER MORPHOLOGY OF SEA BREAM *Sparus aurata* FED WITH DIFFERENT DIETS

Valaroutsou E., Voudanta E, Mente E, Berillis P.
Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly.

The liver is a target organ for applying nutritional research studies. The aim of the present study is to determine the effects of different fish diets in sea bream (Sparus aurata) liver morphology. Sea breams were fed 3 diets an organic, a laboratory and a commercial one for 41 days. The organic feed contained 63% fish meal and 9% fish oil. The laboratory feed contained 55% fish meal, 9% fish oil, and 10% soya meal. The commercial feed had 50% fish meal, 14% fish oil and 16% soya meal. Tissue liver samples were obtained from three fish of each dietary treatment. They were immediately fixed in 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M sodium cacodylate solution. Postfixation took place using 1% osmium tetroxide. The final step of the embedding took place in capsules with epon resin. Semi - thin sections (2 - 3 μm) stained with toluidine blue. Ultra-thin sections (40-80 nm) were prepared for T.E.M. observation. The general morphology of all the examined samples was normal. There were bile ducts with uniform wall thickness; the nuclei of the hepatocytes were central and spherical, contained prominent nucleolus and distinct heterochromatin. All the samples included pancreatic islets with similar number of secretory zymogen granules in acinar cells. The number similarity of the secretory zymogen granules suggests that all the examined fishes (fed with organic, lab or commercial food) were in similar nutritional condition. The hepatic cords, which are between the sinusoids, had normal thickness (approximately 1-2 cells). However, this study shows that the lipid droplets in the liver of the fishes fed with commercial food were larger and numerous than in fishes fed with the other two diets. This can be explained because the commercial food contains higher percentage of fish oil and large amounts of plant ingredients that are not digestible and contain anti - nutritional factors (substances - protease inhibitors). If the amounts of dietary lipid exceed the capacity of the hepatic cells to oxidise fatty acids, the result is a massive synthesis and deposition of triglycerides. This condition is termed steatosis. In sea bream, steatosis can result either by an increase in the dietary lipid content or an essential fatty acid deficiency or by the use of vegetable oils in the diets.

Η ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ SBP ΣΤΟ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Βαλασάκη Χρυσάνθη, Μινοπέτρου Μάρθα, Χαραλαμπίδης Κοσμάς, Ρούσσης Ανδρέας
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ιλίσια 15701, Αθήνα

Η πρωτεΐνη SBP (Selenium Binding Protein) απομονώθηκε για πρώτη φορά από το ήπαρ ποντικού σε πειράματα σήμανσης με ραδιενεργό σελήνιο με σκοπό τον εντοπισμό πρωτεϊνών που δεσμεύουν σελήνιο. Δεν πρόκειται για τυπικές σεληνοπρωτεΐνες, οι οποίες ενσωματώνουν το σελήνιο μέσω του αμινοξέος σεληνοκυστεΐνη που κωδικοποιείται από το κωδικόνιο UGA, αλλά για πρωτεΐνες οι οποίες δεσμεύουν το σελήνιο με τρόπο διαφορετικό, άγνωστο έως τώρα, πιθανά μέσω σύζευξης του σεληνίου με τη γλουταθειόνη (GSSe–). Μελέτες στους φυτικούς οργανισμούς, όπως το Arabidopsis, το σόργο και ο ηλίανθος, έχουν δείξει ότι η έκφραση των γονιδίων SBP ρυθμίζεται μεταγραφικά όταν τα φυτά εκτίθενται σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Στο ψυχανθές Lotus japonicus πειράματα ανοσοεντοπισμού έδειξαν ότι η πρωτεΐνη SBP εντοπίζεται σε περιοχές συσσώρευσης μεμβρανών. Στο ρύζι η έκφραση της SBP ενεργοποιείται από ενδογενή σηματοδοτικά μόρια που επάγουν την ανθεκτικότητα στην μόλυνση από παθογόνα και από ουσίες που προκαλούν την παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS). Στο Arabidopsis thaliana εντοπίζονται τρία ομόλογα SBP γονίδια και προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος τους και το λειτουργικό δυναμικό των υποκινητών τους, τόσο κατά τη φυσιολογική ανάπτυξη όσο και σε συνθήκες οξειδωτικής καταπόνησης, πραγματοποιήσαμε πειράματα εντοπισμού της ιστοειδικής έκφρασής τους in planta. Για το σκοπό αυτό οι υποκινητές των γονιδίων SBP1, SBP2 και SBP3 κλωνοποιήθηκαν σε πλασμιδιακούς φορείς που έφεραν το γονίδιο αναφοράς της β-γλουκουρονιδάσης (GUS) και πραγματοποιήθηκε σταθερός μετασχηματισμός του A.thaliana και η δημιουργία των αντίστοιχων διαγονιδιακών σειρών. Η ανάλυση των διαγονιδιακών φυτών έδειξε ότι τα τρία SBP γονίδια υπόκεινται σε διαφορική ρύθμιση τόσο αναπτυξιακά όσο και σε συνθήκες οξειδωτικής καταπόνησης. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την πιθανή ύπαρξη μοναδικών στοιχείων σύνδεσης μεταγραφικών παραγόντων για το κάθε γονίδιο καταδεικνύει τον πολλαπλό ρόλο σε διάφορες λειτουργίες που κατέχουν τα γονίδια SBP.

OXIDATIVE STRESS DIFFERENTIALLY REGULATES THE EXPRESSION OF SBP GENES IN *ARABIDOPSIS THALIANA*

Valasaki Chrysanthi, Minopetrou Martha, Haralampidis Kosmas, Roussis Andreas
National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, 15784 Athens

The SBP protein (Selenium Binding Protein) was initially isolated from mouse liver in radioactive labeling experiments to identify proteins that bind selenium. SBP is not a typical selenoprotein which incorporates selenium through the amino acid selenocysteine, encoded by the UGA codon, but a protein that binds selenium possibly by unknown conjugation mechanism of selenium with glutathione (GSSe-). Studies in different plant species such as Arabidopsis, sorghum and sunflower, have shown that SBP genes are transcriptionally regulated when plants are exposed to biotic and abiotic stress. Immunolocalization expreriments of SBP in Lotus japonicus showed that the protein was present in membrane accumulation areas. In rice SBP expression is activated by endogenous signaling molecules which induce resistance in pathogens and by substances producing reactive oxygen species (ROS). In Arabidopsis there are three homologues SBP genes. To investigate the role of the SBP genes of Arabidopsis thaliana and the functional potential of the respective promoters under both oxidative stress conditions and normal development, we performed experiments to detect the tissue specific expression of SBP genes in planta. To this end we constructed transcriptional fusions of the SBP promoters (pSBP1, pSBP2 and pSBP3) with the GUS reporter gene. Using these constructs, stably transformed lines of A.thaliana were generated. The analysis of the transgenic pSBP::GUS reporter lines, indicates that the three SBP genes are differentially regulated both during development and oxidative stress, suggesting their roles in different functions of the plant possible regulated by unique signatures sequences, which could act as potential transcription factor binding sites.

ΠΙΘΑΝΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΠΟΛΛΑΠΛΟΥ ΜΥΕΛΩΜΑΤΟΣ ΣΕ ΟΣΤΑ ΑΝΔΡΟΣ ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΤΟΥ 20ου ΑΙΩΝΑ

Βάννα Β.[1], Μανώλης Σ.Κ.[2], Μωραΐτης Κ.[3]

1Εργαστήριο Wiener, Αμερικανική Σχολή Κλασικών Σπουδών στην Αθήνα. Σουηδίας 54, 10676 Αθήνα. 2Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας ΕΚΠΑ. Πανεπιστημιόπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα. 3Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ. Μ. Ασίας 75, Γουδή 11527, Αθήνα. Email: v.vanna@uclmail.net smanol@biol.uoa.gr kmoraitis@med.uoa.gr

Η αναφορά περιπτώσεων ατόμων που εμφανίζουν κακοήθεις όγκους στα οστά είναι σπάνια στην ανθρωπολογική βιβλιογραφία παρά τη σπουδαιότητα και το επιδημιολογικό ενδιαφέρον που παρουσιάζουν στη σύγχρονη έρευνα αντιμετώπισης του καρκίνου. Ένα από τα πιο σημαντικά ζητήματα που ανακύπτουν κατά τη μελέτη κακοήθων όγκων σε σκελετικό υλικό αποτελεί η διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος. Η παρούσα εργασία θέτει τις βάσεις για την καλύτερη κατανόηση των κακοήθων όγκων και ιδιαίτερα του πολλαπλού μυελώματος σε οστά παρελθόντων πληθυσμών, καθώς συνιστά μέρος της πρώτης πληθυσμιακής μελέτης, σε αυτήν την περιοχή της Μεσογείου αλλά και στην Ευρώπη, που διενεργείται σε ταυτοποιημένα περιστατικά. Ως σκοπό έχει την παρουσίαση μιας πιθανής περίπτωσης πολλαπλού μυελώματος που διαγιγνώσθηκε σε οστά ανδρός, ηλικίας 74 ετών που πέθανε από καρκίνο σύμφωνα με το εκδοθέν πιστοποιητικό θανάτου, καθώς και τη συζήτηση του ζητήματος της διαφορικής διάγνωσης που εγείρεται. Το εν λόγω άτομο παρουσίαζε πολλαπλές οστεολυτικές εστίες, μέγιστης διαμέτρου 5 mm, που εντοπίζονταν στους κονδύλους της κάτω γνάθου, στις ωμοπλάτες, στους σπονδύλους, στις πλευρές, στα δύο ανώνυμα και στο ιερό οστό. Πρόκειται για σαφώς αφοριζόμενες κυκλοτερείς ή ωοειδείς εστίες, περίπου ίδιας διαμέτρου, που δεν εμφάνιζαν ίχνη σχηματισμού νέου οστού και στερούνταν οστεογόνου αντίδρασης. Η παρουσία πολλαπλών οστεολυτικών εστιών παρατηρείται επίσης και σε περιπτώσεις μεταστατικών καρκινωμάτων. Ωστόσο, η τοπογραφία, το μικρό μέγεθος και η σχετικά σταθερή διάμετρος των εστιών, καθώς και η απουσία οστεογόνου αντίδρασης, επιτρέπουν τη διάκριση του πολλαπλού μυελώματος από τα μεταστατικά καρκινώματα.

A POSSIBLE CASE OF MULTIPLE MYELOMA IN A MALE INDIVIDUAL FROM A MODERN (20th CENTURY) GREEK SKELETAL COLLECTION

Vanna V.[1], Manolis S.K.[2], Moraitis K.[3]

1Wiener Laboratory, American School of Classical Studies at Athens. 54 Souidias Street, 106 76 Athens, Greece. 2Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens. Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece. 3Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine, University of Athens. 75 M. Asias Str.,11527, Athens, Greece.
Email: v.vanna@uclmail.net smanol@biol.uoa.gr kmoraitis@med.uoa.gr

In spite of their significance for modern cancer research and the fact that they have the most revealing epidemiological significance, malignant tumours are an uncommon occurrence in the anthropological literature. Furthermore, one of the most problematic aspects of the study of cancer in skeletal remains is that concerned with the diagnosis of multiple myeloma. The present research represents a starting point for a better understanding of malignant tumours (and multiple myeloma in particular) in past populations, as it comprises part of the first population study of malignant disease in identified human skeletal remains in this part of the Mediterranean and Europe in general. Its objective is to report the occurrence of a possible case of multiple myeloma in the remains of a 74-year-old male, who, according to the available death certificate, died from cancer, and explore the differential diagnoses. The individual described exhibits indisputable osteolytic lesions on several postcranial bones and the mandible. More specifically, there is a profusion of small (up to 5 mm in diameter) perforations on the mandibular condyles, scapulae, vertebrae, ribs, sacrum and innominates. The destructive lesions are numerous and relatively even-sized. They have a circular or oval outline with sharply defined edges. There is no new bone formation or other signs of a bone reaction to their presence in their vicinity. The presence of a multifocal pattern and multiple osteolytic lesions may also be attributed to metastatic carcinoma. However, the specific distribution of the lesions in the skeleton, the quite even and small size of the defects as well as the absence of bone reaction argue against metastatic carcinoma and strongly support a multiple myeloma diagnosis.

ΜΕΛΕΤΗ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΣΤΟΥΣ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ *Metarhizium anisopliae* ΚΑΙ B*eauveria bassiana*

Βαρασσάς Στυλιανός, Κουβέλης Ν. Βασίλης
Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, 157 01, Αθήνα

Τη τελευταία δεκαετία έχει σημειωθεί ραγδαία αύξηση και εξέλιξη των γνώσεων όσον αφορά την κατανόηση της αντιγραφής και μεταγραφής του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) στους μύκητες. Τα μιτοχόνδρια διαθέτουν το δικό τους γενετικό σύστημα, το οποίο είναι ημι-αυτόνομο και διακριτό από το πυρηνικό γονιδίωμα του κυττάρου και η λειτουργία τους είναι αναγκαία για την ζωή. Το μιτοχονδριακό γονιδίωμα κωδικοποιεί πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και στην οξειδωτική φωσφορυλίωση και τα RNA (rRNA και tRNA) που χρειάζονται για την μετάφραση των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το γονιδίωμα του οργανιδίου αυτού. Όμως, οι πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για την αντιγραφή (π.χ. η DNA Πολυμεράση γ) και την μεταγραφή (π.χ. η μιτοχονδριακή RNA Πολυμεράση) του mtDNA κωδικοποιούνται από πυρηνικά γονίδια. Είναι γνωστό ότι κάποιες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην αντιγραφή και μεταγραφή του mtDNA έχουν υψηλή ομολογία με τις αντίστοιχες των βακτηριοφάγων. Οι ασκομύκητες Metarhizium anisopliae και Beauveria bassiana ανήκουν στην τάξη Hypocreales και παρουσιάζουν μεγάλο επιστημονικό και βιοτεχνολογικό ενδιαφέρον ως εντομοπαθογόνοι μύκητες που χρησιμοποιούνται για την προστασία αγροτικών καλλιεργειών ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η πληρέστερη κατανόηση της μιτοχονδριακής αντιγραφής και μεταγραφής στους μύκητες αυτούς. Από νουκλεοτιδικές στοιχίσεις γνωστών αλληλουχιών βρέθηκαν συντηρητικές περιοχές για το σχεδιασμό εκκινητών. Με την χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης [PCR] έγινε εμπλουτισμός των πυρηνικών γονιδίων της DNA πολυμεράσης γ και της μιτοχονδριακής RNA πολυμεράσης. Για τα δύο αυτά γονίδια κατασκευάστηκαν φυλογενετικά δέντρα που απεικονίζουν την εξελικτική πορεία των γονιδίων αυτών σε συγγενικά είδη με διάφορες φυλογενετικές μεθόδους (Γειτνίασης, Bayesian και Μέγιστης Πιθανοφάνειας), και τις σχέσεις μεταξύ των οργανισμών που μελετήθηκαν με σύγκριση με το πιο διαδεδομένο φυλογενετικό δείκτη, την ITS1-5.8S-ITS2 περιοχή της πυρηνικής rRNA επανάληψης.

STUDY OF NUCLEAR GENES INVOLVED IN THE REPLICATION AND TRANSCRIPTION OF THE MITOCHONDRIAL GENOMES OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *Metarhizium anisopliae* AND *Beauveria bassiana*

Varassas Stylianos, Kouvelis N. Vassili
Department of Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15701 Athens

A great advance in the understanding of mitochondrial replication and transcription in fungi has been achieved recently. Mitochondria have their own genetic system, which is semi-autonomous and separate from the nuclear genome and their function is essential to life. The mitochondrial genome encodes proteins involved in the electron transport chain and oxidative phosphorylation and RNAs (rRNA and tRNA) needed for the translation of the proteins encoded by the genome of this organelle. However, the proteins necessary for replication (e.g. DNA Polymerase Gamma) and for transcription (e.g. Mitochondrial RNA Polymerase) of the mtDNA are encoded by nuclear genes. It is known that several of the proteins involved in mitochondrial replication and transcription have homology with the respective genes of bacteriophages. The ascomycetes Metarhizium anisopliae and Beauveria bassiana belong to the order Hypocreales and have great scientific and biotechnological interest as entomopathogenic fungi, since they are used for the protection of crops as Biological Control Agents (BCAs). The aim of this work is to understand better the mechanisms of mitochondrial transcription and replication in these fungi. Based on nucleotide alignments of known fungal genes, the homologous regions of DNA polymerase gamma and mtRNA polymerase were exploited for designing primers, in order to amplify these genes for M. anisopliae and B. bassiana. These nuclear encoded genes were obtained using the polymerase chain reaction [PCR] with the designed primers. For these two genes, phylogenetic trees were constructed in order to study the evolution of both the genes with different phylogenetic methods (Neighbor-Joining, Bayesian, and Maximum Parsimony), and the organisms studied in comparison to the widely used phylogenetic marker ITS1-5.8S-ITS2 region of the nuclear ribosomal rRNA repeat.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΚΟΥΡΚΟΥΤΑ (*Stellagama stellio cypriaca*) ΣΤΗΝ ΚΥΠΡΟ

Βλασίου Α.[1], Καραμέτα Ε.[2], Παφίλης Π. [2], Σφενδουράκης Σ.[1]
1 Τμήμα Βιολογικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Πανεπιστημιούπολη, Τ. Θ. 20537, Λευκωσία, 1678, Κύπρος. 2 Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 157-84, Αθήνα.

Το είδος Stellagama stellio (L. 1758) αντιπροσωπεύεται στην Κύπρο από το ενδημικό υποείδος S. s. cypriaca (Daan 1967) το οποίο εξαπλώνεται σε ολόκληρο το νησί, από τα παράλια μέχρι και τις κορυφές του Τροόδους. Πρόκειται για μια σαύρα που ακολουθεί τη στρατηγική του ενεδρευτή για τη σύλληψη της λείας της. Απαντάται σε πλήθος διαφορετικών τύπων βιοτόπων όπως φρύγανα, μακία, καλλιέργειες ελαιόδεντρων και χαρουπιών ενώ συχνά παρατηρείται σε ξερολιθιές και τοίχους εντός και εκτός του αστικού περιβάλλοντος. Στόχος της έρευνας αυτής ήταν η μελέτη της τροφικής οικολογίας των κυπριακών πληθυσμών του είδους στην Κύπρο. Για το σκοπό αυτό μελετήσαμε το στομαχικό περιεχόμενο 42 ατόμων, 20 αρσενικών, 12 θηλυκών και 10 ανήλικων. Η συλλογή έγινε κατά τη διάρκεια δύο εποχών, το φθινόπωρο (n=17) και την άνοιξη (n=23). Το περιεχόμενου του στομαχιού αναγνωρίστηκε στο χαμηλότερο ταξινομικό επίπεδο που ήταν εφικτό αλλά οι αναλύσεις έγιναν σε επίπεδο τάξης και πάνω. Για κάθε άτομο μετρήθηκε το βάρος του στομαχικού περιεχομένου και λήφθηκαν διάφορες μορφομετρικές μετρήσεις. Εκτιμήθηκαν οι δείκτες ποικιλότητας Shannon-Wienner και άλφα του Fisher για το στομαχικό περιεχόμενο κάθε ατόμου, καθώς και ο συνολικός αριθμός τεμαχίων λείας, και διερευνήθηκε κατά πόσο οι τιμές αυτές επηρεάζονται από το φύλο, το βάρος, την ηλικιακή κλάση και την εποχή σύλληψης κάθε ατόμου. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης θα χρησιμεύσουν μελλοντικά σε συγκρίσεις με ανάλογα δεδομένα από άλλες περιοχές εξάπλωσης του είδους.

THE FEEDING BIOLOGY OF THE ROUGHTAIL ROCK AGAMA (Stellagama stellio cypriaca) IN CYPRUS

Vlasiou A.[1], Karameta E.[2], Pafilis P. [2], Sfenthourakis S.[1]
1 Dept. of Biological Sciences, University of Cyprus, P.O. Box 20537, 1678 Nicosia, Cyprus.
2 Section of Zoology and Marine Biology, Dept. of Biology, University of Athens, University Campus, Ilisia, 157-84, Athens, Greece.

The agamid lizard Stellagama stellio (L. 1758), which is distributed from Greece to Syria, is represented in Cyprus by the endemic subspecies S. s. cypriaca (Daan 1967). The lizard can be found all over the island, from coastal sites to the higher parts of Troodos mountain range. This species follows the "sit and wait" tactic for capturing its prey. It exploits many habitat types, such as phrygana, maquis, olive groves, carob tree plantations, and is often seen on dry-stone walls and buildings, at both urban and suburban regions. In order to explore whether the success of this species in colonizing such a broad range of habitat types is related with the diversity of prey types, we studied the stomach content of 42 individuals, 20 male, 12 female and 10 juvenile. Specimens were collected during two seasons, fall (n=17) and spring (n=23). The stomach content was identified at the lowest possible taxonomic level, but analyses were made at the order level. We measured the weight of stomach content of each individual and took several morphometric measurements. We estimated the Shannon-Wiener and Fisher's alpha diversity indices for the stomach content of each specimen, as well as the total number of prey items, and we explored whether these values are affected by sex, weight, age class or collecting season. The results of the present study will be used in future comparisons with similar data from other regions of the species' distributional range.

ΟΙ ΑΚΟΥΣΤΙΚΟΙ ΠΕΡΙΠΑΤΟΙ ΩΣ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

Βότση Νεύτα-Ελευθερία, Μαζάρης Αντώνης, Παντής Γιάννης
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Στόχος της Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης (ΠΕ) είναι η παροχή γνώσεων για το φυσικό περιβάλλον και τα προκύπτοντα προβλήματα, η ενημέρωση αντιμετώπισής τους και η ώθηση ενεργού συμμετοχής. Οι Ακουστικοί Περίπατοι αποτελούν μία πρακτική διέγερσης της οικολογικής ευαισθητοποίησης. Σκοπός της εργασίας είναι ο εντοπισμός Περιοχών Υψηλής Ακουστικής Αξίας (ΠΥΑΑ), κατάλληλες για την πραγματοποίηση Ακουστικών Περιπάτων προσφέροντας έτσι ένα εναλλακτικό εργαλείο ΠΕ. Εντοπίσαμε τις κύριες πηγές θορύβου, σύμφωνα με την Οδηγία 2002/49/ΕΕ, και χαρτογραφήσαμε τις θορυβώδεις περιοχές σε εθνικό επίπεδο. Εξάγοντας αυτές τις περιοχές από ένα χάρτη της Ελλάδας προσδιορίσαμε τις ΠΥΑΑ. Ο παραγόμενος χάρτης συνδυάστηκε με χάρτες υψομέτρου και κάλυψης γης (Corine Land Cover 2000) προκειμένου να προσδιοριστούν τα κύρια χαρακτηριστικά του. Για την πραγματοποίηση των Ακουστικών Περιπάτων χρησιμοποιήθηκε ο κατάλληλος εξοπλισμός για την ποσοτική και ποιοτική χαρτογράφηση του ηχοτοπίου ΠΥΑΑ. Οι ΠΥΑΑ καταλαμβάνουν το 48% της Ελλάδας (65.126km2). Οι γεωργικές περιοχές (μ.ο. ποσοστού έκτασης 1,54 km2) και τα δάση (μ.ο. ποσοστού έκτασης 2,38 km2) καλύπτουν το μεγαλύτερο ποσοστό των ΠΥΑΑ, χωρίς να λείπουν οι υγρότοποι (μ.ο. ποσοστού έκτασης 1,39 km2) και οι υδάτινες επιφάνειες (μ.ο. ποσοστού έκτασης 3,50 km2). Οι περισσότερες περιοχές εντοπίζονται σε μέσα ή υψηλά υψόμετρα. Η ΠΕ είναι δυνατό να χρησιμοποιήσει τους Ακουστικούς Περιπάτους σε ΠΥΑΑ ως γέφυρα ανάμεσα στη φύση και τους πολίτες. Δίνεται η δυνατότητα ανάλυσης και αξιολόγησης των ηχοτοπίων του φυσικού περιβάλλοντος με αποτέλεσμα την ακουστική αντιληπτική ευαισθησία και την κριτική σκέψη γύρω από οικολογικές διεργασίες. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος 'Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση' του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

SOUNDWALKS AS AN ENVIROMENTAL EDUCATIONAL TOOL

Votsi Nefta-Eleftheria, Mazaris Antonis, Pantis John
Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

Environmental Education (EE)'s goal is to provide knowledge of the physical environment and the upcoming problems, information about confronting them and motivation of active participation. Soundwalks constitute of a stimulatory practice of ecological awareness. Our aim is to define areas of high Acoustic value, appropriate for Soundwalks to be conducted, thus offering an alternative tool of EE. We located major noise sources, according to Directive 2002/49/EE and mapped noisy areas at national level. Extracting these areas from a map of Greece we defined areas of high Acoustic value. The resulting map was combined with an altitudinal and a land cover map (Corine Land Cover 2000) in order to assess its main characteristics. The suitable equipment was used to quantitatively and qualitatively map the soundscape of areas of high Acoustic value. Areas of high Acoustic value cover the 48% of Greece (65.126km2). Agricultural areas (mean area cover 1.54 km2) and forests (mean area cover 2.38 km2) cover the highest percentage of areas of high Acoustic value, without omitting wetlands (mean area cover 1.39 km2) and water surfaces (mean area cover 3.50 km2). Most of these areas are situated in mean or high elevations. EE could use Soundwalks in areas of high Acoustic value as a bridge to connect nature to citizens. Analysis and assessment of soundscapes is provided offering the acoustical conceptual awareness and the criticism regarding ecological processes. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program 'Education and Lifelong Learning' of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund.

Η ALDH3A1 ΤΟΥ ΚΕΡΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΝΕΙ ΤΗΝ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ DNA ΑΠΟΚΡΙΣΗ

Βουλγαρίδου Γεωργία- Περσεφόνη, Ζιώγα Περσεφόνη, Παναγιωτίδου Ελένη, Μάντσο Θεοδώρα, Παππά Αγλαϊα*

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη 68100 *Αλληλογραφία: apappa@mbg.duth.gr*

Η αλδεϋδική αφυδρογονάση 3Α1 (ALDH3A1) είναι ένα εξαρτώμενο από το NAD(P)+ ένζυμο, υπεύθυνο για την οξείδωση μιας ποικιλίας ενδογενών και εξωγενών αλδεϋδών στα αντίστοιχα καρβοξυλικά τους οξέα. Η ALDH3A1 εκφράζεται ιδιοστατικά στον κερατοειδή χιτώνα σχεδόν όλων των θηλαστικών, ενώ η ικανότητα της να απενεργοποιεί παρα-προϊόντα της λιπιδικής υπεροξείδωσης φαίνεται να είναι κρίσιμη για την επιβίωση του επιθηλίου του κερατοειδούς, ενός ιστού μονίμως εκτεθειμένου σε περιβαλλοντικούς στρεσογόνους παράγοντες. Εξαιτίας της εξαιρετικά υψηλής έκφρασης της στον ιστό αυτό, η ALDH3A1 έχει χαρακτηριστεί ως κρυσταλλίνη του κερατοειδούς, αλλά οι ακριβείς λειτουργίες της αναφορικά με τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης ακόμα παραμένουν άγνωστες. Στην παρούσα έρευνα, δημιουργήσαμε μέσω σταθερής διαμόλυνσης μια σειρά επιθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς, η οποία εκφράζει σε φυσιολογικά επίπεδα την ανθρώπινη ALDH3A1 (ALDH3A1-HCE-2) και στην συνέχεια μελετήσαμε την βιωσιμότητα των ALDH3A1-HCE-2 κυττάρων υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες χρησιμοποιώντας διάφορες οξειδωτικές ουσίες όπως η ετοποσίδη, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το 4-βούτυλο-υδροϋπεροξείδιο και την 4- υδροξυνονενάλη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ένα σαφές πλεονέκτημα επιβίωσης των κυττάρων ALDH3A1-HCE-2 έναντι των ψευδώς διαμολυσμένων (mock-HCE-2). Για να υπολογίσουμε τις βλάβες στο DNA κάτω από τις ίδιες οξειδωτικές συνθήκες, επιδράσαμε τα κύτταρα με τα αναφερόμενα οξειδωτικά και οπτικοποιήσαμε τόσο τις μονόκλωνες όσο και τις δίκλωνες βλάβες στο DNA μέσω της τεχνικής ανάλυσης κομήτη (comet assay). Τα κύτταρα ALDH3A1-HCE-2 παρουσίασαν ενισχυμένη αντίσταση έναντι των βλαβών στο DNA και την απόπτωση σε σύγκριση με τα control κύτταρα (mock-HCE-2). Επιπλέον, συγκριτική ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης μέσω QPCR έδειξε μια γενικότερη υπερέκφραση γονιδίων που σχετίζονται με μονοπάτια επιδιόρθωσης του DNA καθώς και με μια πιο ισχυρή ενεργοποίηση της ιστόνης H2Ax στα ALDH3A1-HCE-2 κύτταρα. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα μας είναι σύμφωνα με τον γενικότερο ισχυρό αντιοξειδωτικό ρόλο που έχει αποδοθεί στην ALDH3A1, ενισχύοντας ακόμη περισσότερο τον ρόλο της ως κρυσταλλίνη του κερατοειδούς.

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο-ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ)- Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

CORNEAL ALDH3A1 MODULATES DNA DAMAGE RESPONSE

Voulgaridou Georgia-Persephoni, Zioga Pesephoni, Panagiotidou Eleni, Mantso Theodora, Pappa Aglaia*

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

Aldehyde dehydrogenase 3A1 (ALDH3A1) is an NAD(P)+-dependent enzyme responsible for the oxidation of various endogenous and exogenous aldehydes to their corresponding carboxylic acids. ALDH3A1 is ubiquitously expressed in the mammalian cornea, while its ability to detoxify by-products of lipid peroxidation appears to be crucial for the survival of corneal epithelium, a tissue constantly exposed to oxidative environmental stressors. Due to its abundant expression, ALDH3A1 has been characterized as corneal crystallin, but its exact functions towards maintaining corneal homeostasis still remain elusive. In this study, we established a stably transfected human corneal epithelium cell line HCE-2 expressing human ALDH3A1 at physiological levels (ALDH3A1-HCE-2) and examined the viability of ALDH3A1-HCE-2 cells under conditions of oxidative stress by using a variety of oxidants like etoposide, hydrogen peroxide, tert-butyl-hydroperoxide and 4-hydroxynonenal. The results indicated a significant survival advantage of ALDH3A1-HCE-2 cells over mock-HCE-2 cells. To estimate DNA damage under the same oxidative conditions, we incubated cells with the referred oxidants and visualized both single and double stand DNA breaks via comet assay. ALDH3A1-HCE-2 exhibited enhanced tolerance against DNA damage and apoptosis when compared to control (mock-HCE-2). Furthermore, comparative analysis of gene expression through QPCR demonstrated a general up-regulation of a variety of genes involved in the DNA repair pathways along with a more prominent activation of H2Ax in ALDH3A1-HCE-2 cells. In conclusion, our results are in consistency with a strong antioxidant role of ALDH3A1, supporting its role as a corneal crystallin conferring protection in this tissue. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund-ESF) and Greek national funds through the Operational Program “Education and Lifelong Learning” of the National Strategic Reference Framework (NSRF)- Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund.

ΑΝΑΖΗΤΩΝΤΑΣ ΝΕΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΕΣ ΟΞΕΙΔΑΣΕΣ ΚΑΙ ΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΕΣ ΜΕ ΣΤΟΧΟ ΤΗΝ ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ/ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΛΙΓΝΙΝΗΣ

Αναστασία Π. Γαλανοπούλου, Θωμάς Φουντζουλας, Μαριλένα Κουκουνιά, Ευστάθιος Κατσίφας, Δημήτρης Γ. Χατζηνικολάου

Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784 Ζωγράφου, Αθήνα

Η μελέτη και αξιοποίηση των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για τη διάσπαση η/και την τροποποίηση της λιγνίνης αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας τις τελευταίες δεκαετίες. Ειδικότερα όμως, για τα ένζυμα βακτηριακής προέλευσης που εμπίπτουν σε αυτή την κατηγορία, λίγα είναι γνωστά. Πρόσφατες μελέτες, υποδεικνύουν πως και σε αυτό το Βασίλειο υπάρχουν αντιπρόσωποι με σημαντική λιγνινολυτική δράση και πιθανά νέες ιδιότητες που θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν βιοτεχνολογικά. Στην παρούσα εργασία, 50 βακτηριακά στελέχη απομονώθηκαν από μία ρυπασμένη περιοχή γειτονική σε διυλιστήριο (Ελευσίνα, Αττική). Τα στελέχη αυτά μελετήθηκαν ως προς την ικανότητα τους να αναπτύσσονται με μόνη πηγή άνθρακα παράγωγα της λιγνίνης ή άλλες αρωματικές ενώσεις όπως καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, κατεχόλη, κερσετίνη και χλωροφαινόλη. Από την παραπάνω δοκιμασία έγινε εμφανές πως η πλειοψηφία των υπό μελέτη στελεχών έχει την ικανότητα ανάπτυξης σε κάποιες από τις παραπάνω ενώσεις. Βάσει 16s γονιδιακής ανάλυσης, οι αντιπρόσωποι που επέδειξαν ικανότητα ανάπτυξης σε μεγαλύτερο εύρος πηγών ανήκουν στα γένη Bacillus και Enterobacter. Ένα Enterobacter sp., επιλέχθηκε για περαιτέρω μελέτη του ενζυμικού του δυναμικού. Το στέλεχος αναπτύχθηκε σε υγρές καλλιέργειες με διαφορετικές πηγές άνθρακα και ακολούθησε εκτεταμένος έλεγχος δράσης υπεροξειδασών και οξειδασών με τη χρήση διαφορετικών υποστρωμάτων, διαφορετικές τιμές pH και έλεγχο εξάρτησης από επιπλέον παράγοντες όπως H_2O_2, Mn^{2+} και NAD/H. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης, αποδεικνύουν την ύπαρξη λιγνινο-τροποποιητικών ενζύμων τα οποία πιθανά θα μπορούσαν να συντελέσουν στη βιοτεχνολογική αξιοποίηση της λιγνίνης.

ENZYME BIOPROSPECTING FOR LIGNIN VALORIZATION: SEARCHING FOR BACTERIAL OXIDASES AND PEROXIDASES

Anastastasia P. Galanopoulou, Thomas Fountzoulas, Marilena Koukounia, Efstathios Katsifas, Dimitris G. Hatzinikolaou

Microbiology Group, Sector of Botany, Department of Biology, University of Athens, University Campus at Zografou, 15784 Attica, Greece

Significant research efforts have been devoted, over the last decades, in the discovery and exploitation of microbial enzymes involved in the degradation and/or modification of lignin. However, the enzymology of lignin modification is still not well understood in bacteria even though, recent findings indicate that within this kingdom, there are representatives with significant and novel ligninolytic potential. In a bacterial enzyme bioprospecting effort for lignin valorisation, fifty bacterial strains isolated from a polluted field near an oil-refinery plant (Elefsina-Greece) were studied on their ability to grow on different aromatic substrates, including lignin derivatives. The majority of the isolates showed a distinct ability to grow on aromatic carbon sources especially caffeic acid, ferulic acid, catehol, quercetin and chlorophenol. 16s rRNA gene analysis revealed that the most prominent strains belong to the Bacillus and Enterobacter genera. One of the isolates, an Enterobacter sp., that revealed the greatest ability to grow in the above mentioned sources, was chosen for further study. Liquid cultures on different carbon sources were conducted, in order to assess the corresponding extracellular and cell-associated enzymatic potential. Using high throughput microplate approaches, we performed an extensive screening for oxidase and peroxidase activities employing various substrates at different pH values, assessing in parallel the possible H2O2, Mn2+ and NAD/H dependencies. The results suggest that this strain is able to produce lignin modifying enzymes that could be possibly applied in lignin valorisation.

ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΠΟΥΡΙΝΩΝ: ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΚΑΙ 'ΚΡΥΦΟΙ' ΡΟΛΟΙ

Κατερίνα Γαλανοπούλου, Μαρία Γαληνού, Φοίβος Μπορμπόλης, Μάγια Καραχάλιου, Σωτήρης Αμίλλης, Γιώργος Διαλλινάς
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Περίληψη Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί και τα φυτά μπορούν να χρησιμοποιούν πουρίνες ως πηγές αζώτου μέσω των διαδοχικών οξειδώσεων τους προς ουρία και τελικά την παραγωγή αμμωνιακών ιόντων. Όλα τα γονίδια που κωδικοποιούν για τα ένζυμα και τους μεταφορείς που εμπλέκονται στην πρόσληψη και αποικοδόμηση των πουρινών έχουν μελετηθεί εκτενώς στον πρότυπο ασκομύκητα Aspergillus nidulans. Ωστόσο, ο υποκυτταρικός εντοπισμός τους παραμένει άγνωστος. Χρησιμοποιώντας λειτουργικές, φθορίζουσες, χιμαιρικές πρωτεΐνες διερευνάται η in vivo υποκυτταρική κατανομή έξι βασικών ενζύμων της καταβολικής οδού και συγκεκριμένα, της αφυδρογονάσης της ξανθίνης (HxA), της οξειδάσης του ουρικού οξέος (UaZ), της υδρολάσης του 5-υδροξυ-ισοουρικού(UaX), της καρβοξυλάσης της 2-οξο-4-υδροξυ-4-καρβοξυ-ουρεϊδοϊμιδαζολίνης (UaW), της αλλαντοϊνάσης (AlX) και της αλλαντοϊκάσης (AaX), καθώς και μιας α-κετογλουταρικής Fe (II)-εξαρτώμενης διοξυγενάσης (XanA), που συμμετέχει σε μια ειδική για τους μύκητες εναλλακτική οδό οξείδωσης της ξανθίνης. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι HxA, A lX, AaX και XanA εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα, ενώ η UaZ, και ενδεχομένως οι UaX και UaW, βρίσκονται σε υπεροξεισώματα, αποτέλεσμα που ενισχύεται περαιτέρω μέσω της μετατόπισής τους στο κυτταρόπλασμα σε στελέχη με μεταλλάξεις pex. Επίσης, πολλά από αυτά τα ένζυμα, και παραδόξως και οι μεταφορείς, εμφανίζονται εντοπισμένα και σε δομές του αγενούς αναπαραγωγικού κύκλου του μύκητα. Ειδικότερα, φαίνεται ότι η έκφραση του μεταφορέα UapA στις μετούλλες είναι απαραίτητη για τη συσσώρευση ουρικού οξέος στα κονιδιοσπόρια. Αυτή είναι η πρώτη φορά που ένας μεταφορέας σε κατώτερο ευκαρυωτικό σύστημα φαίνεται να συμμετέχει στην αναδιανομή ενός μεταβολίτη, εκτός από τον προφανή του ρόλο στην πρόσληψη τροφής από το περιβάλλον. Τέλος, διαφαίνεται η ύπαρξη «κρυφών» ρόλων του ουρικού οξέος, σχετιζόμενων με το οξειδωτικό στρες, το ρυθμό ανάπτυξης και την παραγωγή κονιδιοσπορίων. Τα αποτελέσματά δείχνουν ότι ο καταβολισμός πουρινών και ενδιάμεσων μεταβολιτών επηρεάζει την ανάπτυξη των μυκήτων.

SUBCELLULAR LOCALIZATION OF KEY PROTEINS INVOLVED UN PURINE CATABOLISM: FUNCTIONAL IMPLICATIONS AND CRYPTIC ROLES

Katerina Galanopoulou, , Maria Galinou, Fivos Borbolis, Mayia Karachaliou, Sotiris Amillis, George Diallinas

Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis

Abstract Most microorganisms and plants can use purines as nitrogen sources through their successive oxidation to urea and eventually the production of ammonium. All genes coding for enzymes and transporters involved in the degradation of purines have been excessively studied in the model ascomycete Aspergillus nidulans. However, the localization of key enzymes involved in purine breakdown remains unknown. Here we use functional fluorescent chimeric proteins to clarify the in vivo subcellular distribution of 6 key enzymes, namely, xanthine dehydrogenase (HxA), uric acid oxidase (UaZ), 5-hydroxy-isourate hydrolase (UaX), 2-oxo-4-hydroxy-4-carboxy ureidoimidazoline carboxylase (UaW), allantoinase (AlX) and allantoicase (AaX), involved in the major purine catabolic pathway, as well as, of an alpha-ketoglutarate Fe(II)-dependent dioxygenase (XanA), involved in a fungal-specific alternative pathway for xanthine oxidation. We find that HxA, AlX, AaX and XanA are localized in the cytoplasm, while UaZ, and possibly UaX and UaW, are peroxisomal. Peroxisomal localization of UaZ is further confirmed by mislocalization in the cytoplasm in relevant pex mutant genetic backgrounds. We also show that several of these enzymes, and surprisingly transporters, are also localized in specific asexual structures of the fungus. In particular, we show that expression of the UapA transporter in the metullae is essential for uric acid accumulation in the conidiospores. This is the first time that a transporter in a lower eukaryote is shown to be involved in metabolite redistribution, in addition to its canonical role in nutrition. Finally, using specific genetic blocks, we speculate on cryptic roles of uric acid in respect to oxidation stress, growth rate and conidiospores production. Our results suggest that purine catabolism and its intermediate metabolites might affect fungal development.

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΠΡΟΣΜΙΞΕΩΝ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Γαλάρα Ιωάννα, Κολοβός Ματθαίος, Σταμάτης Κώστας, Σαραφίδου Θεολογία, Σαρρή Κωνσταντίνα, Μαμούρης Ζήσης

Εργαστήριο Γενετικής, Εξελικτικής και Συγκριτικής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Η συνεχιζόμενη ανάγκη για σίγουρη και ασφαλή ταυτοποίηση ζώων για ταξινομικούς, ιατροδικαστικούς και οικολογικούς λόγους ανέδειξε τη μεγάλη αξία της χρήσης μικρών αλληλουχιών DNA, γνωστές και ως barcoding DNA. Το barcoding DNA είναι επίσης χρήσιμο και σε άλλους τομείς όπως η βιομηχανία και η ποιότητα τροφίμων, βοηθώντας στην ταυτοποίηση των ζωικών ειδών στα τρόφιμα με στόχο τη σωστή ενημέρωση των καταναλωτών. Ωστόσο, σε πολλά από τα δείγματα τροφών η ποιότητα του DNA επηρεάζεται σοβαρά και η αποικοδόμηση του DNA πολύ συχνά εμποδίζει την ενίσχυση με PCR τμημάτων μεγαλύτερων από 250 bp. Έτσι, ένας γενετικός δείκτης θα πρέπει να είναι αρκετά μικρός ώστε επίσης να επιτρέψει την ακριβή ενίσχυση DNA από τα επεξεργασμένα τρόφιμα. Επιπλέον, βραχείες αλληλουχίες θα μπορούσαν να επιτρέψουν την ακριβή ταυτοποίηση των μεταλλάξεων σημείου με την τεχνική SSCP, αποφεύγοντας επαναλαμβανόμενες αλληλουχήσεις του DNA των δειγμάτων προς ανάλυση. Για να ξεπεραστούν αυτά τα προβλήματα αναπτύξαμε ένα ζεύγος εκκινητών, για την ενίσχυση ενός τμήματος εντός του γονιδίου 16S rRNA, προκειμένου να δημιουργηθεί ένας δείκτης. Για να ελέγξουμε την ικανότητα των εκκινητών να ενισχύουν αξιόπιστα και να ταυτοποιούν χωρίς ψευδώς αρνητικά το DNA των ειδών σε μίξεις δειγμάτων, παρασκευάστηκαν τεχνητά δείγματα, μετά από άλεση και ανάμιξη ενός αυξανόμενου αριθμού (μέχρι πέντε) διαφόρων ειδών κρεάτων: κοτόπουλου, γαλοπούλας, πρόβατου, χοίρου και βοδινού. Κάθε μίγμα περιείχε έναν συνδυασμό των διαφορετικών ειδών σε διαφορετικές ποσότητες (η μικρότερη ποσότητα για ένα είδος ήταν 1%). Η ανάλυση των προσμίξεων έδειξε ότι το ζεύγος των εκκινητών μαζί με τη μέθοδο SSCP διαχώρισε πλήρως έως τέσσερα είδη μέσα σε ένα μείγμα ανεξαρτήτως της ποσότητα του κρέατος του είδους. Ωστόσο, η προσθήκη ενός πέμπτου είδους θόλωνε την εικόνα με αποτέλεσμα να μειώνεται η διακριτική ικανότητα μετά από ανάλυση SSCP.

DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS FOR THE IDENTIFICATION OF ADMIXTURES IN FOOD OF ANIMAL ORIGIN

Galara Ioanna, Kolovos Mathaios, Stamatis Costas, Sarafidou Theologia, Sarri Konstantina, Mamuris Zissis

Laboratory of Genetics, Evolutionary and Comparative Biology, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly

The ongoing need for accurate and secure animal identification for taxonomic, forensic and conservation purposes have placed great value on the use of short DNA sequences, also known under the term of DNA barcoding. DNA barcoding is useful in other fields such as food industries and food quality, helping the identification of animal species in food and providing proper consumer information. However, in many of food samples the quality of DNA could be seriously affected and DNA degradation very often prevents PCR amplification of fragments longer than 250 bp. Therefore, a genetic marker should to be short enough to allow also accurate amplification from processed food. Furthermore, short sequences could allow the accurate identification of point mutations by the SSCP technique, avoiding repetitive DNA sequencing of the analysed specimens. To overcome these problems we developed a universal set of primers, amplifying a fragment within 16S rRNA gene, in order to create a "mini-barcode" marker. To test the capacity of primers to reliable amplify species' DNA in pooled samples without false negatives, artificially samples were prepared and analysed, after grinding an admixture of an increasing number (up to five) of different species chicken, turkey, sheep, pig and beef. Each admixture contained a combination of different species in different quantities (the smallest quantity for a species being 1%). Analyses of the admixtures showed that the designed set of primers together with the SSCP method fully discriminated up to four species within an admixture regardless the quantity of the species' meat. However, the addition of a fifth species blurred the image resulting to lower resolution after SSCP analysis.

Η IN VIVO ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ PPARβ/δ ΑΝΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΗΝ ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΩΝΕΙ ΤΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΣΤΟ ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ

Γαλάτου Ελευθερία, Λάζου Αντιγόνη
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης 54124 Θεσσαλονίκη

Ο διαβήτης αποτελεί ένα από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιακών παθήσεων και συνοδεύεται από αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας. Η διαβητική καρδιομυοπάθεια χαρακτηρίζεται από διαταραχές του μεταβολισμού, συσταλτική δυσλειτουργία και καρδιακή υπερτροφία, οδηγώντας σε καρδιακή ανεπάρκεια. Δεδομένων των μεταβολών στον ενεργειακό μεταβολισμό, οι έρευνες έχουν στραφεί στο ρόλο των μεταγραφικών παραγόντων PPARs, οι οποίοι ρυθμίζουν το λιπιδικό μεταβολισμό. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του ρόλου του PPARβ/δ στην επαγόμενη από τον πειραματικό διαβήτη καρδιακή υπερτροφία. Ο διαβήτης επάχθηκε με την εφάπαξ χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης σε αρσενικούς επίμυες της φυλής Wistar. 5 εβδομάδες μετά την επαγωγή του διαβήτη ακολούθησε ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση του προσδέτη GW0742 για 7 ημέρες. Με τη μέθοδο της real-time PCR διαπιστώθηκε ότι η ενεργοποίηση του PPARβ/δ αναστέλλει την επαγόμενη από το διαβήτη επανέκφραση των εμβρυικών γονιδίων ANP και BNP, τα οποία αποτελούν δείκτες της καρδιακής υπερτροφίας. Παράλληλα, η ενεργοποίηση του PPARβ/δ ανέστειλε την επαγόμενη από το διαβήτη αποφωσφορυλίωση των κινασών p38 MAPK και ERK1/2. Επιπλέον, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων PPARβ/δ, mCPT-1, MCAD και GLUT4 τα οποία κωδικοποιούν ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων και της γλυκόζης. Παρατηρήθηκε μείωση της έκφρασης του GLUT4 στο διαβητικό μυοκάρδιο η οποία αντιστράφηκε μετά την χορήγηση του GW0742. Παράλληλα, παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης των PPARβ/δ, mCPT-1και MCAD τόσο στο διαβήτη όσο και μετά την ενεργοποίηση του PPARβ/δ λόγω μετατόπισης του μεταβολισμού προς την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Συμπερασματικά, η ενεργοποίηση του PPARβ/δ αναστέλλει την υπερτροφία της καρδιάς και επαναφέρει το ενεργειακό ισοζύγιο σε φυσιολογικά επίπεδα. Τα δεδομένα αυτά συνηγορούν στον προστατευτικό ρόλο του PPARβ/δ στο διαβητικό μυοκάρδιο. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση μέσω του προγράμματος ΕΣΠΑ. Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ .

IN VIVO ACTIVATION OF NUCLEAR RECEPTOR PPARβ/δ INHIBITS CARDIAC HYPERTROPHY AND AMELIORATES METABOLIC DYSFUNCTION IN DIABETIC MYOCARDIUM

Galatou Eleftheria, Lazou Antigone
Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki 54124 Thessaloniki

Diabetes is one of the major risk factors for cardiovascular disease and is accompanied by increased mortality rates. Diabetic cardiomyopathy is characterized by metabolic disorders, cardiac contractile dysfunction and hypertrophy, leading to heart failure. Given the changes in energy metabolism, research has focused on the role of transcription factors PPARs, which regulate lipid metabolism. The aim of this study was to investigate the role of PPARβ/δ in diabetes-induced cardiac hypertrophy. Experimental diabetes was induced by a single administration of streptozotocin (65mg/kg) in male Wistar rats. 5 weeks after diabetes induction, GW0742 (1mg/kg) was administrated intraperitoneally for 7 days. According to the results PPARβ/δ activation inhibits diabetes- induced re-expression of embryonic genes ANP and BNP (indices of cardiac hypertrophy) as evaluated by real time PCR. Furthermore, PPARβ/δ activation inhibited diabetes-induced dephosphorylation of p38 MAPK and ERK1/2 kinases. The expression levels of PPARβ/δ, mCPT-1, MCAD and GLUT4 genes which participate in the metabolism of fatty acids and glucose were also determined by Real Time PCR. The results indicated a reduction of the expression of the glucose transporter GLUT4 in diabetic myocardium which was reversed after administration of GW0742. Furthermore, an enhancement of the expression of PPARβ/δ, mCPT-1 and MCAD was observed in both diabetes and after PPARβ/δ activation due to the switch of metabolism to fatty acid oxidation. In conclusion, PPARβ/δ activation attenuates cardiac hypertrophy and restores energy balance to normal levels thus leading to protection against diabetic cardiomyopathy. This research has been co-financed by the European Union through Program of NSRF- Research Funding Program: Heracleitus II.

ΠΡΩΤΟΠΛΑΣΤΕΣ ΦΑΣΟΛΙΟΥ: ΕΝΑ ΝΕΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΠΕΡΙΗΜΕΡΗΣΙΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΡΟΛΟΓΙΟΥ

Γαλέου Αγγελική, Αναστασία Προμπονά
Εργαστήριο Χρονοβιολογίας Ινστιτούτο Βιοεπιστημών και Εφαρμογών,ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», 15310 Αγία Παρασκευή, Αττική

Το περιημερήσιο βιολογικό ρολόι ελέγχει τη ρυθμική συμπεριφορά και φυσιολογία των οργανισμών, ώστε αυτές να είναι εναρμονισμένες με τις κυκλικές διακυμάνσεις φωτός και θερμοκρασίας του περιβάλλοντος. Μέσω του καθημερινού συγχρονισμού του ενδογενούς ταλαντωτή με την εκάστοτε φωτοπερίοδο, οι εσωτερικές λειτουργίες που ελέγχονται από το ρολόι παρουσιάζουν ρυθμικότητα με 24ωρη περίοδο. Στα φυτά, ρυθμικές λειτουργίες είναι, π.χ. ο καθορισμός του χρόνου άνθησης αλλά και οι καθημερινές ταλαντώσεις σε μεταβολικές δραστηριότητες όπως η αναπνοή και η φωτοσύνθεση. Την μοριακή βάση του κεντρικού ταλαντωτή αποτελούν μεταγραφικοί παράγοντες με ρυθμική έκφραση και δράση, οι οποίοι είναι οργανωμένοι σε βρόγχους αρνητικής ανάδρασης. Στο φασόλι (Phaseolus vulgaris) έχουν ταυτοποιηθεί τρία υποψήφια στοιχεία του κεντρικού ταλαντωτή, τα PvLHY (Phaseolus vulgaris Late elongated HYpocotyl), PvTOC1 (Phaseolus vulgaris Timing Of CAB expression1) και PvELF4 (Phaseolus vulgaris EarLy Flowering4). Η έκφρασή τους βρέθηκε ότι είναι ρυθμική σε συνθήκες φωτοπεριόδου και συνεχούς φωτός. Σημαντική ιδιότητα του ρολογιού αποτελεί ο επανασυγχρονισμός του με τις αλλαγές της φωτοπεριόδου. Στο φασόλι, ο επανασυγχρονισμός μελετήθηκε με την επίδραση φωτός σε διαφορετικές χρονικές στιγμές της νύχτας. Διαπιστώσαμε ότι, αναλόγως της ώρας, διαφορετικά γονίδια αποκρίνονται στο φωτεινό ερέθισμα. Για τη διερεύνηση του μοριακού μηχανισμού επανασυγχρονισμού του ρολογιού είναι απαραίτητο ένα σύστημα μετασχηματισμού. Καθώς το φασόλι ανήκει στα φυτά που ο μόνιμος μετασχηματισμός είναι εξαιρετικά δύσκολος και ο παροδικός έχει χαμηλή απόδοση, επικεντρωθήκαμε στη βελτίωση των ποσοστών του παροδικού μετασχηματισμού πρωτοπλαστών από φύλλα φασολιού. Η μέθοδος που εφαρμόστηκε, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των ποσοστών μετασχηματισμού από το ~15% της βιβλιογραφίας, στο ~80%. Επίσης, οι απομονωμένοι και μετασχηματισμένοι πρωτοπλάστες διαθέτουν λειτουργικό ρολόι, ώστε να είναι δυνατή η μελέτη του μοριακού μηχανισμού λειτουργίας των επιμέρους στοιχείων του καθώς και του επανασυγχρονισμού τους στο νέο αυτό σύστημα αναφοράς.

PHASEOLUS PROTOPLASTS: A NEW HIGH-EFFICIENCY TRANSFORMATION SYSTEM FOR FUNCTIONAL STUDIES OF THE PLANT CIRCADIAN CLOCK

Aggeliki Galeou, Anastasia Prombona
Chronobiology Laboratory, Institute of Biosciences and Applications, NCSR "Demokritos", 15310 Aghia Paraskevi, Attiki

The circadian biological clock governs rhythmic behavior and physiology of living organisms in synchrony with the environmental 24-hr cycle. The biological processes coordinated by the endogenous oscillator have a period of about 24 hours. In plants, processes associated with flowering and diverse metabolic activities such as respiration and photosynthesis are regulated by the circadian clock. The molecular determinants of the central oscillator are rhythmically expressed and/or acting specific transcription factors, organized in a web of negative feedback loops (repressillator). In Phaseolus vulgaris (common bean), three potential central oscillator elements have been identified, PvLHY (Phaseolus vulgaris Late elongated HYpocotyl), PvTOC1 (Phaseolus vulgaris Timing Of CAB expression1) and PvELF4 (Phaseolus vulgaris EarLy Flowering4). The study of their gene expression under photoperiodic conditions or continuous light, revealed oscillations with a period of about 24 hours. An important property of the clock is its resynchronization (resetting) potential with the environmental altering photoperiodic conditions. To gain insight into the resynchronization properties of the bean clock, we applied light to young seedlings at different time points of the night. We found that, depending on the time of application, different genes respond to the light stimulus. To explore the underlying molecular mechanism of resynchronization, an efficient transformation system is required. Bean is a difficult to transform plant, so we focused on improving the transient transformation efficiency of bean leaf protoplasts. The method used, resulted in an increase of transformation efficiency, from ~15% reported in the literature, to ~80%. Protoplasts isolated and transformed by this method, possess an operative clock and thus provide a novel system for the functional study of the molecular interlocking between clock components, as well as, of the regulatory process underlying resynchronization by light.

ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΟΜΗ, ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ «ΥΠΟΓΡΑΦΗ» ΕΚΦΡΑΣΗΣ miRNA ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ TAp73 ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

Γαλτσίδης Σωτήριος[1], Λογοθέτη Στυλλιανή[1], Παυλοπούλου Αθανασία[2], Ξυπολιτά Μαρία-Ελένη[1], Vojtesek Borek[3], Ζουμπουρλής Βασίλειος[1]

1/Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασ. Κων/νου 48, 11635 Αθήνα - 2/Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωρανού Εφεσίου 4, 11527 Αθήνα - 3/Regional Centre for Applied Molecular Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Zlutý kopec 7, Brno, 65653 Czech Republic

Το γονίδιο p73 κωδικοποιεί τις ογκοκατασταλτικές ισομορφές TA p73 πλήρους μήκους και τις ογκογόνες ισομορφές DNp73 που έχουν περικομμένο αμινοτελικό άκρο και δρουν ως αρνητικοί επικρατείς αναστολείς των TA p73. Οι ισομορφές TA p73 αναστέλλουν όλα τα ορόσημα και τα χαρακτηριστικά που ευνοούν την ανάπτυξη του καρκίνου. Περιλαμβάνουν μια σειρά από παραλλαγές (TAp73α, β,γ , δ, ε,ζ , η, η1, η* και θ) που προκύπτουν με εναλλακτικό μάτισμα στο 3' άκρο και, συνεπώς, διαφέρουν μόνο στην πρωτοταγή δομή του καρβοξυτελικού άκρου τους. Παρόλο που όλες οι ισομορφές TAp73 επάγουν αναστολή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση, παρουσιάζουν διαφορές στο πλαίσιο του καρκίνου, που αφορούν στα πρότυπα έκφρασης, στις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις και στην αποτελεσματικότητά τους να προκαλούν απόπτωση. Στόχος μας είναι να μελετήσουμε τη μοριακή βάση των διαφορών αυτών, να διακρίνουμε τις επιδράσεις της κάθε ισομορφής στις διάφορες διαδικασίες της καρκινογένεσης (πολλαπλασιασμός κυττάρων, μετάσταση, απόκριση σε γενοτοξικό στρες) in vitro και in vivo, καθώς επίσης και να προσδιορίσουμε τις «υπογραφές» mRNA/miRNA που είναι ειδικές για κάθε παραλλαγή. Αρχικά, με τη χρήση εργαλείων βιοπληροφορικής ταυτοποιήσαμε σημαντικά, συντηρημένα μοτίβα και αμινοξικά κατάλοιπα στο καρβοξυτελικό άκρο των ισομορφών TAp73, που ενισχύουν την αποπτωτική απόκριση σε γενοτοξικό στρες. Αυτά τα μοτίβα/κατάλοιπα έχουν συν-εξελιχθεί με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με αυτά. Ανάλογα με την παρουσία ή την απουσία των μοτίβων/καταλοίπων αυτών, κάθε παραλλαγή TA p73 εμπλέκεται σε διαφορετικές πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις και εμφανίζει διαφορετική αποπτωτική αποτελεσματικότητα. Ακολούθως, με την χρήση της τεχνικής κρυσταλλικού ιώδους (crystal violet) και της δοκιμής επούλωσης πληγών (wound healing assay) διαπιστώσαμε ότι οι ισομορφές TAp73α, β, και γ παρουσιάζουν διαφορές στην ικανότητα αναστολής του πολλαπλασιασμού και της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετάβασης. Επίσης, συγκριτική ανάλυση των μικροσυστοιχιών miRNA κατέδειξε ότι στην κυτταρική σειρά οστεοσαρκώματος Saos 2 οι ισομορφές TAp73α, β, και γ διαθέτουν «υπογραφές» έκφρασης miRNA που είναι ειδικές για κάθε ισομορφή. Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι οι ισομορφές TA p73 δεν είναι ισοδύναμες λειτουργικά, γεγονός που πρέπει να ληφθεί υπόψη για την βελτιστοποίηση των αντικαρκινικών θεραπειών με βάση το p73, οι οποίες έχουν αρχίσει να αναπτύσσονται.

DIFFERENTIAL STRUCTURE, ROLE AND MIRNA SIGNATURES OF TAP73 ISOFORMS IN CANCER

Galtsidis Sotirios[1], Logotheti Stilliani[1], Pavlopoulou Athanasia[2], Xipolita Maria-Eleni[1], Vojtesek Borek[3], Zoumpourlis Vassilios[1]

1/Institute of Biology, Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation - 2/Biomedical Research Foundation, Academy of Athens, 4 Soranou Efesiou str., 11527 Athens - 3/ Regional Centre for Applied Molecular Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Zlutý kopec 7, Brno, 65653 Czech Republic

The p73 encodes the tumour suppressive, full-length TAp73 and the oncogenic, N-terminal-truncated DNp73 isoforms that act as dominant negative inhibitors of TAp73. The TAp73 isoforms inhibit all hallmarks and enabling characteristics of cancer. They include a number of C-terminal splice variants (TAp73α, β, γ, δ, ε, ζ, η, η1, η* and θ) which only differ in the primary structure of their C-terminus. Although all TAp73 isoforms induce cell cycle arrest and apoptosis, they present different expression patterns, protein-protein interactions and apoptotic efficiencies in the context of cancer. We aim at studying the molecular basis of these differences, discriminating the implication of each individual TAp73 isoform in several aspects of carcinogenesis (proliferation, metastasis, response to genotoxic stress) in vitro and in vivo, as well as determining the C-terminal variant-specific mRNA/miRNA signatures. First, using bioinformatics approaches we found that the C-terminus of TAp73 isoforms contains crucial, conserved motifs and amino acid residues that enhance apoptotic response upon genotoxic stress. These motifs/residues have co-evolved with their corresponding interactors. Depending on the presence or absence of these motifs in C-terminus, each TAp73 variant mediates divergent protein-protein interactions and apoptotic efficiencies. Then, using Crystal Violet assay and wound healing assay we found that TAp73α, β, and γ isoforms present major differences in their ability to inhibit proliferation and epithelial-mesenchymal transition. A comparative miRNA array analysis also revealed that TAp73 α, β, and γ isoforms have isoform-specific miRNA signatures in Saos 2 cell line. Overall, our results imply that TAp73 isoforms are functionally non-equivalent, a fact that should be considered for the optimization of the emerging p73-based anticancer therapies.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΣΤΑ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΙΜΟΚΑΘΑΙΡΟΜΕΝΟΥ ΑΣΘΕΝΗ

Γεωργατζάκου Χ.[1],Τζούνακας Β.[1],Βελέντζας Α.[1], Νάνου Χ.[2], Καλκάνη Ε.[3], Κόκκαλης Α.[4], Τζιμογιάννη Α.[5], Κριεμπάρδης Α.[5], Αντωνέλου Μ.[1], Παπασιδέρη Ι.[1]

(1)Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα, (2) Τμήμα Μαιευτικής, ΤΕΙ Αθήνας, (3) Τομέας Μικροβιολογία, ΤΕΙ Αθήνας, (4) Ιώνιο Κέντρο Αιμοκάθαρσης, (5) Εργαστήριο Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, ΤΕΙ Αθήνας

Η αιμοκάθαρση πραγματοποιείται για την απομάκρυνση των συσσωρευμένων παραπροϊόντων του μεταβολισμού και της περίσσειας νερού από το αίμα ασθενών με Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια (ΧΝΑ). Αυτή η διαδικασία υποβάλλει τα ερυθροκύτταρα σε μηχανικό, μεταβολικό και οξειδωτικό στρες. Στόχος της παρούσας μελέτης υπήρξε η εύρεση μεταβολών από την επίδραση της χρόνιας αιμοκάθαρσης συναρτήσει της διάρκειας της ασθένειας στο αιματολογικό πρότυπο, τους βιοχημικούς δείκτες ορού και πλάσματος, στη μορφολογία και στην πρωτεϊνική σύσταση της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων, σε σύγκριση με υγιείς αιμοδότες στην ίδια χρονική περίοδο. Οι μορφολογικές αλλοιώσεις των ερυθροκυττάρων εκτιμήθηκαν με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης, οι μεταβολές στην πρωτεϊνική σύσταση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης με ανοσοαποτύπωμα κατά Western και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος με δοκιμασία αναγωγής του τρισθενούς σιδήρου σε δισθενή (ferric reducing antioxidant power, FRAP assay). Στο αιματολογικό πρότυπο των ασθενών σημειώνεται στατιστικά σημαντική αύξηση στη μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο (MCHC 27.0 ± 4,0g/dL σε 32,7 ± 2,6g/dL) μετά το πέρας της τριετίας, χωρίς να εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές σε βιοχημικούς δείκτες του ορού που σχετίζονται με την αποδοτικότητα της αιμοδιάλυσης και την εξέλιξη της νόσου (ουρία, κρεατινίνη κλπ). Εξαίρεση αποτελεί μία μικρή μείωση στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος, που συμπίπτει με αντίστοιχη μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος σε κάποιους ασθενείς. Σε κυτταρικό επίπεδο, σημειώνεται μικρή αλλά στατιστικά σημαντική βελτίωση των ποσοστών μη-αναστρέψιμης παραμόρφωσης των ερυθροκυττάρων. Όσον αφορά στην πρωτεϊνική σύσταση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης, εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις στη σχετική συγκέντρωση των πρωτεϊνών υδατοπορίνη-1, μεταφορέα γλυκόζης και στοματίνη καθώς και σε συστατικά του μοντέλου ερυθροκυτταρικής γήρανσης, όπως τα ολιγομερή της ζώνης-3 και τα προσδεδεμένα αυτοαντισώματα του ορού. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα παρουσιάζουν για πρώτη φορά τη διακύμανση αιματολογικών και κυτταρικών δεικτών στη ΧΝΑ τελικού σταδίου σε σχέση με τη διάρκεια της νόσου. Το παρόν συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και εθνικούς πόρους στο πλαίσιο της πράξης ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ ΙΙΙ–ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΣΤΟ ΤΕΙ ΑΘΗΝΑΣ του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση»

THE END-STAGE RENAL DISEASE EFFECT ON THE DIALYSIS PATIENTS' ERYTHROCYTES

Georgatzakou H[1], Tzounakas V.[1], Velentzas A.1, Nanou C.[2], Kalkani E.[3], Kokkalis A.[4], Tzimogianni A.[5], Kriebardis A.[5], Antonelou M.[1], Papassideri I.[1]

(1) Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens, (2) Midwifery department, TEI of Athens , (3) Department of Microbiology, TEI of Athens, (4) Ionion Hemodialysis Center, (5) Laboratoty of Hematology and Transfusion Medicine, Dpt. of Medical Laboratories, Faculty of Health and Caring Professions, TEI of Athens

Hemodialysis therapy in end-stage renal disease (ESRD) targets to the removal of accumulated metabolic by-products and excess water from the dialyzed blood. During this procedure, the erythrocytes undergo severe mechanical, metabolic and oxidative stress. The present study focused on the effects of chronic hemodialysis (eg. performed for over a period of 3 years) in the hematological, serum and plasma biochemical parameters, as well as in the morphology and protein composition of erythrocytes, compared to healthy blood donors that have been evaluated for the same period. The cellular morphology was examined by Scanning Electron Microscopy, membrane proteome by Western blot analysis and the total antioxidant capacity (TAC) of the plasma was tested with the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assay, based in the ability of plasma to reduce ferrous ions. The hematological data collected after three years of hemodialysis, showed statistically significant ($p < 0.010$) increase in the mean cell hemoglobin concentration, without a similar variation in serum biochemical markers classically associated with the efficiency of the hemodialysis and/or the disease progression (urea, creatinine, etc). However, a reduction in uric acid concentration, closely associated with a parallel aberration in the TAC of plasma, was evident in some patients examined. At the cellular level, there was an improvement into the percentage of the irreversibly deformed erythrocytes after 3 years of hemodialysis, but statistically significant aberrations in the protein levels of aquaporin-1, glucose transporter and stomatin at the cell membrane, in addition to the emergence of erythrocyte aging biomarkers, such as band-3 oligomers and membrane-bound native auto-antibodies. These results show for the first time the variation in the hematological and cellular profile of ESRD in relation to the duration of this disease. This research has been co-funded by the European Union (European Social Fund) and Greek national resources under the framework of the Archimedes III: Funding of Research Groups in TEI of Athens project of the Education & Lifelong Learning Operational Programme.

ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΠΟΝΤΙΚΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΣΥΝΟΔΟ ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗ J/CLUSTERIN

Κωνσταντίνα Γεωργέλου[1], Fabiola Sesti[1], Ιωάννης Γρίβας[2], Νάντια Καβροχωριανού[2], Ταουφίκ Έρα [3], Ισιδώρα Παπασιδέρη[1], Σύλβα Χαραλάμπους[2], Ιωάννης Π. Τρουγκάκος[1]
1/Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Ζωγράφου, 15784, Αθήνα - 2/Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Εργαστήριο/Μονάδα Διαγονιδιακής Τεχνολογίας, Τμήμα Ζωικών Προτύπων Βιοϊατρικής Έρευνας 11521, Αθήνα - 3/Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής, 11521, Αθήνα

Η Apolipoprotein J/ Clusterin (CLU) είναι μια εκκρινόμενη γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται σε μεγάλη ποικιλία ιστών και βρίσκεται σε όλα τα ανθρώπινα βιολογικά υγρά. Έχει σημαντικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές λειτουργίες, όπως η απόπτωση, δρώντας και ως εξωκυττάρια μοριακή συνοδός, ενώ εμπλέκεται λειτουργικά τόσο στο γήρας όσο και σε παθολογικές καταστάσεις του γήρατος συμπεριλαμβανομένων του διαβήτη, της αθηρωμάτωσης, των νευροεκφυλιστικών ασθενειών, των αυτοάνοσων νοσημάτων και της καρκινογένεσης. Ειδικότερα όσον αφορά στην καρκινογένεση η CLU βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές φάσης ΙΙΙ στον καρκίνο του προστάτη ως στόχος αντι-νοηματικών ολιγονουκλεοτιδίων. Έχουμε δείξει ότι η CLU αποτελεί έναν ευαίσθητο βιολογικό αισθητήρα οξειδωτικού στρες καθώς και το ότι δρα και ενδοκυττάρια καταστέλλοντας την προαποπτωτική δράση της πρωτεΐνης Bax. Καθώς τα ανωτέρω δεδομένα παρέχουν νέες θεωρήσεις σχετικά με τη εμπλοκή της CLU στην ανθρώπινη γήρανση και την καρκινογένεση στην παρούσα μελέτη εστιαζόμαστε στη δημιουργία διαγονιδιακών ποντικών υπερέκφρασης της CLU προκειμένου να μελετηθεί η λειτουργία του εν λόγω βιομορίου σε ένα in vivo μοντέλο θηλαστικών. Θα αναφερθούν τα προκαταρκτικά αποτελέσματά μας και η πορεία της μελέτης αυτής.

TOWARDS THE ESTABLISHMENT OF TRANSGENIC MICE FOR THE MOLECULAR CHAPERONE APOLIPOPROTEIN J/CLUSTERIN

Konstantina Georgelou[1], Fabiola Sesti[1], Ioannis Grivas[2], Nadia Kavrochorianou[2], Taoufik Era [3], Isidora Papasideri[1], Sylva Haralambous[2], Ioannis P. Trougakos[1]

1/Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15784, Greece - 2/Hellenic Pasteur Institute, Transgenic Technology Laboratory/Unit, Athens 11521, Greece - 3/Hellenic Pasteur Institute, Molecular Genetics Laboratory, Athens 11521, Greece

Clusterin/Apolipoprotein J (CLU) is a secreted glycoprotein being expressed in a wide variety of tissues and found in all human fluids. CLU has important roles in many physiological functions, such as apoptosis, having molecular chaperone's properties. CLU has also been functionally implicated in several age-related diseases including diabetes, atherosclerosis, degenerative diseases, autoimmune diseases and tumorigenesis. As a result, CLU is characterized as a reliable biomarker of ageing. Moreover, being functionally implicated in all aspects of tumorigenesis (e.g. tumour formation and progression, metastasis, and chemoresistance acquisition) CLU is currently an antisense target in phase III clinical trials for prostate cancer. We have previously found that CLU is an extremely sensitive cellular biosensor of oxidative stress and that it also functions intracellularly by suppressing Bax pro-apoptotic activities. As these findings provide new insights regarding CLU functional implication in human ageing and carcinogenesis we are currently focusing on the establishment of CLU-overexpressing transgenic mice in order to study CLU function at an in vivo mammalian model. Our preliminary findings and current progress will be reported.

ΟΙ ΣΠΟΓΓΟΙ ΩΣ ΜΗΧΑΝΙΚΟΙ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΕ ΥΠΟΘΑΛΑΣΣΙΑ ΣΠΗΛΑΙΑ ΤΟΥ ΒΟΡΕΙΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ

Βασίλης Γεροβασιλείου *, Ασημένια Γαβριηλίδου, Δέσποινα Κωνσταντίνου, Ελένη Βουλτσιάδου

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ

Οι σπόγγοι έχουν χαρακτηριστεί "ζωντανά ξενοδοχεία" αφού προσφέρουν στέγη σε πολλούς μακροπανιδικούς οργανισμούς. Οι ίδιοι κυριαρχούν υπό συνθήκες περιορισμένου φωτισμού, όπως σε υποθαλάσσια σπήλαια, όπου επωφελούνται από την απουσία ανταγωνισμού για χώρο με τα μακροφύκη. Στην παρούσα εργασία διερευνάται για πρώτη φορά ο ρόλος των σπόγγων ως μηχανικών οικοσυστήματος σε υποθαλάσσια σπήλαια. Για το σκοπό αυτό, ερευνήθηκαν με αυτόνομη κατάδυση ένα ημι-βυθισμένο σπήλαιο στον Άγιο Ευστράτιο και δύο βυθισμένα σπήλαια της Λέσβου. Εξετάστηκαν συνολικά 30 άτομα των ειδών Aplysina aerophoba, Agelas oroides και Petrosia ficiformis από διαφορετικά σημεία των σπηλαίων στα οποία βρέθηκαν 3.541 άτομα μακροασπονδύλων που ταξινομήθηκαν σε 8 ομάδες. Τα Crustacea κυριαρχούσαν, καλύπτοντας το 81,7% της μέσης αφθονίας για τα τρία είδη σπόγγων ενώ ακολουθούσαν τα Polychaeta (13,5%). Μεγαλύτερη αφθονία ανά μονάδα όγκου παρατηρήθηκε στο είδος A. aerophoba (3,2 άτομα/cm3), ενώ μικρότερες τιμές βρέθηκαν στα A. oroides (0,1 άτομα/cm3) και P. ficiformis (0,5 άτομα/cm3), καταδεικνύοντας έτσι διαφορές στην καταλληλότητα των διαφορετικών ειδών για εγκατάσταση. Η συσχέτιση ανάμεσα στον όγκο του σπόγγου και την αφθονία των συμβιωτών ήταν θετική και για τα τρία είδη, επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών. Η αφθονία της ενδοπανίδας των σπόγγων από τα βυθισμένα σπήλαια παρουσίασε τάση μείωσης από την είσοδο προς το εσωτερικό των σπηλαίων, ενώ στο ημι-βυθισμένο σπήλαιο, παρατηρήθηκε τάση για αύξηση της αφθονίας στο είδος A. oroides. Το γεγονός αυτό πιθανότατα οφείλεται στις διαφορετικές συνθήκες υδροδυναμισμού που επικρατούν σε διαφορετικά σημεία των σπηλαίων με αποτέλεσμα να δημιουργούνται διαφορετικά πρότυπα κατανομής των βενθικών κοινοτήτων. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δείχνουν ότι ο ρόλος των σπόγγων ως μηχανικών οικοσυστημάτων στα υποθαλάσσια σπήλαια παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και αξίζει περεταίρω διερεύνησης. Η παρούσα έρευνα έχει χρηματοδοτηθεί από το Έργο Ηράκλειτος ΙΙ (01/2011-σήμερα) και από το Κοινωφελές Ίδρυμα Αλέξανδρος Σ. Ωνάσης (10/2009-12/2010).

SPONGES AS ECOSYSTEM ENGINEERS IN MARINE CAVES OF THE NORTH AEGEAN SEA

Vasilis Gerovasileiou, Asimenia Gavriilidou, Despoina Konstantinou, Eleni Voultsiadou
Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki

Sponges have been characterized as “living hotels” since they harbor rich macrobenthic communities. They dominate in shaded habitats such as marine caves, favored by the elimination of spatial competition with macroalgae. In the current work the role of sponges as ecosystem engineers is studied for the first time in marine cave habitats. One partially and two totally submerged marine caves from Agios Efstratios and Lesvos islands respectively, were surveyed with SCUBA diving. In total, 30 sponge specimens of the species Aplysina aerophoba, Agelas oroides, and Petrosia ficiformis, from different cave sectors, were examined and 3541 macro-invertebrate specimens classified into 8 taxonomic groups were recorded. Crustacea dominated in all sponge species, covering 81.7% of the mean total abundance, followed by Polychaeta (13.5%). The highest abundance per volume unit was reported for A. aerophoba (3.2 individuals/cm3), while lower values were found for A. oroides (0.1 individuals/cm3) and P. ficiformis (0.5 individuals/cm3), highlighting the suitability of different sponge species as micro-habitats. The correlation between sponge volume and macrobenthic abundance was positive for all sponge species, in accordance to previous studies. The abundance of infauna for sponges from the totally submerged caves presented a declining trend from the entrance towards the inner cave sectors, while in the semi-submerged cave, an increasing trend was found for A. oroides. This could be attributed to the different hydrodynamic conditions among and within caves, which generate diverse distribution patterns of benthic communities. The preliminary results of the present study indicate that the role of cave sponges as ecosystem engineers is of specific interest and deserves further study.

ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΣΥΓΓΕΝΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΙΧΘΥΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΠΟΔΙΑΤΑΞΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΕΝΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ

Γεωργιάδης Ανδρέας[1], Καραπέτσας Αθανάσιος[2], Σανδαλτζόπουλος Ραφαήλ[2], Αποστολίδης Απόστολος Π.[1]

1/Εργαστήριο Ιχθυοκομίας & Αλιείας, Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονική Σχολή, Α.Π.Θ. - 2/Εργαστήριο Γονιδιακής Έκφρασης, Μοριακής Διαγνωστικής και Σύγχρονων Θεραπευτικών Μέσων, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δ.Π.Θ.

Οι περισσότερες μέθοδοι που εφαρμόζονται σήμερα για τη γενετική διάκριση ειδών περιλαμβάνουν τον πολλαπλασιασμό τμημάτων DNA με PCR και εν συνεχεία την επεξεργασία των πολλαπλασιασμένων τμημάτων. Αντίθετα, η μελέτη της καμπύλης αποδιάταξης δίνει απευθείας τα αποτελέσματα των ελέγχων, αποδεσμεύοντάς μας από τον περαιτέρω χειρισμό των δειγμάτων. Γενικά, η θερμοκρασία αποδιάταξης ενός τμήματος DNA καθορίζεται από το μέγεθος και την αλληλουχία του, οπότε με τον κατάλληλο πειραματικό σχεδιασμό μπορεί να επιτευχθεί ενίσχυση τμημάτων με διαφορετική θερμοκρασία αποδιάταξης για κάθε είδος. Το μιτοχονδριακό γονιδίωμα θεωρείται ιδανικό για την ανάπτυξη τεχνικών γενετικής διάκρισης ειδών σε περιπτώσεις που παρουσιάζουν δυσκολίες, όπως για παράδειγμα ανάμεσα σε στενά συγγενικά είδη ψαριών και σε περιπτώσεις δειγμάτων που έχουν υποστεί επεξεργασία. Στόχος αυτής της εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας αξιόπιστης, γρήγορης και χαμηλού κόστους μεθόδου διάκρισης για τα τρία είδη του γένους Spicara που απαντώνται στην περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου: της μαρίδας (S. smaris), της μένουλας (S. maena) και της τσέρουλας (S. flexuosa). Η μέθοδος που αναπτύχθηκε στηρίζεται στις χαρακτηριστικές τιμές θερμοκρασίας αποδιάταξης τμημάτων του mtDNA που κωδικοποιεί για το 16S rRNA. Περιλαμβάνει μια μόνο αντίδραση, παράγει αποτελέσματα εύκολα στην ερμηνεία και επιτρέπει τη γρήγορη ταυτοποίηση των δειγμάτων. Για τον έλεγχο της καθολικότητας εφαρμογής της μεθόδου διάκρισης συλλέχτηκαν δείγματα των τριών ειδών από έξι περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου. Ακολούθησε εξαγωγή ολικού DNA, πολλαπλασιασμός τμήματος του 16S rRNA με real-time PCR και ανάλυση της καμπύλης αποδιάταξης. Όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν ταυτοποιήθηκαν με μεγάλη ευκολία, γεγονός που αποδεικνύει ότι η διάκριση των ειδών του γένους Spicara με τη χρήση της καμπύλης αποδιάταξης μπορεί να φανεί ιδιαίτερα χρήσιμη σε μεγάλης κλίμακας μελέτες.

DISCRIMINATION OF CONGENERIC FISH SPECIES USING MELT CURVE ANALYSIS OF AMPLIFIED MITOCHONDRIAL FRAGMENTS

Georgiadis Andreas[1], Karapetsas Athanasios[2], Sandaltzopoulos Raphael[2], Apostolidis Apostolos P.[1]

1/Lab of Ichthyology & Fisheries, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki - 2/Lab of Gene Expression, Molecular Diagnostics and Modern Therapeutics, Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis

Most DNA–based methods for species identification involve post–PCR manipulations of samples, contrariwise, melt curve analysis does not include further manipulations. Since the Tm of a DNA fragment is determined by its nucleotide content and length, it is possible to design amplification reactions in order to obtain DNA fragments with species diagnostic melting temperatures. The mitochondrial DNA is ideal for the development of species discrimination assays in difficult cases, such as those of congeneric fish species, species that exhibit chromatic or morphological modifications in the juvenile phase or reproductive period, and samples derived from processed tissues. The objective of this study was to develop a reliable, rapid, and inexpensive discrimination method based on diagnostic Tm values of amplified DNA fragments of 16S rRNA gene for three species of the genus Spicara that inhabit in Mediterranean waters: S. smaris (picarel), S. maena (blotched picarel), and S. flexuosa (picarel). The method involves a single reaction, yields data easy to interpret and allows the quick assignment of a given individual of the three Spicara species. To test the general applicability of the discrimination method, Spicara specimens were collected from six sampling areas of Eastern Mediterranean. Sampling was followed by DNA extraction, real-time PCR amplification and melt curve analysis. The results showed that all samples were correctly assigned to their respective species, which denotes that discrimination of Spicara species using melt curve approach could be very useful in large-scale studies.

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΑΝΟΣΙΑΚΗΣ ΔΙΑΦΥΓΗΣ ΤΟΥ ΧΡΥΣΙΖΟΝΤΑ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΥ, Efb.

Γεωργούτσου-Σπυρίδωνος Μαρία[1], Χάρης Πρατσίνης[2], Αντύπας Αναστάσιος[3], Χατζιάρα Σοφία[3], Περιβολιώτη Ευσταθία[4], Δημήτρης Μαστέλλος[1], Γεωργία Σφυρόερα[1]
Εθνικό Κέντρο 'Ερευνας Φυσικών Επιστημών Δημόκριτος

Ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος (Staphylococcus aureus) αποτελεί ένα ευρέως διαδεδομένο παθογόνο βακτήριο που μπορεί να προκαλέσει οξείες δερματικές λοιμώξεις αλλά και δυνητικά θανατηφόρες φλεγμονώδεις επιπλοκές στον άνθρωπο όπως σηψαιμία, ενδοκαρδίτιδα και τοξικό σύνδρομο. Επιπλέον η αυξανόμενη ανθεκτικότητα πολλών στελεχών του S. aureus στα αντιβιοτικά καθιστά σήμερα επιτακτική την ανάγκη ανάπτυξης νέων θεραπευτικών εργαλείων. Ο S. aureus παράγει ένα μεγάλο αριθμό ανοσορρυθμιστικών μορίων που αυξάνουν τη μολυσματικότητα του και επιδρούν και στους δύο βραχίονες της ανοσιακής απόκρισης. Το συμπλήρωμα είναι μια σημαντική ομάδα πρωτεϊνών της φυσικής ανοσίας που προστατεύει τον ξενιστή ενάντια στη μόλυνση. Ο S. aureus έχει αναπτύξει μηχανισμούς ανοσοδιαφυγής με στόχο την εξουδετέρωση μορίων του συμπληρώματος, εκκρίνοντας πρωτεΐνες όπως η Efb (Extracellular Fibrinogen Protein). Στόχος της εργασίας είναι η ανάπτυξη ανθρώπινων θεραπευτικών αντισωμάτων, τα οποία θα στοχεύουν στην εξουδετέρωση της πρωτεΐνης Efb και ο χαρακτηρισμός της δράσης τους σε in vitro συστήματα φαγοκυττάρωσης/φλεγμονής. Η πρωτεΐνη Efb παρήχθη σε ετερόλογο βακτηριακό σύστημα, έγινε διαλογή αντισωμάτων από βιβλιοθήκη ανθρώπινων F(ab)2 και επιλέχτηκαν μόρια τα οποία αναγνωρίζουν την Efb σε δοκιμασία ELISA. Τα αντισώματα αυτά χαρακτηρίστηκαν βιοχημικά ως προς την ικανότητα δέσμευσης τους στην Efb και την αναγνώριση γραμμικών ή διαμορφωτικών επιτόπων. Τέλος σε in vitro δοκιμασίες βακτηριακής φλεγμονής ολικού αίματος παρατηρήθηκε μείωση της επιβίωσης του βακτηρίου παρουσία δεσμευτικών στην Efb αντισωμάτων. Πειράματα ανταγωνισμού έδειξαν ότι η ανασταλτική δράση των αντισωμάτων οφείλεται στην παρεμπόδιση της δέσμευσης της Efb στην πρωτεΐνη C3 του συμπληρώματος. Η ανάπτυξη θεραπευτικών αντισωμάτων ανοίγει νέες οδούς για το σχεδιασμό εμβολίων και άλλων αντιμικροβιακών μέσων για την αντιμετώπιση λοιμώξεων οφειλώμενων σε S. aureus.

DESIGN AND COMPREHENSIVE EVALUATION OF HUMAN NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST COMPLEMENT EVASION PROTEIN Efb OF Staphylococcus aureus.

Georgoutsou-Spiridonos M.[1], Pratsinis Ch.[2], Antipas A.3, Chatziara S.[3], Perivolioti E.[4], Mastellos D.[1,] Sfyroera G.[1]

National Center for Scientific Research Demokritos

Staphylococcus aureus is a widely disseminated human pathogen whose infectivity is associated with a broad range of potentially fatal health complications (sepsis, endocarditis and toxic-shock syndrome). S. aureus is notorious for its ability to elaborate a broad range of virulence factors that have been shown to promote host organ colonization, pathogen virulence and thereby affect disease progression in various pathologies. The emerging antibiotic resistance of several S. aureus strains urges for the consideration of novel therapeutic platforms that exploit targeted approaches- such as the generation of monoAbs- to neutralize virulence-promoting factors released by such pathogens. S. aureus has been shown to produce proteins presenting complement inhibitory activity, such as Extracellular Fibrinogen Protein (Efb). Complement (C') represents a key innate immune effector that protects against infection, mediates host inflammatory reactions to bacterial infection and serves as attractive target for the dampening of this response by pathogens. Aim of our study is the development of targeted antimicrobial therapeutics that might counteract immune evasion mechanisms of S. aureus through Efb interception. To this end, recombinant Efb protein was produced in an E. coli-based expression system, purified to homogeneity and used as bait for the screening of a human F(ab2) library. F(ab)2 which reacted with the target Efb were selected and tested for their ability to recognize linear or conformational Efb epitopes. In an in vitro whole blood model of inflammation F(ab)2 attenuated the survival of S. aureus by inhibiting the interaction of Efb with complement protein C3. The neutralizing effect of these antibodies was associated with increased opsonization and phagocytosis of the pathogen. These studies are anticipated to provide a framework for the design of novel antibody-based therapeutics for S. aureus- related diseases.

Η ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ PI3K/Akt ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΕΙΣΡΟΗ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΣΕ ΙΣΧΑΙΜΙΚΑ SH-SY5Y ΚΥΤΤΑΡΑ

Ιωάννα Γιαγκλήση, Μαυροφρύδη Όλγα, Παναγιώτα Παπαζαφείρη
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας,Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

Η κυτταρική απόκριση σε καταστάσεις ισχαιμίας διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στο κεντρικό νευρικό σύστημα, καθώς συνδέεται με μια ποικιλία δυσλειτουργιών οδηγώντας σε διεγερσιμοτοξικότητα. Στην παρούσα εργασία, αξιολογήσαμε την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού επιβίωσης PI3K/Akt, κατά τη διάρκεια σύντομης και παρατεταμένης ισχαιμίας, στην ανθρώπινη κυτταρική σειρά νευροβλαστώματος SH-SY5Y. Επιπλέον, εξετάστηκε η εμπλοκή της νοραδρενεργικής διέγερσης καθώς έχει δειχθεί ότι ασκεί ιδιαίτερα προστατευτική δράση στους νευρώνες, οι οποίοι διαφορετικά καταστρέφονται από το παρατεταμένο στρες. Απροσδόκητα, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η Akt ενεργοποιήθηκε κατά τη διάρκεια στέρησης γλυκόζης, μία απόκριση που γρήγορα αντιστράφηκε κατά την επαναφορά της γλυκόζης. Στη συνέχεια, εξετάστηκε η ενδεχόμενη εμπλοκή του ασβεστίου (Ca2+), ως μία πιθανή αιτία κυτταρικού θανάτου, καθώς η ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K/Akt δεν μπορεί να αιτιολογήσει τη μειωμένη κυτταρική επιβίωση στις παραπάνω συνθήκες. Πράγματι σε υπογλυκαιμικά κύτταρα ανιχνεύθηκαν μειωμένες συγκεντρώσεις Ca2+ στο ενδοπλασματικό δίκτυο και αυξημένη εισροή ιόντων από την πλασματική μεμβράνη. Και πάλι, η επαναφορά της γλυκόζης, οδήγησε σε ταχεία αποκατάσταση της φυσιολογικής κινητοποίησης του ασβεστίου. Επιπρόσθετα, εκκένωση του ενδοπλασματικού δικτύου με θαψιγκαργκίνη, ενός ειδικού αναστολέα αντλιών ασβεστίου, οδήγησε σε ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/Akt, παρόλο που ο κυτταρικός θάνατος ήταν, όπως αναμέναμε, αναπόφευκτος. Δεδομένου ότι η παρατεταμένη είσοδος ασβεστίου συνοδεύεται συνήθως από αποδιοργάνωση της μιτοχονδριακής λειτουργίας, εξετάσαμε τον πιθανό προστατευτικό ρόλο του ruthenium red, ενός αναστολέα του μιτοχονδριακού μεταφορέα ασβεστίου, και της κυκλοσπορίνης Α, ενός αναστολέα του μιτοχονδριακού πόρου παροδικής διαπερατότητας. Συμπερασματικά, οι παρατηρούμενες μεταβολές του ασβεστίου θα μπορούσαν να είναι υπεύθυνες για διαταραχές στην κυτταρική σηματοδότηση και για τον κυτταρικό θάνατο, ενώ ειδικότερα, η αυξημένη εισροή ασβεστίου θα μπορούσε να εξηγήσει την παρατεταμένη διέγερση του μονοπατιού PI3K/Akt, η οποία όμως δεν καταφέρνει να καταστείλει τα αποπτωτικά σήματα που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο.

ACTIVATION OF PI3K/Akt PATHWAY IS MEDIATED BY ENHANCEDCALCIUM ENTRY IN ISCHEMIC SH-SY5Y CELLS

Ioanna Yiaglissi, Mavrofrydi Olga, Panagiota Papazafiri
Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, National and Kapodistrian University of Athens

Cell response during ischemic conditions plays a crucial role in the central nervous system, as it is connected to a variety of dysfunctions, due to imbalanced stimulatory and inhibitory transmission mechanisms, leading to excitotoxicity. In the present study, we assessed the activation of PI3K/Akt survival signalling pathway during short and prolonged ischemia in human neuroblastoma cell line (SH-SY5Y). In addition, the involvement of noradrenergic stimulation was examined, as it has been shown to exert profound protective, pro-survival effects on neurons otherwise compromised by prolonged stress. Unexpectedly, PI3K/Akt was clearly activated during glucose deprivation, a response which was rapidly reversed upon glucose re-addition. Next, the possible involvement of calcium (Ca2+), a likely cell death cause, was considered, as activation of PI3K/Akt survival pathway could not explain the decreased cell survival in the above conditions. Remarkably, decreased Ca2+ concentrations in the endoplasmic reticulum and, increased ion influx from the plasma membrane were detected in hypoglycemic cells. Again, glucose restoration resulted in rapid re-establishment of normal calcium mobilization. Moreover, endoplasmic reticulum depletion by thapsigargin, a specific calcium pump inhibitor, was able to induce PI3K/Akt activation even though cell death was, as expected, unavoidable. Since sustained calcium entry is commonly accompanied by deregulation of mitochondria function, we then examined the potential protective role or ruthenium red, an inhibitor of mitochondrial calcium uniporter, and cyclosporin A, a blocker of the mitochondrial permeability transition pore opening, manifested in ischemia. In summary, the measured calcium variations could account for impaired cell signaling and death, while, in particular, increased calcium influx could explain the sustained stimulation of PI3K/Akt, which, however, can not overmaster the apoptotic signals that lead to cell death.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΙΟΥ ΤΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ, ΠΟΥ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΗΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ TWEEDLE, ΜΕ ΧΙΤΙΝΗ

Γιαννακούρας Θεοχάρης-Ηλίας, Παπανδρέου Νίκος, Οικονομίδου Βασιλική, Χαμόδρακας Σταύρος

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

Το δερμάτιο είναι ένα διμερές, σύνθετο υλικό που παρέχει δομική και μηχανική υποστήριξη δρώντας λειτουργικά τόσο ως δέρμα όσο και ως σκελετός στα αρθρόποδα. Αποτελείται απο ίνες χιτίνης ενσωματωμένες σε μία πρωτεϊνική 'μήτρα'. Οι φυσικές του ιδιότητες καθορίζονται απο την δομή των δυο βασικών δομικών στοιχείων του, των πρωτεϊνών του δερματίου (CP) και της χιτίνης, καθώς και από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Η κύρια οικογένεια πρωτεϊνών του δερματίου είναι η CPR (πρωτεΐνες που εντοπίζεται στην αμινοξική τους ακολουθία η εκτεταμένη R&R συναινετική ακολουθία) οι οποίες έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι δεσμεύουν χιτίνη. Μελέτες Συγκριτικής Προτυποποίησης και πειράματα Αγκυροβόλησης οδήγησαν στην πρόταση ότι το βασικό δομικό μοτίβο των πρωτεϊνών που φέρουν την R&R συναινετική ακολουθία είναι ένα αντιπαράλληλο β-πτυχωτό φύλλο που σχηματίζει ένα μισό 'β-βαρέλι', ενώ προτάθηκαν πιθανοί τρόποι αλληλεπίδρασης τους με τη χιτίνη. Οι μελέτες βασίστηκαν στην παρατήρηση ότι οι CPRs ομοιάζουν, σε επίπεδο αλληλουχίας, με την πρωτεΐνη του πλάσματος που δεσμεύει ρετινόλη (RBP) και ανήκει στην οικογένεια των λιποκαλινών. Το επόμενο βήμα ήταν να μελετηθούν και άλλες οικογένειες δομικών πρωτεϊνών του δερματίου και οι αλληλεπιδράσεις τους με χιτίνη. Για παράδειγμα, η οικογένεια Tweedle αποτελεί μια μεγάλη οικογένεια πρωτεϊνών του δερματίου. Μέχρι σήμερα, 236 ακολουθίες από 17 διαφορετικά είδη έχουν χαρακτηριστεί ως μέλη της. Όπως οι CPRs έτσι και οι πρωτεΐνες Tweedle εμφανίζουν ομοιότητα σε επιπέδο αλληλουχίας με την RBP. Με τη μέθοδο της συγκριτικής προτυποποίησης κατασκευάστηκαν μοντέλα για μέλη της οικογένειας Tweedle. Από την ανάλυσή τους προτείνουμε ότι το βασικό δομικό μοτίβο τους είναι ένα 'β-βαρέλι', που απαρτίζεται από 8 αντιπαράλληλους β-κλώνους και μία α-έλικα παράλληλη προς τους β-κλώνους. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν πειράματα αγκυροβόλησης για να διαπιστώσουμε πως τα μέλη των Tweedle αλληλεπιδρούν με χιτίνη.

COMPUTATIONAL STUDIES OF THE INTERACTIONS OF CUTICULAR PROTEINS, BELONGING TO THE TWEEDLE FAMILY, WITH CHITIN

Giannakouras, Theocharis-Ilias, Papandreou Nikos, Iconomidou Vassiliki, Hamodrakas Stavros

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

Cuticle is a complex, bipartite, composite material that provides structural and mechanical support, acting functionally both as skin and as skeleton to arthropods. It is composed of chitin filaments embedded in a proteinaceous matrix. The physical properties of cuticle are determined by the structure of its two major components, cuticular proteins (CPs) and chitin, and, also, by their interactions. The major family of cuticular proteins is CPR (the extended R&R consensus motif is present in their aminoacid sequences) and it has been experimentally proved that its members bind chitin. Homology modeling studies and docking experiments suggested an antiparallel β-sheet half-barrel structure as the basic folding motif of the R&R Consensus and provided insights for the modes of CPRs interactions with chitin. These attempts were based on the observation that CPR protein sequences share sequence similarity to bovine plasma retinol binding (RBP) protein, which belongs to the lipocalin family. The next step was to study other families of structural cuticular proteins and their interactions with chitin. For example, Tweedle is a large family of structural cuticular proteins. To date, 236 sequences from 17 different species have been identified as members of this family. Like CPRs, Tweedle proteins display remote sequence similarity with RBP. Homology modeling was used to build structural models of the Tweedle proteins. Analysis of their structural characteristics led us to propose that their basic folding motif is a β-barrel, which consists mainly of eight antiparallel β-strands and an α-helix parallel to the strands. Finally, docking experiments were performed, to investigate how members of the Tweedle family may interact with chitin chains.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Mytilus galloprovincialis* ΣΤΗΝ ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ

Γιάντσης Α. Ιωάννης, Αποστολίδης Π. Απόστολος
Εργαστήριο Ιχθυοκομίας & Αλιείας, Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονική Σχολή Α.Π.Θ., 54-124 Θεσσαλονίκη

Το Mytilus galloprovincialis είναι ένα είδος υψηλής εμπορικής αξίας, που ζει στη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα, ενώ θεωρείται το μοναδικό είδος μυδιού στις περιοχές αυτές. Εντούτοις, πρόσφατα αναφέρθηκε η παρουσία ατόμων του είδους M. edulis, καθώς επίσης και υβριδίων M. galloprovincialis – M. edulis σε περιοχές της Δυτικής Μεσογείου, όπως οι ακτές της Ανατολικής Ισπανίας, της Νότιας Γαλλίας και της Δυτικής Σαρδηνίας. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνήσει αν το είδος M. edulis εξαπλώνεται και στην κεντρική και ανατολική Μεσόγειο. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε ο μοριακός δείκτης Me15/17 του πυρηνικού DNA, ο οποίος παρουσιάζει διαγνωστικές διαφορές στο μήκος των ενισχυμένων από την PCR τμημάτων, ανάμεσα στα δύο είδη. Συνολικά εξετάστηκαν 190 μύδια από τη Θάλασσα της Λιγουρίας, την Αδριατική, το Ιόνιο και το Αιγαίο πέλαγος ενώ στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν και 5 ταυτοποιημένα άτομα M. edulis από τη Δανία. Δύο τμήματα DNA (αλληλόμορφα), διαγνωστικά για κάθε είδος αναγνωρίστηκαν με μεγέθη 210 και 160 ζεύγη βάσεων, για το M. edulis και για το M. galloprovincialis, αντίστοιχα. Σε όλα τα δείγματα της Μεσογείου που εξετάστηκαν ενισχύθηκε μόνο το τμήμα των 160 βάσεων, συνεπώς χαρακτηρίσθηκαν ως M. galloprovincialis, ενώ στα δείγματα της Δανίας ενισχύθηκε μόνο το τμήμα των 210 ζευγών βάσεων. Επιπλέον, δε βρέθηκε κανένα ηλεκτροφορητικό πρότυπο με δύο ζώνες, κατά συνέπεια δεν αποκαλύφθηκαν υβρίδια M. galloprovincialis – M. edulis. Ως εκ τούτου, παρόλο που η ζώνη υβριδισμού μεταξύ των δύο ειδών παρουσιάζει ένα αξιοσημείωτα μεγάλο γεωγραφικό εύρος, που εκτείνεται από τις ακτές της Ιρλανδίας και της Σκωτίας μέχρι την Ιβηρική χερσόνησο, τα μύδια από την κεντρική και ανατολική Μεσόγειο ανήκουν αποκλειστικά στο είδος Mytilus galloprovincialis.

MOLECULAR DETECTION OF *Mytilus galloprovincialis* SPECIMENS IN CENTRAL-EASTERN MEDITERRANEAN specimens in Central-Eastern Mediterranean

Giantsis A. Ioannis, Apostolidis P. Apostolos
Lab of Ichthyology & Fisheries, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki, 54-124 Thessaloniki

Mytilus galloprovincialis is an important commercial species which is believed to occur in the Black and Mediterranean Seas as a pure taxon. However, based on a recent report the blue mussel M. edulis and M. galloprovinciallis - M. edulis hybrids are likely to occur in low numbers in several zones of Western Mediterranean coasts i.e. Eastern Spain, Southern France and Western Sardinia. The aim of this study was to evaluate if M. edulis spreads along the coastal waters of the Central-Eastern Mediterranean Sea. For this purpose, the Me15/17 nuclear molecular marker was used to amplify a segment of gene coding an adhesive protein of byssus with diagnostic length differences among the PCR products of the two taxa. A total of 190 Mediterranean mussels from the Ligurian, Adriatic, Ionian and Aegean Seas and 5 M. edulis samples from Denmark were assayed for these DNA markers. We identified two expected DNA fragments diagnostic for each Mytilus taxon. Their sizes were 210-bp for M. edulis, and 160-bp for M. galloprovincialis. All studied mussels from the Mediterranean Sea contained only the 160-bp allele and were regarded as pure M. galloprovincialis whereas in the M. edulis samples from Denmark only the 210-bp allele was detected. Moreover as no specimen showed an electrophoretic pattern with two bands no M. galloprovincialis - M. edulis hybrids were detected. Therefore, although the hybrid zone between M. galloprovincialis and M. edulis shows a considerable distribution from Scottish and Irish coasts to the Iberian Peninsula, it seems that mussels from Central - Eastern Mediterranean are pure M. galloprovincialis.

ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΤΗΝΟΠΑΝΙΔΑ ΣΤΟΥΣ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥΣ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ

Γιώσα Ευθυμία [1,2], Σάββας Ζώτος [2], Χρίστος Μαμμίδης[2]
1.Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, email: bl00878@cc.uoi.gr 2. Μονάδα Διατήρησης της Φύσης, Πανεπιστήμιο Frederick, Γιάννη Φρειδερίκου 7, Παλλουριώτισσα, 1036, Λευκωσία, Κύπρος

Η Κύπρος, λόγω της σημαντικής της γεωγραφικής θέσης, αποτελεί ένα από τους κύριους μεταναστευτικούς διαδρόμους μεταξύ Ευρώπης και Αφρικής και, ως εκ τούτου, η πτηνοπανίδα του νησιού θεωρείται ιδιαίτερα πλούσια. Για την αποτελεσματική προστασία και διαχείριση των πτηνών αυτών είναι απαραίτητη η διερεύνηση των παραγόντων που επηρεάζουν τα είδη. Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη και η ποσοτικοποίηση των επιπτώσεων συγκεκριμένων ανθρωπογενών παραγόντων, όπως του οδικού δικτύου, της θήρευσης και των διάφορων χρήσεων γης, στην υδρόβια πτηνοπανίδα της Κύπρου που καταγράφηκε σε 20 υγροβιότοπους κατά το έτος 2011. Χρησιμοποιώντας εργαλεία γεωγραφικών συστημάτων πληροφοριών και στατιστικά μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, έχει διαφανεί ότι τα επίπεδα θήρευσης, τα οποία εκφράζονται ως το ποσοστό έκτασης των απαγορευμένων περιοχών κυνηγιού σε ακτίνα ενός χιλιομέτρου από τον κάθε υγροβιότοπο, σε συνδυασμό με την επιφάνειά του, επηρεάζουν περισσότερο το συνολικό πληθυσμό των πτηνών (R2=0.72, p

THE EFFECTS OF VARIOUS ANTHROPOGENIC FACTORS ON THE BIRD COMMUNITIES IN WETLANDS IN CYPRUS

Giosa Efthymia [1,2], Savvas Zotos [2], Christos Mammides[2]
1.University of Ioannina, Department of Biological Applications and Technologies, e-mail: bl00878@cc.uoi.gr 2. Nature Conservation Unit, Frederick University, Yianni Freiderikou 7, Palouriotissa, 1036, Nicosia, Cypurs

Cyprus, due to its important geographic location, constitutes one of the main migratory corridors between Europe and Africa and, as a result, the bird fauna of the island is considered to be particularly rich. For the effective protection and management of these birds, it is necessary to study the factors that influence the species. The present research aims at the study and quantification of the effects of particular anthropogenic factors, such as the road network, hunting and land use, on the waterbirds of Cyprus, which have been recorded at 20 wetlands during 2011. Using geographical information system (GIS) tools, as well as multiple linear regression models, it has been shown that the hunting levels, expressed as the percentage area of the game reserves within a one kilometer radius from each wetland, in combination with its surface area, influence mostly the total abundance of birds (R2=0.72, p

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ IDH1/2 ΣΕ ΟΓΚΟΥΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Γιώτη Α., Η. Χατζηανδρέου, Ρ.Φ. Σολδάτος, Ι. Παπασιδέρη, Π. Κορκολοπούλου, Γ. Βρεττάκος, Β. Σαμαράς, Α. Ζησάκης, Ε. Πατσούρης, Α.Α. Σαέττα
Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Εισαγωγή: Οι μεταλλαγές των γονιδίων IDH1 και IDH2 που χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικοί και προγνωστικοί δείκτες, τροποποιούν την φυσιολογική λειτουργία των γονιδίων (μετατροπή του ισοκιτρικού σε α-κετογλουταρικό)και οδηγούν σε παραγωγή D-2-υδροξυγλουταρικού(D-2-HG), η συσσώρευση του οποίου πιθανά σχετίζεται με αλλαγές στο μεταβολισμό της γλουταμίνης και των λιπαρών οξέων. Οι πιο συχνές μεταλλαγές εντοπίζονται στο κωδικόνιο 132 του γονιδίου IDH1 και στο κωδικόνιο 172 του γονιδίου IDH2. Σκοπός της μελέτης είναι η ανίχνευση των μεταλλαγών του γονιδίου IDH(IDH1 και IDH2) σε όγκους του εγκεφάλου (γλοιώματα και μηνιγγιώματα) από ΄Ελληνες ασθενείς. Υλικά-Μέθοδοι: Αναλύθηκαν 38 γλοιώματα(grade II-IV) και 78 μηνιγγιώματα (grade I-III) για την ανίχνευση των μεταλλαγών στο εξώνιο 4 των γονιδίων IDH1 και IDH2. Εφαρμόστηκε η τεχνική ανάλυση τήξης υψηλής ευκρίνειας (High Resolution Melting Analysis -HRM) και η ταυτοποίηση των μεταλλαγών έγινε με αλληλούχιση κατά Sanger ή πυροαλληλούχιση (pyrosequencing). Αποτελέσματα : Ανιχνεύθηκαν μεταλλαγές του γονιδίου IDH1 στο κωδικόνιο R132 σε 9 από τους 38 ασθενείς με γλοίωμα (24%) και σε 4 από τους 75 ασθενείς με μηνιγγίωμα (5%). Επίσης ανιχνεύθηκαν μεταλλαγές στο γονίδιο IDH2 σε 1 από τους 33 ασθενείς με γλοίωμα (3%) και σε 4 από τους 62 ασθενείς με μηνιγγίωμα(6%). Συμπεράσματα: Οι μεταλλαγές στα γονίδια IDH1 και IDH2 ανιχνεύθηκαν κυρίως σε γλοιώματα grade II και πιθανά να έχουν σημαντικό ρόλο στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης των όγκων του εγκεφάλου. Στη μνήμη του συναδέλφου βιολόγου διπλωματικού και μεταπτυχιακού φοιτητή του Α΄ εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής ΕΚΠΑ, Γεράσιμου Μαραβελή.

DETECTION OF IDH1/2 MUTATIONS IN BRAIN TUMORS

A. Gioti, I. Chatziandreou, R.F. Soldatos, I.Papasideri, P. Korkolopoulou, G. Vrettakos, V. Samaras, A. Zisakis, E. Patsouris, A.A. Saetta

1st Department of Pathology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

Introduction: IDH1 and IDH2 mutations are used as diagnostic and prognostic markers. These mutations reduce wildtype function of the enzymes (conversion of isocitrate to a-ketoglutarate) and confer a new function (conversion of a-ketoglutarate to D-2-hydroxyglutarate) .The accumulation of D-2-HG probably correlates with alterations in glutamine and fatty acid metabolism. The most frequent mutations are R132H and R172 of IDH1 and IDH2 gene respectively. The objective of this study was to detect IDH1/2 mutations in brain tumors (gliomas and meningiomas) from Greek patients. Materials and methods: IDH1 and IDH2 mutations were analyzed in 38 gliomas (grade II-IV) and 78 meningiomas (grade I-III), by HMR (High Resolution Melting Analysis), sequencing and pyrosequencing. Results: IDH1 mutations are detected in codon 132, in 9 of the 38 patients with gliomas (24%) and the percentage of patients with mutations in IDH2 gene is 3% (1 of the 33 patients). Concerning meningiomas the percentage of IDH1 mutations is 5% (4 of the 75 patients) and of IDH2 mutations is 6% (4 of 62 patients). Conclusion: IDH1 and IDH2 mutations are mainly observed in grade II gliomas, implying the probability of an early event in brain tumorigenesis. In memory of our colleague biologist undergraduate and postgraduate student of 1st Department of Pathology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Gerasimos Maravelis.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΘΕΙΟΛΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ ΣΤΑ ΒΡΑΓΧΙΑ ΜΥΔΙΩΝ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΟΥΣ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΥΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΥΣ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ

Κωνσταντίνος Γκρίντζαλης[2], Χρήστος Δ. Γεωργίου[2], Στέφανος Νταϊλιάνης[1]
1/ Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα- 2/ Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Στην παρούσα μελέτη διερευνάται η ικανότητα επιλεγμένων κυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs), όπως το φαινανθρένιο (PH) και το ανθρακένιο (AN) να επάγουν φαινόμενα οξειδωτικού stress στα βράγχια των μυδιών Mytilus galloprovincialis, καθώς και αλλαγές της θειολικής οξειδο-αναγωγικής κατάστασης (thiol redox status, TRS), όπως τα επίπεδα της γλουταθειόνης (GSH) και των ελεύθερων πρωτεϊνικών θειολών (PSH), και της ενζυμικής αντιοξειδωτικής άμυνας. Συγκεκριμένα, μύδια που εκτέθηκαν για 7 ημέρες σε 0.1 mg L-1 PH και/ή AN, καθώς και σε μίγμα τους (τελικής συγκέντρωσης 0.2 mg L-1), έδειξαν σημαντικές διαταραχές στη σταθερότητα των λυσοσωμικών μεμβρανών των αιμοκυττάρων τους (μέθοδος NRRT), γεγονός που αποτελεί σαφή ένδειξη της διαταραχής της φυσιολογικής κατάστασης των οργανισμών, λόγω παρουσίας των επιλεγμένων PAH. Περαιτέρω μελέτη στα βράγχια των εκτιθέμενων ατόμων έδειξε σημαντική επαγωγή οξειδωτικού stress, όπως προκύπτει από τα αυξημένα επίπεδα τόσο της μηλονικής διαλδεΰδης (ολική και δεσμευμένη σε πρωτεΐνες) όσο και των λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων (LOOH). Η επαγωγή οξειδωτικού stress φαίνεται να σχετίζεται με διαταραχή της αντιοξειδωτικής κατάστασης (μη-ενζυμική και ενζυμική) στα βράγχια των εκτιθέμενων μυδιών, μιας και παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της γλουταθειόνης (GSH) και των πρωτεϊνικών θειολών (PSH), καθώς και σημαντικές αλλαγές της ενεργότητας αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT), η μεταφεράση, η αναγωγάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GST, GR, GPx αντίστοιχα) στα βράγχια των εκτιθέμενων μυδιών. Οι σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των παραμέτρων που μετρήθηκαν στα βράγχια των εκτιθέμενων μυδιών αποδεικνύουν τη χρησιμότητα μελέτης της θειολικής οξειδο-αναγωγικής κατάστασης προκειμένου να εκτιμηθεί η ικανότητα οργανικών ρύπων, όπως οι PAHs, να επάγουν οξειδωτικό stress σε υδρόβιους οργανισμούς, όπως το είδος Mytilus galloprovincialis, οργανισμό-μοντέλο σε μελέτες εκτίμησης της ποιότητας των υδάτων.

THIOL REDOX STATE AND ANTIOXIDANT RESPONSES IN GILLS OF MUSSELS, AFTER EXPOSURE TO SELECTED POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS)

Konstantinos Grintzalis[2], Christos, D. Georgiou[2], Stefanos Dailianis[1]
1/Department of Biology, Section of Animal Biology, University of Patras, Patras 26500, Greece-2/ Department of Biology, Section of Genetics, Cell Biology and Development, University of Patras, Patras 26500, Greece

This study investigates phenanthrene (PH) and anthracene (AN) ability to induce physiological alterations in gills of the mussel Mytilus galloprovincialis, with the use of a battery of stress indices. Lysosomal membrane stability (NRRT assay) primarily performed in haemocytes of mussels exposed for 7 days to each PAH (at a final concentration of 0.1 mg L-1 in each case), as well as in mixture (1:1, at a final concentration of 0.2 mg L-1), showed lower NRR time values compared with those obtained in control mussels. Similarly, significantly enhanced alterations in antioxidant (non-enzymatic and enzymatic) status were obtained in the gills of PAH-exposed mussels. In particular, it was shown for the first time that PAHs induce alterations in thiol redox state (TRS), by the depletion of GSH and free thiols in general, while the stress-induced formation of malondialdehyde (total MDA and protein-bound MDA) and lipid hydroperoxides (LOOH) was significantly increased. Regarding enzymatic antioxidant status, significantly increased levels of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity were observed in gills of PAH-exposed mussels, while a significant attenuation of both glutathione S-transferase (GST) and alkaline phosphatase (ALP) activity was observed in any case. On the other hand, glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GPx) activity in gills of mussels showed both type- and dose-dependent alterations, thus emphasizing the need for further studies. The multi-biomarker correlation analysis revealed PAHs potential to induce a cascade of prepathological alterations in gills of mussels.

IN VITRO ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΘΥΜΟΥ ΑΔΕΝΑ ΕΝΑΝΤΙ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Γουίλλιαμς Ε. Δ., Καππά Ν., Σαμαρά Π., Ιωάννου Κ., Τσιτσιλώνη Ο.
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Το ανοσορυθμιστικό πολυπεπτίδιο προθυμοσίνη α (προΤα) και το καρβοξυτελικό της δεκαπεπτίδιο προΤα(100-109) δρουν πλειοτροπικά, ενισχύοντας την αντικαρκινική δραστικότητα των ανοσοκυττάρων, όπως τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα, τα δενδριτικά κύτταρα, τα NK και Τ λεμφοκύτταρα. Σκοπός μας ήταν να μελετήσουμε αν τα πεπτίδια αυτά ασκούν και άμεση κυτταροτοξική δράση σε ανθρώπινα καρκινικά και φυσιολογικά κύτταρα. Ανθρώπινα κύτταρα αδενοκαρκινώματος (SKBR3, HCT-116, SKOV3, Ishikawa, FM3) και λευχαιμικά κύτταρα (HL-60, K562) επωάστηκαν με προΤα ή προΤα(100-109) (0,01-10 μg/ml) για 72 ώρες. Ουδετερόφιλα και μονοπύρηνα απομονώθηκαν από περιφερικό αίμα υγιών δοτών μετά από φυγοκέντρηση σε κλίση Ficoll-Histopaque και οι λεμφοκυτταρικοί υποπληθυσμοί διαχωρίστηκαν με τη χρήση ειδικών αντισωμάτων, προσδεμένων σε ανοσομαγνητικά σφαιρίδια, και επωάστηκαν με τις ίδιες συγκεντρώσεις πεπτιδίων για 24 ώρες. Η κυτταροτοξικότητα μετρήθηκε με τις δοκιμασίες MTT και πολλαπλασιασμού με ραδιενεργό θυμιδίνη, καθώς και με χρήση της χρωστικής Trypan-Blue. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το χημειοθεραπευτικό σκεύασμα δοξορουβικίνη. Η προΤα και το προΤα(100-109), ακόμα και σε ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις, δεν επηρέασαν τη βιωσιμότητα και την πολλαπλασιαστική ικανότητα των αδενοκαρκινωμάτων και των λευχαιμικών κυττάρων. Επίσης, δεν ήταν τοξικά στα ουδετερόφιλα και στα μονοπύρηνα του περιφερικού αίματος, αλλά ούτε και σε απομονωμένους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς. Αντίθετα, η δοξορουβικίνη οδήγησε σε σημαντική μείωση της βιωσιμότητας όλων των κυττάρων, με μικρές διακυμάνσεις ανάλογα με την ανθεκτικότητα του κάθε κυτταρικού πληθυσμού σε αυτήν. Η παρούσα μελέτη υποδεικνύει ότι η προΤα και το ανοσοδραστικό της δεκαπεπτίδιο δεν ασκούν άμεση κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα, ούτε στα λευκοκύτταρα in vitro, αλλά δρουν μέσω ανοσοεπαγωγικών μηχανισμών, οδηγώντας τελικά σε λύση των καρκινικών κυττάρων από τα ενεργοποιημένα από τα πεπτίδια ανοσοκύτταρα. Συνεπώς, τα δύο μόρια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε κλινικές μελέτες για την ενίσχυση της δράσης του ανοσοποιητικού συστήματος έναντι καρκινικών κυττάρων, χωρίς την εμφάνιση τοξικότητας. *Ισότιμη συμμετοχή Χρηματοδότηση: ΙΚΥDA 2010/165, FP7 REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

IN VITRO STUDY OF THE CYTOTOXICITY OF THYMIC PEPTIDES AGAINST CANCEROUS AND NORMAL HUMAN CELLS

Williams E. D., Kappa N., Samara P., Ioannou K, Tsitsilonis O.
Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens

The immunomodulatory polypeptide prothymosin α (proTα) and its carboxy-terminal decapeptide proTα(100-109) act pleiotropically, enhancing the anticancer activity of immune cells, such as neutrophils, monocytes, dendritic cells, NK and T lymphocytes. Our aim was to determine whether these peptides are also directly cytotoxic against cancerous and normal human cells. Human adenocarcinoma cells (SKBR3, HCT-116, SKOV3, Ishikawa, FM3) and leukemic cells (HL-60, K562) were incubated with proTα or proTα(100-109) (0.01-10 μg/ml) for 72 hours. Neutrophils and mononuclear cells were isolated from the peripheral blood of healthy donors, by centrifugation over Ficoll-Histopaque gradient and the lymphocytic subpopulations were separated using specific antibodies conjugated to immunomagnetic beads, and incubated with the aforementioned concentrations of the peptides for 24 hours. The cytotoxicity was evaluated by the MTT and proliferation, via thymidine incorporation, assays, as well as by using the Trypan-Blue exclusion dye. The chemotherapeutic drug doxorubicin was used as a positive control. ProTα and proTα (100-109), even at particularly high concentrations, did not affect the viability or the proliferation of the adenocarcinomas and leukemic cells. Additionally, they were non toxic to peripheral blood mononuclear cells or to the isolated lymphocytic subpopulations. On the contrary, doxorubicin led to a significant decrease in cell viability, with slight variations depending on the resistance of each cell population. This study indicates that proTα and its immunoreactive decapeptide do not exert direct cytotoxic activity against cancer cells or leukocytes in vitro, but they act via immunomodulatory mechanisms, eventually leading to cancer cell lysis, mediated by the peptide-activated immune cells. Consequently, these two molecules could potentially be used in clinical trials for enhancing the activity of the immune system against cancer cells, with no toxic side effects. *Equal contribution Funding: IKYDA 2010/165, FP7 REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΚΤΙΝΟΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΕΤΡΙΚΩΝ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΠΥΕΛΟΥ ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ

Γουργούλη Δ.[1], Μανώλης Σ.Κ.[2], Μωραΐτης Κ.[1]

1Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ. Μ. Ασίας 75, Γουδή 11527, Αθήνα. 2Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας ΕΚΠΑ.Πανεπιστημιόπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα.

Ο καθορισμός του φύλου θεωρείται μείζονος σημασίας σε περιπτώσεις που τα ατομικά χαρακτηριστικά του ατόμου δεν είναι δυνατόν να εκτιμηθούν με απλή επισκόπηση λόγω της προχωρημένης σήψης. Στην περίπτωση αυτή, η πύελος παρέχει τα πιο αξιόπιστα σημεία διάκρισης των δύο φύλων. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η αξιολόγηση της χρησιμότητας των ακτινομορφολογικών και μετρικών γνωρισμάτων της πυέλου στον προσδιορισμό του φύλου. Χρησιμοποιήθηκαν 280 ακτινογραφίες πυέλου προσθιοπίσθιας προβολής από το Ακτινοδιαγνωστικό Τμήμα του Νοσοκομείου Γ.Ν.Α «Ο Ευαγγελισμός» μετά από σχετική άδεια. Στις εν λόγω ακτινογραφίες, μελετήθηκαν 8 μορφολογικοί και 6 μετρικοί χαρακτήρες, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη κατά τον ακτινολογικό έλεγχο της πυέλου. Από την εφαρμογή της δοκιμασίας χ2 προέκυψε ότι το σχήμα της ελάσσονος πυέλου, το σχήμα του θυροειδούς τρήματος, οι αναγλυφές των μυών, η μείζων ισχιακή εντομή, οι πτέρυγες των λαγονίων οστών, η υποηβική γωνία και το σχήμα του ηβικού οστού διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο φύλων. Όσον αφορά τους μετρικούς χαρακτήρες, η δοκιμασία t κατέδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φύλων για την εγκάρσια απόσταση της ελάσσονος πυέλου, την ευθεία ανατομική διάμετρο, την εγκάρσια διάμετρο του κάτω στομίου και το εύρος της ηβικής σύμφυσης στο άνω τμήμα και στη μεσότητά της. Επίσης, προκειμένου να παραχθεί το καλύτερο αριθμητικό μοντέλο πρόβλεψης για τον προσδιορισμό του φύλου εφαρμόσθηκε η ανάλυση βηματικής πολλαπλής παλινδρόμησης. Για τους μορφολογικούς χαρακτήρες, η καλύτερη μεταβλητή πρόβλεψης απετέλεσε το σχήμα του ηβικού οστού, ενώ για τους μετρικούς η εγκάρσια διάμετρος του κάτω στομίου. Η μέθοδος που περιγράφεται μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τον προσδιορισμό του φύλου πρόσφατων πτωμάτων ή πτωματικών υπολειμμάτων.

SEX DETERMINATION USING MORPHOLOGICAL AND METRICAL FEATURES FROM PELVIC X-RAYS

Gourgouli D.[1], Manolis S.K. [2], Moraitis K.[1]

1Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine, University of Athens.75 M. Asias Str., 11527 Athens, Greece. 2Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens. Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece.

Sex determination is an issue of great importance in cases where the demographic characteristics of a body cannot be determined by visual inspection. Pelvis provides the greatest number of characteristics useful for determining sex. The purpose of this study is to evaluate the usefulness of certain morphological and metrical features of pelvic x-rays on sex determination. A total of 280 anteroposterior pelvic x-rays from a General Hospital of Athens were used after obtaining a formal permission. Eight morphological and six metrical features normally used in clinical practice during the radiographic examination of the pelvis were evaluated. A chi-square test ($\chi 2$) showed that pelvic inlet shape, obturator foramen shape, development of muscle markings, sciatic notch shape, ilium orientation, subpubic angle and pubic bone shape differed statistically significantly between males and females. Concerning metrical features, a t-test revealed a statistically significant difference between males and females in the transverse diameter of inlet pelvis, the posterior sagittal diameter, the intertuberus diameter, and the upper and medial width of the pubic symphysis. Stepwise multiple regression analysis was applied in order to produce the best predictable model for sex determination. In terms of morphological features, the best predictable variable was the obturator foramen shape, whilst for metrical ones the intertuberus diameter. The presented method may be successfully utilized on completely intact or partial remains.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΕ tRNA ΓΟΝΙΔΙΑ ΜΕ ΤΗ ΝΟΣΟ ALZHEIMER

Γραμματικόπουλος Αλέξανδρος, Βασιλική Κόλλια
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Τα μιτοχόνδρια είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ενέργειας στο κύτταρο. Λόγω μειωμένης επιδιορθωτικής ικανότητας και αυξημένης παραγωγής ελευθέρων ριζών συσσωρεύουν στο DNA τους πληθώρα μεταλλάξεων, πολλές από τις οποίες οδηγούν σε μειωμένη παραγωγή ενέργειας. Λόγω των αυξημένων απαιτήσεων τους σε ενέργεια πλήττονται περισσότερο τα νευρικά κύτταρα. Τελευταία, παρατηρείται συσχέτιση των μιτοχονδριακών μεταλλάξεων με νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Parkison, Alzheimer). Συγκεκριμένα, στους ασθενείς με Alzheimer έχουν παρατηρηθεί τόσο λειτουργικές όσο και δομικές διαφορές στα μιτοχόνδριά τους. Στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν 6 γονίδια tRNAs σε 100 ασθενείς Alzheimer και 204 άτομα ελέγχου. Ταυτοποιήθηκαν 10 μεταλλάξεις στους 47 από τους 100 ασθενείς. Αναλυτικότερα, στο tRNALeu ταυτοποιήθηκε η μετάλλαξη A 12308G στο 17% των ασθενών και στο 13,2% των ατόμων ελέγχου. Στα tRNAArg, tRNAThr ταυτοποιήθηκαν οι μεταλλάξεις T10463C και G15928A σε ποσοστά 8% και 6% στους ασθενείς και 2,45% και 7,84% στα άτομα ελέγχου αντίστοιχα. Η μετάλλαξη T12189C tRNAHis ταυτοποιήθηκε στο 5% των ασθενών και στο 0,98% των ατόμων ελέγχου. Στο tRNAThr ταυτοποιήθηκε η del15944T σε ποσοστό 3% και η μετάλλαξη C15946T σε ποσοστό 2% μόνο στους ασθενείς. Στο tRNAThr ταυτοποιήθηκαν οι μεταλλάξεις A15924G και C15904T σε ποσοστό 2% στους ασθενείς, και 2,9% και 1,47% αντίστοιχα στα άτομα ελέγχου. Τέλος, ταυτοποιήθηκαν οι μεταλλάξεις T10454C στο tRNAArg, μόνο στους ασθενείς, σε ποσοστό 1% και T12285C στο tRNASer στο 1% των ασθενών και 0,5% των ατόμων ελέγχου. Συμπερασματικά, οι ασθενείς με Alzheimer εμφανίζουν μεταλλάξεις στα tRNA που μελετήσαμε, σε μεγαλύτερα ποσοστά από τον πληθυσμό ελέγχου. Κάποιες από αυτές τις μεταλλάξεις έχουν θεωρηθεί υπεύθυνες και για άλλες ασθένειες, ενώ καμία δεν έχει συσχετισθεί ακόμη με το Alzheimer. Η ολοκλήρωση της μελέτης και στα υπόλοιπα tRNA γονίδια θα δώσει μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα του ρόλου του mtDNA στην κληρονομικότητα του Alzheimer.

MITOCHONDRIAL tRNA MUTATIONS ASSOCIATION WITH ALZHEIMER'S DISEASE

Grammatikopoulos A., Kollia P.
Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa

Mitochondria are responsible for energy production in cells. Because of their reduced DNA repair capacity and increased production of free radicals, they accumulate many mutations, some of which lead to reduced energy production. The neural cells are the first to be affected due to their increased needs in energy. Association between mitochondrial mutations and neurodegenerative diseases (Parkinson's, Alzheimer) has been observed. In Alzheimer patients have been noticed both functional and structural differences in their mitochondria. In this study, 6 tRNA genes were screened in 100 Alzheimer patients and 204 unaffected people. Ten mutations were identified in 47 of the patients. Specifically, the mutation A12308G in tRNALeu was identified in 17% of patients and in 13,2% of unaffected people. T10463C and G15928A were identified in tRNAArg and tRNAThr in 8% and 6% of the patients respectively, and in 2,45% and 7,84% of control group respectively. T12189C (tRNAHis) was identified in 5% of patients and in 0,98% of unaffected people. In tRNAThr , mutations were identified only in patients (del14944T and C15946T in 3% and 2% of patients, respectively). In tRNAThr were also identified both A15924G and C15904T in 2% of patients, and in 2,9%, 1,47% in control group respectively. At last, T10454C was identified in tRNAArg only in patients (1%), and T12285C (tRNASer) in 1% of patients and in 0,5% of control group. Conclusively, Alzheimer patients present mutations in these tRNAs, in higher percentage compared to unaffected people. While none of these mutations have been associated with Alzheimer so far, some of them, have shown association with other diseases. The completion of the study in the rest of tRNA genes will provide more information for mtDNA's role in Alzheimer's inheritance.

ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΔΡΟΥΝ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Γριμανέλλη Βασιλική, Τσώλης Αντώνης, Χαμόδρακας Σταύρος
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 157 01

Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πιθανότατα, η πιο ραγδαία αναπτυσσόμενη και πολλά υποσχόμενη κατηγορία φαρμάκων. Χρησιμοποιούνται θεραπευτικά σε αυτοάνοσα νοσήματα, καρδιαγγειακές και μολυσματικές ασθένειες, μεταμόσχευση νεφρών και σε διάφορα είδη καρκίνου. Σημαντικό μειονέκτημα στην αξιοποίηση των αντισωμάτων είναι η τάση που έχουν να σχηματίσουν συσσωματώματα σε υψηλές συγκεντρώσεις, κατά την αποθήκευση και τη χρήση τους. Τα συσσωματώματα αυτά μπορεί να μειώσουν την δραστικότητα των αντισωμάτων, καθώς επίσης να προκαλέσουν ανοσολογικές αποκρίσεις σε ασθενείς. Σ' αυτή την εργασία, μελετήθηκε η τάση του Pertuzumab (Omnitarg, PerjetaTM, 2C4) ως προς τον σχηματισμό συσσωματωμάτων. Το Pertuzumab είναι ένα ανασυνδυασμένο, μονοκλωνικό αντίσωμα με έναν μοναδικό μηχανισμό δράσης εναντίον καρκινικών κυττάρων στο μαστό. Αλληλεπιδρά με την εξωκυττάρια περιοχή ΙΙ του υποδοχέα HER-2 αναστέλλοντας την ικανότητα του να διμεριστεί με άλλους υποδοχείς της οικογένειας υποδοχέων HER. Για την πρόγνωση των περιοχών που έχουν την τάση να σχηματίζουν συσσωματώματα χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι AMYLPRED και AMYLPRED2, που αναπτύχθηκαν στο εργαστήριό μας. Μελετώντας τις περιοχές αυτές στην τρισδιάστατη δομή του αντισώματος, έγιναν αντικαταστάσεις αμινοξικών καταλοίπων με εκτεθειμένες τις πλευρικές τους αλυσίδες, ώστε να μην επηρεαστεί η δομή της πρωτεΐνης. Τα κατάλοιπα αυτά αντικαταστάθηκαν με άλλα που έχουν παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες, έχοντας ως αποτέλεσμα την ελαχιστοποίηση των επιφανειών με τάση για συσσωμάτωση. Αυτή η διαδικασία μπορεί να γενικευθεί και σε άλλα μονοκλωνικά αντισώματα, οδηγώντας στην ελάττωση της τάσης για σχηματισμό συσσωματωμάτων, βελτιώνοντας με αυτόν τον τρόπο την διαλυτότητα και τη σταθερότητά τους.

IMPROVING THE SOLUBILITY OF THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST CANCER

Grimanelli Vasiliki, Tsolis Antonis, Hamodrakas Stavros
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01

Monoclonal antibodies represent the most promising and rapidly growing class in therapeutic compounds. They are used in treatment schemes for autoimmune, cardiovascular and infectious diseases, kidney transplantation, and cancer. A major drawback in the exploitation of antibodies is their tendency to form aggregates, when delivered in high concentrations in their storage and usage. Aggregates may result in reduction of antibody therapeutic activity, while severe immunological responses in patients have also been recorded. In this study, we investigated the susceptibility of Pertuzumab (Omnitarg, PerjetaTM, 2C4) to form aggregates. Pertuzumab is a recombinant monoclonal antibody with a unique mechanism of action against breast cancer cells. It targets the extracellular domain II of the HER-2 tyrosine kinase receptor and inhibits the ability of the receptor to dimerize with other HER receptors. AMYLPRED and AMYLPRED2 consensus methods (developed in our lab) were used to predict 'aggregation-prone' regions on the surface of this protein. Considering the 3D-structure (Fab fragment) of the antibody, we tentatively replaced amino acid residues with exposed side chains in the predicted 'aggregation-prone' regions, which, most probably, do not affect its 3D-structure. These residues were substituted by others with similar properties, resulting apparently, in reduction of Pertuzumab potential to form aggregates. This procedure can be generalized in other monoclonal antibodies to decrease their tendency to form aggregates, and improve their solubility and stabilization.

ΤΑ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΗ ΔΕΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΧΩΡΙΚΗ ΜΑΘΗΣΗ ΤΩΝ ERK1 KNOCKOUT ΜΥΩΝ

Δημητριάδου Σύλβια[1], Πολυσίδη Αλεξία[1], Αντωνίου Κατερίνα[2], Κάντα-Χαντζή Βασιλική[1], Σκαλιόρα Ειρήνη[1]

1/ Εργαστήριο Νευροφυσιολογίας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωράνου Εφέσιου 4, 11527 Αθήνα - 2/ Τμήμα Φαρμακολογίας, Ιατρική σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων 45110, Ιωάννινα

Το σύστημα των ενδοκανναβινοειδών είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με τη συναπτική αποτελεσματικότητα και συνεπώς με τις διαδικασίες της μνήμης και της μάθησης. Ένα από τα κυριότερα ενδοκυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης που εμπλέκονται σε αυτές είναι εκείνο των MAPK/ERK κινασών, ενώ έχει βρεθεί ότι οι αγωνιστές των υποδοχέων των κανναβινοειδών προκαλούν καταρροϊκή φωσφορυλίωση των ERK1/2, μέσω ενεργοποίησης του CB1 υποδοχέα. Ακόμη, οι φυσικοί αλλά και οι συνθετικοί αγωνιστές του CB1 υποδοχέα αποδεδειγμένα επηρεάζουν τη μνήμη και τη μάθηση, παρότι ο ακριβής τρόπος δράσης τους παραμένει αδιευκρίνιστος. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της σχέσης των αγωνιστών των CB1 υποδοχέων με τη σηματοδότηση μέσω ERK και η επίδρασή τους στη μνήμη και μάθηση. Χορηγήθηκε ο ισχυρός αγωνιστής του CB1 υποδοχέα HU210 (0.01 mg/kg, ενδοπεριτοναϊκά), σε μύες από τους οποίους είχε απαλειφθεί γενετικά η ERK1, καθώς και σε μύες αγρίου τύπου. Στη συνέχεια ελέγχθηκε η χωρική μάθηση και μνήμη, στη δοκιμασία του υδάτινου λαβύρινθου κατά Morris τριών φάσεων: μία δοκιμασία 2 ημερών με εμφανή την τοποθεσία της πλατφόρμας, μία φάση εκμάθησης 7 ημερών με μη εμφανή πλατφόρμα και δοκιμασία ελέγχου της μακροπρόθεσμης μνήμης την τελευταία ημέρα. Δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση της χωρικής μνήμης και μάθησης ανάμεσα στους δύο γονοτύπους. Όμως, η χορήγηση της HU210 επέφερε αντίθετα αποτελέσματα στους μύες αγρίου τύπου και στους ERK1-/-, προκαλώντας βελτίωση της απόδοσης κατά την εκμάθηση στους πρώτους και καθυστερημένη εκμάθηση στους δεύτερους. Ο έλεγχος του σχηματισμού της μακροπρόθεσμης μνήμης 24 ώρες μετά την ολοκλήρωση της φάσης εκμάθησης, δεν ανέδειξε διαφορές ανάλογες του γονοτύπου ή της χορήγησης του κανναβινοειδούς. Τα αποτελέσματά μας προτείνουν ότι η επίδραση της χορήγησης κανναβινοειδούς στη χωρική μάθηση εξαρτάται από την ERK1, υποδεικνύοντας ότι η ERK2 δεν είναι αναγκαία ή ικανή για τη διαμεσολάβηση του φαινομένου αυτού.

LACK OF CANNABINOID-INDUCED EFFECTS ON SPATIAL LEARNING IN ERK1-DEFICIENT MICE

Dimitriadou Sylvia[1], Polissidis Alexia[1], Antoniou Katerina[2], Kanta-Chantzi Vasiliki[1], Skaliora Irini[1]

1/ Neurophysiology Laboratory, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Efessiou, 11527, Athens - 2/ Department of Pharmacology, Medical School, University of Ioannina, 45110, Ioannina

The endocannabinoid system is intimately involved in synaptic plasticity and thus, in learning and memory. One of the main intracellular signaling pathways involved in these processes is the MAPK/ERK pathway and cannabinoid agonists have been shown to induce downstream phosphorylation of ERK1/2 via activation of the CB1 receptor. In addition, both natural and synthetic CB1 cannabinoid receptor agonists have been shown to affect memory and learning; however, their mode of action is largely unknown. The goal of the present study was to explore the relationship between cannabinoid CB1 receptor agonists and their effects on ERK signaling in learning and memory. ERK1 deficient mice and wildtype littermates received a low dose of a potent CB1 receptor agonist, HU210 (0.01 mg/kg, i.p.) and spatial learning and memory was assessed in a Morris water maze task consisting of three phases: a 2-day cued version with a visible platform, a 7-day acquisition phase with a hidden platform and a long term memory retention probe trial on the final day. Spatial learning and memory were undifferentiated between the two genotypes in the Morris water maze. However, HU210 administration had opposite effects on wildtype and ERK1-/- mice, causing improved learning in the acquisition phase in the former, but delayed learning in the latter. Long term memory retention as assessed by a probe trial 24 h following the last acquisition session revealed no differences between genotype or drug treatment. Our results provide evidence for an ERK1-dependent effect of cannabinoid administration on spatial learning, suggesting that ERK2 is not sufficient or required to mediate this effect.

ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Pelargonium roseum*

Δημογέροντα Τ.Κ. [1], Καστρίτση- Καθάριου Ι. [2], Νικολαΐδου Α. [1], Χατζηνικολάου Δ. [3]
[1] Τομέας Ζωολογίας- Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84. [2] Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Νέα Ιωνία 384 46. [3] Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84.

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, των γενών Escherichia, Bacillus και Pseudomonas, είναι υπεύθυνοι για πληθώρα ασθενειών, από απλές λοιμώξεις έως και σοβαρότατες νόσους. Έτσι, δεν αποτελεί έκπληξη ο άνθρωπος να αναζητά συνεχώς τρόπους να καταστείλει την δράση αυτών των μικροβίων. Η ανακάλυψη αντιβιοτικών αλλά και ουσιών με αντιμικροβιακή δράση είναι βαρύνουσας σημασίας, ιδιαίτερα στις μέρες μας. Εμπειρικές γνώσεις χρόνων αλλά και in vitro πειράματα έχουν δείξει ότι τα εκχυλίσματα φυτών έχουν βακτηριοστατική και αντιμικροβιακή δράση, καταπραϋντικές αλλά και διάφορες άλλες ευεργετικές ιδιότητες. Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η δράση εκχυλισμάτων του φυτού Pelargonioum roseum (αρμπαρόριζα) σε διάφορα στελέχη βακτηρίων. Ο σκοπός της έρευνας ήταν να ελεγχθούν δύο ερωτήματα: πρώτον, είναι το φυτό P. roseum τοξικό και για ευκαρυωτικά κύτταρα, και δεύτερον, έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες; Για να εξεταστούν αυτά τα ερωτήματα, κατασκευάσαμε διάφορα εκχυλίσματα του φυτού. Τα φυτικά εκχυλίσματα χρησιμοποιήθηκαν σε πειράματα τοξικότητας, με βασικό πειραματόζωο ένα μικρό καρκινοειδές, την Artemia franciscana, ευρέως χρησιμοποιούμενο οργανισμό στα πειράματα οξείας τοξικότητας. Τα εκχυλίσματα δεν επέδειξαν κανένα βαθμό τοξικότητας. Αντίθετα, όταν τα ίδια φυτικά εκχυλίσματα χρησιμοποιήθηκαν σε μια σειρά από μικροβιολογικά πειράματα, παρατηρήθηκε σημαντική αναστολή της βακτηριακής ανάπτυξης. Αυτή η ανακάλυψη συνηγορεί στο ότι το φυτό P. roseum διαθέτει πράγματι αντιμικροβιακές ιδιότητες. Μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να επικεντρωθούν στον ακριβή εντοπισμό της δραστικής ουσίας, αλλά και στο μηχανισμό δράσης αυτής πάνω στα βακτήρια. Η παρούσα ερευνητική εργασία προσθέτει την αρμπαρόριζα στη λίστα των φυτών και βοτάνων με αντιμικροβιακές ιδιότητες και διευρύνει την έρευνα κατά των παθογόνων βακτηρίων.

A STUDY OF THE ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF Pelargonium roseum

Dimogeronta T.K. [1], Castritsi- Catharios J. [2], Nikolaidou A. [1], Hatzinikolaou D.G.[3]
[1] Department of Zoology- Marine Biology, Faculty of Biology, University of Athens, University campus, Athens 157 84. [2] Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Nea Ionia 384 46. [3] Microbiology Group, Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, University campus, Athens 157 84.

Intracellular pathogens, such as Escherichia coli, Bacillus subtilis and Pseudomonas aeruginosa, cause a broad variety of diseases, ranging from basic infections to severe ailments. Therefore, it comes to no surprise that humans are determined in finding ways to suppress the pathogenesis of bacteria. The discovery of antibiotics along with antibacterial substances is of dire importance, especially in our times. Empirical knowledge and in vitro assays have shown that plants have bacteriostatic and antibacterial properties. This essay examines the effect of Pelargonioum roseum extracts on various bacterial strains. The objective of this study was to provide an answer for two questions: first, is P. roseum toxic for eukaryotic cells? And second, has P. roseum significant antibacterial effects? To examine these questions, we prepared a variety of plant extracts. These extracts were used in a number of toxicity assays using a small crustacean, Artemia franciscana, as the prime subject. These extracts displayed no trace of toxicity to A. franciscana. However, when the plant extracts were tested in microbial plate cultures, a significant growth suspension was observed. This discovery suggests that P. roseum indeed displays certain antibacterial properties. Future studies should focus on tracking down the exact active substance, in addition to deciphering the mechanisms through which it affects bacteria. Through these findings P. roseum is added to the list of plants with antibacterial properties, further expanding the research against pathogens.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΕΝΟΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΟΝΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ-ΑΝΑΛΟΓΟΥ ΤΟΥ Ν-ΤΕΛΙΚΟΥ ΑΚΡΟΥ ΤΗΣ ΠΡΟΔΡΟΜΗΣ ΜΟΡΦΗΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥΡΗΤΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ (NT-proBNP) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ

Διακάτου Μιχαλίτσα Ι.[1,2], Βουτσινάς Γεράσιμος Ε[1]., Λούρος Νικόλαος Ν.[2], Στραβοπόδης Δημήτριος Ι.[2], Χαμόδρακας Σταύρος Ι.[2], Οικονομίδου Βασιλική Α.[2]

1/Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μεταλλαξιγένεσης και Καρκινογένεσης, Ινστιτούτο Βιοεπιστημών και Εφαρμογών, Εθνικό Κέντρο Ερευνών (ΕΚΕΦΕ) Δημόκριτος, Αγ. Παρασκευή , Αθήνα 15310 - 2/Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701

Όταν πεπτίδια ή πρωτεΐνες διπλωθούν με έναν μη-κανονικό τρόπο, μπορεί να αυτοσυγκροτηθούν σε ινίδια, τα αμυλοειδή ινίδια, τα οποία είναι ευθύγραμμα, αδιακλάδιστα, διαμέτρου 70-120 Å. Κατά τη διαδικασία της ινιδογένεσης ανιχνεύονται πρόδρομα στοιχεία, τα αμυλοειδή ολιγομερή ή προ-ινιδιακά συσσωματώματα, ποικίλης μορφολογίας (συνήθως σφαιρικά). Τα αμυλοειδή στοιχεία σχετίζονται με ένα μεγάλο αριθμό ασθενειών, τις αμυλοειδώσεις (π.χ. νόσος του Altzheimer, νόσος του Parkinson, διαβήτης τύπου-ΙΙ κ.α.), γεγονός το οποίο έχει διεγείρει το ενδιαφέρον για τη μελέτη της κυτταροτοξικότητας των στοιχείων αυτών. Πρόσφατες, μάλιστα, έρευνες υποστηρίζουν ότι τα προ-ινιδιακά συσσωματώματα έχουν μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα από τα ώριμα ινίδια, χωρίς όμως να λείπουν σοβαρότατες αντιρρήσεις. Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκε η κυτταροτοξικότητα του επτα-πεπτιδίου KMVLYTL, το οποίο προβλέπεται από τους αλγορίθμους AMYLPRED I και II ως αμυλοειδογόνο, και έχει ήδη αποδειχθεί πειραματικά ότι αυτοσυγκροτείται σε αμυλοειδή ινίδια, από εργασίες της ομάδας μας. Το πεπτίδιο αυτό βρίσκεται, ως τμήμα του Ν-τελικού άκρου της πρόδρομης μορφής (NT-proBNP) της ώριμης πεπτιδο-ορμόνης BNP, η οποία εκκρίνεται από την καρδιά και ρυθμίζει τα επίπεδα των υγρών και των ηλεκτρολυτών του σώματος. Και οι δύο μορφές της ορμόνης (NT-proBNP και ώριμο BNP) δημιουργούν αμυλοειδείς εναποθέσεις στην καρδιά (απομονωμένη κολπική αμυλοείδωση). Στο πλαίσιο της συγκεκριμένης εργασίας, χορηγήθηκαν σε τρεις διαφορετικές κυτταρικές σειρές (NIH-3T3, N2a, H9c2) διαλύματα του πεπτιδίου, διαφορετικών δόσεων και διαφορετικού χρόνου επώασης, και μελετήθηκε η κυτταροτοξικότητά του με τη μέθοδο MTT, η οποία μετρά τη λειτουργικότητα των μιτοχονδρίων. Παράλληλα, τα διαλύματα αυτά παρατηρήθηκαν σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης, με αρνητική χρώση, όπου διαπιστώθηκε ότι, αμέσως μετά τη διάλυση (ημέρα 0), σφαιρικά προ-ϊνιδιακά συσσωματώματα συνυπάρχουν μαζί με λεπτά ινίδια. Τα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι ότι το πεπτίδιο KMVLYTL εμφανίζει τοξικότητα μικρού έως μεσαίου βαθμού, αναλόγως της κυτταρικής σειράς, ενώ ελαφρώς αυξημένη εμφανίζεται η κυτταροτοξικότητα και στις τρεις κυτταρικές σειρές, από την έκτη ημέρα και μετά, όταν το πεπτίδιο έχει ήδη σχηματίσει ώριμα αμυλοειδή ινίδια, που δημιουργούν πηκτώματα (gels).

STUDIES OF THE CUTOTOXICITY OF AN AMYLOIDOGENIC PEPTIDE-ANALOGUE OF THE N-TERMINAL PRO-BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (NT-proBNP) ON DIFFERENT CELL-LINES

Diakatou Michalitsa I. [1,2], Voutsinas Gerasimos E. [1], Louros Nikolaos N. [2], Stravopodis Dimitrios I. [2], Hamodrakas Stavros J. [2], Iconomidou Vassiliki A. [2]

1/Laboratory of Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis, Institute of Biosciences and Applications, National Center for Scientific Research (NCSR) Demokritos, Aghia Paraskevi, 15310, Athens, Greece - 2/Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01, Greece

When peptides or proteins misfold, they may aggregate, eventually leading to the formation of so called amyloid fibrils, which are unbranched fibrils, of undefined length and width, ca. 70-120 Å in diameter, structures. During the fibrilogenesis pathways, precursor species, known as amyloid oligomers or pre-fibrillar aggregates, of variable morphology (mostly spherical) can be detected. Amyloidogenic structures are related to a large number of diseases, collectively termed amyloidoses (such as Altzheimer's, Parkinson's, Diabetes II and many others) and this has triggered a tremendous amount of research on these molecules' or their aggregates' cytotoxicity. Recent works support the idea that pre-fibrillar aggregates induce increased cytotoxicity compared to mature fibrils, but this still remains controversial. In this work, we studied the cytotoxocity of the KMVLYTL peptide which has been predicted by the algorithms AMYLPRED I and II as amyloidogenic and it has also been proven to be amyloidogenic, experimentally, by our team. This peptide is contained in the N-terminal part of the precursor form (NT-proBNP) of the mature peptide hormone BNP, which is secreted from the heart and controls the fluids' and electrolytes' balance of the body. Both forms of the hormone (NT-proBNP and BNP) form amyloid deposits at the heart (related to the isolated cardiac/atrial amyloidosis). During the course of this work, three different cell lines (NIH-3T3, N2a, H9c2) were treated with peptide solutions of different concentrations and for various incubation periods. Subsequently, their cytotoxicity was assessed using the MTT assay, which estimates the functionality of mitochondria. Furthermore, these solutions where examined by TEM (negative staining) and it was observed that, upon dilution (day 0), characteristic globular pre-fibrillar moieties/aggregates co-exist, together with thin, immature fibrils. Our results indicate that the KMVLYTL peptide exhibits low or moderate cytotoxicity, which is cell line dependent. It is noteworthy that cytotoxicity was slightly enhanced when all three cell lines were treated with the at least six-days old incubated peptide. At, or after this stage, the peptide has already formed mature amyloid-like fibrils, self-assembling into typical gels.

ΔΙΕΡΕΥΝΥΝΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗΣ ΔΙΑΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (HSCs) ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΙΑΙΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (MSCs) ΚΑΙ EX VIVO ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ DIPROTIN A (anti-CD26)

Ελεμηνιάδου Ευριδίκη [1,2], Σγουραμάλη Ελένη [1, 2], Κοτζιαλάμπου Αναστασία [1,2], Χρυσικοπούλου Ελένη [1,2], Σιαμέτης Αθανάσιος [1,2], Αναγνωστόπουλος Αχιλλέας [1], Γιάγκου Μηνάς [2], Γιαννάκη Ευαγγελία [1]

1/Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιμ/κή Κλινική-ΜΜΜΟ, Νοσοκομείο Γ.Παπανικολάου Θεσσαλονίκη, 2/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ, Θεσσαλονίκη

Η γονιδιακή θεραπεία αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση στις αυτόλογες μεταμοσχεύσεις αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCs) για την αντιμετώπιση πολλών αιματολογικών νοσημάτων. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση μεθόδων αύξησης της μεταναστευτικής ικανότητας των διαμολυσμένων HSCs α) παρουσία υπερκειμένου καλλιέργειας μεσεγχυματικών στελεχιαίων κυττάρων (MSCs) και β) έπειτα από ex vivo διέγερση με Diprotin A (anti-CD26) με απώτερο στόχο την ενίσχυση της εμφύτευσης . Έχει δειχθεί ότι η συγχορήγηση MSCs και HSCs αυξάνει σημαντικά το ποσοστό εμφύτευσης , ωστόσο δεν είναι γνωστό αν αυτό οφείλεται στην αλληλεπίδραση των κυττάρων αυτών ή σε εκκρινόμενους από τα MSCs παράγοντες. Ο CD26 αποτελεί πεπτιδάση που διασπά τον εκκρινόμενο από τα στρωματικά κύτταρα παράγοντα-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1), βρίσκεται φυσιολογικά στα κύτταρα του μυελού των οστών ενώ έχει δειχθεί πως η καταστολή του οδηγεί στην αύξηση της εμφύτευσης ενός μικρού αριθμού γενετικά διορθωμένων HSCs. Ο SDF-1 είναι ένας χημειοτακτικός παράγοντας που εκκρίνεται από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών με ικανότητα να προσελκύει τα HSCs. Μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα μυών C57BL/6J απομονώθηκαν, καλλιεργήθηκαν, ταυτοποιήθηκαν με κυτταρομετρία ροής (ως CD45-CD44+CD73+CD54+Sca-1+) ενώ το υπερκείμενο αυτών συλλέχθηκε και συμπυκνώθηκε. Η μετανάστευση των διαμολυσμένων HSCs με λεντιικό φορέα αναφοράς (GFP vector) προς τον παράγοντα SDF-1, μελετήθηκε in vitro σε transwell καλλιεργητικά συστήματα έπειτα από προσθήκη υπερκειμένου και έπειτα από διέγερση τους με Diprotin A. Για τον καθορισμό του ποσοστού μετανάστευσης, τα κύτταρα επιστρώθηκαν σε ημιστέρεο μέσο μεθυλ-κυτταρίνης για την ανάπτυξη κλωνογενών αποικιών (CFU-GM). Το ποσοστό γονιδιακής μεταφοράς ελέγχτηκε με κυτταρομετρία ροής για έκφραση της GFP πρωτεΐνης . Εκτιμήθηκε πως τόσο η προσθήκη υπερκειμένου όσο και η διέγερση με Diprotin A οδηγούν σε αύξηση της μεταναστευτικής ικανότητας των διαμολυσμένων HSCs.

SUPERNATANT OF MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCs) CULTURE AND EX VIVO PRE-TREATMENT WITH DIPROTIN A (anti-CD26) IMPROVES MIGRATION EFFICIENCY OF TRANSDUCED HEMATOPOIETIC STEM CELLS (HSCs)

Eleminiadou Evridiki [1,2], Sgouramali Eleni [1,2], Kotzialampou Anastasia [1,2], Xrusikopoulou Eleni [1,2], Siametis Athanasios [1,2], Anagnostopoulos Achilleas [1], Yiagkou Minas [2], Yannaki Evangelia [1]

1/Gene and Cell Therapy Lab, Hematology and BMT Department, G.Papanicolaou Hospital, Thessaloniki, 2/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, A.U.Th, Thessaloniki

Gene therapy is a promising therapeutic approach regarding the autologous transplantations of hematopoietic stem cells (HSCs) for the treatment of severe hematologic diseases. In this study we investigated methods of supporting the migration of transduced HSCs a) with supernatant of mesenchymal stem cells cultures and b) after ex vivo pre-treatment of HSCs with Diprotin A (anti-CD26), in order to enhance the engraftment of HSCs. Several studies have proven that the cotransplantation of MSCs -HSCs significantly increases the engraftment of HSCs, however it is not well understood if MSCs support hematopoiesis by secreting cytokines or via their interaction with HSCs. CD26 is a peptidase that cleavage stromal cell-derived factor- 1 (SDF-1) and occurs into the bone marrow. Inhibition of CD26 leads to the engraftment of a small number of genetically corrected HSCs. SDF-1 is a chemotactic factor secreted by the bone marrow's stromal cells and directs the migration of HSCs to bone marrow. Mesenchymal stem cells isolated from C57BL/6J mice, cultured, characterised by flow cytometry (as CD45-CD44+CD73+CD54+Sca-1+) and their supernatant collected and concentrated. The migration of transduced HSCs with lentiviral vector (GFP vector) to SDF-1 was measured in vitro with transwell culture systems after adding supernatant of MSCs and after pre-treatment with Diprotin A. To evaluate the percentage of migration, methylcellulose-based colony-forming unit (CFU) assays were performed. The percentage of gene transfer was determined by flow cytometry (FCM) for GFP positivity. It was estimated that the addition of MSCs supernatant and the pre-treatment with Diprotin A enhance the migration of transduced HSCs.

ΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΩΣ ΚΑΘΟΡΙΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΤΗΣ ΜΑΚΡΟΖΩΙΑΣ ΣΤΗ *Drosophila melanogaster*

Ευαγγελάκου Ζ. [1], Ε. Τσακίρη1, Ι. Παπασιδέρη[1], V. Debattisti[2], Scorrano[2 3], Τρουγκάκος Ι. Π. [1]

1 Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784, Ελλάδα 2 Ινστιτούτο Dulbecco-Telethon, Ενετικό Ινστιτούτο Μοριακής Ιατρικής, Padova 35129, Ιταλία 3 Τμήμα Φυσιολογίας κυττάρων και Μεταβολισμού, Πανεπιστημίου της Γενεύης, Ιατρική Σχολή, Γενεύη 1211, Ελβετία

Η κυτταρική ομοιόσταση και η μιτόσταση (ομοιόσταση των μιτοχονδρίων) ελέγχονται, μεταξύ των άλλων, από μια λεπτή ισορροπία μεταξύ της μιτοχονδριακής σύντηξης και σχάσης. Αυτές οι διαδικασίες εξαρτώνται από την συντονισμένη λειτουργία τεσσάρων πολύ καλά (από την ζύμη έως τα θηλαστικά) συντηρημένων GTPασών, των μιτοφουσινών Mfn1 και Mfn2 οι οποίες μαζί με την πρωτεΐνη Οπτικής Ατροφίας 1 (Opa1) εμπλέκονται στην μιτοχονδριακή σύντηξη, καθώς και της σχετιζόμενης με δυναμίνη πρωτεΐνη (Drp1) η οποία ρυθμίζει την μιτοχονδριακή σχάση. Τόσο η μιτοχονδριακή σύντηξη όσο και η σχάση είναι κεντρικής σημασίας για τη διαμόρφωση της κυτταρικής ομοιόστασης καθώς ελέγχουν την βιογένεση των μιτοχονδρίων και την μιτοφαγία. Η απορύθμιση της μιτόστασης έχει εμπλακεί στη γήρανση και σε νευροεκφυλιστικές νόσους ενώ πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος εμπλέκεται στην ρύθμιση της μιτοχονδριακής σύντηξης. Εδώ, παραθέτουμε τις προκαταρκτικές αναλύσεις μας που αφορούν στην συμμετοχή των παραπάνω φαινομένων στην γήρανση καθώς και της λειτουργικής τους συσχέτισης με τα κύρια κυτταρικά πρωτεολυτικά μονοπάτια, δηλαδή τα συστήματα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος και του συστήματος αυτοφαγίας- λυσσωσώματος. Οι in vivo μελέτες μας στον οργανισμό μοντέλο Drosophila melanogaster έδειξαν ότι η δυσλειτουργία της μιτοχονδριακής σύντηξης μειώνει την μυϊκή δύναμη των εντόμων και επιταχύνει σημαντικά τη γήρανση. Επιπρόσθετα η δυσλειτουργία των μοριακών μηχανισμών μιτοχονδριακής σύντηξης επιδρά στις καταλυτικές ενεργότητες και τα επίπεδα έκφρασης του πρωτεασώματος, καθώς και στις ενζυμικές ενεργότητες κύριων λυσσωσωμικών ενζύμων, υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός κυκλώματος αισθητήρων τα οποία σηματοδοτούν την διαταραχή της μιτόστασης στις πρωτεολυτικές μηχανές. Μελλοντικά πειράματα στο εργαστήριο μας έχουν ως σκοπό την διασαφήνιση της μοριακής βάσης αυτών των ευρημάτων.

MITOCHONDRIAL DYNAMICS AS A KEY DETERMINANT OF LONGEVITY IN Drosophila melanogaster

Z. Evangelakou[1], E. Tsakiri[1], I. Papassideri [1], V. Debattisti[2], Scorrano[2,3], Trougakos IP.[1]
1 Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece 2 Dulbecco-Telethon Institute, Venetian Institute of Molecular Medicine, Padova 35129, Italy 3 Department of Cell Physiology and Metabolism, University of Geneva Medical School, Geneva 1211, Switzerland

Cellular homeostasis and mitostasis (homeostasis of mitochondria) are, among others, regulated by a delicate balance between mitochondrial fusion and fission. These processes depend on the coordinated function of four conserved (from yeast to mammalian) GTPases, namely the mitofusins Mfn1 and Mfn2 along with Optic Atrophy 1 (OPA1) which are implicated in mitochondrial fusion, as well as dynamin-related protein 1 (Drp1) that regulates fission. Both mitochondria fusion and fission are central to the modulation of cellular homeostasis as they control mitochondria biogenesis and mitophagy. The disruption of mitostasis has been implicated in aging and neurodegenerative diseases, while recent studies have indicated that the ubiquitin-proteasome system is implicated in the regulation of mitochondrial fusion. Herein, we present our preliminary analyses regarding the implication of mitochondrial dynamics in the molecular processes of ageing and their links to the main cellular proteolytic pathways, namely the ubiquitin-proteasome and the autophagy-lysosome systems. Our in vivo studies at the model organism Drosophila melanogaster have revealed that impairment of mitochondrial fusion decreases the muscle strength of flies and significantly accelerates ageing. Moreover, disruption of mitochondrial fusion processes impacts on the catalytic activities and the expression levels of the proteasome, as well as on the enzymatic activities of key lysosomal enzymes, indicating the existence of a circuit of sensors that signal disruption of mitostasis to proteolytic machineries. Future experiments in our lab aim to clarify the molecular basis of these findings.

Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ArtA ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΥΒΙΚΙΤΙΝΥΛΙΩΣΗ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΥΤΩΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ UapA ΩΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΕ ΓΕΝΙΚΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Ευαγγελινός Μίνωας, Μάγια Καραχάλιο, Αλέξανδρος Χ. Κόκοτος, Βασίλης Γιαλελής, Σωτήρης Αμίλλης, Γιώργος Διαλλινάς
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Διερευνήθηκε ο ρόλος της οικογένειας πρωτεϊνών του Aspergillus nidulans που παρουσιάζουν ομοιότητα με αρρεστίνες (ARTs) στην ανάπτυξη, τη μορφολογία, την ευαισθησία σε φάρμακα και ειδικότερα στην ενδοκύτωση και αποδόμηση του μεταφορέα ουρικού οξέος-ξανθίνης, UapA. Συνολικά, από τα δέκα ομόλογα Art στον A. nidulans, μόνο η πρωτεΐνη ArtA φαίνεται να είναι απαραίτητη για την ουβικιτινυλίωση και ενδοκύτωση του UapA, μέσω της E3 HECT τύπου λιγάσης της ουβικουιτίνης, HulARsp5, ως απόκριση στην παρουσία αμμωνιακών ιόντων και φυσιολογικών υποστρωμάτων του μεταφορέα. Ανάλυση μεταλλαγμένων μορφών του UapA έδειξε πως τα κατάλοιπα 545-563 της καρβοξυτελικής περιοχής της πρωτεΐνης είναι απαραίτητα για την αποδοτική ενδοκύτωση του μεταφορέα, ενώ η αμινοτελική περιοχή (κατάλοιπα 2-123) και τα στοιχεία PPxY της πρωτεΐνης ArtA είναι απαραίτητα για την λειτουργία της, ως προσαρμοστή της HulARsp5. Επιπλέον, δείχνουμε ότι η ArtA υφίσταται ουβικιτινυλίωση από την HulARsp5 στο αμινοξικό κατάλοιπο Lys343, τροποποίηση κρίσιμη και για την ουβικιτινυλίωση και ενδοκύτωση του UapA. Τέλος, φαίνεται ότι η ArtA είναι απαραίτητη για την ενδοκύτωση και άλλων μεταφορέων πουρινών (AzgA) ή αμινοξέων (PrnB). Τα αποτελέσματα συζητούνται σε σχέση με τους προτεινόμενους μηχανισμούς ενεργοποίησης και στρατολόγησης των ARTs για την ουβικιτινυλίωση των μεταφορέων ως απόκριση σε γενικά σήματα ενδοκύτωσης και κυρίως θέτουν τη βάση για την κατανόηση της συμμετοχής των ARTs στην ενδοκύτωση μεταφορέων παρουσία των υποστρωμάτων τους.

THE ARRESTIN-LIKE PROTEIN ArtA IS ESSENTIAL FOR UBIQUITINATION AND ENDOCYTOSIS OF THE UapA TRANSPORTER IN RESPONSE TO BOTH BROAD-RANGE AND SPECIFIC SIGNALS

Evagelinos M., Karachalio M., Kokotos A., Gialelis v., Amillis S., Diallinas G.
Faculty of Biology, University of Athens

We investigated the role of all arrestin-like proteins of Aspergillus nidulans in respect to growth, morphology, sensitivity to drugs and specifically for the endocytosis and turnover of the uric acid-xanthine transporter UapA. A single arrestin-like protein, ArtA, is essential for HulARsp5-dependent ubiquitination and endocytosis of UapA in response to ammonium or substrates. Mutational analysis showed that residues 545-563 of the UapA C-terminal region are required for efficient UapA endocytosis, whereas the N-terminal region (residues 2-123) and both PPxY motives are essential for ArtA function. We further show that ArtA undergoes HulA-dependent ubiquitination at residue Lys343 and that this modification is critical for UapA ubiquitination and endocytosis. Lastly, we show that ArtA is essential for vacuolar turnover of transporters specific for purines (AzgA) or L-proline (PrnB), but not for an aspartate/glutamate transporter (AgtA). Our results are discussed within the frame of recently proposed mechanisms on how arrestin-like proteins are activated and recruited for ubiquitination of transporters in response to broad range signals, but also put the basis for understanding how arrestin-like proteins, such as ArtA, regulate the turnover of a specific transporter in the presence of its substrates.

Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ PARP-1 ΣΕ ΛΕΜΦΟΫΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Ζαρείφη Δανάη-Στέλλα
Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας Α Παθολογικής Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Επισκόπηση: Η Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) είναι ένα ένζυμο που προσδένεται στο DNA και προκαλεί πολυADPριβοζυλίωση ως απόκριση σε βλάβες του DNA, στην αποσταθεροποίηση του γονιδιώματος και προλαμβάνει από την απόπτωση. Συγκεκριμένα, τα 24 και 89 kDa θραύσματα της PARP-1, ύστερα από πρωτεόλυση από τις κασπάσες, είναι το πιο πρόσφατο διαγνωστικό εργαλείο για τον εντοπισμό της απόπτωσης σε πολλούς κυτταρικούς τύπους. Καθώς η πολυADPριβοζυλίωση φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση, η PARP-1 θεωρείται παράγοντας-κλειδί και πιθανός μοριακός στόχος για την ανάπτυξη νέων αντικαρκινικών ουσιών, όπως οι αναστολείς της PARP-1, με σκοπό την καλύτερη απόκριση σε ραδιοθεραπεία και χημειοθεραπεία. Σκοπός: Στην παρούσα μελέτη ποσοτικοποιούνται τα επίπεδα έκφρασης του mRNA της PARP-1 σε περιφερικό αίμα ασθενών με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα, πριν και μετά την επαγωγή απόπτωσης με Rituximab (Roche). Ασθενείς και μέθοδοι: Περιφερικό αίμα παραλήφθηκε από 36 ασθενείς πριν (ομάδα μαρτύρων) και μετά από θεραπεία με Rituximab. Έγινε απομόνωση RNA από τα δείγματα και σύνθεση cDNA. Η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNA της PARP-1 έγινε στο BIORADCFX96 (BIORAD) με SyberGreen. Ως γονίδιο αναφοράς και ενδογενής μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η ACTB. Η ποσοτικοποίηση ήταν απόλυτη και ο λόγος PARP-1/ACTB υπολογίστηκε ως αριθμός αντιγράφων/μl. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στατιστικά με paired T-test. Αποτελέσματα: Η PARP-1 υπερεκφράζεται σε ασθενείς πριν από θεραπεία με Rituximab σε σύγκριση με αυτών μετά τη χρήση του. Τα αποτελέσματα εμφανίζουν στατιστική σημαντικότητα και παρουσιάζονται ως τιμή ± τυπικό σφάλμα (101,954±5,99 για την ομάδα μαρτύρων συγκριτικά με 0,0302±0,0016 σε ασθενείς μετά από θεραπεία). Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν σημαντική διαφορά έκφρασης των επιπέδων mRNA της PARP-1 πριν και μετά τη χορήγηση του Rituximab ως ισχυρού αποπτωτικού παράγοντα. Ωστόσο, περαιτέρω μελέτες είναι αναγκαίες για τη συσχέτιση της έκφρασης της PARP-1 με την πορεία εξέλιξης των νοσημάτων.

PARP-1 EXPRESSION IN LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS

Zarifi D.-S.
Laboratory of Molecular Biology of 1st Department of Internal Medicine, Medical School, National and Kapodistrian Univercity of Athens.

Background: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) is a DNA-binding enzyme of poly (ADPribosyl)ation in cellular response to DNA damage, genome instability that prevents apoptosis. The presence of cleaved PARP-1(24 and 89 kDa fragments) by caspases is widely utilized diagnostic tool for detection of apoptosis in many cell types as one of the earliest cellular responses to DNA damage. As poly(ADP-ribosylation) seems to play a crucial role in carcinogenesis, PARP1 is considered a key factor and a potential target for the development of novel anti-cancer compounds such as PARP-1 inhibitors to improve the efficiency of radio- and chemo-therapy. Aim This study investigates the PARP-1 mRNA expression levels in peripheral blood samples of patients with lymphoproliferative disorders before and after induction of apoptosis by rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody). Patients and methods: Thirty six patients were included in the study. Peripheral blood samples were obtained before and after treatment with rituximab. RNA was extracted from samples and cDNA was synthesized. Quantification of PARP-1 mRNA levels was performed on BIORADCFX96 (BIORAD) with SYBRGreen detection. The endogenous housekeeping gene ACTB was used. We performed an absolute quantification with external standards and the PARP-1/ACTB ratios were calculated as number of copies/μl. Results were statistically analyzed by a paired T-test. Results: PARP-1 is highly expressed in blood samples of patients before treatment with rituximab compared to those after treatment. The results are statistically significant and presented as mean value±the standard error (101,954±5,99 for control group before treatment in comparison to 0,0302±0,0016 after treatment). (p Conclusion: These results suggest a statistically significant difference of PARP-1 mRNA levels before and after treatment with rituxumab. Further studies are required to correlate PARP-1 expression with the development and course of these diseases.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΑΡΑΚΟΥΑΤ ΑΥΞΑΝΕΙ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΩΜΕΝΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΩΝ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΦΩΤΟΝΙΩΝ ΣΤΟ ΦΩΤΟΣΥΣΤΗΜΑ ΙΙ ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΟ ΦΑΝΕΡΟΓΑΜΟ Cymodocea nodosa

Αρίστη Ζαφειράκογλου, Παρασκευή Μαλέα, Ηλέκτρα Σπερδούλη, Ιωάννης-Δημοσθένης Αδαμάκης, Μιχάλης Μουστάκας

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Τα θαλάσσια οικοσυστήματα επιβαρύνονται από φυτοφάρμακα και ειδικότερα από ζιζανιοκτόνα, τα οποία μεταφέρονται διαμέσου των ποταμών. Το παρακουάτ (Pq), ένα μη επιλεκτικό ζιζανιοκτόνο δρα κυρίως στους χλωροπλάστες παρεμβαίνοντας στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων του φωτοσυστήματος I (PSI) δεχόμενο ηλεκτρόνια και αντιδρώντας με το O2 για να παράγει O2.– και κατόπιν H2O2, τα οποία προκαλούν φωτο-οξειδωτικό στρες. Η Cymodocea nodosa (Ucria) Ascherson θεωρείται ένα θαλάσσιο φανερόγαμο με μεγάλη φαινοτυπική ποικιλομορφία και μεγάλη ικανότητα προσαρμογής σε περιβαλλοντικές μεταβολές και έτσι αντικαθιστά την Posidonia oceanica (L.) Delile σε περιοχές με δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Η μέθοδος της απεικόνισης του φθορισμού της χλωροφύλλης (Imaging-PAM) χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της επίδρασης μικρής διάρκειας (2h) Pq (0, 0.001, 0.02, 0.2, 1.0 και 2.0 mM) στο θαλάσσιο φανερόγαμο C. nodosa. Σε όλες τις συγκεντρώσεις Pq, η απόδοση φωτονίων του φωτοσύστηματος II (ΦPSII) αυξήθηκε με παράλληλη αύξηση της κατανομής της ενέργειας στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων συγκριτικά με τα φυτά μάρτυρες. Η ρυθμιζόμενη μη φωτοχημική απόσβεση ενέργειας υπό τη μορφή θερμότητας στο PSII (ΦNPQ) μειώθηκε σε όλες τις συγκεντρώσεις του Pq με ταυτόχρονη αύξηση της μη ρυθμιζόμενης αποβολής ενέργειας που χάνεται για άλλες μη φωτοχημικές διαδικασίες στο PSII (ΦNO), υποδηλώνοντας την αυξημένη παραγωγή O2.–. Η επακόλουθη μετατροπή των O2.– σε H2O2, είχε σαν αποτέλεσμα την παραγωγή αυξήμενης συγκέντρωσης H2O2, το οποίο ανιχνεύθηκε με τη χρήση της ευαίσθητης στο H2O2 φθορίζουσας ουσίας DCF-DA. Το H2O2 εμφανίζει τοξική δράση προκαλώντας την οξείδωση των βιομορίων και λειτουργεί ως σηματοδοτικό μόριο τόσο για την πρόκληση κυτταρικού θανάτου όσο και για εγκλιματισμό. Τα δεδομένα μας συνηγορούν στην άποψη ότι το H2O2 ενεργοποιεί ένα σηματοδοτικό μονοπάτι που έχει σαν αποτέλεσμα τον εγκλιματισμό της C. nodosa στο φωτο-οξειδωτικό στρες από το Pq.

PARAQUAT TREATMENT INCREASES THE ALLOCATION OF ENERGY TO ELECTRON TRANSPORT AND THE QUANTUM YIELD OF PHOTOSYSTEM II PHOTOCHEMISTRY IN THE SEAGRASS Cymodocea nodosa

Aristi Zafeirakoglou, Paraskevi Malea, Ilektra Sperdouli, Ioannis-Dimosthenis Adamakis, Michael Moustakas

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

Riverine inputs contribute largely to the occurrence of pesticides, especially herbicides, in marine ecosystems. Paraquat (Pq, 1,1′-dimethyl-4,4′- bipyridinium dichloride), a nonselective herbicide, mainly targets chloroplasts by accepting electrons from photosystem I (PSI) and reacting with oxygen to produce superoxide radical (O2.–) and then hydrogen peroxide (H2O2), which cause photo-oxidative stress. Cymodocea nodosa (Ucria) Ascherson is considered as a seagrass species with great phenotypic plasticity and a high capacity to adapt to environmental variability and thus replaces Posidonia oceanica (L.) Delile in areas where environmental conditions are unfavourable. An imaging pulse amplitude modulated chlorophyll fluorometer (Imaging-PAM) was applied as an effect detector in a short-term (2h) Pq treatment (0, 0.001, 0.02, 0.2, 1.0 and 2.0 mM) of the seagrass C. nodosa. Under all Pq treatments, the quantum yield of photosystem II photochemistry (ΦPSII) increased with an increased allocation of energy to electron transport, than in non-treated seagrasses. The regulated non-photochemical energy loss in PSII (ΦNPQ) decreased in all Pq treated plants with a concomitant increase in the quantum yield of non-regulated energy loss in PSII (ΦNO), suggesting an increased production of O2.–. Its subsequent dismutation produced increased H2O2, which was detected using the H2O2-sensitive fluorescent probe 2′,7′-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA). H2O2 is toxic, causing oxidation of biomolecules, and can also act as a signal molecule that leads to cell death or to acclimation. It is suggested that H2O2 activated a signal transduction pathway that resulted to the acclimation of C. nodosa to Pq produced photo-oxidative stress.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟΝ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΩΟΘΗΚΩΝ

Νεφέλη Ζαχαροπούλου[1,2], Φλωρεντία Φωστήρα[2], Παρασκευή Αποστόλου[2], Ειρήνη Κωνσταντά[2], Αθανάσιος Βράτιμος[2], Ανδρέας Σκορίλας[1], Ειρήνη Κωνσταντοπούλου[2], Δρακούλης Γιαννουκάκος[2]

1/Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα- 2/Εργαστήριο Μοριακής Διαγνωστικής, ΙΠΡΕΤΕΑ, Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος», 153-10 Αγία Παρασκευή, Αθήνα

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο CHEK2 κωδικοποιεί μία κινάση σερίνης/θρεονίνης, η οποία φωσφορυλιώνει το γονίδιο BRCA1, το οποίο λειτουργεί ως σκαλωσιά οργανώνοντας πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση του DNA με ομόλογο ανασυνδυασμό. Οι γυναίκες που φέρουν μεταλλάξεις του γονιδίου CHEK2 έχουν 25% δια βίου κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου μαστού και μικρότερο κίνδυνο για ανάπτυξη άλλων κακοηθειών. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανίχνευση και ταυτοποίηση μεταλλάξεων, καθώς και η αποσαφήνιση του ρόλου του γονιδίου CHEK2 ως γονίδιο προδιάθεσης σε Ελληνίδες ασθενείς με καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών. Οι ασθενείς που επιλέχθηκαν ήταν αρνητικές για τις ελληνικές ιδρυτικές και επανεμφανιζόμενες μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και BRCA2. Για την ανάλυση των εξονίων 2 και 3 του γονιδίου πραγματοποιήθηκε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και αλληλούχιση κατά Sanger. Όλοι οι ασθενείς ενημερώθηκαν και υπέγραψαν έγγραφη συγκατάθεση για τον γονιδιακό έλεγχο. Συνολικά αναλύθηκαν 50 ασθενείς με καρκίνο μαστού ή/ και ωοθηκών που έχουν τουλάχιστον έναν ακόμα συγγενή με καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών και 50 ασθενείς που έχουν διαγνωσθεί με καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών σε νεαρή ηλικία (<45 ετών), απουσία οικογενειακού ιστορικού. Ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις σε 2/50 ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό (4%) και σε 2/50 ασθενείς (4%) που έχουν διαγνωσθεί με κακοήθεια σε νεαρή ηλικία. Αξιοσημείωτο είναι πως όλες οι μεταλλάξεις που ανιχνεύθηκαν εδράζονται στο εξόνιο 3. Συμπερασματικά, διαφαίνεται η υψηλή συχνότητα των μεταλλάξεων στο γονίδιο CHEK2, οι οποίες σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού σε Ελληνίδες ασθενείς.

GENETIC ANALYSIS OF HEREDITARY BREAST/ OVARIAN CANCER

Nepheli Zacharopoulou[1,2], Florentia Fostira[2], Paraskeui Apostolou[2], Irene Konstanta[2], Athanasios Vratimos[2], Andreas Scorilas[1], Irene Konstantopoulou[2], Drakoulis Yannoukakos[2]
1/Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Ilisia, 157-84 Athens- 2/Molecular Diagnostics Laboratory, INRASTES, National Center for Scientific Research Demokritos, Agia Paraskeui 15310, Athens

The tumor suppressor gene CHEK2 plays an important role in the cell's DNA repair mechanism, as its encoded protein, a serine-threonine kinase, phosophorylates and activates BRCA1, which is a key constituent of the protein complex responsible for DNA repair by homologous recombination. Women carrying CHEK2 mutations face a 25% lifetime risk of developing breast cancer and a lower risk for other malignancies. The aim of this study was the elucidation of CHEK2 cancer susceptibility in Greek breast/ovarian patients. 50 breast and/or ovarian cancer Greek patients with family history and 50 breast and/or ovarian cancer Greek patients with early onset of disease (<45y), all of whom had been tested previously and found to be negative for BRCA1 & BRCA2 mutations, were analyzed for the CHEK2 germline mutations in exons 2 & 3 by Sanger sequencing. All patients had signed an informed consent form, permitting the use of their biologic material for research purposes, after having being explained the purpose of this study. Deleterious mutations were detected in 2/50 patients with family history and in 2/50 patients with early onset of disease. A large number of CHEK2 mutant alleles were located in exon 3, indicating a possible mutation cluster in the particular exon in Greek hereditary breast cancer cases. The present data provides the first evidence for the existence of a large proportion of CHEK2 mutations associated with hereditary breast and/or ovarian cancers in Greek patients. Women with early-onset breast and/or ovarian cancer should be considered for CHEK2 mutation testing, following a negative BRCA1 and BRCA2 result.

ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΤΗΣ ΣΑΡΔΕΛΑΣ (Sardina pilchardus) ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

Βασίλειος- Ζήκος Τσίρος, Michele Torre, Αθανάσιος Τσίκληρας
Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

Η σαρδέλα (Sardina pilchardus) είναι ένα μικρό πελαγικό ψάρι που εξαπλώνεται στις ανατολικές ακτές του Ατλαντικού Ωκεανού και σε ολόκληρη τη Μεσόγειο Θάλασσα. Συγκαταλέγεται στα σημαντικότερα αποθέματα της Μεσογείου με ετήσιες εκφορτώσεις που ξεπερνούν τους 150 000 t, ενώ, στις ελληνικές θάλασσες, οι εκφορτώσεις της σαρδέλας ξεπερνούν το 20% των συνολικών εκφορτώσεων. Παρά τη σπουδαιότητα του είδους, τα δεδομένα για τη διατροφή της σαρδέλας είναι μάλλον περιορισμένα. Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι να περιγραφούν οι διατροφικές προτιμήσεις της σαρδέλας και να υπολογιστεί το τροφικό της επίπεδο κατά τη διάρκεια του έτους, έτσι ώστε να διερευνηθεί η θέση της σαρδέλας στο θαλάσσιο τροφικό πλέγμα του βορείου Αιγαίου. Οι δειγματοληψίες ήταν μηνιαίες και πραγματοποιήθηκαν με γρι-γρι (άνοιγμα ματιού από κόμπο σε κόμπο: 9 mm) στο βόρειο Αιγαίο για ένα ολόκληρο έτος (Δεκέμβριος 2000-Νοέμβριος 2001). Τριάντα άτομα συλλέχθηκαν τυχαία από κάθε δείγμα και τοποθετήθηκαν αμέσως σε διάλυμα φορμόλης 10%. Στο εργαστήριο τα άτομα αυτά μετρήθηκαν (ολικό μήκος, TL, cm) και ζυγίστηκαν (ολικό βάρος, TW, g). Το μήκος των ατόμων σαρδέλας που μελετήθηκαν κυμάνθηκε από 11.1 έως 17.3 cm. Το στομαχικό περιεχόμενο κατηγοριοποιήθηκε σε είδη ή υψηλότερες ταξινομικές ομάδες και τα άτομα μετρήθηκαν και ζυγίστηκαν στο πλησιέστερο 0.001 g. Το κλασματικό τροφικό επίπεδο, ένας αριθμός από το 1 έως το 5 που εκφράζει τη σχετική θέση ενός οργανισμού στο θαλάσσιο τροφικό πλέγμα, υπολογίστηκε συνολικά και ανά μήνα με το πρόγραμμα TrophLab. Συνολικά, περισσότερα από είκοσι είδη κωπήποδων αποτέλεσαν την κύρια λεία της σαρδέλας, ενώ τα κωπήποδα ξεπέρασαν το 61% του συνόλου σε βάρος. Οι υπόλοιπες λείες ήταν φυτοπλαγκτό (12%), σιφωνοφόρα (9%), οστρακώδη (8%), κλαδοκερωτά (7%), και δίθυρα (3%). Περίπου το 14% του στομαχικού περιεχομένου δεν μπορούσε να προσδιοριστεί και εξαιρέθηκε από τον υπολογισμό του τροφικού επιπέδου. Σύμφωνα με το τροφικό της επίπεδο, το οποίο υπολογίστηκε σε 3.0±0.14, η σαρδέλα είναι παμφάγο ψαρι με προτίμηση στους ζωικούς οργανισμούς. Τα κωπήποδα ήταν η κυριότερη λεία της σαρδέλας καθ'όλη τη διάρκεια του έτους αλλά παρουσίασαν τον υψηλότερο αριθμό ειδών τον χειμώνα. Το φυτοπλαγκτό ήταν άφθονο το καλοκαίρι. Ως αποτέλεσμα, το μηνιαίο τροφικό επίπεδο παρουσίασε διακυμάνσεις με τις υψηλότερες τιμές τον Φεβρουάριο και τον Μάρτιο και τις χαμηλότερες τον Αύγουστο και τον Σεπτέμβριο. Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου της σαρδέλας (εκτείνεται από Οκτώβριο έως Μάρτιο στις ελληνικές θάλασσες), το τροφικό επίπεδο της ήταν υψηλό (>2.80) εξαιτίας των αυξημένων ενεργειακών αναγκών.

FEEDING HABITS AND TROPHIC LEVEL OF SARDINE (Sardina pilchardus) IN THE NORTHERN AEGEAN SEA

Vasileios-Zikos Tsiros, Michele Torre, Athanassios Tsikliras
Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

The European sardine (Sardina pilchardus) is a small pelagic fish distributed across the eastern Atlantic coast and the Mediterranean Sea. The sardine is among the most important stocks of the Mediterranean Sea, with over 150 000 t landed per year, while, in Greek waters, sardine makes up around 20% of the marine fisheries landings. Despite its importance, data on its diet in the Aegean Sea is rather scarce. The aim of the present work was to identify the prey preferences of sardine and estimate its trophic level within the year that will provide insight for its position in the marine food web of the northern Aegean Sea. Monthly samples were collected onboard the commercial purse seine fleet (mesh size bar length: 9 mm) of the northern Aegean Sea for a complete year cycle (December 2000-November 2001). Thirty specimens were randomly collected from each sample and were immediately fixed in 10% formaldehyde solution buffered with seawater. The specimens were then measured (total length, TL, cm) and weighed (total weight, TW, g). The total length of the fish examined ranged between 11.1 and 17.3 cm. Prey items were sorted to species or nearest possible taxonomic level, counted and weighed to the nearest 0.001 g. The fractional trophic level, which is a number between 1 and 5 that expresses the relative position of an organism in the marine food web, was calculated overall and monthly using the software TrophLab. Overall, over twenty species of copepods were the main prey items of sardine accounting for over half of its diet (61%) and followed by algae (12%), siphonophores (9%), ostracods (8%), cladocerans (7%), and bivalves (3%). About 14% of its stomach content was unspecified and digested material and thus was excluded from trophic level calculation. Overall the trophic level of sardine was calculated as 3.0±0.14, which denotes an omnivore with preference for animal prey. Copepods were the most important prey items throughout the year with the most diverse presence during the winter, and algae were abundant only during the summer. As a consequence, its monthly trophic level fluctuated with the highest values observed in February and March and the lowest ones in August and September. Trophic level values over 2.80 were observed during the entire spawning period, which extends from October to March in Greek waters, and requires high amounts of energy.

ΟΔΟΝΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ ΚΥΝΟΔΟΝΤΑ ΣΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ

Ζορμπά Ελένη, Αναστοπούλου Ιωάννα, Μωραΐτης Κωνσταντίνος
Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ. Μ. Ασίας 75, Γουδή 11527, Αθήνα.

Η εκτίμηση της ηλικίας θεωρείται μείζονος σημασίας κατά την ταυτοποίηση οστών ιατροδικαστικού ενδιαφέροντος. Στην περίπτωση αυτή, τα δόντια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετο υλικό για την εκτίμηση της ηλικίας λόγω της μεγάλης ανθεκτικότητάς τους σε σύγκριση με τα οστά. Ο Gustafson θεωρείται ο πρώτος που ανέπτυξε μια μέθοδο για την εκτίμηση της ηλικίας βασιζόμενος σε 6 γνωρίσματα των δοντιών. Παραλλαγή της μεθόδου αποτελεί και η μέθοδος των Lamendin και συν., η οποία βασίζεται σε μετρήσεις της διαύγασης του ακρορριζίου και της ζώνης υφίζησης των ούλων που παρατηρείται στον αυχένα του δοντιού. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί εάν οι κυνόδοντες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της ηλικίας. Συνολικά εξετάσθηκαν οι κυνόδοντες 73 ατόμων (43 άρρενα και 30 θήλεα άτομα) από τη σκελετική συλλογή του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ. Μετρήθηκαν η διαύγαση του ακρορριζίου, η ζώνη υφίζησης των ούλων και το μέγιστο μήκος της ρίζας στην εγγύς, άπω, χειλική και γλωσσική επιφάνεια κάθε κυνόδοντα. Πραγματοποιήθηκε η ανάλυση συσχέτισης κατά Pearson προκειμένου να διαπιστωθεί εάν υπάρχει σχέση μεταξύ των μελετώμενων μεταβλητών και της χρονολογικής ηλικίας των ατόμων. Διαπιστώθηκε ότι οι μετρήσεις της ζώνης υφίζησης των ούλων και της διαύγασης του ακρορριζίου παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την ηλικία ($P<0,001$). Επίσης, εφαρμόσθηκε η ανάλυση βηματικής πολλαπλής παλινδρόμησης προκειμένου να παραχθεί το καλύτερο αριθμητικό μοντέλο πρόβλεψης για την εκτίμηση της ηλικίας. Συμπερασματικά, οι κυνόδοντες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της ηλικίας λόγω της αρκετά μεγάλης συσχέτισης τους με την ηλικία, με τις μετρήσεις της διαύγασης του ακρορριζίου να δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με αυτές που ελήφθησαν στη ζώνη υφίζησης των ούλων στον αυχένα του δοντιού.

AN ODONTOMETRIC EVALUATION OF THE USEFULNESS OF CANINE ROOT IN ESTIMATING AGE-AT-DEATH

Zorba Eleni, Anastopoulou Ioanna, Moraitis Konstantinos
Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine, University of Athens. 75 M. Asias Str.,11527, Athens, Greece.

Estimation of age-at-death is one of the most important issues in the identification of human skeletal remains of forensic interest. In this case, teeth can be used as an additional tool for age estimation as they are very resilient to destruction and fragmentation in comparison with skeletal tissues. Gustafson was the first researcher to develop a method for age estimation based on six dental characteristics. Lamendin et al. proposed a technique to estimate age-at-death based on root transparency and periodontosis. The purpose of the present study is to investigate the applicability of canine teeth in age estimation. The canines of 73 individuals (43 male and 30 female) from the Athens collection were examined. Periodontosis, transparency and maximum root length of maxillary and mandibular canines were measured at the mesial, distal, buccal and lingual surface of each tooth. Pearson's rank correlation statistics were applied to identify relationships between each studying dimension of canines and documented ages. In case of periodontosis and root transparency there was a statistically significant positive correlation between the measurements and documented age ($P<0.001$). Stepwise multiple regression analysis was applied to these variables in order to produce the best predictable model for age estimation. In conclusion, canines can be used for age estimation as they are highly correlated with age, with root transparency measurements providing a better correlation than periodontosis.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΣ ΑΞΙΑΣ ΣΤΗΝ ΥΔΡΟΒΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ

Ισσαρη Α., Σ. Ματσιώρη, Α. Εξαδάκτυλος, Μ. Χατζηιωάννου, Δ. Βαφείδης
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Οδός Φυτόκου Βόλος Ν. Μαγνησίας Τ.Κ.: 38446

Στην παρούσα εργασία έγινε προσπάθεια να προσδιοριστούν οι παράγοντες απόδοσης οικονομικής αξίας στην υδρόβια γενετική ποικιλότητα πέρα από την αξία που προκύπτει από τη χρήση των γενετικών πόρων και την πώλησή τους μέσα στις αγορές. Για το σκοπό αυτό διενεργήθηκε έρευνα, με τη χρήση δομημένου ερωτηματολογίων, στο Δημοτικό Διαμέρισμα του Βόλου και συλλέχτηκαν συνολικά 350 «έγκυρα» ερωτηματολόγια. Για την εξαγωγή των παραγόντων που επηρέασαν τους ερωτώμενους, ώστε να αποδώσουν χρησιμότητα στην υδρόβια γενετική ποικιλότητα εφαρμόστηκε Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (PCA), με τη βοήθεια μιας πολυθεματική ερώτησης με 20 θέματα. Οι ερωτώμενοι κλήθηκαν να απαντήσουν σε πεντάβαθμη κλίμακα Likert για κάθε θέμα. Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες έδωσε 5 παράγοντες, που εξηγούν το 62,615 % της συνολικής μεταβλητότητας. Ο έλεγχος σφαιρικότητας του Bartlett ήταν ίσος με 1376,441 (β.ε=190, ρ=0,000). Ο δείκτης των Kaiser – Mayer – Olkin έχει τιμή 0,821. Η συνολική αξιοπιστία της κλίμακας είναι 0,873. Τα αποτελέσματα της PCA δείχνουν ότι οι πολίτες αντιλαμβάνονται και ιεραρχούν υψηλά τη συμβολή της υδρόβιας γενετικής ποικιλότητας στην προσαρμοστικότητα των ειδών στις διάφορες μεταβολές (κλιματολογικές αλλαγές κ.λπ.). Στη συνέχεια, με τη βοήθεια των κριτηρίων Mann-Whitney και Krustal-Wallis, εξετάστηκε αν τα κοινωνικοοικονομικά χαρακτηριστικά και οι απόψεις των ερωτώμενων σχετικά με την υδρόβια γενετική ποικιλότητα, έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τους παράγοντες που προέκυψαν από την PCA. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα κοινωνικοοικονομικά χαρακτηριστικά των ατόμων (επίπεδο μόρφωσης, επαγγελματική δραστηριότητα κ.λπ.) επιδρούν στον τρόπο που αντιλαμβάνονται οι πολίτες τη χρησιμότητα της υδρόβιας γενετικής ποικιλότητας και αποδίδουν αξία σε αυτή. Χαρακτηριστικά, τα άτομα που διαθέτουν μεταπτυχιακές σπουδές αντιλαμβάνονται καλύτερα τη χρησιμότητα της υδρόβιας γενετικής ποικιλότητας, ως προς τον πρώτο παράγοντα της PCA (προσαρμοστικότητα ειδών).

DETERMINING FACTORS FOR ASSESSING ECONOMIC VALUE TO AQUATIC GENETIC RESOURCES

Issari A.,, S. Matsiori, A. Exadactylos, M. Hatziioannou, D. Vafidis
Department of Ichthyology and Aquatic Environment School of Agricultural Sciences University of Thessaly Fytoko Street, 38 445, Nea Ionia Magnesia

In the present study attempted to identify factors that influence people to identify utility (and economic value) of aquatic genetic resources beyond that is associated with real use and their value in real markets. For this reason a face-to-face survey of 350 respondents randomly selected residents of Volos city was carried out. Principal Components Analysis was used as a tool for measuring different public perceptions and preferences with regard to importance of aquatic genetic resources. Specifically, for this reason respondents were asked to indicate on a five-point Likert scale (Not at all, Not Much, Fairly, Much, Very Much) for each topic their opinion for the importance of 20 reasons - utility of aquatic genetic resources. Reliability analysis of the question revealed that Cronbach-a was 0.873. The Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) criterion for sampling adequacy was equal to 0.821 and the Bartlett's test of sphericity was equal to 1376.44 (with a P-value of 0.000). 0.873 The results of PCA indicate that the populations' ability to resistance, tolerance of climatic change and population productivity and fitness is the most important service provided by aquatic genetic diversity.Mann-Whitney and Krustal-Wallis criteria were used to compare differences between socioeconomic characteristic of respondents (education level, occupation etc) and their opinion about utility of aquatic genetic resources. For examples, the results of Mann-Whitney test indicate that the highly educated people are more able to distinguish impacts of aquatic genetic resources to population ability of resistance, tolerance in climatic change and its productivity.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ, ΗΠΑΤΙΚΑ, ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Ιωακείμ Σταματία [1,2], Κατσάμπαλη Αντωνία- Ειρήνη, Αρσενάκης Μηνάς[1], Γκέλης Σπύρος

1/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη 2/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη

Τα κυανοβακτήρια είναι προκαρυωτικοί φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί οι οποίοι παράγουν μεγάλη ποικιλία βιοδραστικών δευτερογενών μεταβολιτών, ορισμένοι από τους οποίους χρησιμοποιούνται στην παρασκευή φαρμακευτικών ουσιών. Στην εργασία αυτή ελέγχθηκε η επίδραση εκχυλισμάτων 25 στελεχών κυανοβακτηρίων που απομονώθηκαν από λίμνες της Ελλάδας στην ανθρώπινη ηπατική καρκινική κυτταρική σειρά HepG2. Τα εκχυλίσματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι υδατικά και παρασκευάστηκαν έπειτα από απομόνωση της βιομάζας καλλιεργειών των κυανοβακτηρίων στην εκθετική φάση ανάπτυξης, λυοφίληση και λύση των κυττάρων με υπέρηχους. Ο έλεγχος της επίδρασης των εκχυλισμάτων στα κύτταρα HepG2 πραγματοποιήθηκε σε αραιώσεις κάθε εκχυλίσματος 1:10 και 1:50 ή 1:100. Ο προσδιορισμός της μεταβολικής ενεργότητας των κυττάρων HepG2 έγινε με την δοκιμασία MTT. Προστέθηκε η ζωτική χρωστική MTT τόσο στα δείγματα με τα εκχυλίσματα όσο και στα δείγματα ελέγχου, τα οποία δεν περιείχαν εκχύλισμα κυανοβακτηρίων. Στα μεταβολικώς ενεργά κύτταρα η MTT ανάγεται από τις μιτοχονδριακές αφυδρογονάσες με ταυτόχρονη αλλαγή χρώματος η οποία μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με φωτομέτρηση στα 570nm. Από τα 25 στελέχη κυανοβακτηρίων που ελέγχθηκαν, δύο στελέχη Jaaginema παρουσίασαν σημαντική επίδραση στα κύτταρα HepG2. Για τα στελέχη αυτά η διαδικασία επίδρασης επαναλήφθηκε και ελέγχθηκε η δραστικότητα των εκχυλισμάτων σε χρονικά διαστήματα 24h, 36h, 48h και 60h. Το στέλεχος Jaaginema 0210 εμφάνισε αυξημένη ικανότητα παρεμπόδισης της μεταβολικής δραστηριότητας σε αραιώσεις 1:10 και 1:50 στις 24h μετά την προσθήκη των εκχυλισμάτων ενώ το στέλεχος Jaaginema 0110 στο χρονικό διάστημα των 36h. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της εργασίας αυτής δείχνουν ότι τα εκχυλίσματα τουλάχιστον δύο στελεχών κυανοβακτηρίων επιδρούν σε ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές και δίνουν το έναυσμα για περαιτέρω έρευνα για την ταυτοποίηση των ουσιών και την αναγνώριση των μηχανισμών δράσης τους.

EFFECT OF CYANOBACTERIA STRAINS AT HEPATIC CANCER HUMAN CELL LINES

Ioakim S.[1,2], Katsampali A.-E.[1,2], Arsenakis M.[1], Gelis S.[2].
1/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124 Thessaloniki, Greece 2/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124 Thessaloniki, Greece

Cyanobacteria are prokaryotic photosynthetic microorganisms able to produce a vast array of bioactive secondary metabolites, some of which are prominent to be used in drug development. In this study, we tested the effects of 25 cyanobacteria strains isolated from lakes of Greece, on the human hepatic cancer cell line HepG2. The aqueous extracts were prepared from biomass isolated from cultures in the exponential phase of growth after freeze-drying, resuspension in double-distilled water and sonication. The effects of the extracts on the HepG2 cells were assayed at 1:10, 1:50 or 1:100 dilutions. The metabolic activity of the cells proliferation was determined by the MTT assay. The vital MTT dye was added to both cyanobacterial extract treated samples and non-treated controls. In metabolically active cells the MTT dye is reduced by mitochondrial reductases with a concomitant colour change that can be quantified spectrophotometrically at 570nm. Among the 25 cyanobacterial isolates tested, two Jaaginema strains exhibited significant inhibition of the metabolic activity in HepG2 cells. These isolates were further tested and their activity was measured at 24h, 36h, 48h and 60h after exposure of the cells to the extracts. Jaaginema strain 0210 exhibited significant inhibition at 24h post-exposure at 1:10 and 1:50 dilutions, while Jaaginema 0110 strain exhibited significant inhibition at 1:10 dilution and less at 1:50 at 36h. The preliminary results of this project can stimulate further research in the identification and characterisation of compounds contained in the extracts exhibiting metabolic effects on cancer human cell lines.

CutPFam-Pred: ΕΥΡΕΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΔΟΜΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΙΟΥ ΤΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥΣ, ΜΕ ΧΡΗΣΗ profile Hidden Markov Models

Ιωαννίδου Ζωή, Θεοδωροπούλου Μαργαρίτα, Παπανδρέου Νίκος, Χαμόδρακας Σταύρος

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

Το δερμάτιο των αρθροπόδων είναι ένα σύνθετο, διφασικό σύστημα, που αποτελείται από ινίδια χιτίνης 'εμβαπτισμένα' σε μία πρωτεϊνική 'μήτρα'. Οι φυσικές του ιδιότητες καθορίζονται απο την δομή των δυο βασικών δομικών στοιχείων του, των πρωτεϊνών του δερματίου (CP) και της χιτίνης, καθώς και από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Η πρωτεϊνική 'μήτρα' αποτελείται κυρίως από τις δομικές πρωτεΐνες του δερματίου. Η πλειοψηφία των δομικών πρωτεϊνών που έχουν βρεθεί μέχρι σήμερα ανήκουν στην οικογένεια CPR με το συντηρημένο 'μοτίβο R&R' (Rebers and Riddiford Consensus), η οποία χωρίζεται σε 3 επιπλέον υπο-οικογένειες: στις RR-1, στις RR-2 και στις RR-3, όπου υπάρχει περαιτέρω συντήρηση σε επίπεδο αλληλουχίας, καθώς και συσχέτιση με τον τύπο του δερματίου στο οποίο βρίσκονται. Σχετικά πρόσφατα, αναγνωρίστηκαν σε άλλες πρωτεΐνες του δερματίου και διάφορες άλλες οικογένειες με πολύ συντηρημένες περιοχές: η CPF (με συντηρημένη περιοχή 44 αμινοξέων), η CPFL (συντηρημένο καρβοξυτελικό άκρο παρόμοιο με τις CPF), οι οικογένειες χαμηλής πολυπλοκότητας: Tweedle, CPLCA, CPLCG, CPLCP, CPLCW, η CPCFC (με 2 ή 3 επαναλήψεις C-x(5)-C), η CPG (πλούσια σε γλυκίνες), και οι CPAP3 και CPAP1 [ανάλογες με τις περιτροφίνες, με 3 και 1 δομικά αυτοτελή στοιχεία (domains) που προσδένουν χιτίνη, αντίστοιχα]. Με βάση αυτές τις συντηρημένες περιοχές δημιουργήθηκαν χαρακτηριστικά profile Hidden Markov Models για όσες από αυτές τις οικογένειες ήταν δυνατό (CPF, CPCFC, CPLCA, CPLCG, CPLCW, Tweedle, CPAP3, CPAP1), με τη βοήθεια του προγράμματος HMMER v3.0 [http://hmmer.janelia.org/]. Με την χρήση αυτών των μοντέλων, καθώς και των μοντέλων για τις CPR-RR1 και CPR-RR2 [Karouzou et al., 2007] αναπτύχθηκε το CutPFam-Pred, ένα εργαλείο διαθέσιμο στο διαδίκτυο (http://biophysics.biol.uoa.gr/CutPFam-Pred), ρόλος του οποίου είναι να βοηθήσει στην ανίχνευση και ταξινόμηση σε οικογένειες, των δομικών πρωτεϊνών του δερματίου των αρθροπόδων σε νεο-προσδιοριζόμενα πρωτεώματα, με βάση την αλληλουχία τους μόνο.

CutPFam-Pred: DETECTION AND CLASSIFICATION OF STRUCTURAL CUTICULAR PROTEINS FROM SEQUENCE ALONE, BASED ON PROFILE HIDDEN MARKOV MODELS

Ioannidou Zoi, Theodoropoulou Margarita, Papandreou Nikos, Hamodrakas Stavros
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01

The arthropod cuticle is a composite, bipartite system, made of chitin filaments embedded in a proteinaceous matrix. The physical properties of cuticle are determined by the structure of its two major components, cuticular proteins (CPs) and chitin, and, also, by their interactions. The proteinaceous matrix consists mainly of structural cuticular proteins. The majority of the structural proteins that have been discovered to date belong to the CPR family, and they are identified by the conserved R&R region (Rebers and Riddiford Consensus). Three sub-families of the CPR family RR-1, RR-2 and RR-3, have also been identified from conservation at sequence level and some correlation with the cuticle type. Recently, several novel families, also containing characteristic conserved regions, have been described: CPF (a conserved region with 44 amino acids); CPFL (a conserved C-terminal region similar to CPF); the low complexity families: Tweedle, CPLCA, CPLCG, CPLCP, CPLCW; CPCFC (2 or 3 C-x(5)-C repeats); CPG (rich in glycines); CPAP3 and CPAP1 (analogous to peritrophins, with 3 and 1 chitin-binding domains respectively). The package HMMER v3.0 [http://hmmer.janelia.org/] was used to build characteristic profile Hidden Markov Models based on these conserved regions, when possible (CPF, CPCFC, CPLCA, CPLCG, CPLCW, Tweedle, CPAP3, CPAP1). Using these models, as well as the models previously created for CPR-RR1 and CPR-RR2 [Karouzou et al., 2007], we developed CutPFam-Pred, an on-line tool (http://biophysics.biol.uoa.gr/CutPFam-Pred) that allows the accurate detection and classification of structural cuticular proteins, from sequence alone, in proteomes.

ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΤΟΥ ΘΥΜΟΥ ΕΠΑΓΟΥΝ ΟΓΚΟΕΙΔΙΚΕΣ ΑΝΟΣΟΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΤΥΠΟΥ TH1 ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ TLR-4

Ιωάννου Κ.[1], Σαμαρά Π.[1], Derhovanessian E.[2], Τσακίρη Ε.[3], Kalbacher H.[4], Voelter W.[4], Τρουγκάκος Ι.[3], Pawelec G.[2], Τσιτσιλώνη Ο.[1]

1Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2Ageing and Tumour Immunology Group, Center for Medical Research, University of Tübingen, 3Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 4Interfakultäres Insitut für Biochemie, University of Tübingen

Η προθυμοσίνη α (προΤα) δρα σαν προσδέτης του υποδοχέα TLR-4 σε μακροφάγα και, όπως το ανοσοδραστικό της δεκαπεπτίδιο προΤα(100-109), ωριμάζει ανθρώπινα δενδριτικά κύτταρα (DC) in vitro. Σκοπός μας ήταν (1) να διερευνήσουμε αν αυτά τα φαινοτυπικά ώριμα DC είναι και λειτουργικά ανοσοϊκανά και μπορούν, παρουσία καρκινικών αντιγόνων, να ενεργοποιήσουν αυτόλογα ογκοειδικά Τ-λεμφοκύτταρα και (2) να μελετήσουμε το μηχανισμό δράσης των δύο πεπτιδίων. Ως αντιγόνα για την ενεργοποίηση των CD8+ και CD4+Τ-λεμφοκυττάρων χρησιμοποιήσαμε δύο πεπτίδια της ογκοπρωτεΐνης HER-2/neu, τα HER-2/neu9369 και HER-2/neu15776, αντίστοιχα. DC από 5 δότες, που ωρίμασαν παρουσία TNF-α (πρότυπες συνθήκες), προΤα ή προΤα(100-109), φορτώθηκαν με τα HER-2 πεπτίδια και χρησιμοποιήθηκαν για να διεγείρουν αυτόλογα Τ-λεμφοκύτταρα. Μετά την τρίτη διέγερση, οι Τ-λεμφοκυτταρικές σειρές ελέγχθηκαν ως προς την ενδοκυτταρική παραγωγή των κυτταροκινών TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-4 και IL-10, την ειδική κυτταροτοξικότητά τους με τη μέθοδο απελευθέρωσης 51Cr και την έκφραση του μορίου CD107a. Κυτταρικά εκχυλίσματα ώριμων DC ελέχθηκαν με ανοσοστύπωμα κατά Western για την έκφραση των πρωτεϊνών MyD88, TRIF και TIRAP, που αποτελούν μόρια-προσαρμογείς του TLR-4. Υψηλό ποσοστό των CD4+ Τ-λεμφοκυττάρων από τις σειρές που εκπτύχθηκαν με προΤα(100-109)- ή προΤα-ωριμασμένα DC, παρήγαγαν IFN-γ, TNF-α και IL-2, ενώ οριακά ήταν τα ποσοστά των IL-4- και IL-10-θετικών κυττάρων. Τα CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα παρουσίασαν αυξημένη παραγωγή TNF-α και ενισχυμένη ικανότητα ειδικής λύσης κυττάρων-στόχων που εξέφραζαν το HER-2/neu9369. Τέλος, επίδραση με προΤα(100-109) ή προΤα οδήγησε σε αυξημένη έκφραση των MyD88, TRIF και TIRAP. Συμπερασματικά, η προΤα και το προΤα(100-109) προσδένονται τον TLR-4 και δρουν ως ανοσοενισχυτικά μόρια, επάγοντας τη φαινοτυπική και λειτουργική ωρίμανση ανθρώπινων DC, τα οποία, παρουσία ογκοειδικών πεπτιδίων, προάγουν ανοσοαπαντήσεις τύπου TH 1 από αυτόλογα CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα και ενεργοποιούν τα CD8+ Τ-λεμφοκύτταρα, ώστε να λύουν ειδικά κύτταρα-στόχους που εκφράζουν τα αντίστοιχα καρκινικά αντιγόνα. Χρηματοδότηση: Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο-ΕΚΤ) και εθνικοί πόροι μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος 'Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση' του Εθνικού Στρατηγικού πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου (ΚΙ); REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE.

IMMUNOREGULATORY THYMUS-DERIVED PEPTIDES INDUCE TH1 TYPE IMMUNE RESPONSES via TLR-4 LIGATION

Ioannou K.[1], Samara P.[1], Derhovanessian E., Tsakiri E.[3], Kalbacher H.[4], Voelter W.[4], Trougakos I.[3], Pawelec G.[2], Tsitsilonis O.[1]

1Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, 2Ageing and Tumour Immunology Group, Center for Medical Research, University of Tübingen, 3Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, 4Interfakultäres Insitut für Biochemie, University of Tübingen

Prothymosin alpha (proTα) acts as a ligand for Toll-like receptor (TLR)-4 on macrophages, and similar to its immunoactive fragment proTα(100-109), matures human dendritic cells (DCs) in vitro. Our aim was: (1) to assess whether these phenotypically mature DCs are also functionally competent and can prime, in the presence of tumor antigens, autologous naïve T-cells and (2) to study their mechanism of action. As antigens for the stimulation of CD8+ and CD4+ T-cells, we used two peptides deriving from the oncoprotein HER-2/neu, HER-2/neu9369 and HER-2/neu15776, respectively. DCs from 5 donors, matured with TNF-α (standard conditions), proTα or proTα(100-109), were pulsed with the HER-2 peptides and used to stimulate autologous T-cells. Upon the third stimulation, the T-cell lines generated were assessed for intracellular production of the cytokines TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-4 και IL-10, as well as for their specific cytotoxicity, using the standard 51Cr release assay and CD107a expression. Mature DC cell extracts were analyzed by Western Blot for the expression of MyD88, TRIF and TIRAP, which comprise TLR-4 adaptor-molecules. Increased percentages of CD4+ T-cells, expanded upon stimulation with proTα- or proTα(100-109)-matured DCs, produced IFN-γ, TNF-α and IL-2, whereas only marginal percentages of IL-4- and IL-10-positive cells were detected. CD8+ T cells exhibited increased TNF-α production and enhanced lytic ability versus HER-2/neu(9369)-expressing target cells. Finally, stimulation with proTα or proTα(100-109) led to higher expression of MyD88, TRIF and TIRAP. Conclusively, proTα and proTα(100-109) ligate TLR-4 and act as adjuvants, inducing the phenotypic and functional maturation of human DCs, which, in the presence of tumor-specific antigens, promote CD4+ T-cell-mediated TH1-type immune responses, and activate CD8+ T-cells to specifically lyse target cells, expressing the respective tumor antigens. Funding: European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program 'Education and Lifelong Learning' of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund (to KI); REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE.

ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ ΤΟΥ ΠΙΘΑΝΟΥ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ LACTOCOCCUS LACTIS ATCC 11454 ΜΕ ΘΟΛΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ HPLC

Καθαρόπουλος Ευστάθιος, Μαρία Τουράκη
Εργαστήριο Γεν. Βιολογίας, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ.

Στα πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας πραγματοποιήθηκε απομόνωση και ποσοτικός προσδιορισμός των βακτηριοσινών που παράγονται από το Gram (+) πιθανό προβιοτικό βακτήριο Lactococcus lactis. Σε όλα τα στάδια καθαρισμού ελέγχθηκε η ύπαρξη αντιμικροβιακής δράσης έναντι των βακτηρίων–δεικτών, Escherichia coli και Enterococcus faecalis. Το πρώτο στάδιο καθαρισμού των βακτηριοσινών ήταν η καθίζηση με προσθήκη θειϊκού αμμωνίου 80%, με αναστολή έως 35% του E. coli από το ίζημα αλλά έως και 87% από το υπερκείμενο, υποδηλώνοντας ανεπαρκή ανάκτηση βακτηριοσινών στο ίζημα. Αυτό οδήγησε στην περαιτέρω κατεργασία του υπερκειμένου θειϊκού αμμωνίου με οργανικούς διαλύτες αιθανόλη-διεθυλαιθέρα ή χλωροφόρμιο-μεθανόλη. Επιλέχθηκε η πρώτη διότι παρήγαγε μεγαλύτερη ποσότητα ιζήματος. Ακολούθησε χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής (Ion Exchange- Macroprep 25) και εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, C18) των δειγμάτων του ιζήματος θειϊκού αμμωνίου και του υπερκειμένου μετά την κατεργασία με οργανικό διαλύτη. Το τελικό στάδιο προσδιορισμού των βακτηριοσινών πραγματοποιήθηκε με υψηλής απόδοσης ανάλυση χρωματογραφίας υγρών (High Performance Liquid Chromatography) και εξωτερικό πρότυπο νισίνη. Η ανάλυση με HPLC έδειξε την παρουσία τριών ομάδων κλασμάτων βακτηριοσινών που συλλέγονται στα 22-26 min, στα 29 min (νισίνη) και 30-33 min και παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της αντιμικροβιακής δράσης έδειξε ποσοστό αναστολής από 50 έως 95% έναντι του E.faecalis στα κλάσματα υπερκείμενου του θειϊκού αμμωνίου και από 31 έως 82% έναντι του E.coli στα κλάσματα του ιζήματος. Ο διαχωρισμός αυτός επιτρέπει τον περαιτέρω χαρακτηρισμό των μορίων αυτών.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF BACTERIOCINS PRODUCED BY THE POTENTIAL PROBIOTIC LACTOCOCCUS LACTIS ATCC 11454 USING TURBIDOMETRIC ANALYSIS AND HLPC

Katharopoulos E., Touraki M.
Laboratory of General Biology, Division of Genetics, Developmental and Molecular Biology, Department of Biology, School of Sciences, A.U.TH.

In the context of the present work the isolation and the quantitative determination of bacteriocins produced by the Gram (+) potential probiotic Lactococcus lactis ATCC 11454 was performed. The existence of antimicrobial activity against the indicator organisms Escherichia coli and Enterococcus faecalis.was checked after each purification step. Purification started with ammonium sulfate (80%) precipitation of the cell free culture supernatant, resulting in an antimicrobial activity against E. coli of 35% for the sediment and of 87% for the supernatant, indicating that a large part of the antimicrobials was not recovered in the sediment. Then the supernatant was treated with the organic solvents methanol-diethyl ether or chloroform-methanol., the first resulting in better sedimentation. Ion exchange chromatography (Ion Exchange- Macroprep 25) and solid phase extraction (Solid Phase Extraction, C18) of both the ammonium sulfate sediment and the organic solvent treated supernatant followed. The final determination step involved High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with nisin as the external standard. HPLC analysis showed the presence of three groups of bacteriocins collected at 22-26 min, at 29 min (nisin) and at 30-33 min presenting antimicrobial action. The determination of antimicrobial action of the fractions showed an inhibition of 50 to 95% against E. faecalis for the organic solvent treated supernatant and from 31 to 82% against E.coli for the ammonium sulfate sediment. This separation allows further characterization of the bacteriocins.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ A785G ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΑΠΟΤΟΞΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ CYP2B6 ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Κακοσαίου Αικατερίνη

1)Τμήμα Κυτταρογενετικής, Εργαστήριο Υγειοφυσικής & Περιβαλλοντικής Υγείας, ΙΠΡΕΤΕΑ, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αθήνα 2)Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η Οξεία μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ) αποτελεί μια κακοήθη νόσο με μεγάλη ετερογένεια. Πολυμορφισμοί γονιδίων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό τοξικών ουσιών, πιθανόν αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες στην ΟΜΛ. Το ένζυμο αποτοξικοποίησης CYP2B6, σημαντικό στο μεταβολισμό ξενοβιοτικών, προστατεύει το κύτταρο από μεταλλάξεις που μπορεί να οδηγήσουν σε χρωμοσωματικές αλλοιώσεις και καρκίνο. Το γονίδιο CYP2B6 φέρει πολυμορφισμό στη θέση 785 του cDNA (A785G) που οδηγεί σε αντικατάσταση αμινοξέος (Lys262Arg), με αποτέλεσμα τη μείωση της ενζυμικής του ενεργότητας. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του ρόλου του πολυμορφισμού CYP2B6 A 785G στην προδιάθεση εμφάνισης της ΟΜΛ ή/και στη δημιουργία κυτταρογενετικών αλλοιώσεων. Μελετήθηκαν 100 ασθενείς με ΟΜΛ και 180 υγιείς δότες. Η γονοτυπική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με Real-Time PCR και PCR-RFLP μετά από απομόνωση DNA από μυελό των οστών ή/και περιφερικό αίμα. Η κυτταρογενετική ανάλυση ήταν επιτυχής σε 96 ασθενείς (96%). Το 69.8% παρουσίασε παθολογικό καρυότυπο (32.3% σύνθετο, 20.1% μονοσωμικό). Οι πιο συχνές χρωμοσωμικές αλλοιώσεις ήταν -7/del(7q) (19.7%), +8(14.6%), -5/del(5q) (12.5%), αλλοιώσεις του 11q23 (7.3%), inv(16) (6.3%), t(15;17) (4.2%) και t(9;22) (3.1%). Η κατανομή των γονοτύπων του CYP2B6 μεταξύ ασθενών και μαρτύρων [A/A: 57.6% vs 68.9%, A/G: 34.3 vs 28.3% και G/G: 8.1% vs 2.6%, αντίστοιχα] ήταν οριακά στατιστικώς σημαντική (p=0.053). Αυξημένη συχνότητα του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου παρατηρήθηκε σε ασθενείς ≥61 ετών σε σχέση με τους μάρτυρες (32.3% vs 10%, p=0.037). Επιπλέον, υψηλή συχνότητα μεταλλαγμένων γονοτύπων (A/G και G/G) βρέθηκε σε ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο, σε σύγκριση με τους μάρτυρες (p=0.014), καθώς και σε ασθενείς που έφεραν -7/del(7q) και t (9;22) (p=0.001 και p=0.010, αντίστοιχα). Τα παραπάνω αποτελέσματα συνιστούν την πρώτη μελέτη ασθενών-μαρτύρων για τον πολυμορφισμό A785G του γονιδίου CYP2B6 σε ΟΜΛ και υποδεικνύουν την πιθανή συμμετοχή του πολυμορφισμού στην προδιάθεση εμφάνισης ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο ή/και συγκεκριμένες χρωμοσωματικές αλλοιώσεις.

THE CYP2B6 A785G POLYMORPHISM IN ADULT PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Kakoseou A.

1) Laboratory of Health Physics & Environmental Health, NCSR "Demokritos", Athens, Greece 2) Department of Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

Acute myeloid leukaemia (AML) is defined as a disorder with well-known clinical and pathological aspects. Its aetiology underlies the nexus of genetic variants in candidate genes. The CYP2B6 enzyme detoxifies many genotoxic xenobiotics, protecting cells from oxitative damage, chromosomal aberrations and cancer. CYP2B6 A 785G gene polymorphism resulting in an aminoacid substitution (Lys262Arg) reduces CYP2B6 enzyme activity. The aim of this study was to determine whether the A785G CYP2B6 polymorphism is implicated to AML susceptibility and/or the occurrence of AML-specific chromosomal abnormalities. Our case-control study is consisted of 100 patients and 180 unrelated healthy volunteers. Genomic DNA was isolated from bone marrow and/or peripheral blood samples. Genotyping was performed by Real-Time PCR and PCR-RFLP. Cytogenetic analysis was successful in 96% of patients. Among them, 69.8% had abnormal karyotypes, 32.3% were complex, while 20.1% exhibited monosomal karyotypes. The most common chromosome aberrations were -7/del(7q) (19.7%), +8 (14.6%), -5/del(5q) (12.5%), abnormalities of 11q23 (7.3%), inv(16) (6.3%), t(15;17) (4.2%) and t(9;22) (3.1%). CYP2B6 genotypic distributions between AML patients and controls [(A/A) 57.6% vs 68.9%, (A/G) 34.3 vs 28.3% και (G/G) 8.1% vs 2.6%, respectively] showed border statistical significance (p=0.053). Higher frequency of mutant G allele was observed in patients ≥61years as compared with controls (32.3% vs 10%, p=0.037). Interestingly, higher incidence of variant genotypes (A/G and G/G) was observed in patients with normal karyotype, as compared to controls (p=0.014) as well as in patients carrying -7/del(7q) and t(9;22) (p=0.001, p=0.010). Our findings constitute the first case-control study of an association between acute leukemia cases and the CYP2B6 A785G polymorphism and indicate a possible implication of the CYP2B6 polymorphism in AML susceptibility with normal karyotype or/and certain specific chromosomal abnormalities

ΛΥΟΦΙΛΙΩΜΕΝΑ ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ LACTOBACILLUS CASEI ΣΕ ΞΗΡΟΥΣ ΚΑΡΠΟΥΣ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΖΑΧΑΡΟΠΛΑΣΤΙΚΗΣ ΩΣ ΑΡΧΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΓΙΑ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Παναγιώτης Κανδύλης[1], Βαλεντίνη Σανταρμάκη[1], Παναγιώτης Πανάς[2], Ιωάννης Μιχαλόπουλος[2], Ιωάννης Κουρκουτάς[1]

1/Ερευνητική Ομάδα Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας και Μοριακής Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Παν/μίο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, 68100, Ελλάδα. 2/Αχαϊκό Εντελβάις, Ηρώων 89, Πάτρα, 26500, Ελλάδα.

Στις μέρες μας υπάρχει έντονο ενδιαφέρον για την παραγωγή κατάλληλων αρχικών καλλιεργειών που θα χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή λειτουργικών τροφίμων. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι υγρές καλλιέργειες δεν συμβαδίζουν με τις εμπορικές και βιομηχανικές ανάγκες λόγω της φύσης τους, έχουν προταθεί πολλές μέθοδοι ξήρανσης. Καθώς είναι γνωστό ότι η ακινητοποίηση βελτιώνει την ζωτικότητα των κυττάρων, στόχος της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η παραγωγή λυοφιλιωμένων ακινητοποιημένων καλλιεργειών για παραγωγή νέων προβιοτικών τροφίμων. Συνεπώς, κύτταρα του Lactobacillus casei ATCC 393 ακινητοποιήθηκαν σε ξηρό αμύγδαλο, φιστίκι και μπισκότο και η ακινητοποίηση επιβεβαιώθηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία. Σε επόμενο στάδιο, μελετήθηκε η επίδραση του ρυθμού ψύξης στην ζωτικότητα των ελεύθερων κυττάρων. Ο βέλτιστος ρυθμός ψύξης ήταν 5oC/min και είχε ως αποτέλεσμα 92.0% ποσοστό επιβίωσης, σε αντίθεση με ρυθμούς ψύξης 3 και 1oC/min με αντίστοιχα ποσοστά επιβίωσης 88.2% και 86.5%. Στη συνέχεια, μελετήθηκε η επίδραση διάφορων κρυοπροστατευτικών μέσων κατά την λυοφιλίωση των ακινητοποιημένων κυττάρων εφαρμόζοντας ψύξη στους -45oC με ρυθμό 5oC/min. Το βέλτιστο κρυοπροστατευτικό μέσο για τα ακινητοποιημένα κύτταρα σε ξηρό αμύγδαλο ήταν η τρεχαλόζη, ενώ για τα ακινητοποιημένα κύτταρα σε φιστίκι και μπισκότο η γλυκερόλη και η γλυκόζη αντίστοιχα, με ποσοστά επιβίωσης 96.3%, 99.0% και 98.8%. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε όλες τις περιπτώσεις τα επίπεδα του L. casei ATCC 393 ήταν υψηλότερα από τα ελάχιστα που απαιτούνται για τον χαρακτηρισμό ενός προϊόντος ως προβιοτικού (τουλάχιστον 6 logcfu/g). Τέλος, αναλύεται η δυναμική των ακινητοποιημένων κυττάρων ως αρχικές καλλιέργειες σε μια σειρά από εφαρμογές στην βιομηχανία τροφίμων. Acknowledgement Research project co-financed by the European Union (European Regional Development Fund – ERDF) and Greek national funds through the Operational Program “Competitiveness and Entrepreneurship” of the National Strategic Reference Framework (NSRF) – National Action “Support of New Enterprises & SMEs” (Contract Nr. 15NEWE2009).

FREEZE-DRIED IMMOBILIZED LACTOBACILLUS CASEI ON DRIED NUTS AND PASTRY PRODUCTS AS STARTER CULTURE FOR PROBIOTIC FOODS

Panagiotis Kandylis[1], Valentini Santarmaki[1], Panayiotis Panas[2], Ioannis Mixalopoulos[2], Yiannis Kourkoutas[1]

1/Applied Microbiology and Molecular Biotechnology Research Group, Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, 68100, Greece. 2/Achaiko Edelweiss SA, 89 Iteon Str, Patra, 26500, Greece.

Nowadays there is a growing interest in providing suitable starter cultures for functional foods manufacture. Considering that the use of wet cultures is incompatible with the commercial needs due to their physical status, many drying methods have been proposed. Since it is well established that cell immobilization enhances the cell viability, the aim of the present study was to investigate the preparation of freeze-dried immobilized biocatalysts suitable for novel probiotic food products. Hence, Lactobacillus casei ATCC 393 cells were immobilized on dried almonds, peanuts and cookies and cell immobilization was studied with electron microscopy. At a second step, the effect of cooling rate on viability of free cells was investigated. The optimum cooling rate was 5oC/min, resulting in 92.0% survival of free cells, in contrast to 3 and 1oC/min which resulted in 88.2% and 86.5% cell survival, respectively. Subsequently, the immobilized cells were subjected to freeze-drying after cooling at -45oC at a rate of 5oC/min and the effect of various cryoprotectants on cell viability was investigated. The optimum cryoprotectant for immobilized cells on dried almonds, peanuts and cookies were trehalose, glycerol and glucose, respectively and the corresponding survival rates were 96.3%, 99.0% and 98.8%. Of note, L. casei ATCC 393 viable counts were detected above the levels required for conferring a probiotic effect (at least 6 logcfu/g), in all cases. Finally, the potential of the freeze-dried immobilized biocatalysts as starters in a series of food industrial applications is highlighted and assessed. Acknowledgement Research project co-financed by the European Union (European Regional Development Fund – ERDF) and Greek national funds through the Operational Program “Competitiveness and Entrepreneurship” of the National Strategic Reference Framework (NSRF) – National Action “Support of New Enterprises & SMEs” (Contract Nr. 15NEWE2009) .

ΕΞΕΡΕΥΝΩΝΤΑΣ ΤΑ ΑΓΝΩΣΤΑ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΣΤΑ ΦΥΤΙΚΑ ΑΔΕΝΙΚΑ ΤΡΙΧΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΟΔΗΓΟΥΝ ΣΤΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΔΙΤΕΡΠΕΝΙΩΝ ΜΕ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Κανελλής Άγγελος Κ.
Ομάδα Βιοτεχνολογίας Φαρμακευτικών Φυτών, Τομέας Φαρμακογνωσίας/ Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη

Τα αδενικά τριχώματα των φυτών είναι επιδερμικές δομές/κατασκευές που περιγράφονται συχνά ως «βιοχημικά εργοστάσια», αφού παράγουν πληθώρα φυσικών προϊόντων, τα οποία συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση των φυτών με το περιβάλλον τους (αντίσταση σε παράσιτα και παθογόνα, αλληλοπάθεια κ.λ.π.). Οι ουσίες αυτές χαρακτηρίζονται από χημικές ιδιότητες που τα καθιστούν καλό στόχο για φαρμακολογικές μελέτες. Η ομάδα μας εξερευνά τα βιοσυνθετικά μονοπάτια που οδηγούν στην παραγωγή φαρμακολογικά ενεργών λαβδανικού-τύπου διτερπενίων και φαινολικών διτερπενίων που παράγονται στα αδενικά τριχώματα του Cistus creticus subsp. creticus και της Salvia fruticosa, αντίστοιχα. Για το σκοπό αυτό εφαρμόσθηκε RNAseq στα τριχώματα των παραπάνω ειδών. Για την απομόνωση και λειτουργικό χαρακτηρισμό συνθετασών των διτερπενίων και κυτοχρωμάτων P450, που υπεισέρχονται στη βιοσύνθεση των διτερπενίων αυτών, αναπτύχθηκε μια στρατηγική που συνδυάζει 1) ένα εξειδικευμένο χημικό προφίλ των τριχωμάτων σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης, 2) επιλογή μέσω φυλογενετικών αναλύσεων, 3) μεταγραφική ανάλυση, και 4) in vitro (E. coli) και in vivo (S. cerevisiae and N. bentamiana) λειτουργικές αναλύσεις. Η προσέγγιση αυτή οδήγησε στην απομόνωση ενός αριθμού νέων γονιδίων, που κωδικοποιούν για συνθετάσες των διτερπενίων και κυτοχρωμάτων P450, με αποτέλεσμα να έχει τεθεί η βάση για την πλήρη εξερεύνηση των παραπάνω βιοχημικών μονοπατιών.

EXPLORING THE UNKNOWN BIOCHEMICAL PATHWAYS LEADING TO THE BIOSYNTHESIS OF PHARMACOLOGICAL ACTIVE DITERPENES IN GLANDULAR TRICHOMES OF PHARMACEUTICAL PLANTS

Kanellis Angelos K.
Group of Biotechnology of Pharmaceutical Plants, Laboratory of Pharmacognosy/Pharmacology, Department of Pharmaceutical Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki, Greece

Glandular trichomes of plants are epidermal structures which are often described as «biochemical factories», since they produce an abundance of natural products that participate in the plants interaction with their environment (resistance in parasites and pathogens, allelopathy e.t.c.). These substances are characterized by chemical properties, which make them targets for isolating promising compounds with medicinal properties. Our group is studying the biosynthetic pathways that lead to the production of pharmacologically active labdane-type diterpenes and phenolic diterpenes produced from the glandular trichomes of Cistus creticus subsp. creticus and Salvia fruticosa, respectively. For this purpose RNA-seq technology was implemented on isolated trichomes of the aforementioned species. For the isolation and functional characterization of diterpenes synthetases and P450 cytochromes, which contribute to the biosynthesis of these diterpenes, we developed a method combining 1) specific chemical profiles of trichomes at different developmental stages, 2) selection by phylogenetic analyses, 3) transcriptional analysis, and 4) in vitro (E. coli) and in vivo (S. cerevisiae and N. bentamiana) functional analyses. This approach has led to the isolation of new genes, which code for diterpenes synthases and P450 cytochromes, and enables further exploration of the above biochemical pathways.

Η ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΥΠΟΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ, ΚΑΤΑΛΗΨΙΑΣ, ΥΠΟΘΕΡΜΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΓΗΣΙΑΣ ΑΠΟ ΤΑ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΗ ΔΕΝ ΕΠΗΡΕΑΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΛΛΕΙΨΗ ΤΗΣ ERK1 ΚΙΝΑΣΗΣ (EXTRACELLULAR SIGNAL-REGULATED KINASE 1)

Βασιλική Κάντα-Χαντζή [1], Αλεξία Πολυσίδη [1], Κατερίνα Αντωνίου [2], Σύλβια Δημητριάδου [1], Ειρήνη Σκαλιόρα [1]

1: Εργαστήριο Αναπτυξιακής Βιολογίας, Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, 2: Τομέας Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Η ταυτότητα ενός αγωνιστή κανναβινοειδών μπορεί να προβλεφθεί από την 'κλασική τετράδα' των κανναβινοειδών, στην οποία τα βασικά συμπεριφορικά χαρακτηριστικά είναι η υποκινητικότητα, η καταληψία, η υποθερμία και η αναλγησία. Παρά την πρόσφατη πρόοδο στην κατανόηση των δράσεων των κανναβινοειδών στη συμπεριφορά και τη συναπτική διαβίβαση, τα σηματοδοτικά μονοπάτια που συμμετέχουν δεν έχουν ακόμα χαρακτηριστεί πλήρως. Είναι γνωστό ότι οι αγωνιστές του υποδοχέα κανναβινοειδών τύπου 1 (CB1) προκαλούν δοσοεξαρτώμενη φωσφορυλίωση των κινασών που ελέγχονται από εξωκυττάρια σήματα 1 και 2 (extracellular signal-regulated kinases 1 & 2 – ERK1/ERK2). Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε ERK1 knockout μύες (ERK1 -/-) με σκοπό να εξετάσουμε τις επιδράσεις της έλλειψης της ERK1 κινάσης στις συγκεκριμένες συμπεριφορικές αποκρίσεις αυτών των μυών σε σύγκριση με τους μύες αγρίου τύπου (ERK1 +/+), έπειτα από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση του ισχυρού CB1 αγωνιστή HU210. Η κινητικότητα μελετήθηκε για 60 λεπτά σε μία ομάδα μυών και σε άλλη ομάδα μετρήθηκαν η καταληψία, η θερμοκρασία σώματος και η αναλγησία στη δοκιμασία θερμής πλάκας, έως και 24 ώρες μετά τη χορήγηση του HU210. Στα ERK1 +/+ ζώα, το HU210 προκάλεσε την αναμενόμενη δοσοεξαρτώμενη υποκινητικότητα, όπως επίσης και καταληψία, υποθερμία και αναλγησία. Ενδιαφέρον προκάλεσε το ότι τα ERK1 -/- ζώα εμφάνισαν παρόμοια προφίλ υποκινητικότητας, καταληψίας, υποθερμίας και αναλγησίας έπειτα από χορήγηση του HU210. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση της ERK1 κινάσης δεν είναι απαραίτητη για τις επιδράσεις που μεσολαβούνται από το CB1 υποδοχέα στην κινητικότητα, την καταληψία, την υποθερμία και την αναλγησία. Πραγματοποιούνται περαιτέρω έρευνες εστιασμένες στο σηματοδοτικό μονοπάτι των ERK κινασών για να διαλευκανθεί ο ρόλος των ERK1 και ERK2 στις συμπεριφορικές επιδράσεις των κανναβινοειδών που μεσολαβούνται από τον CB1 υποδοχέα.

CANNABINOID-INDUCED HYPOMOTILITY, CATALEPSY, HYPOTHERMIA AND ANTINOCICEPTION ARE NOT AFFECTED BY THE ABSENCE OF EXTRACELLULAR SIGNAL-REGULATED KINASE 1 (ERK1)

Vasiliki Kanta-Chantzi [1], Alexia Polissidis [1], Katerina Antoniou [2], Sylvia Dimitriadou [1], Irini Skaliora [1]

1: Developmental Biology Division, Center for Basic Research, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 2: Department of Pharmacology, Medical School, University of Ioannina

Cannabinoid agonist identity can be predicted by the classic cannabinoid tetrad of which hypomotility, catalepsy, hypothermia and analgesia are the hallmark behavioral features. Despite the recent progress in our understanding of the actions of cannabinoids on behavioral output and synaptic transmission, the signal transduction pathways have not been fully characterized. It is well known that cannabinoid CB1 receptor (CB1R) agonists dose-dependently increase phosphorylation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 (ERK1/ERK2). In the present study, we exploited selective ERK1 knockout (ERK1-/-) mice in order to examine the effects of ERK1 loss on the specific behavioral responses of these mice as compared to wildtype (ERK1+/+) following interperitoneal administration of the potent CB1 receptor agonist, HU210. Locomotor activity was assessed for 60 min in one cohort of mice and in another, catalepsy, body temperature and hot plate analgesia were measured up to 24 h following HU210 administration. In ERK1+/+ mice, HU210 produced the expected dose-dependent hypomotility as well as catalepsy, hypothermia and antinociception. Interestingly, ERK1-/- mice presented a similar profile in regards to hypomotility, catalepsy, hypothermia and antinociception following HU210 administration. These results indicate that ERK1 activation is not essential for CB1R-mediated effects on locomotor activity, catalepsy, body temperature and analgesia. Further investigation focused on the ERK signaling cascade is underway to elucidate the role of ERK1 and ERK2 on the behavioral effects mediated by CB1R activation.

ΕΝΔΟΦΥΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΤΟΥ ΡΟΔΟΦΥΚΟΥΣ Laurencia glandulifera: ΠΙΘΑΝΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΟΙ ΒΙΟΕΝΕΡΓΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Γεώργιος Χ. Καπετανάκης[1], Κωνσταντίνα Β. Μωυσή[1], Μαρία Σ. Κουταλιανού[1], Ευσταθιος Α. Κατσίφας[1], Βασίλειος Ρούσσης[2], Αμαλία Δ. Καραγκούνη[1]

1Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας, Πανεπιστημιούπολη 15781, Αθήνα 2Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Πανεπιστημιούπολη 15771, Αθήνα

Οι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί εμφανίζουν μεγάλες ικανότητες παραγωγής δευτερογενών μεταβολιτών, λόγω έντονου ανταγωνισμού που υπάρχει στο φυσικό τους περιβάλλον. Η παρούσα εργασία είχε σαν στόχο τη μελέτη της ποικιλότητας των ενδοφυτικών βακτηρίων που είχαν απομονωθεί από ροδοφύκη του είδους Laurencia glandulifera και τη διερεύνηση παραγωγής βιοενεργών ουσιών από τα απομονωθέντα βακτήρια. Η δειγματοληψία έγινε από φύκη δύο περιοχών, που απείχαν περίπου 10 μέτρα μεταξύ τους και επιλέχθηκαν έτσι ώστε να έχουν διαφορές μικροπαραμέτρων. Συνολικά απομονώθηκαν 118 βακτήρια με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα Nutrient Agar (NA) και Tryptone Glucose (TG). Ομαδοποιηθήκαν σε 98 διαφορετικά στελέχη με τη μέθοδο BOX-PCR και τη χρήση του μορίου εκκινητή BOXA1R. Οι βιοδοκιμές για την ανίχνευση παραγωγής βιοενεργών ουσιών έγιναν σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα Nutrient Agar (NA) και Tryptone Glucose (TG) με τη μέθοδο της διάχυσης και τη χρήση μικροβιακών δεικτών. Έγινε επιλογή 3 πολυενεργών βακτηριακών στελεχών καθώς και 6 άλλων στελεχών με την υψηλότερη βιοενεργότητα. Τα επιλεγμένα στελέχη ταυτοποιήθηκαν με αλληλούχιση του 16SrDNA γονιδίου. Η εκχύλιση των παραγόμενων από τα βακτήρια βιοενεργών ουσιών έγινε με χρήση οξικού αιθυλεστέρα από κλειστές υγρές καλλιέργειες τελικού όγκου 500 ml. Τέλος η ταυτοποίηση των ουσιών πραγματοποιήθηκε με μεθόδους χρωματογραφίας μάζας και πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού.

ENTOPHYTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE RED ALGA Laurencia glandulifera: POTENTIAL PRODUCERS OF BIOACTIVE COMPOUNDS

Kapetanakis G.[1], Moisi K[1], Koutalianou M.[1], Katsifas E.[1], Poussis V.[2], Karagouni A.[1]
1National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Microbiology Group, 15781 Athens, Greece 2National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Pharmacy , Department of Pharmacognosy and Chemistry of Natural Products, 15 771 Athens, Greece

Marine bacteria produce a variety of secondary metabolites, due to antagonism that exists in natural environment. Our aim was to study the diversity of entophytic bacteria isolated from the red alga Laurencia glandulifera and to investigate their possibility to produce secondary metabolites with biotechnological interest. The samples were collected from algae that derived from two different areas with ten meters distance between each other and that differ in microclimatic parameters. 118 entophytic bacteria were isolated using the serial dilution method and plating on agar media Nutrient Agar (NA) and Tryptone Glucose Agar (TGA). BOX-PCR analysis was performed for the differentiation of isolated bacteria using BOXA1R primer. The isolated bacteria were differentiated into 98 strains. The production of bioactive substances was studied using an antagonistic diffusion method on the agar media NA and TGA. 3 multiactive stains and 6 strains with the highest activity were selected and identified by analyzing their 16S rDNA sequence. The extraction of the bioactive substances produced in 500 ml liquid batch cultures of the selected bacterial strains was performed by using ethyl acetate as organic solvent and their identification was made with chromatography mass spectrometry methods and nuclear magnetic resonance spectroscopy.

IN VITRO ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΥΧΑΙΜΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΡΟΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΟΓΚΩΝ (TNF)-α

Καππά Ν., Γουίλλιαμς Ε. Δ., Σαμαρά Π., Ιωάννου Κ., Τσιτσιλώνη Ο.
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η ανθρώπινη προμυελοκυτταρική λευχαιμική σειρά HL-60 διαφοροποιείται in vitro σε διαφορετικούς τύπους λευκοκυττάρων παρουσία επαγωγικών παραγόντων. Σκοπός μας ήταν η διαφοροποίηση των HL-60 προς μονοκύτταρα, με τη χρήση της πλειοτροπικής κυτταροκίνης παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF)-α. Κύτταρα της σειράς HL-60 επωάστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις και για διαφορετικά χρονικά διαστήματα με TNF-α, προκειμένου να προτυποποιηθούν οι συνθήκες διαφοροποίησής τους. Η αξιολόγηση του βαθμού διαφοροποίησης ελέγχθηκε με: α) την αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού μετά από καταμέτρησή τους με αιμοκυτταρόμετρο, β) την ενδοκυτταρική παραγωγή ριζών (•O2-), μέσω της δοκιμασίας αναγωγής του NBT, και γ) την έκφραση επιφανειακών μορίων-δεικτών με κυτταρομετρία ροής. Επιπλέον, ελέγχθηκε αν η παραγωγή •O2- από τα in vitro διαφοροποιημένα μονοκύτταρα μπορούσε να ενισχυθεί περαιτέρω από ανοσοενισχυτικά μόρια, όπως τα πεπτίδια του θύμου αδένα προθυμοσίνη α (προΤα) και προΤα(100-109), τα οποία γνωρίζουμε ότι επάγουν τη λειτουργικότητα των μονοκυττάρων περιφερικού αίματος. Μετά από επώαση των HL-60 με 200 ng/ml TNF-α για 3 ημέρες χωρίς ανανέωση του καλλιεργητικού τους μέσου, παρατηρήθηκε η in vitro διαφοροποίηση ικανοποιητικού ποσοστού τους προς μονοκύτταρα. Τα διαφοροποιημένα προς μονοκύτταρα HL-60 ήταν ικανά να παράγουν ενδοκυτταρικά •O2-, ιδιότητα που δε διαθέτουν τα αδιαφοροποίητα HL-60 και εξέφραζαν στην επιφάνειά τους το χαρακτηριστικό μόριο-δείκτη των μονοκυττάρων CD14 σε ποσοστό τουλάχιστον 15%. Το μέγιστο ποσοστό διαφοροποίησης που καταγράφηκε ήταν 40-50%. Η παραγωγή •O2- δε φάνηκε να ενισχύεται περαιτέρω από τα πεπτίδια του θύμου αδένα, πιθανόν λόγω της απουσίας ή μειωμένης έκφρασης ορισμένων υποδοχέων στην επιφάνεια των HL-60 κατά τη διαδικασία της διαφοροποίησης. Η παρούσα μελέτη ενισχύει την ιδιότητα που αποδίδεται στον TNF-α να διαφοροποιεί προμυελοκύτταρα προς μονοκύτταρα, τα οποία είναι φαινοτυπικά και λειτουργικά ανοσοϊκανά. Η in vitro παραγωγή λειτουργικών αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, όπως τα μονοκύτταρα, σε μεγάλο αριθμό, θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμη σε πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας του καρκίνου. *ισότιμη συμμετοχή
Χρηματοδότηση: ΙΚΥDA 2010/165, FP7 REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

IN VITRO DIFFERENTIATION OF HUMAN LEUKEMIC CELLS TO MONOCYTES USING TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF)-α

Kappa N., Williams E. D., Samara P, Ioannou K., Tsitsilonis O.
Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens

The human promyelocytic leukemic cell line HL-60 can be differentiated in vitro towards different types of leukocytes, in the presence of inducing agents. Our aim was to differentiate HL-60 to monocytes using the pleiotropic cytokine tumor necrosis factor (TNF)-α. HL-60 cells were incubated with different concentrations and for variable time-intervals with TNF-α, in order to standardize the conditions for their differentiation. The degree of HL-60 differentiation was evaluated through: a) the inhibition of cell growth by counting cells with a hemocytometer, b) the production of oxygen species (•O2-) using the Nitro Blue Tetrazolium (NBT) reduction assay, and c) the expression of surface molecules by flow cytometry. Moreover, we tested whether the production of •O2- by the in vitro differentiated monocytes could be further increased by immunoenhancing molecules, such as the thymic peptides prothymosin α (proTα) and proTα (100-109), reported to induce the functionality of peripheral blood monocytes. By incubating HL-60 with 200 ng/ml TNF-α for 3 days, without renewing the culture medium, we observed that satisfactory percentages of HL-60 were differentiated to monocytes. In contrast to undifferentiated HL-60, the differentiated to monocytes HL-60 were able to intracellularly produce •O2- and 15% of these cells expressed CD14, a characteristic surface molecule of monocytes. The maximum percentage of differentiation was 40-50%. The production of •O2- was not further enhanced by the thymic peptides, possibly due to absence or reduced expression of specific surface molecules during the differentiation process. The present study confirms the ability of TNF-α to differentiate promyelocytes to monocytes, which are phenotypically and functionally immunocompetent. In view of their eventual use in cancer immunotherapeutic protocols, the in vitro production of large numbers of functional antigen-presenting cells, such as monocytes, is of clinical significance.
*Equal contribution Funding: IKYDA 2010/165, FP7 REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ Cdx2 ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Δ (VDR) ΜΕ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Δ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ.

Καραβία Ο.[1], Γ. Βασιλόπουλος[1], Θ. Σαραφίδου[1], Ξ. Τσεκμεκίδου[2], Κ. Κώτσα[2], Γ. Γκουτζέλας[1], Κ. Σταμάτης[1], Ι. Γιώβος[2], Ζ. Μαμούρης[1]

1Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 2Τμήμα Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού, ΑΧΕΠΑ, Α.Π.Θ.

Σήμερα, περισσότεροι από ένα δισεκατομμύριο ενήλικες είναι υπέρβαροι και η τρέχουσα εκτίμηση είναι ότι μέχρι το 2015 ο αντίστοιχος αριθμός θα εκτιναχθεί στο 1,5 δισεκατομμύριο με δραματικές προεκτάσεις και με συνέπεια την αύξηση θνησιγενών συνοδών νοσημάτων. Σκοπός της εργασίας είναι ο έλεγχος συσχέτισης του πολυμορφισμού Cdx2 στο γονίδιο VDR (rs11568820; G/A) με την παχυσαρκία και με τα επίπεδα βιταμίνης Δ. Μελετήθηκαν 82 παχύσαρκα άτομα από την Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα και 102 μη-παχύσαρκοι, βάσει του Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ≥30), οι οποίοι προσήλθαν στο Κέντρο Αναφοράς ΣΔΤ2 και Παχυσαρκίας του ΑΧΕΠΑ. Η γονοτύπηση πραγματοποιήθηκε με PCR-RFLP. Τα επίπεδα Βιταμίνης Δ (25(OH)D) στον ορό μετρήθηκαν με τη ραδιοανοσολογική μέθοδο RIA. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα SPSS 14 ($p \leq 0.05$). Τα αποτελέσματα δείχνουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση του αλληλομόρφου Cdx-2 'A' με την παχυσαρκία (OR: 1.89, 1.078-3.946, P=0.04). Η κατηγοριοποίηση των παχύσαρκων ατόμων βάσει γονοτύπου έδειξε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της 25(OH)D στα άτομα με το αλληλόμορφο 'A' σε σχέση με αυτά με το αλληλόμορφο 'G' (11.43±8.36 και 19.86±10.48, αντίστοιχα, P<0.05). Η παρούσα μελέτη δείχνει σημαντική συσχέτιση του αλληλομόρφου 'A' του πολυμορφισμού Cdx-2 του VDR με την παχυσαρκία και με μειωμένα επίπεδα Βιταμίνης Δ στον υπό μελέτη πληθυσμό. Ωστόσο, ο μικρός αριθμός ατόμων που μελετηθήκαν αποτρέπει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για την παθοφυσιολογική σημασία στην εξέλιξη της νόσου.

VDR CDX2 IS ASSOCIATED WITH OBESITY AND REDUCED LEVELS OF VITAMIN D IN THE GREEK POPULATION

O. Karavia[1], Y. Vasilopoulos[1], T. Sarafidou[1], X.Tsekmekidou[2], K. Kotsa[2], Y.Goutzelas[1], C. Stamatis [1], J. G. Yovos [2], Z. Mamuris[1]

1Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece; 2Division of Endocrinology and Metabolism, AHEPA University Hospital, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece.

Obesity commonly precedes Type 2 Diabetes (T2D) and both disorders share common genetic and environmental pathogenetic factors. As vitamin D deficiency is common in obesity we aimed to further decipher the contribution of Vitamin D receptor (VDR) gene in disease susceptibility. Previous studies have shown that the Cdx2 polymorphism in the VDR (rs11568820; G/A) affects the transcriptional activity of the VDR promoter with the Cdx-G allele decreasing activity to 70% compared to the 'A' allele. Blood samples were collected from 82 obese subjects (BMI ≥ 30) and 102 controls during winter (January to March) in Northern Greece. The VDR Cdx2 polymorphism was analysed by PCR-RFLP. 25(OH)D levels were measured using RIA. All the analyses were performed using SPSS 14. A $p \leq 0.05$ was used to identify a significant result. Analysis has shown significant association for VDR Cdx-2 'A' allele and obesity (OR: 1.89; 1.078 - 3.946; P=0.04). When obese patients were stratified by the presence of the VDR Cdx-2 'A' allele, a significant reduction was observed at the levels of 25(OH)D (11.43±8.36) compared to the ones harboring the 'G' allele (19.86±10.48) ($P<0.05$). The VDR Cdx-A allele is associated both with obesity and low 25(OH)D levels in our population. However, due to the small number of subjects studied the physiological significance of this finding remains unclear.

ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ ΤΟΥ ΠΙΘΑΝΟΥ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ Bacillus subtilis NCIMB 3610 ΜΕ ΘΟΛΕΡΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ HPLC

Καραγιώτα Αγγελική, Τουράκη Μαρία
Εργαστήριο Γεν. Βιολογίας, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ.

Οι βακτηριοσίνες που παράγονται από το βακτήριο Bacillus subtilis NCIMB 3610 απομονώθηκαν και προσδιορίστηκαν μετά από μια σειρά σταδίων καθαρισμού. Κατά τα διάφορα αυτά στάδια δείγματα εξετάστηκαν ως προς την αντιμικροβιακή τους δράση ενάντια στα βακτήρια δείκτες Escherichia coli και Enterococcus faecalis. Το ποσοστό αναστολής της ανάπτυξης των δύο μικροοργανισμών δεικτών εμφανίστηκε αυξημένο μετά από κάθε στάδιο και έφτασε το 96,5% μετά το τελικό στάδιο καθαρισμού για τον μικροοργανισμό E. faecalis, που εμφανίστηκε περισσότερο ευαίσθητο ενάντια στις βακτηριοσίνες του B. subtilis. Ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με προσθήκη θειικού αμμωνίου στο υπερκείμενο της καλλιέργειας, χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής (Macroprep 25) εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE, C18), και Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC). Επιπλέον εφαρμόστηκαν τρία διαφορετικά πρωτόκολλα απομόνωσης των βακτηριοσινών από το υπερκείμενο της καλλιέργειας, 1) προσθήκη θειικού αμμωνίου, 2) κατεργασία με οργανικό διαλύτη μεθανόλη – χλωροφόρμιο και 3) συνδυασμός των δύο προηγούμενων πρωτοκόλλων. Περισσότερο αποδοτικός εμφανίστηκε ο συνδυασμός των πρωτοκόλλων, καθώς απομονώθηκε μεγαλύτερη ποσότητα βακτηριοσίνων. Ακολούθησε ποσοτικός προσδιορισμός των βακτηριοσινών του B.subtilis με HPLC και εξωτερικό πρότυπο νισίνη, και με μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης των κλασμάτων της HPLC ενάντια στα προαναφερθέντα βακτήρια δείκτες και σύγκριση με πρότυπο καθαρή νισίνη γνωστής συγκέντρωσης. Σύγκριση των δύο μεθόδων ποσοτικού προσδιορισμού έδειξε ότι η HPLC εμφανίστηκε πιο ευαίσθητη, καθώς παρέχει μεγαλύτερη ακρίβεια στον υπολογισμό των μονάδων των βακτηριοσινών, αλλά και μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα, αφού επιτρέπει τον διαχωρισμό και την ομαδοποίηση των βακτηριοσινών για περαιτέρω χαρακτηρισμό τους.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE BACTERIOCINS PRODUCED BY THE POTENTIAL PROBIOTIC Bacillus subtilis NCIMB 3610 USING TURBIDOMETRIC ANALYSIS AND HPLC

Karagiota A., Touraki M.
Laboratory of General Biology, Division of Genetics, Developmental and Molecular Biology, Department of Biology, School of Sciences, A.U.TH.

The bacteriocins that are produced by the bacterium Bacillus subtilis NCIMB 3610 were isolated and determined following a set of purification steps. At each of these steps samples were taken and analyzed for the existence of antimicrobial activity against the indicator bacteria Escherichia coli and Enterococcus faecalis. The percentage of the inhibition of growth of the two indicator bacteria appeared increased following each purification step and in the final purification step it reached the amount of 96.5% against E. faecalis, which appeared more sensitive against the bacteriocins of B. subtilis. The purification procedure included ammonium sulphate precipitation in the cell free culture supernatant, ion exchange chromatography (Macroprep 25), solid phase extraction (SPE, C18), and high performance liquid chromatography (HPLC). Three different purification protocols were applied on the culture supernatant 1) ammonium sulfate precipitation, 2) addition of methanol-chloroform in the culture supernatant and 3) combination of the two procedures. The combination of ammonium sulfate precipitation and organic solvent treatment proved more efficient as a larger amount of bacteriocins was extracted. The quantitative determination of the bacteriocins was performed employing either HPLC or nisin as the external standard and examination of the antibacterial activity of the HPLC fractions compared to the antibacterial activity of pure nisin. The comparison of the two methods of quantitative determination showed that HPLC was more effective as it leads to more accurate results in regard with the estimation of the units of the bacteriocins, but also due to the fact that it allows the separation and grouping of the bacteriocins for their further characterization.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΥΠΑΡΞΗΣ ΦΥΛΕΤΙΚΟΥ ΔΙΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΣ ΦΑΛΑΓΓΕΣ ΤΟΥ ΑΚΡΟΥ ΧΕΡΙΟΥ

Καρακωστής Φώτιος-Αλέξανδρος[1], Ζορμπά Ελένη[2], Μωραΐτης Κωνσταντίνος[2]
1/Τομέας Αρχαιολογίας και Ιστορίας της Τέχνης, Τμήμα Ιστορίας και Αρχαιολογίας, Φιλοσοφική Σχολή ΕΚΠΑ. Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα - 2/Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ. Μ. Ασίας 75, Γουδή 11527, Αθήνα.

Η διερεύνηση του φυλετικού διμορφισμού στις πρώτες φάλαγγες του άκρου χεριού μπορεί να συμβάλει όχι μόνο στην εκτίμηση των βασικών βιολογικών γνωρισμάτων του ατόμου κατά την εξέταση σκελετικού υλικού, αλλά και στην έρευνα πάνω στην εξέλιξη της χειριστικής δεξιοτεχνίας και των δραστηριοτήτων του ανθρώπου. Η έρευνα που έχει διενεργηθεί μέχρι σήμερα επικεντρώνεται κυρίως σε μεθόδους προσδιορισμού του φύλου και λιγότερο στην έκφραση του φυλετικού διμορφισμού στα εν λόγω οστά. Στην παρούσα μελέτη διερευνάται η ύπαρξη φυλετικού διμορφισμού στις πρώτες φάλαγγες του άκρου χεριού. Το μελετηθέν δείγμα συνίσταται από 661 πρώτες φάλαγγες 160 ατόμων (86 άρρενα και 74 θήλεα) που προέρχονται από τη σκελετική συλλογή του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ. Ελήφθησαν επτά μετρήσεις, οι οποίες περιελάμβαναν το μέγιστο μήκος, καθώς και την προσθιοπίσθια και εγκάρσια διάμετρο της κάθε φάλαγγας στη βάση, στη μεσότητα του σώματος και στην κεφαλή του οστού. Πραγματοποιήθηκε περιγραφική στατιστική ανάλυση και δοκιμασία t (student t-test) προκειμένου να ελεγχθεί η ύπαρξη διαφορών μεταξύ των δύο φύλων και εκτιμήθηκε το ποσοστό του φυλετικού διμορφισμού. Τα αποτελέσματα της μελέτης κατέδειξαν ότι στην πλειονότητα των περιπτώσεων τα άρρενα άτομα παρουσιάζουν μεγαλύτερες πρώτες φάλαγγες από τα θήλεα (ο φυλετικός διμορφισμός άγγιζε το 24,78%). Γενικά, οι φάλαγγες του αριστερού άκρου χεριού παρουσίαζαν πιο έντονο φυλετικό διμορφισμό από αυτές του αντίστοιχου άκρου. Η δεξιά πρώτη φάλαγγα του πρώτου δακτύλου συνιστά το πιο διμορφικό οστό (ποσοστό 10,61% έως 24,78%), ενώ η φάλαγγα του πέμπτου δακτύλου το οστό με το μικρότερο φυλετικό διμορφισμό (ποσοστό 3,24% έως 11,71%). Από τις ληφθείσες μετρήσεις, το μέγιστο μήκος παρουσίαζε το μικρότερο ποσοστό φυλετικού διμορφισμού (3,24% έως 10, 61%), ενώ η εγκάρσια διάμετρος στη μεσότητα του σώματος το μεγαλύτερο (5,77% έως 21,64%).

A STUDY OF SEXUAL DIMORPHISM IN PROXIMAL HAND PHALANGES

Karakostis Fotios-Alexandros[1], Zorba Eleni[2], Moraitis Konstantinos[2]
1/Department of Archaeology and History of Art, Faculty of History and Archaeology, University of Athens. Panepistimioupolis 15784 Athens, Greece - 2/Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine, University of Athens. 75 M.Asias St., 11527, Athens, Greece.

The investigation of sexual dimorphism in proximal hand phalanges could contribute to the accurate assessment of the biological profile of an individual from human skeletal remains. Additionally, it provides the basis for further research on the evolution of manual dexterity. The anatomy of proximal hand phalanges has been described and the occurrence of sexual dimorphism has been reported in studies related to sex determination. Nevertheless, there is limited research focusing on the nature and the degree of sexual dimorphism in proximal hand phalanges. For that reason, the purpose of this study is to examine the degree of sexual dimorphism in proximal hand phalanges. The sample studied is composed of 661 proximal hand phalanges from 160 adult individuals (86 males and 74 females) of the Athens collection. Seven measurements were taken involving the maximum length and diaphyseal and epiphyseal widths. Descriptive statistics, t-values and percentages of sexual dimorphism were estimated. The results of this study indicate that, in almost all dimensions measured, males have larger proximal hand phalanges than females. In fact, proximal phalanges present extremely considerable sexual dimorphism. In general, the phalanges of the left side demonstrate a higher degree of sexual dimorphism. The right first proximal phalanges of the hands proved to be the most sexually dimorphic bones in the material (ranged between 10.61% and 24.78%), whereas the least sexually dimorphic bones were the right fifth proximal phalanges (ranged between 3.24% and 11.71%). The minimum sexual dimorphism observed was in the maximum lengths of phalanges (ranged between 3.24% and 10.61%), whereas the most sexually dimorphic dimension is the mediolateral width at midshaft (ranged between 5.77% and 21.64%).

Η ΟΡΝΙΘΟΠΑΝΙΔΑ ΤΟΥ ΕΘΝΙΚΟΥ ΠΑΡΚΟΥ ΛΙΜΝΩΝ ΚΟΡΩΝΕΙΑΣ ΒΟΛΒΗΣ ΚΑΙ ΜΑΚΕΔΟΝΙΚΩΝ ΤΕΜΠΩΝ: ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΝΕΩΝ ΕΙΔΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΚΟΡΩΝΕΙΑΣ

Κάρτα Ευαγγελία [1], Τσερκεζίδου Ελλάδα[1], Βαφειάδου Ανθούλα[1], Πατσιά Αθηνά [1,2], Μπόμπορη Δήμητρα Χρήστου [1,2]

1Φορέας Διαχείρισης Λιμνών Κορώνειας Βόλβης. E-mail: a_patsia@hotmail.com, foreaskv@otenet.gr 2Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. E-mail: bobori@bio.auth.gr

Η παρακολούθηση των ειδών ορνιθοπανίδας που διαχειμάζουν, σταθμεύουν και αναπαράγονται στο Εθνικό Πάρκο των λιμνών Κορώνειας, Βόλβης και Μακεδονικών Τεμπών, ξεκίνησε το 2006, από το προσωπικό του Φορέα Διαχείρισης (ΦΔ), που είναι υπεύθυνο για την προστασία και διαχείριση του Εθνικού πάρκου. Η παρακολούθηση γίνεται με μεθόδους άμεσης καταμέτρησης, χαρτογράφησης σημείων ή επικρατειών και παρατηρήσεων σε ευθείες διαδρομές ή και σημειακές, καλύπτοντας τις λίμνες Κορώνεια και Βόλβη, τις αγροτικές και ημιορεινές περιοχές, καθώς και τα παραποτάμια δάση. Ο αριθμός των ειδών που έχουν συνολικά καταγραφεί στην περιοχή ανέρχεται πλέον στα 300. Ειδικότερα, στην περιοχή της Κορώνειας, η παρουσία και πληθυσμοί των ειδών ορνιθοπανίδας είναι άμεσα εξαρτώμενοι από τις υδρολογικές συνθήκες που επικρατούν κάθε έτος, με τους δείκτες ποικολότητας να παρουσιάζουν ανοδικές τιμές από το 2010 έως το 2012. Επιπλέον, τον Ιανουάριο του 2013 παρατηρήθηκαν 3 νέα είδη για την περιοχή: το Branta ruficollis (κοκκινόχηνα), το Falco cherrug (στεπογέρακο) και το Tetrax tetrax (χαμωτίδα), ενώ το Anser erythropus (νανόχηνα) επανεμφανίστηκε μετά το 1921. Και τα τέσσερα είδη πουλιών περιλαμβάνονται στο Κόκκινο Βιβλίο της IUCN. Η κοκκινόχηνα και το στεπογέρακο χαρακτηρίζονται ως κινδυνεόντα (endangered), η χαμωτίδα ως σχεδόν απειλούμενο (near threatened) και η νανόχηνα ως ευάλωτο (vulnerable). Η σημαντικότητα των καταγραφών αυτών είναι διττή: παρά την οικολογική υποβάθμιση της λίμνης, η ποικιλότητα της ορνιθοπανίδας αυξάνει, όμως τα ιδιαίτερα οικολογικά χαρακτηριστικά των νέων ειδών που καταγράφονται παραπέμπουν σε μεταβολές και αλλαγές της οικολογικής φυσιογνωμίας του συστήματος.

BIRD SPECIES OF THE NATIONAL PARK OF LAKES KORONIA-VOLVI AND MACEDONIAN TEMPE: NEW BIRD RECORDS IN LAKE KORONIA

Karta Evaggelia [1], Tserkezidou Ellada[1], Vafeiadou Anthoula[1], Patsia Athina [1,2], Bobori Dimitra Christos [1,2]

1Lakes Koronia-Volvi Management Authority, E-mail: a_patsia@hotmail.com, foreaskv@otenet.gr
2Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, E-mail: bobori@bio.auth.gr

Monitoring of bird species that hibernate, park and breed in the National of lakes Koronia Volvi and Macedonian Tempe, started in 2006 by the staff of the Management Authority (M.A.), which is responsible for the protection and the management of the National Park. Monitoring realized by direct measurement of the species, mapping points or territories and observations in straight lines or points, covering lakes Koronia and Volvi, agricultural and mountainous areas and riparian forests. Up to 300 species have been recorded in the area. In particular, the presence and the populations of the bird species recorded in Lake Koronia, are directly related to the adverse hydrologic conditions dominated the previous years. However, diversity indices increased between 2010 and 2012. Moreover, in January 2013, three new species were recorded in the area: Branta ruficollis (Red-breasted Goose), Falco cherrug (Saker Falcon) and Tetrax tetrax (Little Bustard). In addition, the presence of Anser erythropus (Lesser White-fronted Goose) was confirmed in the area, since its last appearance in 1921. All the above species are listed in the Red Data Book of IUCN. Red-breasted Goose and Saker Falcon are characterized as endangered species, Little Bustard as near threatened and Lesser White-fronted Goose as vulnerable. The significance of these records is dual. Despite the ecological degradation of Lake Koronia, the diversity of birds is increasing. However, since the new recorded species have particular ecological requirements, it seems that the ecosystem of Lake Koronia alters, providing more specific habitats for hosting these species.

ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΛΙΜΝΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΟΠΕΡΟΝΙΟΥ ΤΗΣ ΦΥΚΟΚΥΑΝΙΝΗΣ

Κατή Δομινίκη, Γκέλης Σπύρος

Τα κυανοβακτήρια αποτελούν τους αρχιτέκτονες της ατμόσφαιρας της Γης με την σημερινή της μορφή, καθώς είναι οι πρώτοι οργανισμοί που απελευθέρωσαν οξυγόνο. Η τεράστια εξάπλωσή τους στα εσωτερικά ύδατα σε συνδυασμό με τις πιθανές επιβλαβείς οικολογικές και οικονομικές επιπτώσεις των ανθίσεών τους λόγω παραγωγής τοξινών, έχουν προκαλέσει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον. Στην προσπάθεια μιας πολυφασικής προσέγγισης της ταξινόμησής τους η μοριακή φυλογένεση κατέχει ρόλο-κλειδί. Η χρήση του γονιδίου 16S rRNA έχει δώσει ήδη σημαντικές πληροφορίες για την κατάταξη σε επίπεδο Γένους. Το οπερόνιο της φυκοκυανίνης, ωστόσο, έχει αποδειχθεί κατάλληλος μοριακός δείκτης για φυλογενετικές αναλύσεις στο επίπεδο του είδους, καθώς οι κωδικοποιούσες περιοχές παρουσιάζουν μικρή απόκλιση στις ακολουθίες σε στενά συγγενικά είδη, ενώ οι αλληλουχίες των διαχωριστικών περιοχών εμφανίζουν αισθητή μεταβλητότητα. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν 25 στελέχη κυανοβακτηρίων των τάξεων Chroococcales, Nostocalles και Oscillatoriales που απομονώθηκαν από λίμνες της Ελλάδας. Τα στελέχη είχαν ταυτοποιηθεί με βάση μορφολογικά χαρακτηριστικά τουλάχιστον ως το επίπεδο της οικογένειας, και διατηρούνται σε υγρές καλλιέργειες σε θρεπτικό μέσο BG11 κάτω από κατάλληλες συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας. Απομονώθηκε ολικό γενωμικό DNA από ζωντανά κύτταρα των καλλιεργειών και ενισχύθηκαν με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) οι υπομονάδες cpcB και cpcA της φυκοκυανίνης συμπεριλαμβανομένης της διαχωριστικής περιοχής μεταξύ τους (IGS-intergenic spacer). Ακολούθησε αλληλούχιση και φυλογενετική ανάλυση των αποτελεσμάτων μετά από σύγκριση με τις κατατεθειμένες αλληλουχίες στις δημόσιες βάσεις δεδομένων. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα δείχνουν πως υπάρχει μία διαφοροποίηση στα στελέχη μορφολογικώς αναγνωρισμένα ως Anabaena ενώ τα γένη Jaaginema και Limnothrix εμφανίζουν πολύ μεγάλο ποσοστό ομοιότητας και μπορεί να χρειάζεται επαναπροσδιορισμός της ταξινόμησής τους

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF CYANOBACTERIAL STRAINS FROM LAKES OF GREECE USING PHYCOCYANIN OPERON

Kati D., Gelis S.
Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124 Thessaloniki, Greece

Cyanobacteria are the architects of the Earth's atmosphere in its current form, as they are the first among living organisms to release oxygen. Their vast proliferation in aquatic ecosystems, as well as the possible detrimental ecological and economic effects of potentially toxic blooms has caused intense scientific interest. Molecular phylogeny plays a critical role in the cyanobacteria polyphasic approach classification. 16S rRNA gene has already been used as an essential tool for the generic level classification. However, the phycocyanin operon as a molecular marker has been proved appropriate for phylogenetic analysis at the species level, due to the slight differentiation in codon regions sequences of closely related species and the significant variability in spacer regions sequences. In this project, we used 25 cyanobacteria strains classified to Chroococcales, Oscillatoriales and Nostocalles, isolated from lakes of Greece. The strains were previously morphologically identified, at least down to the family level, and preserved in liquid cultures of BG11 medium under suitable light and temperature conditions. We isolated the whole genomic DNA from living cells and amplified the cpcB and cpcA phycocyanin subunits including the intergenic spacer (IGS) using Polymerase Chain Reaction (PCR). We sequenced the products, compared the sequences of all strains with those deposited in public databases and performed phylogenetic analysis. The preliminary results illustrate a genetic diversity in morphologically determined as Anabaena strains, whereas Jaaginema and Limnothrix present high percentage of similarity and as a result their classification redefinition seems to be of a great importance.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ SNPs ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ GPCRs ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ Α ΜΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΩΝ ΔΟΜΙΚΩΝ ΑΛΛΑΓΩΝ, ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΜΕ ΟΜΟΛΟΓΙΑ

Κατσαντώνη Μ.Γ., Θεοδωροπούλου Μ.Κ., Χαμόδρακας Σ.Ι.
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 157 01

Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα υποδοχέων κυτταρικής επιφάνειας που εκφράζεται από το ανθρώπινο γονιδίωμα. Παρ'ότι μοιράζονται ένα συντηρημένο μοτίβο 7 α-ελίκων και έναν κοινό μηχανισμό μεταγωγής σήματος, διαφέρουν σημαντικά ως προς τον υποκαταστάτη που προσδένουν και τη λειτουργία τους. Λόγω της εκτεταμένης παρουσίας τους στα κύτταρα και της ποικιλίας που εμφανίζουν σε επίπεδο μοριακής αναγνώρισης και σηματοδότησης, οι GPCRs αποτελούν τις πιο σημαντικές μεμβρανικές πρωτεΐνες στην κλινική ιατρική. Ως μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) ορίζονται οι κληρονομήσιμες αντικαταστάσεις ενός νουκλεοτιδίου σε άτομα ενός πληθυσμού, όταν εμφανίζονται με συχνότητα μεγαλύτερη του 1%. Όταν τα SNPs οδηγούν σε αλλαγή ενός αμινοξέος ονομάζονται παρερμηνεύσιμα (missense) και σε ορισμένες περιπτώσεις συσχετίζονται με ασθένειες. Η παρούσα εργασία στόχευε στην συλλογή όλων των παρερμηνεύσιμων SNPs και την πιθανή συσχέτισή τους με ασθένειες στους ανθρώπινους GPCRs της υπερ-οικογένειας A . Το σύνολο των υποδοχέων απομονώθηκε από την UniProtKB/SwissProt, ενώ τα παρερμηνεύσιμα SNPs και οι συσχετισμοί με ασθένειες από την UniProtKB/SwissProt, καθώς και από την SNPdbe. Πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των SNPs ως προς τη θέση τους σε σχέση με την δομή/τοπολογία του υποδοχέα, και ομαδοποίησή τους βάσει φυσικοχημικών ιδιοτήτων των αμινοξέων. Για τη μελέτη πιθανών δομικών μεταβολών, δημιουργήθηκαν μοντέλα, χρησιμοποιώντας γνωστές δομές GPCRs ως πρότυπα, και επισημάνθηκαν σε αυτά τα SNPs. Τελικά, βρέθηκαν 3170 GPCRs, από τους οποίους οι 717 είναι ανθρώπινοι και ανήκουν στην τάξη A . Μόνο 30 από αυτούς βρέθηκαν να συσχετίζονται με ασθένειες έχοντας παράλληλα παρερμηνεύσιμα SNPs εντοπισμένα σε αυτούς. Μελλοντικοί στόχοι της εργασίας είναι ο εμπλουτισμός και ο έλεγχος του συνόλου, η εφαρμογή περισσότερων στατιστικών κριτηρίων και η αξιολόγηση των επιδράσεων των παρερμηνεύσιμων SNPs στη λειτουργία των υποδοχέων.

ASSOCIATION OF SNPs OF HUMAN, CLASSA, GPCRs WITH DISEASE: EXPLORING THE DISTRIBUTION OF SNPs ALONG THEIR SEQUENCE AND POSSIBLE STRUCTURAL ALTERATIONS, USING HOMOLOGY MODELS

Katsantoni M.G., Theodoropoulou M.C, Hamodrakas S.J.
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01

G-protein coupled receptors (GPCRs) constitute the largest group of cell surface receptors expressed by the human genome. Despite sharing a conserved seven α-helix motif along with a common mechanism of signal transduction, they differ greatly in terms of ligand binding and function. Due to their ubiquitous nature, wide cellular distribution and versatile molecular recognition and signaling, GPCRs are the most important of membrane proteins in clinical medicine. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are inherited single nucleotide substitutions among individuals of a species and are defined as such when they occur at a rate greater than 1% in a population. When the SNPs result to an amino acid substitution, they are called missense SNPs which, in some cases, are reported to be associated with disease. This work aimed at collecting all missense SNPs on human GPCRs, which belong to class A, and finding their associations with disease. The set of receptors was retrieved from UniProtKB/SwissProt, while missense SNPs and disease associations from UniProt/SwissProt as well as SNPdbe. Based on the receptors' topology, we examined the distribution of the SNPs along their sequence. In an attempt to evaluate the functional impact, we analyzed them based on substitution matrix scores. In order to observe possible structural effects, GPCRs, associated with disease, were modeled, using known structures as templates, and all SNPs were mapped to them. As a result, a total of 3170 GPCRs was found, 717 of which are human and belong to class A. Only 30 of these receptors were associated with disease while having SNPs mapped to them. Enrichment and cross-validation of our data set, implementation of more stringent statistical criteria and evaluation of structural effects of the SNPs will add up to the goals of this work.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΥΞΗΣΗΣ ZEBRAFISH ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Καψάλη Αναστασία[1], Χρήστου Μαρία[2], Κοΐνης Άγγελος[1], Κουμουνδούρος Γεώργιος[2], Φλυτζάνης Κωνσταντίνος[1]

1 Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών ,Πάτρα 26504, 2 Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο 71409

Ψάρια τα οποία προέρχονται από κοινό γενετικό απόθεμα και αναπτύσσονται σε κοινές συνθήκες, είναι δυνατό να παρουσιάζουν διαφορές στο σωματικό μέγεθος κατά την ανάπτυξή τους. Στόχος της πειραματικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε είναι η μελέτη των μοριακών παραγόντων που μπορεί να σχετίζονται με τέτοιες φαινοτυπικές διαφορές. Στην παρούσα εργασία μελετάται η σχέση του ρυθμού αύξησης ψαριών zebrafish με τα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης παραγόντων που εμπλέκονται στη ρύθμιση της σωματικής αύξησης και του μεταβολισμού. Σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό που ακολουθήθηκε, έμβρυα zebrafish προερχόμενα από τους ίδιους γεννήτορες αφέθηκαν να μεγαλώσουν στους 28ºC μέχρι το μέσο μήκος τους (mean Total Length) να φτάσει τα TL=6mm. Στη συνέχεια τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε τρεις δεξαμενές ανάλογα με το αν το μέσο μήκος τους ήταν μικρότερο (Small, TL=5±SD) από 6mm, σχεδόν 6mm (Medium, TL=6±SD) ή μεγαλύτερο από 6mm (Large, TL=7±SD). Ακολούθησε δειγματοληψία από τους τρεις πληθυσμούς (Small-Medium-Large) όταν τα ψάρια έφτασαν σε μέσο ολικό μήκος TL=10±SDmm και TL=15±SDmm αντίστοιχα. Επιπλέον ακολούθησε ιστολογικός έλεγχος της αναλογίας φύλου στα ενήλικα άτομα των αντίστοιχων πληθυσμών. Και στις τρεις περιπτώσεις, από κάθε δεξαμενή πάρθηκε δείγμα ίσου αριθμού ατόμων (n=10). Αντίστοιχα από το κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA κατά άτομο (3 άτομα/ πληθυσμό στα 10mm και 3 άτομα/πληθυσμό στα 15mm) ή κατά ιστό (6 άτομα/ιστό για κάθε συνθήκη). Για όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν 3 βιολογικές επαναλήψεις. Στόχος είναι η μελέτη της ποσοτικής έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με τη ρύθμιση της σωματικής αύξησης και του μεταβολισμού, με τη μέθοδο της Real Time qPCR και η συσχέτιση των πιθανών διαφορών με το μέγεθος και τη μορφολογία των ενηλίκων ατόμων.

GROWTH RATE AND GENE EXPRESSION PROFILES IN ZEBRAFISH LARVAE

Kapsali Anastasia[1], Christou Maria[2], Koinis Aggelos[1], Koumoundouros Georgios[2], Flytzanis Constantinos[1]

1 Department of Biology, University of Patras, Patras 26504, Greece, 2 Department of Biology, University of Crete, Heraklion 71409, Greece

Zebrafish (Danio rerio) has been extensively used as a model in molecular and developmental biology. The present study aims to correlate the growth rate of zebrafish to the expression profile of genes used as molecular markers. Zebrafish embryos were maintained, under common conditions after fertilization, to grow in a broodstock until the mean Total Length reached the 6mm. After that, the larvae were subdivided into three groups, named as Small (TL=5±SD), Medium (TL=6±SD) and Large (TL=7±SD), which were maintained at 28ºC until they reached the 10mm, 15mm and adult developemental stages respectively. In all cases, samples of larvae (n=10) or tissues of sexually mature adults (n=6) were taken, followed by total RNA isolation and quantitative assessment of selected transcripts by Real Time qPCR. Our results will indicate whether differential gene expression in early larval stages is responsible for the Total Length deviation and if there is a correlation between early gene expression and later morphological changes in adult fish.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΔΗΜΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Alosa macedonic*a (ΛΙΠΑΡΙΑ) ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΒΟΛΒΗΣ

Κεχαγιά Σοφία, Γιάντσης Α. Ιωάννης, Αποστολίδης Π. Απόστολος
Εργαστήριο Ιχθυοκομίας & Αλιείας, Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονική Σχολή Α.Π.Θ., 54-124 Θεσσαλονίκη

Η λιπαριά (Alosa macedonica) είναι ένα ενδημικό είδος ψαριού που απαντάται αποκλειστικά στη λίμνη Βόλβη. Αν και προηγούμενες μελέτες του είδους αφορούσαν μορφομετρικά χαρακτηριστικά και άλλα βιολογικά και αλιευτικά του στοιχεία, εντούτοις λίγα είναι γνωστά για την πληθυσμιακή γενετική δομή του, παρόλο που είναι γνωστό πως η γνώση της γενετικής δομής των ειδών αποτελεί μία από τις βασικότερες παραμέτρους για την ορθολογική τους διαχείριση. Ως εκ τούτου, στόχος της παρούσας εργασίας ήταν μια πρώτη εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας της λιπαριάς με ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA. Για το σκοπό αυτό 40 δείγματα λιπαριάς συλλέχθηκαν από τη λίμνη Βόλβη και αναλύθηκαν με την PCR-RFLP μεθοδολογία που εφαρμόστηκε σε 2 τμήματα των γονιδίων της αφυδρογονάσης του NADH (ND5/6 και ND1). Σε κάθε τμήμα δοκιμάστηκαν 22 περιοριστικές ενδονουκλεάσες σε 5 τυχαία άτομα. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε ανάλυση της πρωτοδιάταξης σε ένα κομμάτι 950 βάσεων του κυτοχρώματος b και σε ένα κομμάτι 850 βάσεων των γονιδίων της ATPάσης 6 και της κυτοχρωμικής οξειδάσης (CO) III σε 11 και 5 αντιπροσωπευτικά άτομα, αντίστοιχα. Δύο από τα 22 περιοριστικά ένζυμα φανέρωσαν πολυμορφισμό στο τμήμα ND5/6, ενώ δεν ανιχνεύτηκε πολυμορφισμός στο γονίδιο ND1. Κατά την αλληλούχιση του κυτοχρώματος b και των γονιδίων ATPVI-COIII παρατηρήθηκαν 4 και 3 πολυμορφικές θέσεις, αντίστοιχα. Ο συνδυασμός των παραπάνω αποτελεσμάτων αποκάλυψε συνολικά 5 σύνθετους απλότυπους (γονότυπους). Τα χαμηλά επίπεδα γενετικής ποικιλότητας που φαίνεται να χαρακτηρίζουν το είδος, ενδέχεται να το καθιστούν εξαιρετικά ευάλωτο σε επικείμενες περιβαλλοντικές μεταβολές και ανθρώπινες παρεμβάσεις.

GENETIC DIVERSITY OF THE ENDEMIC SPECIES *Alosa macedonica* (MACEDONIAN SHAD) IN LAKE VOLVI

Kechagia Sofia, Giantsis A. Ioannis, Apostolidis P. Apostolos
Lab of Ichthyology & Fisheries, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki, 54-124 Thessaloniki

Macedonian shad (Alosa macedonica) is a landlocked fish species endemic to Lake Volvi. While previous studies on A. macedonica have dealt with its morphologic features, fishery aspects and other life history characteristics, no information is currently available about its population genetic structure, though such knowledge is important for proper fishery management. Thus, this study was designed to provide a first estimate of the genetic variability of the species using mitochondrial DNA (mtDNA) analysis. To achieve this goal, 40 A. macedonica specimens were collected from Lake Volvi and were investigated through PCR-RFLP analysis of two mtDNA gene fragments (ND5/6 and ND1). Each segment was screened with 22 restriction endonucleases, in a test sample of 5 individuals. A 950-bp fragment of the cytochrome b and a 850-bp fragment of the ATPaseVI–COIII genes were also sequenced in 11 and 5 representative individuals, respectively. Two out of the 22 restriction enzymes used were found to detect variability in the ND5/6 segment, while no polymorphism was detected in the ND1 gene. The sequence analyses of the cytochrome b and ATPVI-COIII segments revealed 4 and 3 variable sites, respectively. The combination of both RFLP and sequencing datasets yielded a total of 5 composite haplotypes (genotypes). The low levels of genetic diversity that may characterize the species could make it particularly vulnerable to random environmental changes and human disturbances.

ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΠΕΠΤΙΔΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΩΝ ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ S. epidermidis ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΛΙΝΕΖΟΛΙΔΗΣ

Σοφία Κόκκορη[1], Μαρία Αποστολίδη[1], Σπυρίδων Πουρνάρας[2], Κωνσταντίνος Σταθόπουλος[1], Γεώργιος Ντίνος[1]

1/Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τομέας Βασικών Ιατρικών Επιστημών Ι, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών- 2/Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ

Η λινεζολίδη είναι ένα συνθετικό αντιβιοτικό που ανήκει στην οικογένεια των οξαζολιδινών. Χρησιμοποιείται κλινικά από το 2000 και μετά, για τη θεραπεία ενός φάσματος λοιμώξεων που προκαλούνται κυρίως από θετικούς αλλά και από αρνητικούς κατά Gram παθογόνους μικροοργανισμούς. Αν και αποτελεί αντιβιοτικό νέας γενιάς και η χρήση του είναι ακόμα περιορισμένη, εν τούτοις έχουν ήδη αναφερθεί ανθεκτικά βακτηριακά στελέχη. Η ανθεκτικότητα έχει συσχετισθεί με συγκεκριμένες μεταλλάξεις κυρίως στο 23S rRNA και δευτερευόντως στις ριβοσωματικές πρωτεΐνες. Πρόσφατα δημοσιεύτηκε (Pournaras et al., 2013, αναφορά) ότι το στέλεχος του Staphylococcus epidermidis A 2864 το οποίο έφερε παρόμοιες μεταλλάξεις ανθεκτικότητας, όχι μόνο δεν αναστέλλεται από τη λινεζολίδη, αλλά παρουσία του αντιβιοτικού αναπτύσσεται ταχύτερα από το αγρίου τύπου. Επειδή το ριβόσωμα είναι ο κύριος στόχος του αντιβιοτικού, προσπαθήσαμε να διερευνήσουμε πιθανές μεταβολές που προκαλεί η παρουσία της λινεζολίδης στη λειτουργία των ριβοσωμάτων του συγκεκριμένου στελέχους. Στα πλαίσια αυτής της μελέτης συγκρίναμε την ενεργότητα της πεπτιδυλοτρανσφεράσης, του καταλυτικού δηλαδή κέντρου του ριβοσώματος, που είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση του πεπτιδικού δεσμού. Απομονώσαμε ριβοσώματα λειτουργικά από το στέλεχος αγρίου τύπου, αλλά και το μεταλλαγμένο, που αναπτύσσεται είτε απουσία είτε παρουσία λινεζολίδης. Με τη βοήθεια της αντίδρασης πουρομυκίνης προσδιορίσαμε κινητικά την ενεργότητα της πεπτιδύλοτρανσφεράσης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας η καταλυτική αυτή ενεργότητα που εκφράζεται με το λόγο kcat/KM είναι ιδιαίτερα αυξημένη στο μεταλλαγμένο στέλεχος, που σημαίνει ότι η παρουσία του αντιβιοτικού σε συνδυασμό με τις δομικές αλλαγές που επιφέρουν οι μεταλλάξεις έχουν επίπτωση στο καταλυτικό κέντρο, επηρεάζοντας τόσο την πρόσδεση των υποστρωμάτων όσο και την καταλυτική σταθερά όπως αυτές εκφράζονται τόσο με το Ks όσο και με το kcat.

ENHANCED PEPTIDYLTRANSFERASE ACTIVITY IN MUTANT RIBOSOMES FROM NOSOCOMIAL STRAINS OF S. epidermidis IN THE PRESENCE OF LINEZOLID

Sofia Kokkori[1], Maria Apostolidi[1], Spyridon Pournaras[2], Constantinos Stathopoulos[1], George Dinos[1]

1/Department of Biochemistry, Division of Basic Medical Sciences I, School of Medicine, University of Patras-2/Deprtment of Microbiology, School of Medicine, University of Athens

Linezolid is a synthetic antibiotic that belongs to the family of oxazolidinones. It has been introduced into clinical practice since 2000, for the treatment of a variety of infections caused by Gram- positive and negative pathogen microorganisms. Although it belongs to the new generation of antibiotics and its use is still limited, antibiotic resistance has already been manifested and is associated with specific mutations mainly located on 23S rRNA and specific ribosomal proteins. Recently, it has been published (Pournaras et al., 2013) that Staphylococcus epidermidis strain A2864, is not only resistant to linezolid but additionally it grows remarkably faster in the presence of the antibiotic, as well as the wild type strain. Since ribosome is the main target of the antibiotic, we tried to investigate possible changes in ribosome's function that are induced by the presence of the antibiotic. During this study we compared the activity of peptidyltransferase, which is the catalytic centre of the ribosome responsible for peptide bond formation. We isolated functionally active ribosomes from wild type strain, mutant strain and the mutant strain grew in the presence of linezolid. We used puromycin reaction to determine kinetically the peptidylotransferase activity. According to our data, this catalytic activity which is expressed with the ratio kcat/KM is significantly higher in the mutant strain. This observation implies that the presence of the antibiotic, in combination with structural changes as a consequence of several mutations have a significant impact on the catalytic center, thus modifying both the binding of the substrates and the catalytic constants, KS and kcat, respectively.

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΜΟΝΟΥ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟΥ (SNPS) ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ-ΞΕΝΙΣΤΗ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ, *Ceratitis capitata*

Κοσκινιώτη Παναγιώτα, Αμούτζιας Γρηγόριος, Ματθιόπουλος Κώστας
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26 & Αιόλου

Η Μεσογειακή μύγα ανήκει στην οικογένεια Tephritidae και αποτελεί ένα από τα πιο επιβλαβή παράσιτα των φρούτων παγκοσμίως. Η κατανομή της Μεσογειακής μύγας εξαπλώνεται σε όλο σχεδόν τον κόσμο εξαιτίας της ικανότητάς της να προσαρμόζεται σε ένα μεγάλο εύρος περιβαλλοντικών συνθηκών και ξενιστών. Οι προνύμφες του εντόμου μπορούν να αναπτυχθούν σε πάνω από 300 είδη φυτών, η πλειοψηφία των οποίων αποτελεί καλλιέργειες μεγάλου οικονομικού ενδιαφέροντος. Η οικονομική σημασία της Μεσογειακής μύγας οδήγησε στην ανάπτυξη εκτεταμένων προγραμμάτων ελέγχου εκ των οποίων τα περισσότερα βασίζονται στη χρήση ισχυρών εντομοκτόνων. Μία φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος που έχει, επίσης, εφαρμοστεί για τον έλεγχο της Μεσογειακής είναι η Τεχνική του Στείρου Εντόμου (SIT), η οποία στηρίζεται στη μαζική απελευθέρωση στείρων αρσενικών στη φύση. Η κατανόηση της βιολογίας και της οικολογίας της μύγας της Μεσογείου αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία οποιουδήποτε προγράμματος ελέγχου, καθώς και για την καλύτερη διαχείριση των φυσικών πληθυσμών. Η συσχέτιση της γενετικής διαφοροποίησης με την επιλογή του φυτού-ξενιστή θα μπορούσε να αποδειχθεί υψίστης σημασίας για οποιαδήποτε προσπάθεια διαχείρισης του πληθυσμού επιβλαβών εντόμων. Για παράδειγμα, οι προτιμώμενοι ξενιστές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μέσο προσέλκυσης ή ως «ασπίδα» για την αντιμετώπιση του εντόμου. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η ταυτοποίηση μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs), που σχετίζονται με την επιλογή του ξενιστή. Τα έντομα βασίζονται στην όσφρηση προκειμένου να εκτιμήσουν την κατάσταση του ενδιαιτήματός τους, στο οποίο συμπεριλαμβάνονται και οι διατροφικές πηγές. Κατά συνέπεια, η αποκρυπτογράφηση των λεπτομερειών αυτής της συσχέτισης θα μπορούσε να παρέχει χρήσιμα εργαλεία για τον έλεγχο του εντόμου. Για το σκοπό αυτό, συλλέχθηκαν έντομα από διαφορετικά δένδρα και ταυτοποιήθηκαν SNPs σε συγκεκριμένους τόπους, που σχετίζονται με την οσφρητική συμπεριφορά, μέσω ανάλυσης PCR-SSCP.

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (SNPS) ASSOCIATED WITH THE HOST PREFERENCE OF THE MEDFLY, *Ceratitis capitata*

Koskinioti P., Ampouzias G., Mathiopoulos K.
Depatment of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26 & Aiolou

The Mediterranean fruit fly belongs to the Tephritidae family of insects and is one of the world's most destructive fruit pests. The distribution of the medfly is almost worldwide due to its ability to adapt to a wide range of environments and hosts. Medfly larvae can develop on >300 species of plants, most of which are economically very important. Its economic significance has led to the development of extensive control programs, most of which are based on heavy pesticide use. An environmentally friendly method that has also been applied in the field for the control of Medfly is the sterile insect technique (SIT), which is based on the release into the wild of mass-reared sterilized males. Understanding of the biology and ecology of the Medfly is a necessary requisite for the success of any control program and for the better management of its natural populations. In insects of agricultural importance, the correlation between genetic differentiation and the choice of the host-plant could be of paramount importance in population management efforts. For example, preferred host-plants could be utilized as attractants or shields. The aim of the current study is the identification of single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with fruit choice. Insects depend on olfaction to estimate overall situation of habitats, including location of food sources. As a consequence, deciphering the details of such associations would provide useful tools in the control of the insect. For this purpose, insects from different fruits were collected and SNPs in particular loci that are related to insect's olfactory behavior were identified through PCR-SSCP analysis.

ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΑ ΜΕ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ : ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Κοτσίρη Ζωή, Χατζηιωάννου Μαριάνθη, Βαφείδης Δημήτρης
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Το αντικείμενο της παρούσας έρευνας είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση των βιοδραστικών ουσιών που παράγονται από τα γαστερόποδα μαλάκια. Τα μαλάκια είναι το δεύτερο μεγαλύτερο φύλο των ζώων πάνω στη γη, μετά τα αρθρόποδα αποτελώντας περίπου το 7% των ζωντανών ζώων. Το 90% από αυτά συγκεντρώνεται στην τάξη των γαστεροπόδων (75.000 -150.000 είδη). Στη Μεσόγειο είναι γνωστά 1320 είδη και από αυτά τα 756 βρίσκονται στο Αιγαίο. Μέχρι σήμερα έχουν μελετηθεί 817 είδη παγκοσμίως και έχουν απομονωθεί 948 βιοδραστικές ουσίες. Έχουν δημοσιευθεί 878 εργασίες για βιοδραστικές ουσίες που προέρχονται κυρίως από τις οικογένειες Haliotidae, Conidae και Muricidae. Η τελευταία περιλαμβάνει είδη γνωστά από την αρχαιότητα για την παραγωγή της πορφύρας στη Μεσόγειο. Η φαρμακευτική δράση των ουσιών που εκκρίνονται από τα γαστερόποδα έχει αναλγητικές, αντιμικροβιακές, νευροκατασταλτικές, μυοχαλαρωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Στόχος της εργασίας είναι ο εντοπισμός στη Μεσόγειο και ειδικότερα στο Αιγαίο, ειδών γαστεροπόδων με βιοδραστικές ουσίες και επομένως οικονομικό ενδιαφέρον.

MARINE GASTROPODS EITH PHARMACEYTICAL AND BIOCHEMICAL INTEREST: BIBLIOGRAPHICAL SYNOPSIS

Kotsiri Zoi, Hatziioannou Marianthi, Vafidis Dimitris
Department of Ichthyology and Aquatic Environment , School of Agricultural Sciences University of Thessaly

The subject of this work is the bibliographical review of the bioactive substances which are produced by gastropod molluscs. The molluscs are the second largest phylum on earth, after the arthropods which constitute approximately 7% of live animals. The 90% of them is concentrated in the class of gastropods (75.000 -150.000 species). In the Mediterranean sea are known 1320 species and 756 of them are in the Aegean. Until now have been published 878 papers for bioactive substances which are derived mainly from the families Haliotidae, Conidae and Muricidae. The last one includes species known from ancient times for the production of the Tyrian purple in the Mediterranean sea. The pharmaceutical activity of the substances which are derived from the gastropods has analgesic, neuro-sedative, muscle relaxant, antibacterial and anti-inflammatory properties. The aim of this study is to identify that the Mediterranean and particularly the Aegean species of gastropods with bioactive substances and therefore economic interest.

ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΚΡΕΑΤΟΣ ΤΩΝ ΒΑΤΡΑΧΟΠΟΔΑΡΩΝ: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Κουγιαγκά Ευκαρπία, Καραπαναγιωτίδης Ιωάννης, Χατζηιωάννου Μαριάνθη
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος ,Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Στόχος της συγκεκριμένης βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι να τεκμηριώσει την αξία του κρέατος των βατραχοπόδαρων στην ανθρώπινη διατροφή. Αποτελεί μέρος ευρύτερης έρευνας των βρώσιμων και εμπορεύσιμων ειδών βατράχων στην Ελλάδα. Τα κύρια διατροφικά οφέλη του κρέατος είναι η υψηλή θρεπτική αξία και το χαμηλό θερμιδικό φορτίο (73 kcal/100 gr). Εκτός της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες (16,4%) και του χαμηλού ποσοστού των λιπαρών οξέων (0,3%), υπάρχει υγρασία σε ποσοστό μεγαλύτερο του 80%. Σημαντική είναι η παρουσία βιταμινών με κυρίαρχη τη χολίνη (65mg/100gr) και την βιταμίνη Α (50IU/100gr) και των μεταλλικών στοιχείων με κύρια τα κάλιο και φώσφορος με περιεκτικότητα 287mg και 147 mg/100gr αντίστοιχα. Κάθε είδος επεξεργασίας του κρέατος επιφέρει αλλαγές στην περιεκτικότητα των θρεπτικών συστατικών.

CHEMICAL COMPOSITIONS ANDNUTRITIONAL VALUE OF FROG LEGS' MEATQ BIBLIOGRAPHICAL RENIEW

Kougiagka Efkarpia, Karapanagiotidis Ioannis, Hatziioannou Marianthi
Department of Ichthyology and Aquatic Environment , School of Agricultural Sciences, University of Thessaly

The aim of this bibliographical review is to prove the value of the frog legs' meat in human nutrition. Is a part of a broader investigation on the edible and marketable species of frogs in Greece. The main dietetic benefits are the many nutrients and the low caloric load (73 kcal/100 gr). Except for the composition of proteins (16.4%) and the low percentage of the fatty acids (0.3%), there is moisture which is greater than 80%. Important is the presence of the vitamins, such as choline (65mg/100gr) and vitamin A (50IU/100gr) and the minerals, mainly potassium and phosphorus in composition 287mg and 147mg/100gr respectively. Any kind of meat process changes the content of nutrients.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΣΠΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Hippolyte sapphica* d'Udekem d'Acoz, 1993 (Crustacea: Decapoda: Hippolytidae)

Κουρμουλή Έλλη-Χριστίνα, Ρωμάν Λιάσκο, Ιωάννης Δ. Λεονάρδος, Χρύσα Αναστασιάδου

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη, 45110, Ιωάννινα

Η κλασσική και η γεωμετρική μορφομετρία είναι ευρέως χρησιμοποιούμενες μέθοδοι στις μελέτες των δεκαπόδων, με σκοπό να εξυπηρετηθούν ανάγκες διάγνωσης στην ταξινομία, να συγκριθούν γεωγραφικά απομονωμένοι πληθυσμοί ειδών και να αναδειχθεί η ενδοειδική ποικιλότητα και η αλληλεπίδραση περιβάλλοντος-πληθυσμού. Το είδος Hippolyte sapphica είναι ενδημικό της Κεντρικής και Ανατολικής Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας και εμφανίζει έντονο διμορφισμό του ασπιδίου: τη φόρμα Α, με μακρύ, οδοντωτό και τη φόρμα Β, με βραχύ, υποπλασμένο, μη οδοντωτό ασπίδιο. Ο σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη της μορφολογικής ποικιλότητας του ασπιδίου σε σχέση με το μέγεθος, το φύλο και ορισμένα αναπτυξιακά στάδια του κύκλου ζωής του είδους. Επιλέχθηκαν δύο σταθμοί δειγματοληψίας: ένας στις εκβολές του Π. Λούρου, με μικτό πληθυσμό του είδους (φόρμα Α και Β) και ένας στη λιμνοθάλασσα της Σαγιάδας (ΒΔ Ελλάδα), με πληθυσμό να αντιπροσωπεύεται μόνο από τη φόρμα Α. Συλλέχθηκαν εφάπαξ δείγματα και ο προσδιορισμός της φόρμας και του φύλου των ατόμων πραγματοποιήθηκε μετά από στερεο-μικροσκοπική παρατήρηση του ασπιδίου και του δεύτερου ζεύγους πλεοποδίων, αντίστοιχα. Μετά τη φωτογράφηση, ακολούθησε μορφομετρική ανάλυση βάσει των σημείων (landmarks) και των αποστάσεων που ελήφθησαν για κάθε άτομο. Επιπρόσθετα, καταγράφηκαν μεριστικοί χαρακτήρες της οδόντωσης του ασπιδίου. Η συγκριτική μορφολογική ποικιλότητα του ασπιδίου μεταξύ των δύο σταθμών σε σχέση με διάφορα αναπτυξιακά στάδια των ατόμων του είδους παρουσιάζεται και συζητείται λεπτομερώς. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδηλώνουν ότι τα μορφολογικά πρότυπα του ασπιδίου επηρεάζουν την προσαρμοστικότητα και τα χαρακτηριστικά του κύκλου ζωής των πληθυσμών του είδους H. sapphica με ένα πολυσύνθετο τρόπο.

STUDY ON ROSTRAL MORPHOLOGICAL VARIATION OF Hippolyte sapphica d'Udekem d'Acoz, 1993 (Crustacea: Decapoda: Hippolytidae)

Elli-Christina Kourmouli, Roman Liasko, Ioannis D. Leonardos, Chryssa Anastasiadou
Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technology, University of Ioannina, University Campus, 45110, Ioannina, Greece

Classical and geometric morphometry has been widely used in decapods' studies in order to serve diagnostic needs in taxonomy, make comparisons among geographically isolated populations and show intraspecific variation and demonstrate the environmental interaction with species populations. Hippolyte sapphica is an endemic of Central and Eastern Mediterranean and Black Seas, which is characterized by a sharp rostral dimorphism. Two morphotypes have been described: form A with a long, dentate and form B with a very short, toothless, juvenile-like rostrum. The aim of the present study is to elucidate the pattern of rostral variation of Hippolyte sapphica in relation to size, sex and certain life history stages. Two sampling stations were selected: one with mixed species; population (form A and B) in Louros River estuary and one species; Population of form A in Sagiada Lagoon (NW Greece). Form and sex identification was done through stereo-microscopic inspection of rostral formation and second pleopod, respectively. Individuals were photographed and morphometric analysis of rostrum was carried out on a set of landmarks and distances defined on the digital photos of shrimps, as well as on meristic characters of rostral dentition. Coordinates and distances were determined using image-analyzing software (NIKON Digital Sight DS-L2). The comparative rostral variation among different life history stages is presented and discussed in detail. Our data suggest that the morphological patterns of the rostrum influence the adaptability and life history traits of H. sapphica, in a complex manner.

ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΩΝ ΠΟΛΥΑΜΙΝΩΝ, ΩΣ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΥΔΙΩΝ ΣΕ ΣΤΡΕΣ ΚΑΔΜΙΟΥ

Κουρνούτου Γ. Γεωργία, Πυθαροπούλου Σοφία, Λεοτσινίδης Μιχάλης, Καλπαξής Λ. Δημήτρης

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Οι πολυαμίνες είναι μικρά πολύ-κατιοντικά μόρια, τα οποία παίζουν σπουδαίο ρόλο στην κυτταρική άμυνα έναντι διαφόρων ειδών περιβαλλοντικού στρες. Τα μόρια αυτά είναι υψηλού ενδιαφέροντος, διότι επηρεάζουν πολλές κυτταρικές διεργασίες, συμμετέχοντας σε ομοιοπολικές και μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις με ποικίλους κυτταρικούς στόχους, όπως οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊνικά οξέα και τα φωσφολιπίδια. Κατά συνέπεια, απαντώνται στα κύτταρα, όχι μόνον ως ελεύθερα μόρια, αλλά και ως συζεύγματα με μικρά μόρια, διαλυτά σε υπερχλωρικό οξύ (PS-συζευγμένες), ή με μακρομόρια αδιάλυτα σε υπερχλωρικό οξύ (PIS-συζευγμένες). Στόχος αυτής της εργασίας ήταν να διερευνήσουμε, πως το στρες που προκαλείται από έκθεση σε κάδμιο επηρεάζει την ενδοκυτταρική συγκέντρωση των συζευγμένων πολυαμινών, ώστε να ερμηνεύσουμε το μηχανισμό μέσω του οποίου συνεισφέρουν στην κυτταρική άμυνα. Για το σκοπό αυτό, μύδια του είδους Mytilus galloprovincialis εκτέθηκαν πειραματικά για 15 ημέρες σε 100 μg/l Cd2+. Το Cd2+ βιο-συσσωρεύθηκε στους ιστούς των μυδιών με ένα χρονο-εξαρτώμενο τρόπο και προκάλεσε οξειδωτικό στρες, χαρακτηριζόμενο από υψηλή παραγωγή σουπεροξειδικών ριζών, μεταλλοθειονινών, ισχυρή υπεροξείδωση των λιπιδίων και επαγωγή της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου. Συσσώρευση του Cd2+ στον πεπτικό αδένα των εκτεθέντων μυδιών προκάλεσε 12-φορές, 33-φορές και 44-φορές αύξηση των επιπέδων της PS-συζευγμένης πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης, αντίστοιχα, σε σύγκριση με φυσιολογικά δείγματα. Επίσης, τα επίπεδα των PIS-συζευγμένων πολυαμινών, ιδιαιτέρως εκείνων της σπερμιδίνης και σπερμίνης, αυξήθηκαν ως ανταπόκριση στο στρες του καδμίου. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα, ο λόγος (σπερμιδίνη+ σπερμίνη)/πουτρεσκίνη να τριπλασιασθεί. Τα αποτελέσματά μας εισηγούνται ότι οι συζευγμένες πολυαμίνες, εκτός του προστατευτικού τους ρόλου στην ακεραιότητα της δομής των μακρομορίων, μπορεί να χρησιμεύουν και σαν πηγή ελευθέρων πολυαμινών σε συνθήκες ισχυρού στρες, όταν οι απαιτήσεις για ενεργούς αμυντικούς παράγοντες καθίστανται επιτακτικές.

ENHANCED PRODUCTION OF CONJUGATED POLYAMINES AS A RESPONSE OF MUSSELS AGAINST CADMIUM-STRESS

Kournoutou G. Georgia, Pytharopoulou Sofia, Leotsinidis Michel, Kalpaxis L. Dimitrios
Laboratory of Biological Chemistry, School of Medicine, University of Patras

Polyamines (PAs) are small polycation molecules, which play an important role in cell defense against various kinds of environmental stress. These molecules attract interest because they affect multiple cellular processes, by engaging in covalent and noncovalent interactions with a wide variety of cellular targets, including proteins, nucleic acids, and phospholipids. Consequently, PAs in cells occur not only as free molecules, but also as conjugates with small molecules, soluble in perchloric acid (PS-conjugated), or with macromolecules which are insoluble (PIS-conjugated). The aim of this study was to investigate how cadmium-stress affects the content of conjugated PAs in cells, in order to explain the mechanism by which they contribute to the cellular defense. To this end, experimental studies were carried out in mussel Mytilus galloprovincialis exposed in aquarium for 15 days to 100 μg/l Cd2+. Cd2+ was accumulated in mussel tissues in a time-dependent manner and generated an oxidative-stress status, characterized by elevated production of superoxide radical and metallothioneins, high levels of lipid peroxidation, and induction of superoxide dismutase. Accumulation of Cd2+ in digestive glands of mussels caused 12-fold, 33-fold, and 44-fold rise in the levels of PS-conjugated putrescine (PUT), spermidine (SPD), and spermine (SPM), respectively, in relation to the controls. On the other hand, PIS-conjugated PAs levels, in particular those of SPD and SPM, increase as the accumulation of Cd2+ in digestive glands is elevated. As a consequence, the ratio (SPD+SPM)/PUT increases as the degree of Cd2+-stress is elevated. Our results suggest that conjugated PAs, apart from their protective role in macromolecule integrity, may be a valuable source of free PAs under conditions of worst stress, when the requirements for active defence factors are higher.

ΕΝΔΟΓΕΝΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΑΣΠΡΟΠΥΡΓΟΥ ΜΕ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Μαρία Σ. Κουταλιανού, Κωνσταντίνα Β. Μωυσή, Γιώργος Χ. Καπετανάκης, Ευστάθιος Α. Κατσίφας, Αμαλία Δ. Καραγκούνη

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας, Πανεπιστημιούπολη 15781, Αθήνα

Το πετρέλαιο αν και αποτελεί τη σημαντικότερη πηγή ενέργειας είναι παράλληλα και μια από τις μεγαλύτερες πηγές ρύπανσης του περιβάλλοντος. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η απομόνωση βακτηρίων με ικανότητα αποικοδόμησης πετρελαίου. Απομονώθηκαν συνολικά 100 βακτήρια από θέσεις δειγματοληψίας στη λίμνη Κουμουνδούρου και στη θαλάσσια περιοχή του Ασπροπύργου. Τα βακτήρια απομονώθηκαν με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων σε στερεό θρεπτικό υπόστρωμα Walne Medium με προσθήκη 5% v/v αργού πετρελαίου (WM5%) και ελέγχθηκαν για την ύπαρξη του γονιδίου της n-alkane μονοξυγενάσης χρησιμοποιώντας μόρια εκκινητές που ενισχύουν το γονίδιο alkB. Επιλέχθηκαν βακτήρια που έφεραν το γονίδιο alkB τα οποία ταυτοποιήθηκαν με αλληλούχιση του 16S rDNA γονιδίου και στη συνέχεια αυξήθηκαν σε κλειστές υγρές καλλιέργειες με θρεπτικό υπόστρωμα WM5%. 30 βακτήρια εμφάνισαν ικανότητα βιοαποικοδόμησης σε ποσοστό πάνω του 50% και ανήκαν στα γένη Pseudomonas, Nitratireductor και Thalassospira. Τα στελέχη Nitratireductor sp. ΑΣΘ5, Thalassospira sp. ΑΣΘ12 και Pseudomonas sp. ΑΣΚ47a αναπτύχθηκαν σε κλειστές υγρές καλλιέργειες με θρεπτικό υπόστρωμα WM5% και έγινε εκτίμηση του ρυθμού και του ποσοστού βιοαποικοδόμησης. Το στέλεχος Pseudomonas sp. ΑΣΚ47a παρουσίασε τη μεγαλύτερη βιοαποικοδόμηση για τα μεγάλου μοριακού βάρους αλκάνια σε διάστημα 12 ημερών και σε ποσοστό 48%. Επειδή οι μικροοργανισμοί για τέτοιου τύπου διεργασίες είναι αποδοτικότεροι σε μικτές καλλιέργειες δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες βακτηρίων με 3 διαφορετικά στελέχη η κάθε μία και χρησιμοποιήθηκαν ως εμβόλια για τη μελέτη της συνεργιστικής ικανότητας αποικοδόμησης πετρελαϊκών υπολειμμάτων. Κάθε ομάδα εμβολιάσθηκε σε κλειστές υγρές καλλιέργειες με θρεπτικό υπόστρωμα WM5%. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης με GC-MS έδειξαν ότι η ομάδα βακτηρίων που περιλάμβανε τα στελέχη Thalassospira ΑΣΘ19, Nitratireductor ΑΣΘ5 και Stenotrophomonas ΚΠ8, παρουσίασε τα υψηλότερα ποσοστά αποικοδόμησης της τάξης του 78%. Συμπερασματικά η χρήση μεικτών βακτηριακών εμβολίων σε υποστρώματα πετρελαϊκών αποβλήτων απέδωσε σε τριπλάσια ποσοστά αποικοδόμησης συγκριτικά με τη χρήση μεμονωμένων στελεχών.

BACTERIA ISOLATED FROM ASPROPYRGOS AREA CAPABLE OF BIODEGRADING OIL

Koutalianou M., Moisi K., Kapetanakis G., Katsifas E., karagouni A.
National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Microbiology Group, 15781 Athens, Greece

Even though oil is the most important natural source of energy is also a major pollutant of the environment. Our aim was to isolate bacteria capable of biodegrading oil. 100 bacteria were isolated from sampling sites in Lake Koumoundourou and coastal area of Aspropyrgos, using the serial dilution method and plating on Walne Medium Agar supplemented with 5% v/v crude oil. The isolated bacteria were tested for the presence of the gene of the n-alkane monooxygenase using primers to amplify the gene (alkB). Selected bacteria carrying the gene alkB were identified by analyzing their 16S rDNA sequence. The selected bacteria were cultured in liquid batch cultures with Walne Medium supplemented with 5% v/v crude oil (WM5%) 30 bacteria of them with the ability to degrade crude oil over 50 %. were selected. The selected bacteria were members of the genera Pseudomonas, Nitratireductor and Thalassospira. The strains Nitratireductor sp. ASTH5, Thalassospira sp. ASTH12 and Pseudomonas sp. ASK47a were cultured in liquid batch cultures with WM5% and their biodegradation rates were estimated. The strain Pseudomonas sp. ASK47a showed the highest biodegradation. Finally three consortia were constructed with three different bacteria strains each and used to study the synergistic effect on the degradation of petroleum residues. Each consortium was inoculated in liquid batch cultures with WM5%. The gas chromatography mass analysis showed that the consortium consisting of the strains Thalassospira sp. ASTH19, Nitratireductor sp. ASTH5 and Stenotrophomonas sp. KP8 presented the highest degradation rate of 78%. In conclusion the use of bacterial consortia yielded a threefold degradation rates compared to using individual strains.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΤΩΝ ΜΥΔΙΩΝ Mytilus galloprovincialis ΣΕ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟΥΣ ΑΠΟΔΙΟΡΓΑΝΩΤΕΣ

Κουτσογιαννάκη Σοφία[1], Fabbri Elena[2], Franzellitti Silvia[2], Καλογιάννη Μάρθα[1]
1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσ/νίκη 54124 -2/Interdepartment Centre for Environmental Science Research, University of Bologna, Ravenna 48123, Italy

Οι υδρόβιοι οργανισμοί εκτίθενται σε πλήθος περιβαλλοντικών ρύπων, στους οποίους συγκαταλέγονται και οι ενδοκρινικοί αποδιοργανωτές, όπως το κάδμιο και η 17β-οιστραδιόλη. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση των επιπέδων έκφρασης των τριών κύριων αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση (CAT), δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD) και τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) σε αιμοκύτταρα του μυδιού Mytilus galloprovincialis 1) μετά από έκθεση των μυδιών σε επιλεγμένες συγκεντρώσεις καδμίου ή 17β-οιστραδιόλης, 2) μετά από επίδραση των ιδίων ρύπων σε απομονωμένα αιμοκύτταρα καθώς και 3) να διερευνήσουμε τα πιθανά σηματοδοτικά μόρια που εμπλέκονται στα επαγόμενα από τους ρύπους σηματοδοτικά μονοπάτια. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν στατιστικά σημαντική τροποποίηση στα επίπεδα mRNA και των τριών ενζύμων στα αιμοκύτταρα μυδιών που εκτέθηκαν είτε σε κάδμιο (0,6 μM), είτε σε 17β-οιστραδιόλη (100 nM) σε όλες τις ημέρες έκθεσης (1, 3 και 7), σε σύγκριση με τα ζώα ελέγχου. Σε απομονωμένα αιμοκύτταρα, η επίδραση είτε καδμίου (5 μM) είτε 17β-οιστραδιόλης (25 nM) για 30 λεπτά ή για 4 ώρες προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση στα επίπεδα mRNA και των τριών ενζύμων στην πλειονότητα των συνθηκών, συγκριτικά με τα κύτταρα ελέγχου. Επιπρόσθετα, οι ενδοκρινικοί αποδιοργανωτές προκάλεσαν την ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών, με την συμμετοχή του ανταλλάκτη ιόντων Na+/H+, της πρωτεϊνικής κινάσης C, της 3-κινάσης της φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης, της NADPH οξειδάσης, της συνθάσης του οξειδίου του αζώτου και της κυκλικής μονοφοσφωρικής αδενοσίνης (cAMP). Συνεπώς, η επίδραση των συγκεκριμένων ενδοκρινικών αποδιοργανωτών προκάλεσε ενεργοποίηση του αντιοξειδωτικού μηχανισμού στα αιμοκύτταρα του μυδιού Mytilus galloprovincialis, με τροποποίηση των επιπέδων έκφρασης των αντιοξειδωτικών ενζύμων CAT, SOD και GST. Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το ΕΣΠΑ μέσω του προγράμματος Ηράκλειτος ΙΙ.

EXPRESSION OF ANTIOXIDANT ENZYMES AFTER EXPOSURE OF MUSSELS Mytilus galloprovincialis TO ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS

Koutsogiannaki Sophia[1], Fabbri Elena[2], Kaloyianni Martha[1]
1/Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki, Greece- 2/Interdepartment Centre for Environmental Science Research, University of Bologna, Ravenna 48123, Italy

Marine organisms are continuously exposed to a large number of environmental pollutants; among them are endocrine disruptors such as cadmium and 17β-estradiol. The aim of the present study was to evaluate the expression levels of the three main antioxidant enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST) in Mytilus galloprovincialis hemocytes 1) after exposure of mussels to selective concentrations of either cadmium chloride or 17β-estradiol, 2) after effect of the same pollutants on isolated hemocytes as well as 3) to elucidate the signaling molecules that are possibly involved in the induced by the pollutants signaling pathways. Our results showed statistically significant modification in mRNA levels of all the studied enzymes in hemocytes of mussels exposed to either cadmium (0,6 μM) or 17β-estradiol (100nM) after 1, 3 and 7 days, in relation to control animals. In isolated hemocytes, incubation with either cadmium (5 μM) of 17β-estradiol (25 nM) for 30 minutes or 4 hours triggered statistically significant increase in mRNA levels of all the three enzymes in most of the cases studied, in relation to control hemocytes. In the signaling pathway induced by the two effectors the involvement of Na+/H+ antiport, protein kinase C, phosphatidyl-inositol 3-kinase, NADPH oxidase, nitric oxide synthase and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) was observed. Thus, the effect of the studied endocrine disruptors on Mytilus galloprovincialis hemocytes physiology caused the induction of the antioxidant mechanism, by modification of the antioxidant enzymes CAT, SOD and GST expression levels. The present study was funded by NSRF through the program Heracleitus II.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Κρεμυζάς Κίμων, Τσαούσης Γεώργιος, Λίτου Ζωή, Χαμόδρακας Σταύρος
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 157 01

Περισσότερο από το 50% των γνωστών πρωτεϊνών αλληλεπιδρούν με μεμβράνες. Οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται μεμβρανικές και διαχωρίζονται σε διαμεμβρανικές, αγκυροβολημένες και περιφερειακές. Οι περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με ασθενείς αλληλεπιδράσεις με μία από τις δύο πλευρές της μεμβράνης, είτε άμεσα με τις κεφαλές των λιπιδίων, είτε έμμεσα με διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες αυτές συμμετέχουν σε βασικές λειτουργίες του κυττάρου και σχετίζονται με πολλές ασθένειες. Η παρούσα εργασία επικεντρώθηκε στη συλλογή όλων των περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών και την ταξινόμησή τους βάσει της υποκυτταρικής τους θέσης και της βιολογικής τους δράσης. Για τη συλλογή του συνόλου των πρωτεϊνών χρησιμοποιήσαμε τη βάση πρωτεϊνικών αλληλουχιών UniprotKB/Swissprot. Μελετήσαμε την παρουσία των περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών στους οργανισμούς και στα διάφορα κυτταρικά οργανίδια. Απομονώθηκε το σύνολο των περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών του ανθρώπου που αλληλεπιδρά με την πλασματική μεμβράνη και διαχωρίστηκαν σε ενδοκυτταρικές και εξωκυτταρικές, καθώς και σε άμεσα ή έμμεσα συνδεόμενες με τη πλασματική μεμβράνη. Παρατηρείται μεγαλύτερος αριθμός περιφερειακών πρωτεϊνών στην ενδοκυττάρια πλευρά της πλασματικής μεμβράνης του ανθρώπου. Παρέχονται επίσης πληροφορίες σχετικά με τις λειτουργίες των περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών στα κυτταρικά οργανίδια ευκαρυωτικών κυττάρων.

COMPUTATIONAL STUDIES OF PERIPHERAL MEMBRANE PROTEINS

Kremizas Kimon, Tsaousis Georgios, Litou Zoi, Hamodrakas Stavros
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01

More than half of all proteins of a eukaryotic organism interact with membranes. These proteins are further divided in transmembrane, anchored and peripheral membrane proteins. Peripheral membrane proteins associate with lipid bilayers reversibly, using non-covalent interactions either with membrane lipids or with transmembrane proteins. They are involved in a variety of cellular functions and are associated with several diseases. The aim of the current study was the collection of all peripheral membrane proteins and their classification, according to their subcellular location and function. The initial dataset of peripheral membrane proteins was obtained from the UniprotKB/Swissprot protein database. We studied the presence of peripheral membrane proteins in organisms and classified them according to their subcellular location. Peripheral proteins of human plasma membrane were selected and classified into intracellular or extracellular. In addition, the subset of proteins involved in lipid binding was identified. A significantly larger number of intracellular peripheral membrane proteins in the human plasma membrane were observed. Furthermore, information is provided about the molecular function of peripheral membrane proteins in various compartments of eukaryotic cells.

Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ HDL ΩΣ ΠΡΩΤΑΡΧΙΚΟΣ ΣΤΟΧΟΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΩΝ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ HDL

Κυπραίος Κυριάκος Η.
Πανεπιστήμιο Πατρών Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ρίο Αχαΐας, ΤΚ. 26500, Ελλάδα, www.kyriakoskypreos.com

Η αντίστροφη συσχέτιση των επιπέδων της HDL-C του πλάσματος με την εμφάνιση και πρόοδο της αθηρωμάτωσης, η οποία υποστηρίζεται από πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες, σε συνδυασμό με μια σειρά από αθηροπροστατευτικές ιδιότητες της HDL (συμπεριλαμβανομένης της σταθεροποίησης των ασταθών αθηροσκληρωτικών πλακών) έχουν αναδείξει την λιποπρωτεΐνη HDL ως την πλέον ευεργετική λιποπρωτεΐνη για την πρόληψη της στεφανιαίας νόσου. Αναμφίβολα, οι θεραπείες που στοχεύουν στην HDL έχουν ένα λαμπρό μέλλον, ωστόσο είναι σημαντικό να επαναπροσδιορίσουμε το θεραπευτικό τους στόχο. Αν και δεν έχουμε ακόμα σαφή εικόνα του φαρμακολογικού οφέλους που προκύπτει από την χρήση αναστολέων της CETP, ο σχεδιασμός φαρμάκων που θα αυξάνουν απλά τα επίπεδα της HDL-C χωρίς βελτίωση της λειτουργικότητας της HDL λιποπρωτεΐνης μπορεί να έχει τη μοίρα των ήδη αποτυχημένων πειραματικών φαρμάκων της κατηγορίας αυτής. Ο πρωταρχικός στόχος των νέων φαρμάκων θα πρέπει να μετατοπιστεί από την αύξηση της HDL-C του αίματος στη βελτίωση της ποιότητας και λειτουργικότητας της HDL λιποπρωτεΐνης. Τα φαρμακευτικά προϊόντα που βελτιώνουν τις αθηροπροστατευτικές λειτουργίες της HDL, ενισχύοντας για παράδειγμα την αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης, αναμένεται να μειώσουν σημαντικά τη θνησιμότητα από τα καρδιαγγειακά νοσήματα ακόμη και αν δεν αυξάνουν τα επίπεδα της HDL-C. Φυσικά, περισσότερη έρευνα απαιτείται για το σκοπό αυτό. Πριν σχεδιάσουμε με επιτυχία τέτοια φάρμακα θα πρέπει να διερευνήσουμε περαιτέρω το συναρπαστικό κόσμο της HDL, αποκρυπτογραφώντας το μυστικό κώδικα της αθηροπροστασίας της. Παρά τον πλούτο των πληροφοριών που έχουμε ήδη στη διάθεση μας, απαιτείται να μάθουμε ακόμα περισσότερα σχετικά με την HDL, και ειδικότερα πώς να αξιοποιήσουμε πλήρως το θεραπευτικό δυναμικό της προς όφελος του ασθενούς.

HDL PARTICLE FUNCTIONALITY AS A PRIMARY PHARMACOLOGICAL TARGET FOR HDL-BASED THERAPIES

Kypreos Kyriakos E.
University of Patras School of Health Sciences, Department of Medicine, Pharmacology laboratory, Rio Achaias, TK. 26500, Greece, www.kyriakoskypreos.com

The inverse correlation of plasma HDL-C levels with the slower progression of atherosclerotic lesions seen in numerous epidemiological studies along with a number of atheroprotective properties associated with HDL (including stabilization of unstable atherosclerotic plaques), identified HDL as a beneficial lipoprotein for the prevention of heart disease. Undoubtedly, HDL based therapies have a bright future ahead. However, it is important to redefine their therapeutic target. While the jury is still out on CETP inhibitors, the design of drugs that will simply raise HDL-C levels without improving HDL functionality may have the fate of failed lead compounds of the same class. The primary target of new pharmaceuticals should shift from raising HDL-C levels to improving HDL quality and functionality. Pharmaceuticals that improve HDL atheroprotective functions, enhancing reverse cholesterol transport for example, are expected to exert a significant benefit against CHD related mortality even without increasing HDL-C levels. Of course, more basic research is needed to this effect. Before we successfully design such pharmaceuticals we need to further explore the exciting world of HDL, deciphering its secret code of atheroprotection. Despite the existing wealth of information we still need to learn more about HDL, and in particular how to harness its properties and exploit its full therapeutic potential for the benefit of the patient.

ΑΝΑΛΥΣΗ γ-ΣΤΡΟΦΩΝ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ

Κυριακούλη Κωνσταντίνα, Χαμόδρακας Σταύρος
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 157 01

Οι γ-στροφές είναι οι δεύτερες πιο καλά χαρακτηρισμένες, συνηθέστερες στροφές που παρατηρούνται στην κύρια αλυσίδα των πρωτεϊνικών δομών μετά τις β-στροφές. Αποτελούνται από τρία (3) αμινοξικά κατάλοιπα και έχουν υδρογονικούς δεσμούς μεταξύ της αμινο-ομάδας του τρίτου καταλοίπου της στροφής και της καρβονυλομάδας του πρώτου καταλοίπου της στροφής. Οι γ-στροφές κατηγοριοποιούνται σε κλασικές και αντίστροφες, σύμφωνα με τις τιμές των δίεδρων γωνιών φ και ψ του μεσαίου καταλοίπου της στροφής. Συμμετέχουν στο δίπλωμα συμπαγών σφαιρικών δομών και στη μοριακή αναγνώριση, επειδή συνήθως απαντώνται στην εκτεθειμένη επιφάνεια των πρωτεϊνών. Για τη μελέτη των γ-στροφών σε σφαιρικές, υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες, ένα αντιπροσωπευτικό σύνολο πρωτεϊνικών αλυσίδων αντλήθηκε από τη βάση δεδομένων PDBselect (κατώφλι ομοιότητας 25%). Μετά την αφαίρεση των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών, τα υπόλοιπα αρχεία δομών χρησιμοποιήθηκαν ως είσοδος στο λογισμικό PROMOTIF, για να βρεθούν οι περιοχές στις οποίες υπάρχουν γ- στροφές. Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν στατιστικά δεδομένα για την εμφάνιση και τις ιδιότητες των παρατηρημένων γ-στροφών κάθε τύπου ξεχωριστά, και, επίσης, παράμετροι θέσης για κάθε αμινοξικό κατάλοιπο, σε κάθε μια από τις τρείς θέσεις των γ- στροφών. Τέλος, αναπτύχθηκε προγνωστικός στατιστικός αλγόριθμος, με χρήση των τιμών παραμέτρων θέσης με τη μέθοδο των Chou & Fasman, καθώς επίσης σχεδιάστηκε και υλοποιήθηκε βάση δεδομένων γ- στροφών σφαιρικών, υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών.

ANALYSIS OF γ-TURNS IN PROTEIN STRUCTURES

Kyriakouli Konstantina, Hamodrakas Stavros
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01

The γ-turns are the second most well-characterized and commonly found tight turns after the β-turns in proteins. They are comprised of three (3) amino acid residues and they are marked by the existence of a hydrogen bond between the backbone NH of the third residue in the turn and the backbone CO of the first residue in the turn. Such hydrogen bonds are expected to be comparatively weak. γ-Turns fall into two main categories, classic and inverse, according to the dihedral angles, phi and psi of the middle (second) residue in the turn. They are thought to be involved in folding compact globular structures and to participate in molecular recognition effects, because they usually occur on the exposed surfaces of globular, water-soluble protein structures. For the purpose of studying γ-turns in proteins, a representative set of PDB chain IDs was collected from the PDBselect database (25% redundancy cutoff). Transmembrane protein IDs were removed from the set, by cross–reference with the PDB-TM database of transmembrane proteins. The PDB database was then used as the source for the structural data of the remaining set of chain IDs and the respective PDB files were used as input to the algorithm PROMOTIF, in order to generate as output the sites of γ-turns in these protein chains as they are assigned by the algorithm. In addition, statistical data was derived for both types of γ-turns, classic and inverse, and propensity values for every amino acid at any given position in the turn were calculated by normalizing their frequency of appearance. A simple statistical prediction algorithm was developed using these propensity values and a database storing all collected data was designed and implemented.

ΑΥΞΗΜΕΝΟΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟΣ ΣΙΔΗΡΟΣ ΣΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΝΑ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑ E. coli

Ελένη Κωνσταντινοπούλου, Σωτήρης Τσάκας
Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Το H_2O_2 παράγεται από διάφορους κυτταρικούς τύπους και λειτουργεί ως σηματοδοτικό μόριο, απενεργοποιώντας τη φωσφατάση των πρωτεϊνικών τυροσινών. Από την άλλη μεριά, σύμφωνα με την αντίδραση Fenton (Fe2+ + H2O2 Fe3+ + OH. + OH–) ο σίδηρος διασπά το H2O 2 και κατ' επέκταση μειώνει τη συγκέντρωση του. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η παραγωγή και η συμμετοχή του H_2O_2 στην κυτταροφαγία E.coli από τα ανθρώπινα πολυμορφοπύρηνα κύτταρα, καθώς και η επίδραση του ενδοκυττάριου σιδήρου στη διαδικασία, με δεδομένη τη διάσπαση του H_2O_2 από αυτόν. Για τη μελέτη του ρόλου του H_2O_2 χρησιμοποιήθηκε το εξειδικευμένο μόριο διυδροροδαμίνη (DHR) που αυξάνει ο φθορισμός της όταν οξειδώνεται από αυτό, καθώς και φθορίζοντα βακτήρια E. coli. Για τον προσδιορισμό του ενδοκυττάριου σιδήρου χρησιμοποιήθηκε η φθορίζουσα καλσεΐνη της οποίας ο φθορισμός μειώνεται όταν συμπλοκοποιηθεί με άτομα σιδήρου. Πειράματα κυτταρομετρίας ροής έδειξαν ότι όσο μεγαλύτερη είναι η παραγωγή H_2O_2 από τα πολυμορφοπύρηνα τόσο μεγαλύτερη είναι και η κυτταροφαγία E.coli. Η χρήση αναστολέων για τα ένζυμα της σύνθεσής του H_2O_2, NEM για την NADPH οξειδάση και DDC για τη δεσμουτάση του υπεροξεικού ανιόντος, επιβεβαίωσε τον ενεργό ρόλο του H_2O_2 στη ρύθμιση της κυτταροφαγίας. Οι αναστολείς αυτοί μείωσαν την παραγωγή του H_2O_2 και ταυτόχρονα και την κυτταροφαγία βακτηρίων. Παράλληλα, προσδιορίστηκε στα πολυμορφοπύρηνα κύτταρα και ο ενδοκυττάριος σίδηρος. Η συσχέτιση ενδοκυττάριου σιδήρου και κυτταροφαγίας, έδειξε ότι άτομα με αυξημένο ενδοκυττάριο σίδηρο εμφανίζουν μειωμένη κυτταροφαγία. Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα, ο ενδοκυττάριος σίδηρος φαίνεται να σχετίζεται με μείωση της κυτταροφαγίας βακτηρίων, πιθανόν λόγω της διάσπασης του παραγόμενου H_2O_2, με αποτέλεσμα την μείωση της τελικής παραγωγής του.

INCREASED LABILE IRON POOL IN HUMAN POLYMORPHONUCREAR BLOOD CELLS, APPEARS TO BE RELATED WITH DECREASED E. coli PHAGOCYTOSIS

Eleni Konstantinopoulou, Sotiris Tsakas
Laboratory of Biology – Department of Biology, University of Patras

Several cell types produce H_2O_2, which acts as a signalling molecule, via deactivation of protein tyrosine phosphatase. On the other hand, iron decomposes H_2O_2 and in this way, decreases its concentration, according to Fenton reaction (Fe2+ + H_2O_2 Fe3+ + OH. + OH–). In the present work, we investigated the production and participation of H2O2 in the phagocytosis of E. coli by the human polymorphonuclear cells and also the effect of labile iron pool (intracellular iron) in this process, given the decomposition of H_2O_2, which it generates. For this purpose, specific fluorescent probe dihydrorhodamine (DHR), which is oxidised by H_2O_2, and fluorescent E. coli were used. The fluorescent calcein was used to estimate labile iron pool, since its fluorescence is lost, when it chelates with iron cations. Flow cytometry analysis revealed that increased production of H_2O_2 by polymorphonuclears, is followed by increased phagocytosis of E. coli. The use of specific enzyme inhibitors, NEM for the NADPH oxidase and DDC for superoxide dismutase, confirmed the active role of H_2O_2, in the regulation of phagocytosis. Both inhibitors reduced H_2O_2 production and at the same time, decreased bacterial phagocytosis. In parallel, labile iron pool was estimated in polymorphonuclear cells. The correlation of intracellular iron with phagocytosis revealed that individuals with increased labile iron pool showed decreased phagocytosis. This data suggests that labile iron pool appears to be correlated with reduced bacterial phagocytosis, possibly due to the decomposition of H_2O_2 that it generates, thus resulting in a final decreased of its production.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΙΚΑΝΩΝ ΝΑ ΑΝΑΓΟΥΝ ΤΟ ΕΞΑΣΘΕΝΕΣ ΧΡΩΜΙΟ ΑΠΟ ΠΟΣΙΜΟ ΝΕΡΟ

Κωνσταντινίδης Δημήτριος[1], Μιχαηλίδης Μιχαήλ[2], Τεκερλεκοπούλου Αθανασία[2], Σάκουλα Δήμητρα[1], Γιάγκου Μηνάς[1]

1 Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ. 2 Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδος

Το χρώμιο αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους ρυπαντές του περιβάλλοντος. Μικρές συγκεντρώσεις χρωμίου στο πόσιμο νερό είναι άοσμες, άχρωμες και άγευστες, επομένως είναι δύσκολο να εντοπιστούν. Με βάση τις σχετικές οδηγίες της Ε.Ε. δεν υπάρχει υποχρεωτικό όριο για την ποσότητα του χρωμίου στο νερό, όμως συνήθως προτείνεται ως ανώτερο επιτρεπτό όριο τα 50 μg συνολικού χρωμίου. Τα τελευταία χρόνια παρουσιάζεται ενδιαφέρον για τη βιολογική απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου με αναγωγή του μετάλλου από ανθεκτικά βακτηριακά στελέχη. Στην εργασία αυτή απομονώθηκαν βακτηριακά στελέχη που προέρχονταν από πόσιμο νερό της περιοχής του Ασωπού ποταμού με σκοπό να προσδιοριστεί η συγκέντρωση ανοχής τους στο Cr(VI), καθώς και η ικανότητα αναγωγής του μετάλλου σε τρισθενές. Από τα συγκεκριμένα δείγματα δημιουργήθηκαν μεγάλου όγκου καλλιέργειες, οι οποίες χρησιμοποιούσαν ως πηγή άνθρακα τη ζάχαρη ή τη μελάσα. Από τις καλλιέργειες αυτές απομονώθηκαν πέντε διαφορετικά βακτηριακά στελέχη, το ένα εκ των οποίων (Ν1)έχει την ικανότητα να ανάγει πλήρως συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου έως και 2 mg/lCr(VI) σε χρονικό διάστημα 10 ωρών, ενώ παρουσιάζει ανθεκτικότητα μέχρι και τη συγκέντρωση των 4 mg/lCr(VI). Η παραπάνω δράση πιθανά οφείλεται σε γονιδιακή δράση που σχετίζεται με αναγωγή, απομάκρυνση και DNA-επιδιόρθωση. Για το συγκεκριμένο στέλεχος που απομονώθηκε από την καλλιέργεια που περιείχε μελάσα εφαρμόστηκαν μοριακές (ενίσχυση τμήματος του γονιδίου 16SrRNA) και βιοχημικές μέθοδοι για την ταυτοποίηση του στελέχους και κατασκευάστηκε πιθανό φυλογενετικό δέντρο που δείχνει ότι πιθανά να ανήκει στο γένος Klebsiella. Επιπλέον, απομονώθηκαν τρία διαφορετικά στελέχη μυκήτων, τα οποία παρουσίαζαν ανθεκτικότητα σε συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου έως και 20 mg/lCr(VI), χωρίς όμως εμφανή ικανότητα αναγωγής του μετάλλου. Από τα παραπάνω κρίνεται σκόπιμη η περαιτέρω διερεύνηση του βακτηριακού στελέχους που απομονώθηκε, ως εργαλείο για την διαχείριση και βιοαπορύπανση πόσιμων υδάτων. Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΕΣΠΑ-ΘΑΛΗΣ.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MICROORGANISMS CAPABLE TO REDUCE HEXAVALENT CHROMIUM FROM DRINKING WATER

Konstantinidis Dimitrios[1], Michailidis Michail[2], Tekerlekopoulou Athanasia[2], Sakoula Dimitra1, Yiangou Minas[1]

1. Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, AUTH 2. Dept. of Environ. & Natural Resources Management Univ. Western Greece

Chromium belongs to the major pollutants of the natural environment. Low concentration of chromium in drinking water is odorless, colorless and without taste, and thus not easily detectable. According to E.U guidelines there is not a mandatory limit for the total concentration of chromium in water. However, a maximum limit of 50 μg of total chromium is suggested. Nowadays there is great interest in hexavalent chromium biodegradation by resistant bacterial strains. In this study bacterial strains isolated from drinking water from the Asopos river region were examined for their capacity to tolerate hexavalent chromium as well as their ability to reduce it. Isolates were obtained from large scale cultures containing molasses or sugar as a carbon source and sample water. Five different bacterial strains were isolated, one of which, labeled as N1 strain, had the ability to completely reduce 2 mg/l Cr(VI) within 10 hours. The N1 strain can also tolerate 4 mg/l Cr(VI). Cr (VI) reduction by N1 strain may be due to chromate reductase, extracellular transfer and DNA-repair gene activity. Molecular (amplification of a part of the 16S rRNA gene) and biochemical methods were applied for the identification of the specific strain which was isolated from the molasses culture. A potential phylogenetic tree was constructed which indicates that the strain may belong to the Klebsiella genus. Moreover three fungi isolates, although resistant to 20 mg/l Cr(VI), were not able to reduce it. Future research should be conducted on the isolated bacterial strain, to be used as a tool for the management and the biological decontamination of drinking water resources.
Research Funding Program: NSRF-THALIS.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΔΟΜΗΣ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΥΖΕΥΓΜΑΤΩΝ ΧΛΩΡΑΜΦΑΙΝΙΚΟΛΗΣ ΜΕ ΠΟΛΥΑΜΙΝΕΣ

Κωστοπούλου Ουρανία[1], Μαγουλάς Γεώργιος[2], Παπαϊωάννου Διονύσιος[2], Καλπαξής Δημήτριος[1]

1Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών GR-2650, Πάτρα, Ελλάδα 2Εργαστήριο Οργανικής Συνθετικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών GR-2650, Πάτρα, Ελλάδα

Η χλωραμφαινικόλη (CAM) είναι ένα σημαντικό αντιβιοτικό που έχει ευρέως χρησιμοποιηθεί κλινικά, κυρίως στη θεραπεία των λοιμώξεων του οφθαλμού. Αναστέλλει τη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών, στοχεύοντας το κέντρο της πεπτιδυλο-τρανσφεράσης που εδράζεται στη μεγάλη ριβοσωματική υπομονάδα. Προηγούμενες μελέτες μας έχουν δείξει, ότι η παρουσία πολυαμινών στο ιοντικό περιβάλλον επηρεάζουν την πρόσδεση της CAM στο ριβόσωμα. Αυτές οι παρατηρήσεις μας ώθησαν να συνθέσουμε τρία ανάλογα της CAM που φέρουν μία μονάδα σπερμιδίνης (mag221), σπερμίνης (CLB3), ή πουτρεσκίνης (CLB7), συζευγμένη στο διχλωρο-μεθυλο-άκρο του μορίου του αντιβιοτικού. Μετά την ταυτοποίησή τους με Φασματοσκοπία Μάζας, τα πολυαμινικά ανάλογα της CAM δοκιμάστηκαν για την ικανότητά τους να αναστέλλουν το σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού σε in vitro πρωτεϊνο-συνθετικό σύστημα προερχόμενο από το βακτήριο Escherichia coli. Όλα τα ανάλογα βρέθηκαν να αλληλεπιδρούν με τα ριβοσώματα μέσω ενός μηχανισμού δύο-σταδίων, και να συμπεριφέρονται ως βραδέως προσδενόμενοι συναγωνιστικοί αναστολείς του σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού. Η ολική ανασταλτική δραστικότητα του CLB7 βρέθηκε να είναι ακριβώς όμοια (Ki*= 0.90 μM) με εκείνη της μητρικής ένωσης CAM (Ki*= 0.88 μM). Αντίθετα, το ανάλογο CLB3 βρέθηκε να είναι ισχυρότερος αναστολέας (Ki*= 0.60 μM) απ΄ότι η CAM, ενώ το ανάλογο mag221 επέδειξε τη χαμηλότερη ανασταλτική δραστικότητα (Ki*= 1.2 μM). Η σειρά αυτή δραστικότητας εισηγείται ότι η σύζευξη της σπερμίνης με την CAM αυξάνει τη συγγένεια του αντιβιοτικού προς το ριβόσωμα, περισσότερο από κάθε άλλη πολυαμίνη. Συνεπώς, συζευγμένα μόρια σπερμίνης-CAM θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως ενώσεις-οδηγοί στη σύνθεση νέων αναλόγων της CAM με βελτιωμένες αντιβακτηριακές ιδιότητες.

SAR-ANALYSIS OF CHLORAMPHENICOL-POLYAMINE CONJUGATES

Kostopoulou Ourania[1] „ MagoulasGeorge [2], Papaioannou Dionysios [2], Kalpaxis Dimitrios[1]
1Department of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, GR-26504 Patras, Greece
2Laboratory of Synthetic Organic Chemistry, Department of Chemistry, University of Patras, GR-26504 Patras, Greece.

Chloramphenicol (CAM) is an important drug that has been widely used in clinical applications, notably in the treatment of eye infections. It inhibits protein biosynthesis by targeting the peptidyl transferase center on the large ribosomal subunit. We have previously demonstrated that the presence of polyamines in the ionic environment facilitates the binding of CAM to ribosomes. These observations prompted us to synthesize three analogs of CAM, harboring one spermidine (mag221), one spermine (CLB3), or one putrescine (CLB7) unit conjugated to the CAM scaffold through its dichloro-methyl edge. After characterization with MS-spectroscopy, the CAM-polyamine conjugates were tested for their ability to inhibit peptide bond formation in Escherichia coli ribosomes. All conjugates were found to interact with ribosomes via a two-step mechanism, behaving as slow-binding competitive inhibitors of peptide-bond formation. The overall inhibitory activity of CLB7 was quite similar (Ki*= 0.90 μM) to that exhibited by the parent compound CAM (Ki*= 0.88 μM). In contrast, CLB3 was found to be stronger inhibitor of peptide-bond formation (Ki*= 0.60 μM) than CAM, while mag221 exhibited the lowest inhibitory activity (Ki*= 1.2 μM). This trend of potency suggests that the coupling of spermine with CAM improves the affinity of the drug to the ribosome, much more than other polyamines do. Therefore, CAM-spermine conjugates could be used as lead compounds for designing new CAM analogs with superior antibacterial properties.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ PAECILOMYCES VARIOTII ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΑΠΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΠΛΟΥΣΙΑ ΣΕ ΗΜΙΚΥΤΤΑΡΙΝΗ

Κωνσταντίνος Κωτσαρίδης, Μιλτιάδης Καμπουρίδης, Αναστασία Π. Γαλανοπούλου, Αλέξανδρος Σαββίδης, Αμαλία Δ. Καραγκούνη, Δημήτρης Γ. Χατζηνικολάου
Ομάδα Μικροβιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784 Ζωγράφου, Αθήνα

Η παραγωγή βιοκαυσίμων αποτελεί ώριμη τεχνολογία για την παραγωγή ενέργειας για μεταφορές. Όμως η ευρεία χρήση βιοαιθανόλης 1ης γενεάς που παράγεται από άμυλο καλαμποκιού (ΗΠΑ) ή σακχαρόζη σακχαροκάλαμου (Βραζιλία) προβληματίζει, καθώς έχει οδηγήσει σε αλλαγή χρήσης γης και αύξηση της τιμής υδατανθράκων που χρησιμοποιούνται στην ανθρώπινη διατροφή. Ως εναλλακτική λύση προτείνονται τα 2ης γενιάς βιοκαύσιμα, η παραγωγή των οποίων βασίζεται στην υδρόλυση και ζύμωση της κυτταρίνης και ημικυτταρίνης των αγροτικών παραπροϊόντων. Η χρήση τους προϋποθέτει την υδρόλυση των εν λόγω πολυσακχαριτών και τη ζύμωση των παραγόμενων σακχάρων προς αιθανόλη. Η πραγματοποίηση της όλης διεργασίας σε ένα στάδιο και από ένα μικροοργανισμό ο οποίος εκκρίνει κυτταρινάσες και ξυλανάσες (αερόβια) ενώ ταυτόχρονα ζυμώνει εξόζες και πεντόζες (αναερόβια) είναι ιδιαίτερα επιθυμητή καθώς συμβάλει εμφανώς στην οικονομικότητα της συνολικής διεργασίας. Ο μύκητας Paecilomyces variotii διαθέτει σε ικανοποιητικό βαθμό τα παραπάνω χαρακτηριστικά και μελετάται στο εργαστήριο μας προς τη κατεύθυνση αυτή. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν στην αριστοποίηση της παραγωγής κυτταρινάσης και ξυλανάσης κατά την αερόβια ανάπτυξη του μύκητα σε υγρές καλλιέργειες λιγνινοκυτταρινούχων υποστρωμάτων. Η διεργασία αριστοποιήθηκε ως προς τη θερμοκρασία και το pH καλλιέργειας καθώς και ως προς την αρχική συγκέντρωση του στερεού υποστρώματος. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως ο P. variotii παράγει υψηλές συγκεντρώσεις κυρίως ξυλανάσης κατά την ανάπτυξή του σε στερεό υπόλειμμα ζυθοποιίας (Brewers' Spent Grain). Στη συνέχεια, αριστοποιήθηκε η παραγωγή αιθανόλης κατά τη ζύμωση γλυκόζης και πεντοζών (ξυλόζη και αραβινόζη) υπό αναερόβιες συνθήκες. Διαπιστώθηκε πως ο P. variotii μπορεί και ζυμώνει πεντόζες σε ρυθμούς ανάλογους ή και καλύτερους από τη γλυκόζη. Συνολικά τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν πως ο εν λόγω μύκητας διαθέτει σημαντικές δυνατότητες αξιοποίησης στην παραγωγή βιοαιθανόλης από υποστρώματα πλούσια σε ημικυτταρίνη.

ASSESSMENT OF THE FUNGUS PAECILOMYCES VARIOTII IN THE PRODUCTION OF BIOETHANOL FROM HEMICELLULOSE RICH SUBSTRATES

Konstantinos Kotsaridis, Miltiadis Kampouridis, Anastasia P. Galanopoulou, Alexander Savvides, Amalia D. Karagouni, Dimitris G. Hatzinikolaou

Microbiology Group, Sector of Botany, Department of Biology, University of Athens, University Campus at Zografou, 15784 Attica, Greece

Biofuel production is a mature technology for the production of transportation energy. But the widespread use of first generation bioethanol, produced from corn starch (U.S.) or sugar cane sucrose (Brazil), has raised significant concern, as it has led to land-use change and increased selling prices for carbohydrates used in human nutrition. As an alternative, second-generation biofuels are proposed, whose production is based on the hydrolysis and fermentation of the cellulose and hemicellulose present in agricultural byproducts. Their use requires the efficient hydrolysis of the above polysaccharides and the fermentation of the resulting sugars to ethanol. The realization of the entire process in one stage and by one microorganism which secretes cellulases and xylanases (aerobically) while fermenting hexoses and pentoses (anaerobically) is of particular importance since it obviously contributes to the economics of the overall process. The fungus Paecilomyces variotii shares many of these traits and has been studied in our laboratory towards this direction. This paper presents the results concerning the optimization of cellulase and xylanase production during the aerobic growth of the fungus in liquid cultures on lignocellulosic substrates. The process was optimized for temperature and pH as well as for the initial concentration of the solid substrate. The results showed that P. variotii produces high concentrations of mainly xylanase during its growth on Brewers' Spent Grain. In addition, we studied the ethanol production during fermentation of glucose and pentoses (xylose and arabinose) under anaerobic conditions. It was found that P. variotii can ferment xylose at rates similar to, or better than glucose. In overall, these results suggest that the fungus has significant potential for exploitation in bioethanol production from hemicellulose-rich substrates.

ΤΑ ΨΑΡΙΑ ΣΤΗΝ ΑΔΗΜΟΣΙΕΥΤΗ ΕΚΔΟΣΗ 'FAUNA GRAECA SIBTHORPIANA' ΑΠΟ ΤΟ ΨΗΦΙΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΥΛΙΚΟ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΤΗΣ ΟΞΦΟΡΔΗΣ

Λάγγα Ηλιάνα, Μεγαλοφώνου Περσεφόνη
Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας-Θαλάσσιας Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ζωγράφου 157 72 , Αθήνα

Η Fauna Graeca Sibthorpiana είναι μια σημαντική συλλογή ζωολογικών σχεδίων ειδών της Ελληνικής πανίδας, με δημιουργούς τους John Sibthorp και Ferdinand Bauer η οποία, δυστυχώς, έμεινε ανολοκλήρωτη και αδημοσίευτη, λόγω του θανάτου του J. Sibthorp. Σήμερα ανήκει στη βιβλιοθήκη των Βοτανικών κήπων του Πανεπιστημίου της Οξφόρδης και είναι διαθέσιμη σε ψηφιοποιημένη μορφή. Ο J. Sibthorp, ο συγγραφέας, και ο F. Bauer, ο ζωγράφος των σχεδίων, πραγματοποίησαν από το 1785 έως το 1787 ταξίδια στην Ελλάδα και στις γύρω περιοχές της Λεβαντίνης και επιστρέφοντας στο Λονδίνο, έφεραν μαζί τους σημειώσεις, δείγματα και σχέδια. Ο βασικός σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετήσει και να ταξινομήσει τα σχέδια που απεικονίζουν είδη ψαριών, τα οποία καταλαμβάνουν ολόκληρο τον δεύτερο τόμο της Fauna Graeca και μέρος του πρώτου. Ως κριτήρια για την ταξινόμηση αυτή χρησιμοποιούνται η συστηματική (σε επίπεδο ομοταξίας, τάξης, οικογένειας, γένους) και το περιβάλλον των απεικονιζόμενων ειδών, καθώς επίσης η κατηγορία στην οποία κατατάσσονται με βάση τη Red List της IUCN. Για το κάθε σχέδιο ξεχωριστά παρουσιάζονται το όνομα που του έχει αποδοθεί στην Fauna Graeca, η σημερινή του ονομασία, το κοινό του όνομα, στοιχεία μορφολογίας, οικολογίας και γεωγραφικής κατανομής. Πρόκειται για 131 σχέδια συνολικά. Σε αυτά απεικονίζονται κυρίως Ακτινοπτερύγιοι (93,8%) και Ελασματοβράγχιοι Χονδριχθύες (6,2%). Ωστόσο, κάποια είδη απουσιάζουν από τις ελληνικές θάλασσες (9,2%). Υπάρχουν, επίσης, 18 σχέδια τα οποία δεν φέρουν καμία ονομασία, 7 σχέδια στα οποία αναγράφεται μόνο το γένος και 12 σχέδια των οποίων η σημερινή ονομασία δεν βρέθηκε. Τα περισσότερα είδη ανήκουν στη θαλάσσια ιχθυοπανίδα (84,7%). Μεταξύ αυτών, αναγνωρίζονται μερικά πολύ κοινά είδη των ελληνικών θαλασσών, όπως τα Merluccius merluccius (μπακαλιάρος), Pagrus pagrus (φαγκρί), Sparus aurata (τσιπούρα), Boops boops (γόπα), Mullus barbatus (κουτσομούρα) και Engraulis encrasicolus (γαύρος). Από τα ψάρια του γλυκού νερού (15,3%) κάποια είδη είναι ανάδρομα (4,7%), τα Salmo trutta trutta, Acipenser sturio, Perca fluvitialis και Pelecus cultratus και κάποια κατάδρομα (3,5%), τα Anguilla anguilla, Liza ramada και Platichthys flesus.

FISH IN THE UNPUBLISHED EDITION 'FAUNA GRAECA SIBTHORPIANA\' FROM THE DIGITIZED MATERIAL OF THE OXFORD UNIVERSITY

Lagga Iliana, Megalofonou Persefoni
Department of Biology, Section of Zoology-Marine Biology, University of Athens, Zografou 157 72, Greece

Fauna Graeca Sibthorpiana is an important collection of zoological drawings of species of the Greek fauna. Its authors are John Sibthorp and Ferdinand Bauer. Unfortunately, because of the death of J. Sibthorp, it was left unfinished and unpublished. At present, it belongs to the library of the Botanic Garden at Oxford University and has been digitized. J. Sibthorp, the author, and F. Bauer, the painter of the drawings, traveled in Greece and the Levant from 1785 to 1787 and when they returned to London, they brought along notes, samples and drawings. The main purpose of the present work is to study and classify the drawings that depict species of fish, which occupy the entire second volume of Fauna Graeca and part of the first. The criteria of this classification include the Class and the Order of the depicted species, their environment and the Red List IUCN category they are listed in. For each one of the species, the Fauna Graeca name, the contemporary scientific name and the common name are presented, as well as information about their morphology, their ecology and their geographic distribution. There are 131 drawings of fish in total. They depict mostly Aktinopterygii (93,8%) and Elasmobranchii (6,2%). However, some species are absent from the Greek seas. There are also 18 drawings that bear no name or comments, 7 drawings which bear only the name of the genus and 12 drawings of which the present name could not be found based on the information provided. Most of the species are marine (84,7%). Some very common species of fish of the Greek seas are depicted in the Fauna Graeca, such as Merluccius merluccius , Pagrus pagrus, Sparus aurata, Boops boops, Mullus barbatus and Engraulis encrasicolus. Among the fresh water fishes (15,3%), there are some anadromous ones (4,7%), Salmo trutta trutta, Acipenser sturio, Perca fluvitialis and Pelecus cultratus and some catadromous ones (3,5%), Anguilla anguilla, Liza ramada and Platichthys flesus.

Η ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ ΚΑΙ ΜΕΤΡΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Λαζαρίδου Μαρία
Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Η οικολογική ποιότητα στα Ελληνικά ποτάμια μελετήθηκε με τη χρήση βιολογικών στοιχείων (βενθικών μακροασπονδύλων), ανάλυσης χρήσεων γης (Corine analysis), ανάλυσης ενδιαιτημάτων (RHS), ανάλυσης επικινδυνότητας και διαχείρισης κινδύνου (DPSIR & Impress analysis). Εφαρμόζοντας δύο συστήματα αξιολόγησης για την οικολογική ποιότητα των υδάτων, τον Ευρωπαϊκό πολυμετρικό δείκτη (STAR_ICMi) και τον Ελληνικό (HESY), σε 831 σταθμούς από 32 λεκάνες απορροής, διαβαθμισμένα μεταξύ τους, βρέθηκε ότι αυτά συμφωνούν στην εκτίμηση της ποιότητας όταν η ποιότητα είναι κατωτέρα της καλής. Ενώ όταν η ποιότητα είναι καλή-εξαιρετική αυτή εξαρτάται από την εποχή, το υψόμετρο και τη γεωλογία. Οι παραπάνω σταθμοί, ανήκουν σε 242 RM-1 (ποτάμια με μεγάλο υψόμετρο 200-800m και μικρές λεκάνες απορροής), 170 RM-2 (σε υψόμετρο < 600 m), 258 RM-3 (μεγάλα ποτάμια), 108 RM-4 (με ασβεστολιθικό υπόβαθρο και 400-1500 m υψόμετρο), 44 RM-5 (εφήμερα ποτάμια) και 9 σε λεκάνες απορροής 600 μ.) και ημιορεινών (150-600μ), το 80% είναι φυσικό ή μη τροποποιημένο ως προς τις μορφολογικές τροποποιήσεις και το 20% ιδιαίτερα τροποποιημένο. Στις πεδινές περιοχές (>150 m) το 52% είναι ιδιαίτερα τροποποιημένο. Η ποιότητα είναι συνδεδεμένη με την κάλυψη γης (αγροτικές, αστικές επιφάνειες κ.λπ.), τις σημειακές πηγές ρύπανσης και τις γεωτρήσεις / αρδεύσεις. Από 23 λεκάνες, όπου έγινε και η μελέτη επικινδυνότητας βρέθηκε ότι σε 9 (39%) εξαιτίας των μορφολογικών πιέσεων και σε 2 (9%) εξαιτίας των πιέσεων ρύπανσης υπάρχει κίνδυνος μη επίτευξης του στόχου της Οδηγίας 2000/60 Ε.Κ. για καλή ποιότητα ως το 2015 και χρειάζεται άμεση εφαρμογή προγράμματος μέτρων και μακροπρόθεσμο πρόγραμμα μέτρων αποκατάστασης για τη διαχείριση του κινδύνου.

THE ECOLOGICAL QUALITY OF GREEK RIVERS AND MANAGEMENT MEASURES

Lazaridou M.
School of Biology, University of Thessaloniki

The ecological quality in Greek rivers was studied using biological elements (benthic macroinvertebrates), land use (Corine analysis), habitats' analysis (RHS), risk assessment and Risk Management analysis (DPSIR & IMPRESS). Applying two systems for assessing the water quality, the European Multimetric index (STAR_ICMi) and the Hellenic Evaluation System (HESY), intercalibrated, from 831 stations and 32 basins it was found that they are consistent when the water quality is less than good. Whereas when the quality is good/excellent, agreement depends on altitude, catchment's area and geology. The above studied stations belong to 242 stations of RM-1 type (altitude 200-800m and small basin), 170 of RM-2 (less than 600m of altitude), 258 of RM-3 (large rivers), 108 of RM-4 (with limestone background and 400-1500 m altitude), 44 of RM-5 (ephemeral rivers) and 9 with a catchment of 600m) and hilly areas (150-600m) the 80% was found to be natural or not modified as to the morphological alterations and 20% highly modified. In lowland areas (>150m), though, 52% was found to be highly modified. The quality is associated with land cover (agricultural, urban areas, etc.), point sources of pollution, drilling and irrigation. Of the 23 basins, 9 (39%) were found to be in danger because of morphological pressures and 2 (9%) because of pollution pressures, risking not achieving the Directive objective 2000/60 EC for good quality up to 2015 if immediate implementation of a program of measures and long term program of rehabilitation are not applied as a risk management perspective.

ΕΙΝΑΙ Η ΣΧΕΣΗ ΑΡΙΘΜΟΥ ΕΙΔΩΝ-ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΑΘΟΛΙΚΗ ΣΕ ΜΙΚΡΗ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ;

Λαζαρίνα Μαρία[1], Καλλιμάνης Αθανάσιος[2], Σγαρδέλης Στέφανος[1]
1 Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. E-mail: mlazarin@bio.auth.gr, sgardeli@bio.auth.gr. 2 Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος & Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδας. E-mail: akallim@cc.uoi.gr.

Η καθολικότητα του σχήματος της καμπύλης της σχέσης αριθμού ειδών-επιφάνειας (SAR) αποτελεί αντικείμενο συζήτησης στο πεδίο της οικολογίας. Πρόσφατα, οι Storch et al. (2012) υποστήριξαν ότι η SAR είναι καθολική στην ευρεία κλίμακα των ηπείρων μετά την εφαρμογή μετασχηματισμού που σταθμίζει τον άξονα της επιφάνειας με το μέσο εύρος διανομής των ειδών και τον άξονα του αριθμού ειδών με τον αριθμό ειδών σε επιφάνεια ίση με το μέσο εύρος.. Ο μετασχηματισμός αυτός, σύμφωνα με τους συγγραφείς, παράγει ένα καθολικό μοντέλο το οποίο είναι ανεξάρτητο της ταξινομικής ομάδας και της ηπείρου. Στην παρούσα εργασία, διερευνούμε εάν η καθολικότητα του μετασχηματισμού της SAR ισχύει σε μικρότερες από την ηπειρωτική κλίμακα. Στην ανάλυση μας χρησιμοποιήσαμε δεδομένα παρουσίας φυτών, πουλιών και πεταλούδων. Παράλληλα, εφαρμόσαμε μια εναλλακτική προσέγγιση, μετασχηματίζοντας τον άξονα της επιφάνειας με την έκταση της περιοχής και τον άξονα του αριθμού ειδών με το συνολικό αριθμό ειδών της περιοχής (γ-ποικιλότητα). Ο μετασχηματισμός των Storch et al. (2012) απαλείφει τις διαφορές των καμπυλών που οφείλονται στις διαφορές της έκτασης και της διακύμανσης της γ-ποικιλότητα. Μετά τον μετασχηματισμό, οι διαφορετικές καμπύλες παρουσιάζουν μικρότερες διαφορές, αλλά δε συγκλίνουν σε μια καθολική καμπύλη. Η διακύμανση που παρατηρείται μετά την εφαρμογή του μετασχηματισμού είναι ανεξάρτητη της κλίμακας και της βιογεωγραφικής περιοχής και σχετίζεται με τη β-ποικιλότητα. αντανακλά δηλαδή τη διαφοροποίηση της σύνθεσης ειδών στο χώρο. Η παρούσα έρευνα έχει χρηματοδοτηθεί από το ΕΣΠΑ – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ.

DOES THE UNIVERSALITY OF THE SPECIES-AREA RELATIONSHIP APPLY TO FINER SCALES AND ACROSS TAXONOMIC GROUPS?

Lazarina Maria[1], Kallimanis A.S[2], Sgardelis S.P.[1]
1 Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki. mlazarin@bio.auth.gr, sgardeli@bio.auth.gr. 2Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Western Greece. akallim@uwg.gr.

The universality of the shape of the species-area relationship (SAR) is subject to regular debate. Recently, Storch et al. (2012) argued that species-area relationships collapse into a single curve at continental scales after the axes are rescaled, with the area-axis being adjusted for the mean range size of species and the species-axis being adjusted for the species richness of an area equal to mean range size. It has been claimed that this rescaling generates a universal model invariant of taxon and continent, and that it is driven by differences in range sizes. Here, we test the universality of the rescaled SAR across scales smaller than the continental-level, using presence data for plants, birds and butterflies. We also test an alternative rescaling approach, by using the total extent of the study area and total species richness. At the scales analysed here, we found that the proposed rescaling by Storch et al. adjusts for differences in the extent of the study area and for variation in gamma diversity. Consequently, while the rescaled curves were closely aligned, they did not converge into a single curve. The observed remaining variation is independent of scale and biogeographical region, and is correlated with beta diversity; thus, it reflects the differentiation of species composition in space. This research has been financed by NSRF - Research Funding Program: Heracleitus II.

ΠΟΙΑ ΕΙΝΑΙ Η ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΤΩΝ ΑΣΥΝΕΧΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΠΤΙΚΩΝ ΣΧΕΔΙΩΝ;

Λαζαρίνα Μαρία[1], Καλλιμάνης Αθανάσιος[2], Σγαρδέλης Στέφανος[1]
1 Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. E-mail: mlazarin@bio.auth.gr, sgardeli@bio.auth.gr. 2 Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος & Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδας. E-mail: akallim@cc.uoi.gr.

Η σχέση αριθμού ειδών-επιφάνειας αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για την εκτίμηση του αριθμού ειδών μιας περιοχής και για την πρόβλεψη του αριθμού ειδών που αναμένεται να εξαφανιστούν μετά από την απώλεια ή τον κατακερματισμό των ενδιαιτημάτων. Οι καμπύλες αριθμού ειδών-επιφάνειας κατασκευάζονται συνήθως από χωρικά ασυνεχή δεδομένα. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η εκτίμηση της συνεχούς επιφάνειας «πραγματική επιφάνεια δειγματοληψίας» (Ae), που περιλαμβάνει αριθμό ειδών ίσων με εκείνη μιας ασυνεχούς δειγματοληψίας. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με δεδομένα παρουσίας πλήρους χωρικής κάλυψης φυτικών ειδών (Βρετανίας και Χολομώντα), πτηνών (Βρετανίας, Νέας Υόρκης, Σαν Ντιέγκο και Μασαχουσέτης) και πεταλούδων (Βρετανίας). Εφαρμόσαμε συνεχές δειγματοληπτικό σχέδιο και συστηματικά ασυνεχή και τυχαία δειγματοληπτικά σχέδια τα οποία διαφέρουν ως προς τη δειγματοληπτική ένταση για την εκτίμηση του αριθμού ειδών και την κατασκευή καμπυλών αριθμού ειδών-ι επιφάνειας. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε σύγκριση της καμπύλης αριθμού ειδών-συνεχούς επιφάνειας με αντίστοιχες καμπύλες αριθμού ειδών-δειγματοληπτικής επιφάνειας και αριθμού ειδών-έκτασης. Για τη σχέση μεταξύ της «πραγματική επιφάνειας» δειγματοληψίας και της συνολικής επιφάνειας δειγματοληψίας κατασκευάστηκε μοντέλο με τη χρήση μιας παραμέτρου. Για τη διερεύνηση των σημαντικών επεξηγηματικών μεταβλητών για την Ae, εφαρμόστηκε ανάλυση Γενικευμένων Γραμμικών Μοντέλων. Οι καμπύλες αριθμού ειδών-ασυνεχούς επιφάνειας υπερεκτιμούν τον αριθμό ειδών για οποιαδήποτε τιμή της επιφάνειας σε σύγκριση με την καμπύλη αριθμού ειδών-συνεχούς επιφάνειας. Το αντίθετο πρότυπο παρατηρήθηκε στην περίπτωση των καμπυλών αριθμού ειδών–έκτασης περιοχής οι οποίες υποεκτιμούν τον αριθμό ειδών. Η σχέση μεταξύ Ae και επιφάνειας δειγματοληψίας είναι γραμμική σε λογαριθμική κλίμακα. Η πραγματική επιφάνεια δειγματοληψίας αυξάνει με την απόσταση μεταξύ των δειγμάτων και τη β-ποικιλότητα, ενώ μειώνεται με τη δειγματοληπτική ένταση. Η παρούσα έρευνα έχει χρηματοδοτηθεί από το ΕΣΠΑ – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ.

HOW MUCH AREA IS SAMPLED BY IMPLEMENTING A NON-CONTIGUOUS SAMPLING DESIGN?

Lazarina Maria[1], Kallimanis A.S[2], Sgardelis S.P.[1]
1 Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki. mlazarin@bio.auth.gr, sgardeli@bio.auth.gr. 2Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Western Greece. akallim@uwg.gr.

The species-area relationship (SAR) is a powerful tool for extrapolation of species richness or for conservation biodiversity e.g. projecting biodiversity loss due to habitat loss or fragmentation. SARs are usually constructed by spatially sparse ecological data due to the difficulty of obtaining complete species list or performing exhaustive area biodiversity. Consequently, the majority of the resulting SARs are based on non-contiguous space, but are often handled as they are referring to contiguous area. Here, we attempt to estimate the "effective" area (Ae), defined as the contiguous area containing the equal number of species obtained from a sparse sampling design for a given accumulated sampled area, extent and average distance between samples. We used plant datasets of Great Britain and Mount Holomontas in Greece, breeding bird datasets of Great Britain, New York State, San Diego County and Massachusetts and butterfly datasets of Great Britain. We implemented a strictly nested sampling design, systematic nested non-contiguous and random designs characterized by different sampling intensity to construct species richness curves. The relationship between effective and sampled area was modeled by a parameter termed as k. A Generalized Linear Model analysis was used to test the significance of sampling design and dataset specific properties to k. The SARs obtained by non-contiguous design overestimate the species richness, while species-extent relationships systematically underestimate species richness of extent. The relationship between the effective area and sampled area is linear at log-log scale. The GLMs analysis revealed that «effective" area is positively correlated to the average distance between samples and beta diversity and negatively correlated to sampling intensity. This research has been financed by NSRF - Research Funding Program: Heracleitus II.

ΤΟ ΔΙΘΥΡΟ Abra (Lamarck, 1818) ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΒΟΥΛΙΑΓΜΕΝΗΣ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΕΙΔΟΣ A. segmentum (Recluz, 1843);

Λεγάκη Αγλαΐα[1], Κασαπίδης Παναγιώτης[2], Δόση Αγγελική[1], Νικολαΐδου Άρτεμις[1]
1/Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784 Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα, Ελλάδα - 2/Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, Θαλασσόκοσμος, 71500 Γούβες, Κρήτη, Ελλάδα

Προκειμένου να διερευνηθεί ο κύκλος ζωής του Δίθυρου A. segmentum σε παράκτιες υφάλμυρες λιμνοθάλασσες δείγματα Abra συλλέχθηκαν από τις λιμνοθάλασσες Κεραμωτής (Μακεδονία), Πάπα (Αχαΐα) και από τη Λίμνη Βουλιαγμένης (Αττική) όπου υπήρχε βιβλιογραφική αναφορά για την ύπαρξη του είδους. Η σχέση μεταξύ μήκους και ύψους του όστρακου από τα δείγματα της Βουλιαγμένης διέφερε στατιστικά σημαντικά από αυτές των δύο άλλων περιοχών και η εξωτερική περιγραφή του όστρακου παρέπεμπε στο είδος A. tenuis. Μοριακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε 5 άτομα Abra από τη Λίμνη Βουλιαγμένης και 17 από τη λιμνοθάλασσα Πάπας, με αλληλούχηση τμήματος 383 βάσεων του μιτοχονδριακού γονιδίου 16S rRNA. Οι αλληλουχίες των 5 ατόμων από τη Λίμνη της Βουλιαγμένης αντιστοιχούν σε 3 διαφορετικούς απλότυπους που διαφέρουν μεταξύ τους σε 1-2 νουκλεοτιδικές θέσεις και οι αλληλουχίες των 17 ατόμων από τη λιμνοθάλασσα Πάπας αντιστοιχούν σε 4 απλότυπους που διαφέρουν μεταξύ τους επίσης σε 1-2 νουκλεοτιδικές θέσεις. Η γενετική απόσταση μεταξύ των αλληλουχιών από τις δύο περιοχές, βασισμένη στο διπαραμετρικό μοντέλο του Kimura, είναι μεγάλη (7,2 %), γεγονός που υποδεικνύει ότι πρόκειται για γενετικά διαφοροποιημένους πληθυσμούς Abra (πιθανώς διαφορετικά είδη), επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα της μορφομετρικής σύγκρισης. Εντούτοις, λόγω της έλλειψης αλληλουχιών του είδους A. tenuis από τη φυλογενετική ανάλυση (δεν υπήρχαν διαθέσιμες ούτε στην παγκόσμια βάση γενετικών δεδομένων GenBank), δεν είναι βέβαιο αν το δείγμα από τη Λίμνη Βουλιαγμένης ανήκει στην A. tenuis ή αποτελεί γενετικά διαφοροποιημένο πληθυσμό του A. segmentum. Η μοριακή ανάλυση δειγμάτων Abra από άλλες περιοχές της Ελλάδας καθώς και από επιβεβαιωμένους πληθυσμούς A. tenuis αναμένεται να δώσει οριστική απάντηση στο ερώτημα αυτό αλλά και να αποκαλύψει τα πρότυπα γεωγραφικής διαφοροποίησης των συγκεκριμένων ειδών.

IS THE BIVALVE Abra (Lamarck, 1818) IN VOULIAGMENI LAKE THE SPECIES A. segmentum (Recluz, 1843);

Legaki Aglaia[1], Kasapidis Panagiotis[2], Dosi Aggeliki[1], Nicolaidou Artemis[1]
1/Department of Zoology and Marine Biology, School of Biology, University of Athens, 15784 Panepistimioupoli, Athens, Greece - 2/Institute of Marine Biology, Biotechnology and Fisheries, Hellenic Centre for Marine research, Thalassokosmos, 71500 Gouves, Crete, Greece

In order to investigate the life cycle of the bivalve A. segmentum in brackish water lagoons Abra specimens were collected from Keramoti lagoon (Macedonia), Papas Lagoon (Achaia) and Vouliagmeni Lake (Attica) where, according to the literature, the bivalve was found. The shell length-height relationship of Vouliagmeni specimens differed statistically from those of the other two areas, and the description of Vouliagmeni shells matched that of A.tenuis. Molecular analyses were performed in 5 individuals of Abra from Lake Vouliagmeni and 17 individuals from the lagoon Papas, with sequencing of a fragment of 383 bases of mitochondrial gene 16S rRNA. The sequences of the 5 individuals from Lake Vouliagmeni correspond to 3 different haplotypes that differ at 1-2 nucleotide positions and the sequences of the 17 individuals from the lagoon Papas correspond to 4 haplotypes that differ also at 1-2 nucleotide positions. The genetic distance between the sequences of the two regions based on the two parameters model of Kimura, is high (7.2 %), a fact that suggests that these are genetically differentiated populations of Abra (possibly different species), confirming the results of the morphometric comparisons. Nevertheless , due to lack of sequences of the species A. tenuis from phylogenetic analyses (not even available in the global genetic data base GenBank), it is not known with certainty whether the sample from Lake Vouliagmeni belongs to A. tenuis or it is a genetically diversified population of A. segmentum. Molecular analyses of samples of Abra from others regions of Greece and of confirmed populations of A. tenuis is expected to give a definitive answer to this question and also to reveal the patterns of geographical differentiation of those species.

ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΥΠΕΡΙΩΔΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Λιάκος Σωτήριος[1], Σωφρονά Ευγενία[1], Δασκαλάκη Στυλιανή1[1], Φωτοπούλου-Σταματέλου Αικατερίνη[1], Σκιαδόπουλος Βασίλειος[1], Αγγέλου Αλέξανδρος[1], Κυριαζή Μαρία1, Δεμερτζής Νικόλαος[1], Τσατσαρούνος Σωτήριος[2], Ροδάκης Γεώργιος[2], Παπαϊωάννου Γεώργιος Θ.[1], Ράλλης Μιχάλης[1]

1/Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιλλίσια, 157 01, Αθήνα - 2/Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου, 157 71, Αθήνα

Η υπεριώδης ακτινοβολία επηρεάζει την υγεία του δέρματος. Φαινόμενα όπως φωτογήρανση και φωτοκαρκινογένεση προκαλούνται σχεδόν αποκλειστικά από μεγάλες δόσεις υπεριώδους φωτός. Ο κύριος μηχανισμός προκλήσεως των ανωτέρω φαινομένων είναι το οξειδωτικό στρες. Ουσίες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες είναι δυνατόν να αναστείλουν σε σημαντικό βαθμό την παραγωγή δραστικών ενώσεων οξυγόνου και αζώτου. Νεογνά άτριχων μυών χρησιμοποιήθηκαν για την παραλαβή των κερατινοκυττάρων με την χρήση διαλύματος του ενζύμου διασπάση και ειδικού για τα κερατινοκύτταρα μέσου αναπτύξεως. Αξιολογήθηκε η κυτταρική βιωσιμότητα με την χρήση της χρωστικής ΜΤΤ και αξιολογήθηκε η βλάβη στο δεοξυριβοζονουκλεϊνικό οξύ με την αλκαλική μέθοδο του κομήτη. Επιπλέον μελετήθηκε η απορρόφηση των αντιοξειδωτικών στο υπεριώδες φως και αξιολογήθηκε ο δείκτης προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία στον άνθρωπο.Τα μελετηθέντα αντιοξειδωτικά βοήθησαν σημαντικά την βιωσιμότητα των κερατινοκυττάρων και συνέβαλαν στην πρόληψη των βλαβών του γενετικού υλικού. Αξιον αναφοράς είναι ότι επιπλέον ελήφθησαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα in vivo στον άνθρωπο ως προς την προστατευτική τους ικανότητα σε σχέση με την υπεριώδη ακτινοβολία.

ANTIOXIDANT PROTECTIVE EFFECT AGAINST ULTRA VIOLET RADIATION ON KERATINOCYTES

Liakos Sotirios[1], Sofrona Evgenia[1], Daskalaki Styliani[1], Fotopoulou-Stamateloy Aikaterini[1], Skiadopoulos Vasilios[1], Aggelou Aleksandros[1], Kyriazi Maria[1], Demertzis Nikolaos[1], Tsatsarounos Sotirios[2], Rodakis Georgios[2], Papaioannou Georgios[1], Rallis Michail[1]

1/Department of Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, -National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou, 157 71, Athens 2/Department of Biochemistry & Molecular Biology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Illisia, 157 01, Athens

UV radiation affects skin health. Phenomena like photoageing and photocarcinogenesis are induced by large doses of UV light. The main mechanism of induction of these phenomena is oxidative stress. Substances with antioxidant properties are able to inhibit the production of reactive oxygen and nitrogen species.Newborn hairless mice were used to obtain keratinocytes using the enzyme dispase and a specific for keratinocytes culture medium. The cell viability was evaluated using the MTT coloration method and the DNA damage by alkaline single cell gel electrophoresis known as comet assay. Additionally the UV absorption was studied and the sun protection factor was clinically estimated in human.The studied antioxidants enhanced the keratinocyte's viability and contributed to the prevention of DNA damage. It is worth mentioning the significant protective ability of antioxidants in humans against UV light.

Η ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΙΑΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΠΑΡΟΜΟΙΑΣ ΜΕ ΤΗΝ p38-MAPK ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ROS ΚΑΙ ΣΥΜΜΕΤΕΧΕΙ ΣΤΗΝ ΑΝΑΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ ΤΗΣ ΣΩΛΗΝΙΝΗΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ TRITICUM TURGIDUM

Λιβανός Παντελής [1], Γαλάτης Βασίλειος[1], Γαϊτανάκη Κατερίνα[2], Αποστολάκος Παναγιώτης[1]

1 Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα /2 Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Το μονοπάτι μεταγωγής μηνύματος της p38-MAPK σχετίζεται με τις αποκρίσεις των ζωικών κυττάρων σε πολλές μορφές καταπονήσεων. Η διατάραξη της ομοιόστασης των ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS) στα φυτικά κύτταρα συνοδεύεται από την αποδιοργάνωση των τυπικών μικροσωληνίσκων και τη δημιουργία ανθεκτικών πολυμερών σωληνίνης (Livanos et al., 2012, Cytoskeleton 69:1-21). Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η συμμετοχή μιας κινάσης 46 kDa (p46) όμοιας με την p38-MAPK στην απόκριση των κυττάρων στη διατάραξη της ομοιόστασης των ROS. Για τον σκοπό αυτό ακρόρριζα του φυτού Triticum turgidum υπέστησαν την επίδραση ουσιών που προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικων ενώσεων. Εν συνεχεία πραγματοποιήθηκε μελέτη των επιπέδων της διπλά φωσφορυλιωμένης p46 με τη μέθοδο του ανοσοστυπώματος κατά western. Διαπιστώθηκε ότι η μεταβολή των επιπέδων των ROS προκαλεί την ενεργοποίηση της p46, ενώ η επίδραση με ουσίες που επάγουν την παραγωγή ROS ταυτόχρονα με αντιοξειδωτικές ενώσεις ήταν ικανή να εμποδίσει τη φωσφορυλίωση της p46. Επιπλέον, τα επίπεδα της p46 ήταν μειωμένα παρουσία ενός εξειδικευμένου αναστολέα της p38-MAPK. Η ανοσοσήμανση της σωληνίνης σε κύτταρα που είχαν υποστεί επίδραση με (α) ενώσεις που διαταράσσουν την ομοιόσταση των ROS παρουσία του αναστολέα της p38-MAPK και (β) ένα οξειδωτικό και ένα αντιοξειδωτικό παράγοντα απεκάλυψε ότι οι πειραματικές αυτές μεταχειρίσεις παρεμποδίζουν την αποδιοργάνωση των μικροσωληνίσκων και αναστέλλουν τη δημιουργία άτυπων πολυμερών σωληνίνης. Τα παραπάνω δεδομένα υποστηρίζουν ότι στα φυτικά κύτταρα η p46 σχετίζεται με την αντίληψη των μεταβολών στα επίπεδα των ROS και η απόκριση αυτή κατευθύνει την αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού της σωληνίνης.

PHOSPHORYLATION OF A p38-LIKE MAPK IS INVOLVED IN SENSING CELLULAR REDOX STATE AND DRIVES THE ASSEMBLY OF ATYPICAL TUBULIN POLYMERS IN WHEAT ROOTS

Livanos Pantelis[1], Galatis Basil[1], Gaitanaki Catherine[2], Apostolakos Panagiotis[1]
1 Department of Botany, Faculty of Biology, UoA, Panepistimiopolis, Illisia, 157-84/2 Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, UoA

The p38-MAPK signaling pathway is activated by various stresses and mediates cellular responses in animal and yeast. The disturbance of reactive oxygen species (ROS) in plant cells is a harmful condition followed by microtubule disorganization and the assembly of resistant atypical tubulin polymers (Livanos et al., 2012, Cytoskeleton 69:1-21). In this work, it was investigated the possible implication of a p46 p38-like MAPK in cellular responses to ROS homeostasis disturbance. In this direction, root-tips of Triticum turgidum were treated with substances interfering with ROS levels and the phospho-p46 accumulation was detected using western immunoblotting. It was found that both elevated or eliminated ROS levels resulted in activation of p46. Simultaneous incubation with pairs of oxidants and antioxidants attenuated this response, whereas the presence of a specific p38-MAPK inhibitor (SB203580) resulted in decreased levels of active p46. Tubulin immunolabeling revealed that the incubation with treatment solutions containing ROS modulators plus SB203580 as well as treatments with pairs of oxidants and antioxidants prevented the loss of microtubules and the assembly of atypical tubulin polymers. Our experimental data suggest that in plants the activation of p46 is involved in perception of redox state alterations and drives the reorganization of tubulin cytoskeleton.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΤΟΥ TNFR1A ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΕΡΙΟΔΙΚΩΝ ΕΠΕΙΣΟΔΙΩΝ ΠΥΡΕΤΟΥ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Λιόκαρη Μαρία Εμμανουέλα[1,2], Βασιλική Καλότυχου[1], Ευγενία Μουρατίδου[1,2], Παναγούλα Κόλλια [2], Ιωάννης Ρόμπος[1], Βασιλική Αλεπόρου[2], Κωνσταντίνος Κωνσταντόπουλος[1]

1 Α΄ Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ , 2 Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Το σύνδρομο του περιοδικού πυρετού που σχετίζεται με τον υποδοχέα του TNF, TNFR1a, ανήκει στα αυτοφλεγμονώδη νοσήματα. Είναι σπάνιο σύνδρομο γνωστό και ως σύνδρομο TRAPS, Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Syndrome. Χαρακτηρίζεται κυρίως από επανεμφανιζόμενα επεισόδια πυρετού που διαρκούν από μερικές ημέρες έως και εβδομάδες. Το νόσημα κληρονομείται με αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα και μεταλλαγές στο υπεύθυνο γονίδιο, TNFR1a, οδηγούν σε τροποποίηση της δομής της πρωτεΐνης TNFR1 και ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος. Μελετήθηκαν 20 δείγματα με κλινικά συμπτώματα συμβατά με το σύνδρομο TRAPS και είκοσι δείγματα από υγιή άτομα ελληνικής καταγωγής. Απομονώθηκε γενωμικό DNA και ενισχύθηκαν με PCR και τη χρήση κατάλληλων εκκινητών τα 10 εξώνια του γονιδίου TNFR1a. Ακολούθησε ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας των προϊόντων PCR των εξωνίων 2, 3, 4 και 5 και των αντίστοιχων εσωνίων τους. Τα αποτελέσματα της νουκλεοτιδικής ανάλυσης του γονιδίου TNFR1a ανέδειξε: i) τη νουκλεοτιδική αντικατάσταση T >C στη θέση c.473-33T>C στο εσώνιο 4, η οποία ήταν παρούσα στην πλειοψηφία (18/20) τόσο των κλινικά υπόπτων δειγμάτων όσο και των φυσιολογικών δειγμάτων που ελέγχθηκαν ακολούθως, ii) την αντικατάσταση C>G (c.306C>G) στο εξώνιο 3 σε 1/20 παθολογικά ύποπτα δείγματα. Η αντικατάσταση αυτή οδηγεί σε αμινοξική αλλαγή της Κυστεϊνης (Cys) σε Τρυπτοφάνη (Trp) στη θέση 73. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι: α) η αντικατάσταση στο εσώνιο 4 μπορεί να αποτελεί ουδέτερο πολυμορφισμό, λόγω της αυξημένης συχνότητας εμφάνισης τόσο στα δείγματα των κλινικά υπόπτων όσο και στα δείγματα των υγιών ατόμων, β) η αντικατάσταση στο εξώνιο 3, C73W, μπορεί να επηρεάζει τη λειτουργικότητα της παραγόμενης πρωτεΐνης αφού αλλάζει η αμινοξική αλληλουχία. Τα στοιχεία στη διεθνή βιβλιογραφία για τη μεταλλαγή είναι ανεπαρκή και απαιτούν περαιτέρω μελέτη για το λειτουργικό χαρακτηρισμό της και τη χρησιμότητά της σε διαγνωστικό επίπεδο.

ANALYSIS OF TNFR1A GENE MUTATIONS IN INDIVIDUALS WITH PERIODIC FEVER SYNDROMES IN THE GREEK POPULATION

Liokati E.M.[1,2], Kalotichou V.[1], Mouratidou E.[1,2], Kollia P.[2], Rompos I.[1], Aleporou V.[2], Konstantopoulos K.[1]

1st Department of Internal Medicine, Medical School, University of Athens, 2 Human Genetics Laboratory Department of Genetics and Biotechnology Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens

Tumor Necrosis factor receptor, TNFR1a, is associated with periodic fever syndrome (TRAPS) and belongs to autoinflammatory syndromes group. It is a rare syndrome characterized by recurrent episodes of fever varying from a few days to a few months. The disease is inherited by autosomal dominant character and the mutations of the TNFR1a gene may modify the protein structure leading to inflammasome reaction. We studied 20 healthy Greek controls and 20 individuals clinically suspected for periodic fever syndrome. Genomic DNA was isolated and PCR was performed using the appropriate primers for amplifying the entire TNFR1a gene containing 10 exons. Mutation analysis for exons 2, 3, 4 and 5 and the corresponding introns was performed by fluorescence sequencing. Sequencing analysis showed that the PCR products covering the intron 4 contained a nucleotide substitution T>C (c.473-33). This substitution was present in the majority of both healthy (18/20) and clinically suspected samples (18/20). Moreover, a nucleotide substitution in exon 3 (C>G, c.306C>G) was revealed by sequencing analysis and it was present in only one patient. The C to G substitution leads to Cys to Trp amino acid change (C73W). Based on the above findings we propose that the intronic substitution may be a neutral polymorphism due to the high frequency of appearance in both groups (healthy individuals and clinically suspected patients). The mutation c.306C>G in exon 3, presenting in Cys rich domain, may influence the activity of the resulting protein. Therefore, further study will provide more data on the functional role of this mutation and its use as a diagnostic tool.

ΟΝΤΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ ΣΤΟ ΚΡΟΚΟΔΕΙΛΑΚΙ (Stellagama stellio)

Λίτση Μιζαν Β.[1], Καραμέτα Ε.[1], Σφενδουράκης Σ.[2], Παφίλης Π.[1]
1/ Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα- 2/ Τμήμα Βιολογικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Πανεπιστημιούπολη, Τ. Θ. 20537, Λευκωσία, 1678, Κύπρος

Η πέψη αποτελεί μια από τις σημαντικότερες φυσιολογικές διαδικασίες. Στα εξώθερμα ζώα η πεπτική αποδοτικότητα εξαρτάται άμεσα από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Καθώς η δυνατότητα παραγωγής μεταβολικής θερμότητας είναι περιορισμένη, τα εξώθερμα ζώα θερμορρυθμίζουν μέσω κατάλληλων συμπεριφορικών αποκρίσεων. Οι σαύρες, προκειμένου να μεγιστοποιήσουν την απόδοση της πέψης, ισορροπούν διαρκώς μεταξύ των βέλτιστων θερμοκρασιών (υψηλή αποδοτικότητα) και των επικίνδυνα υψηλών (θάνατος λόγω υπερθέρμανσης). Πολλοί φυσιολογικοί μηχανισμοί όμως εξαρτώνται και από την ηλικία των ζώων. Προκειμένου να διαλευκάνουμε τη σημασία της οντογένεσης στην πεπτική αποδοτικότητα των επιμέρους θρεπτικών συστατικών της τροφής (πρωτεΐνες, σάκχαρα, λιπίδια), εργαστήκαμε με νεαρά και ενήλικα άτομα της σαύρας κροκοδειλάκι (Stellagama stellio) από τη Νάξο, κρατώντας σταθερές τις θερμικές συνθήκες. Οι σαύρες διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 300C και τρέφονταν με προνύμφες κολεοπτέρων (Tenebrio molitor). Για κάθε προνύμφη που δίνονταν στα ζώα, μια άλλη ίσου βάρους, ψυχόταν σε υγρό άζωτο και αποθηκευόταν σε υπερκαταψύκτη. Ύστερα από μια αρχική περίοδο μιας εβδομάδας, αρχίσαμε να συλλέγουμε τα περιττώματα των σαυρών τα οποία (μαζί με τις αποθηκευμένες προνύμφες) χρησιμοποιήθηκαν για τις βιοχημικές αναλύσεις. Η συλλογή περιττωμάτων διήρκεσε δύο μήνες. Τα αποτελέσματα δεν ακολούθησαν ενιαίο πρότυπο. Συγκεκριμένα, τα ενήλικα άτομα παρουσίασαν υψηλότερη αποδοτικότητα για τα σάκχαρα και τα λιπίδια αλλά χαμηλότερη από τις νεαρές σαύρες ως προς τις πρωτεΐνες. Πιστεύουμε ότι οι αποκλίσεις αυτές οφείλονται στις διαφορετικές ανάγκες των ζώων στη δεδομένη ηλικιακή κλάση που ανήκουν. Τα ώριμα άτομα έχουν ανάγκη από όσο το δυνατόν περισσότερη ενέργεια ώστε να ικανοποιήσουν τις αυξημένες απαιτήσεις ενεργειοβόρων διεργασιών, όπως η χωροκρατικότητα και η αναπαραγωγή. Αντίθετα, οι ανήλικες σαύρες αυξάνουν διαρκώς σε μέγεθος και θα πρέπει να υποστηρίξουν δομικά την ανάπτυξη ιστών, συνεπώς έχουν αυξημένες ανάγκες για πρωτεΐνες.

ONTOGENETIC SHIFTS IN THE DIGESTIVE EFFICIENCY OF THE ROUGHT TAIL ROCK AGAMA LIZARD (Stellagama stellio)

Litsi Mizan V.[1], Karameta E.[1], Sfenthourakis S.[2], Pafilis P.[1]
1/1 Section of Zoology and Marine Biology, Dept. of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, Ilissia 157-84, Athens-2/2 Department of Biological Sciences, University of Cyprus, University Campus, P.O. Box 20537, Nicosia, 1678, Cyprus

Digestion is of pivotal importance in animal physiology. Digestive efficiency in ectotherms is strongly related to environmental temperature. Since the production of metabolic heat is rather limited, ectotherms thermoregulate with appropriate behavioral responses. Lizards, in order to maximize digestion performance, have to balance between optimal body temperature (where efficiency is high) and the lethally high environmental temperatures (that may cause death from overheat). Besides temperature, many physiological mechanisms are age-dependent. In our effort to clarify the impact of ontogeny on the digestion of food components (sugars, lipids and proteins), we worked with juvenile and adult Roughtail Rock Agama lizards (Stellagama stellio) from Naxos, under a constant thermal regime. Lizards were housed in individual terraria at 300C and were fed on mealworms (Tenebrio molitor). For each mealworm that was fed on lizards, another one of equal weight, was frozen and then stored in a super-cooler. After an initial one-week acclimation time-window, we started collecting faeces for a period of two months. Faecal material and frozen mealworms were used in biochemical analyses. Results were not uniform between age classes. Adults showed higher digestive efficiency for sugars and lipids while juveniles had higher performance in the case of proteins. We believe that the underlying reason for these differences should be sought in the particular demands of each age class. Adult lizards need as much energy as they can take to satisfy energy-consuming processes such as territoriality and reproduction. On the other hand, juveniles increase continuously in size and have to support development of the new-built tissues and thus are in a more pronounced need for proteins.

ΟΣΤΕΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ ΣΥΝΑΦΕΙΑΣ ΤΩΝ ΑΡΘΡΙΚΩΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ ΤΗΣ ΑΤΛΑΝΤΟΪΝΙΑΚΗΣ ΔΙΑΡΘΡΩΣΗΣ

Λουκά Β.[1], Βαλάκος Ε.[1], Μωραΐτης Κ.[2]
1Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας ΕΚΠΑ. Πανεπιστημιόπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα. 2Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ. Μ. Ασίας 75, Γουδή 11527, Αθήνα. Email: vassilinalk@gmail.com evalakos@biol.uoa.gr kmoraitis@med.uoa.gr

Η ταξινόμηση των οστών κατ' άτομο αποτελεί σημαντικό ζήτημα, καθώς ο καθορισμός της ταυτότητας του ατόμου θεωρείται μείζονος σημασίας στη δικαστική ανθρωπολογία. Στην παρούσα μελέτη διερευνάται η ανατομική συνάφεια των αρθρικών επιφανειών της ατλαντοϊνιακής διάρθρωσης με σκοπό τη χρήση που μπορεί να έχει στην ταξινόμηση των οστών κατ' άτομο. Ελήφθησαν 11 συνολικά μετρήσεις από το ινιακό οστό και τον άτλαντα 60 ατόμων (34 άρρενα και 26 θήλεα) που προήλθαν από τη σκελετική συλλογή του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση συσχέτισης κατά Pearson προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων που ελήφθησαν. Ο βαθμός συσχέτισης ελέγχθηκε ξεχωριστά για το κάθε φύλο. Στα θήλεα άτομα, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του μέγιστου μήκους και πλάτους των ινιακών κονδύλων με το μήκος και το πλάτος των άνω αρθρικών επιφανειών του άτλαντα ($P<0,05$), ενώ στα άρρενα άτομα μόνο για το μέγιστο μήκος ($P<0,001$). Θετική συσχέτιση διαπιστώθηκε και στα δύο φύλα μεταξύ του διακονδυλικού πλάτους και της μέγιστης απόστασης μεταξύ των δύο άνω αρθρικών επιφανειών του άτλαντα, καθώς και με την προσθιοπίσθια και την εγκάρσια εσωτερική διάμετρο του ινιακού τρήματος. Επίσης, θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της προσθιοπίσθιας εσωτερικής διαμέτρου του ινιακού τρήματος με την προσθιοπίσθια εσωτερική διάμετρο του σπονδυλικού τρήματος του άτλαντα ($P<0,05$). Συμπερασματικά, η εν λόγω μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία στην ταξινόμηση των οστών κατ' άτομο, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις που παρατηρείται συμφυρμός του σκελετικού υλικού. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζονται τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της έρευνας, καθώς η μέθοδος αναμένεται να ελεγχθεί σε μεγαλύτερο πληθυσμιακό δείγμα στο μέλλον.

AN OSTEOMETRIC STUDY ON THE CONCURRENCE OF THE ARTICULAR SURFACES OF THE ATLANTO-OCCIPITAL JOINT

Louka V.[1], Valakos S.[1], Moraitis K.[2]

1Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens. Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece. 2Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine, University of Athens. 75 M. Asias Str., 11527 Athens, Greece. Email: vassilinalk@gmail.com evalakos@biol.uoa.gr kmoraitis@med.uoa.gr

Sorting of commingled remains into separate individuals is of particular importance since a personal identification is the desired result of forensic anthropological analysis. The present study investigates the concurrence of the articular surfaces of the atlanto-occipital joint in order to be used for sorting commingled human remains. A total of 11 measurements were taken from the occipital bone and atlas of 60 individuals (34 males and 26 females) belonged to the Athens Collection. Pearson's rank correlation statistics were applied to identify relationships between each measurement. Correlation was tested separately for males and females. A positive correlation was observed between the maximum length and width of the occipital condyles and the upper articular surfaces of the atlas in females ($P<0.05$). However, in males only the maximum length showed a positive correlation ($P<0.001$). Also a positive correlation was observed for both sexes among the bicondylar breadth and the maximum distance between the lateral edges of the superior facets of atlas, as well as the maximum internal length and width of the foramen magnum. In addition, a positive correlation was observed between the maximum length of the vertebral foramen and maximum internal length of the foramen magnum ($P<0.05$). In conclusion, the presented method can be successfully used to sort commingled human remains. This study presents only the preliminary results since the method is planned to be tested on a larger population sample in the future.

ΤΟ ΜΕΓΑΛΟ ΤΑΞΙΔΙ ΤΗΣ ΝΑΝΟΧΗΝΑΣ : ΕΛΛΑΔΑ- ΝΟΡΒΗΓΙΑ

Λυκάκη Μαριάννα, Παναγιωτοπούλου Μαρία, Μαζάρης Αντώνιος, Βώκου Δέσποινα
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 54124, Θεσσαλονίκη

Η ευρωπαϊκή νανόχηνα (Anser erythropus), που χαρακτηρίζεται ως τρωτό είδος σύμφωνα με την IUCN, προστατεύεται από ένα σύνολο διεθνών συμβάσεων αλλά και εθνικών νόμων, αφού η Ελλάδα αποτελεί σταθμό διαχείμασης. Παρά το γεγονός ότι ο ευρωπαϊκός πληθυσμός του είδους αυτού συνεχίζει να παρουσιάζει τάση μείωσης, η πληροφορία σχετικά με τα μεταναστευτικά του πρότυπα είναι περιορισμένη δυσχεραίνοντας τη λήψη αποτελεσματικών μέτρων προστασίας. Αυτά δεν αφορούν μόνο το μικρού μεγέθους πληθυσμό της νανόχηνας που φιλοξενείται στους ελληνικούς υγροτόπους, αλλά ολόκληρο τον ευρωπαϊκό πληθυσμό. Για να μπορέσουμε να εκτιμήσουμε το μέγεθος του ελληνικού πληθυσμού, όπως και να πάρουμε πληροφορίες για την προέλευση των ατόμων που τον συνιστούν, εφαρμόσαμε μια τεχνική η οποία κάνει χρήση και αξιοποιεί πληροφοριακά ένα ιδιαίτερο γνώρισμα του είδους, συγκεκριμένα τις κηλίδες που φέρουν τα άτομα στην κοιλιά τους. Με βάση αυτές τις κηλίδες μπορούν να διακριθούν τα άτομα του πληθυσμού μεταξύ τους και να ταυτοποιηθούν, γεγονός που επιτρέπει ανταλλαγή πληροφοριών σχετικά με το πότε και πού εντοπίζεται το κάθε συγκεκριμένο άτομο. Επισκεφτήκαμε υγροτόπους της βόρειας Ελλάδας, όπου διαχειμάζει το είδος, κάναμε επιτόπιες παρατηρήσεις και πήραμε φωτογραφίες και βίντεο. Από τη μέχρι τώρα ανάλυση των στοιχείων για κάθε άτομο του πληθυσμού όσο και ανάλογων στοιχείων από περιοχές αναπαραγωγής του είδους, ένα βασικό συμπέρασμα στο οποίο καταλήξαμε είναι ότι άτομα που παρατηρούνται στην περιοχή της Κερκίνης προέρχονται από τις βόρειες αναπαραγωγικές αποικίες της Νορβηγίας. Η ανάλυση του συνολικού όγκου των δεδομένων θα επιτρέψει να ανιχνευθούν οι κύριες πηγές των ατόμων του ελληνικού πληθυσμού, ενώ η γνώση που θα αποκτηθεί ως προς τις διαδρομές μετανάστευσης και τις περιοχές που τα άτομα επισκέπτονται εποχικά θα βοηθήσει να σχεδιαστούν αποτελεσματικά μέτρα προστασίας σε ελληνικό αλλά και ευρωπαϊκό επίπεδο.

THE GREAT JOURNEY OF LESSER WHITE FRONTED GOOSE : GREECE-NORWAY

Lykaki Marianna, Panagiotopoulou Maria, Mazaris Antonios, Vokou Despoina
Department of Ecology, School of Biology, Faculty of Science, AUTH, 54124, Thessaloniki

The European Lesser White-fronted Goose (Anser erythropus), is classified as vulnerable according to IUCN criteria and is listed as critically endangered by the Greek red data book. Although there is evidence to suggest that the European population of the species is declining, there is gap in our knowledge on the migration patterns, eliminating our ability to design and undertake effective conservation measures. In the present study, we make an attempt to provide some estimates for the size of the Greek population and to investigate the geographical origin of the population. Towards these directions, we employed a methodology that is based on identification of a particular feature of the species: their belly patches. Each bird has unique belly patches that could be used as "marks" helping to distinguish and identify individuals within a population. We performed our field work in wetlands of northern Greece which serve as wintering grounds and taking photographs and videos of the foraging birds. Comparing our data with similar records (i.e. videos and photographs) collected at the European breeding areas of the species, we found that individuals observed in Lake Kerkini originate from the northern breeding colonies of Norway. The analysis of the full dataset set will enable us to accurately identify the main "sinks" of the Greek population. The improving of our understanding and knowledge on the migratory routes and patterns of this priority species could provide the basis for the design and implementation of effective conservation measures at a national and European level.

IN VIVO ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΩΝ ΤΥΠΟΥ Ι ΣΤΑ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΟΛΥΝΣΗ ΜΕ HSV-1.

Μαλακτάρη Ελένη[1],Καβροχωριανού Αρχοντούλα[1],Θυφρονίτης Γεώργιος[2], Χαραλάμπους Σύλβα[1]

1Εργαστήριο Διαγονιδιακής Τεχνολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Λεωφ. Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα 115 21 2Τομέας Ανοσολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστημιούπολη, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τ.Θ. 1186, Ιωάννινα 45110

Είναι γνωστό πως οι ιντερφερόνες (IFNs) εκκρίνονται ως απάντηση στις λοιμώξεις από ιούς. Ο ιός Herpes Simplex Virus (HSV-1) αποτελεί έναν βιολογικά ενδιαφέροντα μικροοργανισμό καθώς και ένα ισχυρό παθογόνο, το οποίο είναι ικανό να προκαλέσει μολύνσεις στον ξενιστή του με διαφορετικό τρόπο. Οι IFNs είναι το βασικό συστατικό της φυσικής ανοσίας του ξενιστή έναντι του ιού HSV-1 αφού, αφενός καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό του ιού στα μολυσμένα κύτταρα και αφετέρου συμμετέχουν στη ρύθμιση της επίκτητης ανοσίας έναντι του ιού. Συγκεκριμένα, η παραγωγή των IFN τύπου Ι, αποτελούμενες σε μεγάλο βαθμό από IFNα και IFNβ, έχουν συνδεθεί με την προστασία κατά του HSV-1, τόσο σε πρότυπα ποντικών όσο και σε ανθρώπους. Η σηματοδότηση των ιντερφερονών γίνεται μέσω ενός κοινού υποδοχέα που φέρει δύο υπομονάδες, την IFNAR1 και την IFNAR2. Από αυτές μόνο η λειτουργία της IFNAR1 καθορίζει την μεταγωγή σήματος. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν μια πρώτη προσέγγιση για την in vivo μελέτη της δράσης ενδογενών ιντερφερονών, μόνο μέσω των Τ λεμφοκυττάρων, μετά από μόλυνση με ιό HSV-1. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν ειδικά δημιουργημένα διαγονιδιακά ποντίκια (TgCD2IFNAR1+/- και IFNAR1-/-), τα οποία επιμολύνθηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις H SV-1. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ιντερφερόνες, είτε όταν δρουν αποκλειστικά μέσω των Τ λεμφοκυττάρων, είτε όταν η δράση τους αποκλείεται εξ ολοκλήρου, δεν επιφέρουν διαφοροποίηση της κλινικής εικόνας και της καμπύλης επιβίωσης. Αξιοσημείωτο όμως είναι ότι, στην περίπτωση που η ιντερφερόνη δεν μπορούσε να δράση λόγω της έλλειψης του IFNAR1, η αρχιτεκτονική του σπλήνα των ποντικών αλλοιώθηκε σημαντικά, με ταυτόχρονη μικρή μείωση του αριθμού των Τ λεμφοκυττάρων, γεγονός που μένει να διευκρινιστεί σε μελλοντικές μελέτες.

IN VIVO STUDY OF THE ACTION OF ENDOGENOUS INTERFERONS TYPE I ON T LYMPHOCYTES AFTER THE INFECTION WITH HSV-1.

Malaktari Eleni*1* , Kavrochorianou Arxontoula[1],Thyphronitis George[2],Haralambous Sylva[1]
1Laboratory of Transgenic Technology, Hellenic Pasteur Institute, Athens 2Sector of Immunology, Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina

It is well known that interferons (IFNs) are secreted as a response to viral infections. Herpes Simplex Virus (HSV-1) is a biologically fascinating and highly successful human pathogen that causes a number of different infections within its host. Interferons (IFNs) are the major components of innate immunity to HSV-1, suppressing viral proliferation of infected cells and regulating the adaptive anti-viral immune response. Particularly, the production of type I interferon, comprised largely of IFNα and IFNβ, has been linked to protection against HSV-1 in both, mouse models and humans. Interferon signaling is achieved via a common receptor, which is comprised of two subunits, IFNAR1 and IFNAR2. From them only the function of IFNAR1 determines the signal transduction. The purpose of this particular project was the first approach of in vivo study of the action of endogenous interferons, only through T lymphocytes, after the infection with HSV-1. For these reason specific generated transgenic mice, (TgCD2IFNAR1+/- and IFNAR1-/-), were infected with different titers of HSV-1. The results showed that IFNs, either act exclusively through T lymphocytes or when their action is completely abolished, there is no differentiation on the clinical stage of the mice (symptomatology) and the survival ability of the mice. However, it is remarkable that when IFN couldn't act due to the absence of IFNAR1, the architecture of the spleen was significantly deteriorated, with a low degree of reduction of the number of T lymphocytes, a fact that remains to be clarified in future studies.

ΣΥΣΤΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΤΗΣ ΔΡΟΣΟΦΙΛΑΣ ΣΤΟ ΗΜ ΠΕΔΙΟ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ Wi-Fi ΚΑΙ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ

Αρετή Κ. Μαντά, Δημήτριος Ι. Στραβοπόδης, Ισιδώρα Σ. Παπασιδέρη, Λουκάς .Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών , Πανεπιστημιόπολη, Ιλίσια ΤΚ 15784

Η χρήση της ασύρματης τεχνολογίας έχει γενικευθεί τα τελευταία χρόνια σε δημόσιους χώρους και σε κατοικίες, εκθέτοντας τους πολίτες σε διαρκείς εκπομπές ραδιοκυμάτων. Εκτός από τα κινητά τηλέφωνα μεγάλο μερίδιο στη ρύπανση κατέχουν πλέον τα ασύρματα τηλέφωνα τύπου DECT καθώς και τα ασύρματα δίκτυα Wi-Fi. Τα ασύρματα μόντεμ - ρούτερ καθώς και η βάση του ασύρματου τηλεφώνου εκπέμπουν συνεχώς ακτινοβολία, και στις περισσότερες περιπτώσεις η εκπομπή γίνεται ταυτόχρονα, δημιουργώντας έτσι δυνητικά μεγάλη επιβάρυνση. Στην παρούσα εργασία εξετάσθηκαν οι πιθανές επιπτώσεις των δύο συγκεκριμένων συσκευών στον πρότυπο οργανισμό D.melanogaster. Για το σκοπό αυτό νεοεκδυθέντα έντομα, φυσικού τύπου Oregon R, εκτέθηκαν σε ασύρματο ρούτερ (ζώνη συχνοτήτων 2440-2480 MHz) και βάση ασύρματου τηλεφώνου (ζώνη συχνοτήτων 1880-1900 MHz) είτε συνεχόμενα είτε διακοπτόμενα κάθε 1 ώρα για 96 ώρες. Για τη διερεύνηση τυχόν επιπτώσεων εξετάσθηκαν τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών στα κεφάλια, στα σώματα και στις ωοθήκες, ο αριθμός των αποπτωτικών ωοθυλακίων καθώς και η αναπαραγωγική ικανότητα του εντόμου. Διαπιστώθηκε αύξηση στα επίπεδα των ελευθέρων ριζών τόσο στα κεφάλια και στα σώματα όσο και στις ωοθήκες σε όλα τα πρωτόκολλα έκθεσης. Αύξηση παρατηρήθηκε και στον αριθμό των αποπτωτικών ωοθυλακίων, ενώ ταυτόχρονα μειώθηκε η αναπαραγωγική ικανότητα του εντόμου. Συνδυαστική έκθεση και στις δύο πηγές τόσο συνεχόμενα όσο και διακοπτόμενα δεν προκάλεσε μεγαλύτερη επιβάρυνση από την έκθεση στην κάθε μία πηγή ξεχωριστά. Συμπερασματικά, η ταυτόχρονη έκθεση σε δύο πηγές δεν προκαλεί αθροιστικές επιπτώσεις ίσως επειδή ενεργοποιούνται αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί ικανοί να σταματούν την αύξηση των ελευθέρων ριζών ακόμα και στην περίπτωση της μεγαλύτερης δόσης ακτινοβολίας και του συνδυασμού κυμάτων με διαφορετικά χαρακτηριστικά. Το εύρημα αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς οι περισσότεροι άνθρωποι εκτίθενται συνήθως σε περισσότερες από μία ασύρματες συσκευές ταυτόχρονα όπως κινητό τηλέφωνο και ασύρματο δίκτυο κ.ο.κ. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΘΑΛΗΣ – ΕΚΠΑ – MIS 375784 – Βιολογικές επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας: μια διεπιστημονική προσέγγιση" . Συντονιστής Λ.Χ.Μ.

SYSTEMIC STUDY OF THE RESPONSE OF DROSOPHILA AT THE EMF EMITTED FROM WIRELESS NETWORK (Wi-Fi) AND CORDLESS PHONE.

Areti K. Manta, Dimitrios J. Stravopodis, Isidora S. Papassideri, Lukas H. Magaritis
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Ilisia PC 15784

The use of wireless technology has been widely adopted in recent years both at public places and at homes, exposing the citizens to constant radio waves. Apart from mobile phones large share of pollution now hold DECT-type cordless phones and wireless networks (Wi-Fi). The wireless modem-router and the base of wireless phones emit radiation continuously, and in most cases the broadcast is done simultaneously, creating potentially heavy pollution. We tested the potential impact of these two devices in the model organism D.melanogaster. For this purpose newly emerged flies, wild type Oregon R, were exposed to a wireless router (frequency band 2440 to 2480 MHz) and base wireless phone (1880 to 1900 MHz frequency band) either continuously or intermittently every 1 hour for 96 hours. To investigate any effects examined the levels of free radicals in the heads, bodies and ovaries, the number of apoptotic follicles and the reproduction capacity of the insect. Increased levels of free radicals observed at both heads and bodies and also at the ovaries after all the irradiation protocols. An increase in the number of apoptotic follicles was also found while fecundity of the insect noted reduction. Combined exposure to both sources, either continuously or intermittently, caused no greater effect compared to each source separately. In conclusion, the simultaneous exposure to two sources causes no cumulative effects probably because antioxidant mechanisms are capable of stopping the increase of free radicals even in the cases of either higher dose of radiation or combination of waves with different characteristics. This finding is particularly important as most people usually are exposed to more than one wireless devices simultaneously such as a mobile phone and wireless network, etc. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: THALES. Investing in knowledge society through the European Social Fund. UoA- MIS 375784 – Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: a multidisciplinary approach coordinated by L.H.M.

Η ΜΗ ΙΟΝΙΖΟΥΣΑ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΕΠΑΓΕΙ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟ ΘΑΝΑΤΟ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΤΗΝ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗ ΔΡΟΣΟΦΙΛΑ

Λουκάς Χ. Μαργαριτης, Νίκη Ε. Σαγιόγλου, Αρετή Κ. Μαντά
ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΚΑΙ ΒΙΟΦΥΣΙΚΗΣ, ΕΚΠΑ, ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Η μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μέσω των συσκευών που την χρησιμοποιούν για ασύρματη επικοινωνία (κινητά τηλέφωνα, ασύρματα τηλέφωνα, ασύρματα δίκτυα, κ.λ.π.) έχει αποτελέσει αντικείμενο εντατικής αλλά και αμφιλεγόμενης έρευνας ως προς τα πορίσματα, τα τελευταία 30 χρόνια. Στις δικές μας μελέτες έχουμε χρησιμοποιήσει το δίπτερο έντομο Drosophila melanogaster ως πρότυπο βιολογικό σύστημα και πληθώρα πηγών ακτινοβόλησης (κινητά τηλέφωνα, ασύρματα τηλέφωνα, ασύρματα δίκτυα, γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων) και ποικιλία συνθηκών σε νεοεκδυθέντα έντομα, από 6 λεπτά ημερησίως για 4 ημέρες, μέχρι και 96 ώρες συνεχώς και μάλιστα με δύο ταυτόχρονες πηγές (ασύρματο τηλέφωνο και ασύρματο δίκτυο). Κάτω από αυτές τις συνθήκες παρατηρούνται τόσο αύξηση αποπτωτικών ωοθυλακίων στις ωοθήκες όσο και αύξηση δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS) στις ωοθήκες και στα σώματα των αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Στις ίδιες συνθήκες της συνεχούς ακτινοβόλησης όπου και σχηματίζονται τα ώριμα αυγά σύμφωνα με προγραμματισμένη διαφορική γονιδιακή έκφραση, δεν διαπιστώθηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία καμία αλλοίωση στις δομικές οντότητες που προκύπτουν από την διαδικασία ωογένεσης-χοριογένεσης. Συμπεραίνεται ότι μολονότι το βιολογικό σύστημα ανταποκρίνεται στην επίδραση της ακτινοβολίας ακόμη και πολύ μικρής έντασης ή διάρκειας, εντούτοις το αυστηρά και ενδογενώς προγραμματισμένο σύστημα διαφορικής γονιδιακής έκφρασης είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό για λόγους που ακόμη παραμένουν άγνωστοι και χρήζουν διερεύνησης. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΘΑΛΗΣ – MIS 375784 – Βιολογικές επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας : μια διε π ιστημονική προσέγγιση" .Συντονιστής Λ.Χ.Μ.

NON IONIZING ELECTROMAGNETIC RADIATION INDUCES APOPTOTIC CELL DEATH AND REACTIVE OXYGEN SPECIES BUT DOES NOT INTERFERE WITH THE DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION DURING OOGENESIS-CHORIOGENESIS

Lukas H. Margaritis, Niki E. Sagioglou, Areti K. Manta
DEPT. OF CELL BIOLOGY AND BIOPHYSICS FACULTY OF BIOLOGY, NKUA

The non-ionizing electromagnetic radiation through the use of devices for wireless communication (cell phones, cordless phones, wireless networks, etc.) has been the subject of intensive and controversial research findings for the last 30 years. In our studies we have used the dipteran insect Drosophila melanogaster as a model biological system, and many sources of radiation (cell phones, cordless phones, wireless networks, RF generator) and a variety of conditions exposing newly emerged adult flies for as little as 6 minutes per day for 4 days, up to 96 hours continuously under two simultaneous sources (wireless phone and wireless network). Under these conditions it was found both an increase in apoptotic follicles in the ovaries and increased reactive oxygen species (ROS) in the ovaries and the bodies of males and females. Under the same conditions of continuous irradiation where mature eggs are formed in accordance with an endogenous programmed differential gene expression, it was found by electron microscopy no deterioration in the structural entities resulting from the process of oogenesis-choriogenesis. It is concluded that while the biological system responds to the effects of radiation even under very low intensity or duration, however the strict and endogenously programmed differential gene expression system is particularly robust for reasons that still remain unknown and require investigation. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: THALES. Investing in knowledge society through the European Social Fund. UoA- MIS 375784 – Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: a multidisciplinary approach coordinated by L.H.M.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ D-LOOP ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΦΥΛΩΝ ΠΡΟΒΑΤΩΝ

Μαργαριτοπούλου Βασιλική[1], Σταμάτης Κώστας[1], Σαραφίδου Θεολογία[1], Μπιλλίνης Χαράλαμπος[2], Μαμούρης Ζήσης[1]

1Εργαστήριο Γενετικής, Εξελικτικής και Συγκριτικής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας., 2Εργαστήριο Λοιμωδών Νοσημάτων Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ο κύριος στόχος της εργασίας είναι η εύρεση στοιχείων που θα υποστηρίζουν τη θεωρία σχετικά με τη συμβολή των μιτοχονδρίων –μέσω της βιοενεργητικής τους- σε γεγονότα δημιουργίας ξεχωριστών φυλών, μελετώντας φυλές προβάτων (Ovis aries). Βασίζεται στο συνδυασμό στοιχείων προηγούμενων ερευνών σχετικά με τη γενετική των προβάτων, τη γενετική πληθυσμών, τις φυλογενετικές μελέτες και τη φυλογεωγραφία τους, με νέα στοιχεία λειτουργικής γονιδιωματικής, βιοπληροφορικής και in silico αναλύσεων. Τα μιτοχόνδρια είναι η κύρια μονάδα παραγωγής της κυτταρικής ενέργειας διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην επιβίωση του κυττάρου, στον κυτταρικό θάνατο, τη διαφοροποίηση των ιστών με υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις ακόμη και στην ανάπτυξη ολόκληρων οργανισμών. Δεδομένου του ρόλου τους ως ζωτικής σημασίας οργανίδια για την επιβίωση των κυττάρων και κατά συνέπεια των οργανισμών, τα λειτουργικά τους στοιχεία υφίστανται συνεχώς -θετική και αρνητική- επιλογή. Η λειτουργία των μιτοχονδρίων βρίσκεται υπό τον διπλό έλεγχο του μιτοχονδριακού και του πυρηνικού γονιδιώματος. Η αυτόνομη αντιγραφή του mtDNA, ο μη επαρκής μηχανισμός επιδιόρθωσης και η γειτνίασή του με μέρη όπου η παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι έντονη, δρουν συνεργιστικά προκαλώντας στο mtDNA αυξημένο ρυθμό μετάλλαξεων -δεκαπλάσιο του πυρηνικού- καθιστώντας αναγκαία τη συνεξέλιξη γονιδίων που κωδικοποιούν για κοινές λειτουργίες των δύο γονιδιωμάτων. Η βασική ιδέα της εργασίας, είναι ο έλεγχος τυχόν γενετικών διαφορών των 13 γονιδίων του mtDNA που σχετίζονται με το μηχανισμό της οξειδωτικής φωσφωρυλίωσης (OXPHOS) σε 14 φυλές προβάτων, με σκοπό την εύρεση του ρόλου που έχει η μιτοχονδριακή βιοενεργητική στη δημιουργία ξεχωριστών φυλών. Σαν πρώτο βήμα προσπαθήσαμε να βρούμε διαφοροποιήσεις μεταξύ των φυλών στην εξελικτικά ουδέτερη περιοχή του mtDNA τη D-loop, χρησιμοποιώντας 91 άτομα. Όπως ήταν αναμενόμενο μετά από PCR ενίσχυση και αλληλούχηση, η διαφοροποίηση που βρέθηκε ήταν μη σημαντική. Η ανάλυση συνεχίζεται με τα 13 γονίδια του mtDNA που εμπλέκονται στο OXPHOS.

ANALYSIS OF THE MTDNA D-LOOP REGION BETWEEN DIFFERENT SHEEP BREEDS

Margaritopoulou Vassiliki[1], Stamatis Costas[1], Sarafidou Theologia[1], Billinis Charalambos[2], Mamuris Zissis[1]

1Laboratory of Genetics, Evolutionary and Comparative Biology, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, 2Laboratory of Microbiology and Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly

The main goal of this project is to bring evidence in support of the hypothesis of the active contribution of the mitochondrial bioenergetics to domestication events, studying sheep breeds (Ovies aries). The basic idea is to combine previous extended knowledge on sheep genetics, population genetics, phylogenetics and phylogeography with new data from functional genomics, bioinformatics and in silico analyses. The mitochondria are the main source of cellular energy production (mitochondrial bioenergetics), playing a major role in cell life and death, in differentiation of energy consuming tissues and even in whole organism development. Given the vital role of the mitochondria in the very existence of cell and organisms, their functional components are subjected to both negative and positive selection. The mitochondrial function is under the control of both the mitochondrial and nuclear genomes. Due to the cell cycle-independent replication of mtDNA, its poor repair system, and the proximity to sites of reactive oxygen species production, the mtDNA undergoes a faster mutation rate by an order of magnitude compared to nDNA (in animals), calling for tight co-evolution of genes encoding functions shared between mtDNA and nDNA. The key concept behind this project is to check for genetic differences in the 13 mitochondrial DNA genes involved in oxidative phosphorylation (OXPHOS) complexes between 14 different sheep breeds in order to find out the role of mitochondrial bioenergetics in domestication and breed formation. As a first step we tried to detect the neutral differentiation between 91 individuals of these breeds studying a neutral mtDNA region, the D-loop. As expected, after PCR analysis and subsequent sequencing, none or little differentiation were detect between breeds. We further continue the analysis with the 13 mtDNA OXPHOS genes.

ΦΑΙΝΟΤΥΠΗΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΝΕΦΡΙΚΗ ΝΟΣΟ

Ελένη Μαρινάκη [1], Σπυρίδων Αλέξης [1], Μαρία Ρόδη[2], Σωτήριος Τσάκας [1], Ελευθερία Ροσμαράκη [1]

1/Εργαστήριο Ανοσοβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών - 2/Εργαστήριο Ανοσοαιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Τα ΝΚ κύτταρα είναι λεμφοκύτταρα που συμμετέχουν σε ανοσολογικές αποκρίσεις εναντίον ιών, ενδοκυτταρικών βακτηρίων και παρασίτων. Όταν ενεργοποιούνται σκοτώνουν τα κύτταρα-στόχους εκκρίνοντας είτε περφορίνη και γκρανένζυμα είτε κυτταροκίνες και χημειοκίνες. Οι κυριότερες κυτταροκίνες που εκκρίνουν είναι ο TNF-α και η IFN-γ. Τα NK-T κύτταρα είναι ένας ετερογενής πληθυσμός Τ λεμφοκυττάρων που εκφράζουν υποδοχέα των Τ κυττάρων και αντιγόνα επιφανείας των ΝΚ κυττάρων. Στην εργασία αυτή προσδιορίστηκαν τα ποσοστά των ΝΚ και NK-T κυττάρων στο αίμα ασθενών με σπειραματονεφρίτιδα και ασθενών με μεταμόσχευση νεφρού. Χρησιμοποιώντας περιφερικά μονοπύρηνα κύτταρα και κυτταρομετρία ροής, παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού των ΝΚ στην μεταμόσχευση, ενώ το ποσοστό των NK-T κυττάρων παρέμεινε σε φυσιολογικά επίπεδα. Χρησιμοποιώντας anti-CD107a αντίσωμα δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στην κυτταροτοξικότητα των ΝΚ κυττάρων έναντι K562 κυτταρικής σειράς που αποτελεί στόχο των ΝΚ. Στη συνέχεια, προσδιορίστηκε με τη μέθοδο CBA η παραγωγή TNF-α από τα μονοπύρηνα κύτταρα και παρατηρήθηκε αυξημένη παραγωγή στη σπειραματονεφρίτιδα. Η ομάδα μεταμοσχευμένων που μελετήθηκε ήταν σταθερή αναφορικά με την επιτυχία της μεταμόσχευσης και για αυτό δεν παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων του TNF-α (η οποία σχετίζεται με απόρριψη). Συμπερασματικά, αν και μειώνεται το ποσοστό των ΝΚ κυττάρων στην μεταμόσχεση, αυτά εμφανίζουν φυσιολογική κυτταροτοξικότητα και λειτουργικότητα ενώ στην σπειραματονεφρίτιδα αν και το ποσοστό τους παραμένει σταθερό, εμφανίζουν αυξημένη λειτουργικότητα. Η σπειραματονεφρίτιδα χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό ανοσοσυμπλεγμάτων που μπορούν να εκκινήσουν φυσικές ανοσοαποκρίσεις. Αυτό μπορεί να δικαιολογήσει την αυξημένη παραγωγή TNF-α. Το ποσοστό των NK-T κυττάρων δεν παρουσιάζει διαφορά.

PHENOTYPIC ANALYSIS AND FUNCTIONALITY OF INNATE IMMUNE CELLS IN PATIENTS WITH KIDNEY DISEASE

Eleni Marinaki [1], Spiridon Alexis [1], Maria Rodi[2], Sotirios Tsakas S [1], Eleutheria Rosmaraki [1]
1/Laboratory of Immunobiology, Department of Biology, University of Patras - 2/Laboratory of Immunohematology, Department of Medicine, University of Patras

Natural killer (NK) cells are lymphocytes, which are involved in immune responses against viruses, intracellular bacteria and parasites. Upon activation they kill target-cells either by secreting perforin and granzymes, or cytokines and chemokines. Such major cytokines are TNF-α and IFN-γ. NK-T cells is an heterogeneous group of T lymphocytes that express T cell receptors and surface antigens of NK cells. This project investigated percentages of NK and NK-T cells in the blood of patients with glomerulonephritis and patients with kidney transplantation. Flow cytometry in peripheral blood mononuclear cells revealed that the percentage of NK cells was reduced in transplanted patients, while the NK-T cells percentage remained unchanged. By using an anti-CD107α antibody, the level of NK cytotoxicity against K562 target cells was found unchanged. Furthermore, using the CBA method, the production of TNF-α by mononuclear cells was determined and increased production in patients with glomerulonephritis was observed. In the group of renal patients with a successful transplantation justifies normal level of TNF-α (increased production correlates with rejection). In conclusion, even though the percentage of NK cells in transplanted patients is reduced, they exhibit normal function, whereas in case of glomerulonephritis even though their percentage is normal, they exhibit increased activity. Glomerulonephritis is characterized by formation of immunocomplexes that initiate innate immune responses. This could explain the increased production of TNF-α. The percentage of NK-T cells in those patients remains within normal range.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΜΕΙΖΟΝΟΣ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΙΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΟΛΥΝΣΕΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΤΟΥ ΔΥΤΙΚΟΥ ΝΕΙΛΟΥ

Μαρκαντώνη Μαρία[1], Σαρρή Κωνσταντίνα[1], Μούτου Α. Κατερίνα[1], Παπά Άννα[2], Τσακρής Αθανάσιος[3], Περβανίδου Δανάη[4], Μπάκα Αγορίτσα[4], Χατζηχριστοδούλου Χρήστος[5], Μαμούρης Ζήσης[1], MALWEST working group http:

1Εργαστήριο Γενετικής, Εξελικτικής και Συγκριτικής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. 2Εργαστήριο Αναφοράς Αρμποϊών, Α' Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. 3Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 4Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ). 5Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Η μόλυνση από τον Ιό του Δυτικού Νείλου (WNV) είναι ασυμπτωματική στα περισσότερα άτομα, ενώ μια μειοψηφία εκδηλώνει συμπτώματα που κυμαίνονται από πυρετό (20% των περιπτώσεων) έως πιο σοβαρές νευροεπεκτατικές ασθένειες όπως η εγκεφαλίτιδα, μηνιγγίτιδα, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα και οξεία χαλαρή παράλυση (1% των περιπτώσεων). Μελέτες σε ζώα και ανθρώπους έχουν δείξει ότι τα συστήματα τόσο της φυσικής όσο και της επίκτητης ανοσίας συμμετέχουν στον έλεγχο και την καταπολέμηση του ιού. Ωστόσο, κυκλοφορούντες φλεγμονώδεις παράγοντες μπορεί να διευκολύνουν τη διείσδυση του ιού στο κεντρικό νευρικό σύστημα και η τοπική φλεγμονώδης αντίδραση που απαιτείται για την καταπολέμηση του ιού έχει συνδεθεί με εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων. Τα συμπτώματα της μόλυνσης από τον WNV τείνουν να είναι πιο σοβαρά σε ανοσοκατασταλμένα άτομα, γεγονός που υποδηλώνει τη συμμετοχή του ανοσοποιητικού συστήματος στον έλεγχο των μολύνσεων. Επιπλέον, οι ηλικιωμένοι και τα WNV θετικά άτομα με υποκείμενες παθήσεις, όπως υπέρταση και διαβήτη, έχουν υψηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν νευροεπεκτατική νόσο σε σύγκριση με άλλα WNV θετικά άτομα.. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η συγκριτική ανάλυση γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων HLA-DPA1 εξώνιο 2, HLA-DQA1 εξώνιο 2, HLA-DRB1 εξώνιο 2, του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) και TLR3 εξώνιο 2 σε 21 συμπτωματικά WNV θετικά άτομα και 34 άτομα μάρτυρες. Πέντε, επτά, 16 και δύο διαφορετικά αλληλόμορφα αντίστοιχα ανιχνεύτηκαν συνολικά στα 55 άτομα. Το πιο ενδιαφέρον αποτέλεσμα της μελέτης ήταν οι στατιστικώς σημαντικές διαφορές στις συχνότητες ορισμένων αλληλομόρφων σε όλα τα γονίδια ανάμεσα στις δυο πληθυσμιακές ομάδες. Αν και το δείγμα που αναλύθηκε είναι μικρό, το αποτέλεσμα αυτό ενδεχομένως υποδηλώνει την ύπαρξη αλληλομόρφων που προσδίδουν ευαισθησία ή ανθεκτικότητα στο κάθε άτομο. Η μελέτη θα συνεχισθεί με την προσθήκη περισσότερων ατόμων και γονιδίων.

ANALYSIS OF POLYMORPHISMS OF MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX IN GREEK HUMAN POPULATIONS AND THEIR CORRELATION WITH THE INFECTIONS FROM THE WEST NILE VIRUS

Markantoni Maria[1], Sarri Konstantina[1], Moutou Katerina[1], Papa Anna[2], Tsakris Athanasios3, Pervanidou Danai[4], Baka Agoritsa[4], Hadjichristidoulou Christos[5], Mamuris Zissis[1],
1Laboratory of Genetics, Evolutionary and Comparative Biology, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly.2Arboviruses Reference Laboratory, 1st Microbiological Laboratory, Aristotle University of Thessaloniki.3Laboratory of Microbiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens. 4Hellenic Center for Disease Control and Prevention (HCDCP). 5Laboratory of Hygiene and Epidemiology, Faculty of Medicine, University of Thessaly.

West Nile infection exhibits no symptoms on most individuals, while a minority exhibits symptoms that vary from fever (20% of the cases) to more serious neuroinvasive diseases such as encephalitis, meningitis, meningoencephalitis and acute flaccid paralysis (1% of the cases). Studies in humans and animals have shown that both innate and adaptive immune systems are taking part in controlling and clearing the virus. However, circulating inflammatory factors may facilitate the penetration of the virus in the central nervous system and the local inflammatory response that is vital for viral clearance has been linked to clinical outcome. The symptoms of West Nile virus tend to be more serious in immunocompromised individuals, something that suggests the involvement of the immune system in infection control. Furthermore, the elderly and the WNV positive individuals with underlying diseases such as hypertension and diabetes, present a higher risk of developing neuroinvasive disease compared to other WNV positive subjects. In the present study, comparative analysis of genetic polymorphisms of genes HLA-DPA1 exon 2, HLA-DQA1 exon 2, HLA-DRB1 exon 2, of the Major Histocompatibility Complex, TLR3 exon 2, was held on 21 WNV positive subjects and 34 control subjects. Five, seven, sixteen and two different alleles were detected respectively in a total of 55 individuals. Probably the most interesting result of the analysis was the statistically significant differences in the frequencies of certain alleles in all genes between the two population groups. Although the sample analyzed is small, this result may indicate the existence of alleles which confer susceptibility or resistance to each individual. The study will continue with the addition of more individuals and genes.

ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΝΕΟΝΙΚΟΤΙΝΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΑΜΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΤΕΤΡΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΟ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΤΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΟΥ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΝΑΥΡΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΟΣ Ν2α

Μαυρίκου Σοφία [1], Ευαγγελία Φλαμπούρη[1], Σπυρίδων Κίντζιος[1]
*1Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών, Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα, * sophie_mav@aua.gr*

Σε αυτή τη μελέτη μελετώνται οι επιδράσεις οχτώ εντομοκτόνων με διαφορετικές χημικές δομές, τριών αμιδίων του τετρονικού οξέος (spiromesifen, spirodiclofen, spirotetramat) και πέντε νεονικοτινοειδών (imidacloprid, clothianidin, thiacloprid, acetamiprid, thiamethoxam) σε διαφοροποιημένα και μη διαφοροποιημένα κύτταρα νευροβλαστώματος. Τα κύτταρα κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας εκτέθηκαν σε τέσσερεις διαφορετικές συγκεντρώσεις του κάθε εντομοκτόνου (3, 10, 30 και 100μΜ) για 24 και 48 ώρες σε συνθήκες που ευνοούσαν και που δεν ευνοούσαν τη διαφοροποίηση τους. Για την εκτίμηση της κυτταροτοξικότητας των κυττάρων πραγματοποιήθηκε η βιοχημική δοκιμή ιωδιούχου προπιδίου (PI). Ο προσδιορισμός του μεμβρανικού δυναμικού και της συγκέντρωσης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των χρώσεων DiSC3(5) και Fluo-3 αντίστοιχα σε φωτόμετρο φθορισμού. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας θα συζητηθούν στη συνέχεια και θα γίνει προσπάθεια για την ανάδειξη της πιθανής νευροτοξικής δράσης αυτών των ουσιών στα κύτταρα N2a νευροβλαστώματος ποντικού.

EFFECTS OF NEONICOTINOIDS AND TETRONIC ACIDES AMIDES ON MEMBRANE POTENTIAL AND INTRACELLULAR CALCIUM CONCENTRACTION IN NEUROBLASTOMA N2a CELL LINE

Sophia Mavrikou[1], Evaggelia Flampouri[1], Spiridon Kintzios[1]
*1Agricultural University of Athens, Department of Agricultural Biotechnology, Laboratory of Plant Physiology and Morphology, Iera Odos 75, 11855, Athens, * sophie_mav@aua.gr*

This study estimates the effects of eight insecticides with different chemical structures, three tetronic acid amides (spiromesifen, spirodiclofen, spirotetramat) and five neonicotinoids (imidacloprid, clothianidin, thiacloprid, acetamiprid, thiamethoxam) on differentiating and non-differentiating mouse N2a neuroblastoma cells. The cells were exposed to four different concentrations of each insecticide (3, 10, 30 and 100μM) for 24 and 48 hours under differentiating and non-differentiating conditions. Cytotoxicity was estimated by the propidium iodide (PI) assay. Membrane potential and intracellular calcium concentration ([Ca2+],) were measured using the probes DiSC3(5) and Fluo-3, respectively with a fluorescence plate reader. The total protein concentration was determined by the Bradford method. The results of the present study will be discussed further on, with emphasis on the possible neurotoxic potential of these compounds on mouse N2a neuroblastoma cells.

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΩΣ ΠΙΘΑΝΟΥ ΣΤΟΧΟΥ ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΑΡΡΥΘΜΟΓΕΝΟΥΣ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΑΣ ΔΕΞΙΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ

Μαυροειδής Μανώλης
Τομέας Κυτταρικής Βιολογίας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, Αθήνα 11527. e-mail: emavroeid@bioacademy.gr

Ο ρόλος της φλεγμονής στην αρρυθμογενή μυοκαρδιοπάθεια δεξιάς κοιλίας (ARVC) είναι ελάχιστα μελετημένος, παρότι υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι η φλεγμονή προάγει την παθολογία στην ARVC. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιώντας ένα καινούργιο ζωικό μοντέλο ARVC δείχνουμε για πρώτη φορά ότι η ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας. Μεταλλάξεις σε διάφορα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες των εμβόλιμων δίσκων των μυοκαρδιοκυττάρων έχουν συσχετισθεί με την παθογένεση της νόσου, και πρόσφατα η δεσμίνη πιστοποιήθηκε ότι έχει παρόμοια δράση σε ασθενείς που έφεραν μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο. Χρησιμοποιώντας τεχνικές ιστολογίας ηχοκαρδιογραφίας και ηλεκτροφυσιολογίας δείξαμε ότι ένα γενετικά τροποποιημένο ποντίκι -χωρίς δεσμίνη- (Des-/-) εμφανίζει σχεδόν όλα τα παθογνωμικά χαρακτηριστικά της ανθρώπινης ARVC. Εκτεταμένος θάνατος μυοκαρδιοκυττάρων με νέκρωση πήξεως, και επακόλουθη οξεία φλεγμονώδη αντίδραση παρατηρείται στο μυοκάρδιο των Des-/- ζώων. Τα πρώτα σημάδια ενεργοποίησης του συμπληρώματος παρατηρούνται στα Des-/- ζώα πριν την έναρξη της οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης σε μυοκαρδικύτταρα με διαταραχές στη συνέχεια της σαρκοπλασματικής τους μεμβράνης. Κατόπιν μαζική ενεργοποίηση του συμπληρώματος παρατηρείται στο μυοκάρδιο σε νεκρωτικές περιοχές και σε περιοχές με διείσδυση φλεγμονωδών κυττάρων. Ανάλυση των C3-/-Des-/- and C5aR-/-Des-/- ζώων και φαρμακευτικές προσεγγίσεις (αναστολείς του C5a signaling) χρησιμοποιήθηκαν για να διευκρινιστεί ο παθογενετικός ρόλος του συμπληρώματος στο Des-/- πειραματόζωο. Οι αναλύσεις αυτές έδειξαν ότι η πολύ εντυπωσιακή καλυτέρευση της καρδιακής λειτουργίας και των αρρυθμιών στα C5aR-/-Des-/- ζώα μπορούν να εξηγηθούν α) με μείωση της αρχικής οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης με αποτέλεσμα μειωμένη αναδόμηση/ίνωση του καρδιακού ιστού και β) με απουσία της μακροχρόνιας δυσμενούς επίδρασης του C5aR signaling στη λειτουργία των μυοκαρδιοκυττάρων. Επίσης υπάρχουν ενδείξεις για ρόλο του C5a-C5aR signalling στη διαφορική χρήση πηγών ενέργειας (γλυκόζη/λιπαρά οξέα) ως πιθανού μηχανισμού αναπλήρωσης στο μυοκάρδιο που βρίσκεται σε ανεπάρκεια. Η σπουδαιότητα των παραπάνω αποτελεσμάτων στην ανθρώπινη παθολογία ενισχύεται και από την παρατήρηση (για πρώτη φορά) σημαντικής ενεργοποίησης του συμπληρώματος στην καρδιά ασθενή με ARVC. Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι το σύστημα του συμπληρώματος μπορεί να είναι ένας πιθανός στόχος για τη θεραπεία της αρρυθμογενούς μυοκαρδιοπάθειας δεξιάς κοιλίας.

COMPLEMENT SYSTEM MODULATION AS A TARGET OF ARRHYTHMOGENIC RIGHT VERTICULAR CARDIOMYOPATHY

Mavroidis Manolis

Cell Biology Division, Center of Basic Research, Biomedical Research Foundation, Academy of Athens, Athens, 11527, Greece. Tel: +30-210-6597057, Fax: +30-210-6597545, e-mail: emavroeid@bioacademy.gr

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is a clinical entity, characterized by right ventricular enlargement, fibrofatty replacement of myocytes, life-threatening arrhythmias and sudden cardiac death. The role of inflammation in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is unresolved, although inflammation may contribute to disease progression. We have implicated complement system activation in the pathogenesis of ARVC. Objective: To delineate the pathogenic role of the complement system in a new animal model of ARVC and its implication in human disease. Methods and Results To date, mutations in various components of the cardiac desmosome have been shown to play important role in the pathogenesis of ARVC and recently desmin gene was identified as a new player. By cardiac histology, echocardiography and electrocardiography we demonstrated that desmin null mouse (Des-/-) recapitulates most of the pathognomonic features of human ARVC. Extensive cardiomyocyte death by coagulative necrosis and a subsequent acute inflammatory reaction are observed in Des-/- mice. The earliest signs of complement activation were observed in the myocardium of Des-/- animals before the onset of inflammatory reaction, in cardiomyocytes that exhibited increased sarcolemmal permeability. Subsequently, massive complement activation was observed in areas of necrotic cells debris and inflammatory infiltrate. Analysis of C3-/-Des-/- and C5aR-/-Des-/- double-null animals and pharmaceutical approaches (new inhibitors of C5a signaling) were used to delineate the pathogenic role of the complement system in these animals. Our data suggest, that the impressive improvement of cardiac function and the reduced vulnerability to arrhythmias in C5aR-/-Des-/- mice, could be explained first by a reduction in the acute inflammatory reaction at the initiation of cardiac tissue injury (2-3 weeks of age) with a consequent reversed remodeling procedure, and secondly by the absence of a direct C5a-C5aR signaling action on cardiomyocytes that could, in long term, prevent their contractility dysfunction. A potential role of C5a-C5aR signalling in utilization of energy sources (glucose/fatty acids) by the failing myocardium as a compensatory mechanism would be also discussed. The relevance of the above findings to human pathophysiology was substantiated by demonstrating, for the first time, significant complement activation in the cardiac tissues from patients with ARVC. Conclusions: complement could be a valid target for treatment/amelioration of ARVC.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΓΝΩΣΙΑΚΩΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΣΑΥΡΕΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Lacerta trilineata*

Μαυροθαλασσίτη Η., Σαγώνας Κ., Βαλάκος Ε.Δ.
1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 157-84, Αθήνα

Στη γνωσιακή οικολογία, κεντρικός άξονας μελέτης είναι ο ρόλος της συμπεριφορικής πλαστικότητας, δηλαδή της ικανότητας ενός ατόμου να αλλάζει τη συμπεριφορά του είτε αναπτύσσοντας νέες αποκρίσεις σε καινούρια ερεθίσματα είτε αλλάζοντας υφιστάμενες αποκρίσεις σε οικεία ερεθίσματα. Η πλειοψηφία των, μέχρι σήμερα, μελετών σχετικά με τη συμπεριφορική πλαστικότητα των σπονδυλωτών έχει εστιάσει σε θηλαστικά και πτηνά αλλά όχι σε εξώθερμα σπονδυλωτά. Ο λόγος είναι ότι η συμπεριφορική πλαστικότητα συνδέεται γενικά με γνωρίσματα που διαθέτουν κυρίως τα ενδόθερμα είδη όπως είναι ο σχηματισμός πολύπλοκων κοινωνικών δομών και η διαβίωση σε απρόβλεπτα ενδιαιτήματα, με ποικίλες στρατηγικές και χώρους αναζήτησης τροφής. Παρ' όλα αυτά, πρόσφατες μελέτες συνηγορούν υπέρ της ύπαρξης συμπεριφορικής πλαστικότητας στα ερπετά. Στην παρούσα μελέτη δέκα άτομα του είδους Lacerta trilineata υποβλήθηκαν σε πολλαπλές γνωσιακές δοκιμασίες προκειμένου να ελέγξουμε τις γνωσιακές τους ικανότητες. Κάθε σαύρα έμπαινε σε επόμενη δοκιμασία, μόνο αφού ολοκλήρωνε επιτυχώς την προηγούμενη. Στην πρώτη δοκιμασία, οι σαύρες έπρεπε να αποκαλύψουν ένα πηγάδι, καλυμμένο με καπάκι συγκεκριμένου σχήματος και χρώματος, ώστε να έχουν πρόσβαση στην τροφή που υπήρχε μέσα σε αυτό. Στη δεύτερη δοκιμασία, οι σαύρες έπρεπε να διακρίνουν το πηγάδι, που περιείχε την τροφή και το οποίο ήταν καλυμμένο με το καπάκι της πρώτης δοκιμασίας, από το πηγάδι που δεν περιείχε τροφή και το οποίο ήταν καλυμμένο με καπάκι διαφορετικού χρώματος. Στην τρίτη δοκιμασία, πραγματοποιήθηκε αντιστροφή των καπακιών που καλύπτουν τα δύο πηγάδια, προκειμένου οι σαύρες να δημιουργήσουν μία καινούρια συσχέτιση τροφής-χρώματος συγκριτικά με τις δύο πρώτες δοκιμασίες. Τέλος, στην τέταρτη δοκιμασία, επαναφέραμε τις παραμέτρους της δεύτερης δοκιμασίας. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα υποδεικνύουν την ικανότητα της L. trilineata να ανταποκρίνεται σε μία άγνωστη κινητική δοκιμασία χρησιμοποιώντας συμπεριφορές αναζήτησης τροφής που δεν παρατηρούνται στη φύση και παρουσιάζοντας δυνατότητα συνειρμικής μάθησης. Μέρος αυτής της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από το προγραμμα Καποδίστριας (ΕΚΠΑ)

BEHAVIORAL STUDY OF THE COGNITIVE ABILITIES OF THE LIZARD SPECIES *Lacerta trilineata*

Mavrothalassiti I., Sagonas K., Valakos E.D.
1/Section of Animal and Human Physiology, Dept. of Biology, NKUA, Panepistimioupolis, Ilissia 157-84, Athens

A central theme in cognitive ecology is the role of behavioral flexibility, the ability of an individual to exhibit behavioral changes either by developing new responses to novel stimuli or by modifying existing responses to familiar stimuli. The majority of the studies on vertebrate behavioral flexibility have focused on mammals and birds but not on ectotherms. The reason for this is that behavioral flexibility has been traditionally associated with attributes present mostly in endotherms such as the formation of complex social structures and living in unpredictable habitats, where foraging strategies and food sources are diverse. Nevertheless, recent studies indicate that reptiles also exhibit behavioral flexibility. In this study, we examined the cognitive abilities of the species Lacerta trilineata by using task switching methods. Each lizard advanced to the subsequent task only after having successfully completed the previous one. In the first task, the lizards had to dislodge a uniformly shaped and colored disc covering a well which contained an insect larva. In the second task, the lizards had to discriminate between the well containing the larva and covered with the same disc used in the first task, and a well which did not contain food but was also covered with a differently colored disc. In the third task, the discs covering these two wells were reversed, thereby forcing the lizards to develop a new association between food and disc color compared to the two previous tasks. Finally, in the fourth task, we restored the experimental conditions of the second task. The results acquired until now suggest that L. trilineata can respond to an unknown motor task by developing associative learning and exhibiting foraging behaviors that have not been observed in the field. Part of this work was funded by Kapodistrias project (NKUA)

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΤΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ MSK1 ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΔΙΟΜΥΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΣΤΡΕΣΣΟΓΟΝΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.

Μελλίδης Κυριάκος, Μπαρλάκα Ελευθερία, Μάρκου Θωμαΐς, Λάζου Αντιγόνη
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΖΩΩΝ, ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ,ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Τα καρδιομυοκύτταρα ως τελικά διαφοροποιημένα κύτταρα αποκρίνονται σε διάφορα στρεσσογόνα ερεθίσματα με υπερτροφία και κυτταρικό θάνατο με τελικό αποτέλεσμα την καρδιακή αναδιαμόρφωση. Η καρδιακή αναδιαμόρφωση είναι μια σύνθετη διαδικασία που μεταξύ άλλων περιλαμβάνει ενεργοποίηση κινασών όπως οι MAPKs/MSK1 και PI3K/ Akt. Η MSK1 είναι μια κινάση η οποία θεωρείται σημείο σύγκλισης δυο σηματοδοτικών μονοπατιών, των ERK1/2 και της p38 MAPK. Η ενεργότητα της ρυθμίζεται μέσω πολλαπλών θέσεων φωσφορυλίωσης ενώ ο ρόλος της στο μυοκάρδιο δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της σηματοδότησης της MSK1 κατά την απόκριση των καρδιομυοκυττάρων σε στρεσογόνους παράγοντες. Χρησιμοποιήθηκαν καρδιομυοκύτταρα που απομονώθηκαν από καρδιά αρσενικών ενήλικων επίμυων της φυλής Wistar στα οποία έγινε επίδραση με προ-οξειδωτικούς παράγοντες, αυξητικούς παράγοντες, προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και α1 αδρενεργικούς αγωνιστές (H2O2, IGF-1, TNFα, και φαινυλεφρίνη). Η ενεργοποίηση της κινάσης μετρήθηκε με προσδιορισμό της φωσφορυλίωσης στη θέση Thr 581 μετά από ανάλυση κατά Western. Ολοι οι παράγοντες προκάλεσαν την φωσφορυλίωση της κινάσης ενώ τα υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης παρατηρήθηκαν κατά την επίδραση με φαινυλεφρίνη. Με την χρησιμοποίηση ειδικών αναστολέων των ERK1/2 και p38 MAPK διερευνήθηκε το σηματοδοτικό μονοπάτι το οποίο οδηγεί στην ενεργοποίηση της κινάσης. Κατά το οξειδωτικό στρες η MSK1 ενεργοποιείται μόνο από το μονοπάτι της p38 ενώ κατά τις υπόλοιπες επιδράσεις η ενεργοποίηση της διαμεσολαβείται μέσω και των δυο μονοπατιών. Τέλος, με την χρήση αναστολέων της MSK1 προσδιορίστηκε η βιωσιμότητα των καρδιομυοκυττάρων κατά το οξειδωτικό στρες με την μέθοδο MTT και κυτταρομετρία ροής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αναστολή της MSK1 μειώνει την βιωσιμότητα των καρδιομυοκυττάρων κατά το οξειδωτικό στρες. Απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για το πιθανό καρδιοπροστατευτικό ρόλο της MSK1. Η εργασία χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από τον ΕΛΚΕ ΑΠΘ

MSK1 SIGNALING IN STRESS RESPONSE OF CARDIAC MYOCYTES.

Mellidis Kyriakos, Barlaka Eleftheria, Markou Thomais, Lazou Antigone
LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY, SCHOOL OF BIOLOGY,ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI

Cardiomyocytes, as terminally differentiated cells, respond to various stress stimuli with hypertrophy and cell death that eventually lead to cardiac remodeling. Cardiac remodeling is a complex process that among others includes activation of kinases such as MAPKs/MSK1 and PI3K / Akt. MSK1 is a kinase which is considered as a convergence point of two signaling pathways, ERK1 / 2 and p38 MAPK. The activity of the kinase is regulated by phosphorylation of multiple sites while its role in the myocardium is not fully clarified. The purpose of this study is to investigate MSK1 signalling in cardiomyocyte response to various stress stimuli. Isolated cardiomyocytes from male Wistar adult rat hearts were treated with pro-oxidants, growth factors, proinflammatory cytokines and a1 adrenergic agonists (H2O2, IGF-1, TNF, and phenylephrine). The kinase activation was measured by determining the phosphorylation status of Thr 581 by Western blot. All these factors caused phosphorylation of the kinase while the highest levels of phospho-MSK1 were observed during treatment with phenylephrine. Furthermore we tried to clarify which signaling pathway mediates the MSK1 activation by using specific inhibitors of ERK1 / 2 and p38 MAPK. Under oxidative stress, MSK1 is activated only through the p38-MAPK pathway while activation by other factors is mediated through both pathways. Finally, MSK1 inhibitors were used in order to determine the viability of cardiomyocytes against oxidative stress by MTT and flow cytometry. The results showed that inhibition of MSK1 reduces the viability of cardiomyocytes against oxidative stress. Further investigation of the potential cardioprotective role of MSK1 is required. The research was partly funded from ELKE APTh

ΕΠΑΓΕΙ Η ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΑΓΧΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΜΝΗΜΗΣ ΣΕ ΜΥΣ;

Δέσποινα Μηνά Δ.[1], Αδαμαντία Φ. Φραγκοπούλου[1], Αντώνης Σταματάκης[2], Αικατερίνη Σκουρολιάκου[3], Νικόλαος Κωστομητσόπουλος[4], Φωτεινή Στυλιανοπούλου[2], Λουκάς Χ. Μαργαρίτης[1]

1Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής,Τμήμα Βιολογίας , ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολις, 15784 Αθήνα - /2Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Τμήμα Νοσηλευτικής, ΕΚΠΑ, 11527 Αθήνα - /3Τμήμα Φυσικής Χημείας & Τεχνολογίας Υλικών, ΤΕΙ Αθήνας, 12210 Αθήνα - 4/Μονάδα Ζωικών Προτύπων & Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής, ΙΙΒΕΑΑ, 11527 Αθήνα

Ολοένα και περισσότερες είναι οι διεθνείς εργασίες οι οποίες υποστηρίζουν τις ανεπιθύμητες επιπτώσεις από την έκθεση των οργανισμών σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Θέλοντας να διερευνήσουμε τις πιθανές επιδράσεις της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από συσκευή ασύρματου δικτύου Wi-Fi ζώνης συχνοτήτων 2440-2480 MHz και μέσης έντασης ηλεκτρικού πεδίου 381 mV/m, στα επίπεδα άγχους και τη μνήμη ενήλικων αρσενικών μυών C57BL/6 συναρτήσει του χρόνου, εκθέσαμε σε τέτοιου είδους ακτινοβολία 8 ζώα για 14 ώρες ημερησίως και για τρεις συνεχείς μήνες, ενώ άλλα 8 ζώα αποτέλεσαν την ομάδα εικονικής ακτινοβόλησης (μάρτυρες). Για τον υπολογισμό των επιπέδων άγχους των μυών χρησιμοποιήθηκε «η δοκιμασία ανοιχτού πεδίου» (Open Field Test- OpF) και για τον έλεγχο της μνήμης αναγνώρισης εφαρμόσαμε τη «δοκιμασία αναγνώρισης καινοφανούς αντικειμένου» (Novel Object Recognition task - NOR). Συνολικά διεξήχθησαν τέσσερα πειράματα OpF και τέσσερα NOR, στις 0, 30, 60 και 90 ημέρες καθημερινής ακτινοβόλησης. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων αποκάλυψε ότι οι εκτιθέμενοι μύες παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα άγχους κατά την πρώτη και δεύτερη δοκιμασία OpF εν συγκρίσει με τους μυς-μάρτυρες, ενώ στις δοκιμασίες NOR η επίδοση των μυών ήταν παρόμοια και στις δύο ομάδες και σε όλα τα χρονικά σημεία που εξετάστηκαν. Συμπερασματικά, είναι πιθανόν αυτού του είδους η ακτινοβολία να επηρεάζει, τουλάχιστον παροδικά, τον προμετωπιαίο λοβό ή/και την αμυγδαλή, περιοχές που ελέγχουν την επίδοση των ζώων στη δοκιμασία του OpF, ενώ από την άλλη πλευρά δεν φαίνεται να επηρεάζονται άλλες περιοχές του εγκεφάλου, οι οποίες σχετίζονται με τη μνήμη, όπως είναι ο ενδορρινικός φλοιός και ο ιππόκαμπος, οι οποίες όμως έχει δειχθεί από την ερευνητική μας ομάδα ότι επηρεάζονται από την ακτινοβολία κινητών τηλεφώνων. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΘΑΛΗΣ – ΕΚΠΑ – MIS 375784 – Βιολογικές επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας: μια διεπιστημονική προσέγγιση με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον ΛΧΜ.

IS Wi-Fi ROUTER ELECTROMAGNETIC RADIATION INDUCING STRESS RESPONSE AND MEMORY DEFICITS IN MICE?

Despoina Mina[1], Adamantia F. Fragopoulou[1], Antonis Stamatakis[2], Aikaterini Skouroliakou[3], Nikolaos Kostomitsopoulos[4], Fotini Stylianopoulou[2], Lukas H. Margaritis[1]

1Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens - /2Biology – Biochemistry Lab, Faculty of Nursing, University of Athens, 11527 Athens - /3 Department of Physics and Chemistry & Material Technology, Technical Educational Institute of Athens, 12210 Athens - /4Laboratory Animal Facilities & Centre of Experimental Surgery, BRFAA, 11527 Athens.

During the past three decades more and more are the international studies, which support the adverse effects of electromagnetic radiation on living organisms. One of the most daily used wireless devices at home and at work is the Wi-Fi router, which emits radiation at a frequency bandwidth of 2440-2480 MHz and which hasn't been extensively studied so far for possible induction of health hazards. In the current work, we investigated whether Wi Fi router radiation at average electric field intensity of 381 mV/m for 14 h/day for 3 consecutive months may be capable to increase the anxiety levels and deteriorate the short term recognition memory of adult C57BL/6 male mice. In order to achieve our first goal, we applied the Open Field Test (OpF), and for achieving our second goal, we used the Novel Object Recognition task (NOR). Two equally sized groups of 8 animals (exposed and sham exposed) were used and four OpF and NOR experiments were performed on day 0, 30, 60 and 90 of the exposure. Analysis of the open field behavior revealed a clear anxiogenic effect of Wi-Fi radiation in the exposed group gradually more intense from the first to the second month of daily exposure. Interestingly, at the third month of exposure no effects were observed in the OpF, indicating a possible adaptation phenomenon. On the other hand, no Wi-Fi radiation-induced effect was detected on the short-term recognition memory. It could be suggested that the prefrontal cortex and/or the amygdala (areas regulating open field behavior) are more susceptible to this kind of very low SAR irradiation than the entorhinal cortex and the hippocampus, which are related to memory functions and have been reported by our research group to be affected by higher electric field intensities emitted from mobile phones. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: THALES. Investing in knowledge society through the European Social Fund. UoA- MIS 375784 – Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: a multidisciplinary approach coordinated by L.H.M.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ Alamar Blue® ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕ ΠΡΟΣΚΟΛΛΩΜΕΝΑ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Μητράκας Αχιλλέας Γ., Μαρία Α. Ζαχαρή, Παναγιώτα Σ. Χόνδρου, Σταματία Ε. Πουλιλιού, Ιωάννης Αμπατζόγλου, Χρήστος Ε. Ζώης, Μιχαήλ Ι. Κουκουράκης
Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

Η μέθοδος Alamar Blue® σχεδιάστηκε για την μέτρηση του πολλαπλασιασμού ποικίλων κυτταρικών σειρών και της τοξικότητας ποικίλων παραγόντων, όπως η ακτινοβολία. Η μέθοδος βασίζεται στην μετατροπή της ρεσαζουρινης σε ρεζορουφινη από τα μιτοχόνδρια. Η δυνατότητα των κυττάρων να μεταβολίσουν την Alamar Blue® αποτελεί ένδειξη επιβίωσης των κυττάρων. Τα Τ 98G είναι μια καρκινική σειρά γλοιοβλαστώματος, μία μορφή καρκίνου που χαρακτηρίζεται ως ένας από τους πιο επιθετικούς τύπους καρκίνου του ανθρώπου. Σκοπός την εργασίας μας είναι η μελέτη της επίδρασης της ακτινοβολίας στα κύτταρα αυτά. Αρχικά, εξετάσαμε το κατάλληλο χρονικό σημείο μέτρησης του φθορισμού της Alamar Blue καθώς και τη συμμετοχής των νεκρών κύτταρων σε αυτόν. Ακολούθησε η μελέτη της επίδρασης της ακτινοβολίας στα κύτταρα δίνοντας διαφορετικές δόσεις ακτινοβολίας. Στη συνέχεια, δίνοντας πολλαπλές δόσεις ακτινοβολίας (1.89-8.94Gy), υπολογίσαμε βασικές παραμέτρους της ραδιοβιολογίας. Συμπερασματικά η Alamar Blue απαιτεί 6 ώρες επώασης ώστε να επιτευχθεί ο πλήρης μεταβολισμός της ενώ τα νεκρά κύτταρα δεν φαίνεται να συνεισφέρουν σε αυτόν. Η απόκριση των ακτινοβολημένων Τ98G στις δόσεις 3 και 6 Gy, ακολουθεί το παρακάτω μοτίβο. Πολλαπλασιασμός μέχρι και την 5η ημέρα, ακόλουθη πτώση του πολλαπλασιασμού έως την 8η ημέρα και μετά το πέρας αυτής, αύξηση του αριθμού των κυττάρων, με το ρυθμό πολλαπλασιασμού να είναι διαφορετικός μεταξύ των δύο δόσεων. Τέλος, ακτινοβολώντας με πολλαπλές δόσεις ακτινοβολίας υπολογίσαμε τις παρακάτω παραμέτρους 1) το Extrapolation Number: 1.18, 2) το Dq shoulder width: 1.4Gy, 3) το Do (37% viable cells): 5.1Gy και 4) το ID50 (half maximum inhibitory dose): 4Gy.

EVALUATION OF Alamar Blue® ASSAY FOR ADHERENT CELL IRRADIATION EXPERIMENTS

Mitrakas A.G., Zachari M., Chondrou P., Pouliliou S.E., Ampatzoglou I.A., Zois E. Ch., Koukourakis M.I.
Democritus University of Thrace

Alamar Blue® method is used in order for the number of the different types of cells and the toxicity of a variety of stress, like radiation, to be measured. This method is based on reduction of resazurin to resorufin in mitochondria. The ability of cells to reduce the Alamar Blue® constitutes an evident of the cells survival. T98G is a glioblastoma cell line and glioblastoma constitutes one of the most aggressive types of human cancer. In this study, we tried to investigate how irradiation affects on this cell line. Firstly, the appropriate time point to measure the fluorescence of Alamar Blue® and the contribution of dead cells to fluorescence was studied. Then, cells irradiated with different doses and the effect of irradiation was measured. Moreover, multi-dose irradiation was used (1.89-8.94Gy) and traditional parameters of radiobiology were calculated. Taking all our results into consideration, cells need 6 hours to reduce the Alamar Blue® effectively while the dead cells does not contribute to the fluorescence of the Alamar Blue®. The response of T98G cells to 3 and 6 Gy radiation is: the number of cells increased till 5th day, then a decreased was observed until 8th day and the number of cells increased again after 8th day but the increase ratio is different between the different doses of radiation. Finally, we calculated traditional radiobiology parameters using multi-dose radiation: 1) Extrapolation Number: 1.18, 2) Dq shoulder width: 1.4Gy, 3) Do (37% viable cells): 5.1Gy, 4) ID50 (half maximum inhibitory dose): 4Gy.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΤΟΥ ΚΡΑΝΙΑΚΟΥ ΦΥΛΕΤΙΚΟΥ ΔΙΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΣΕ ΠΡΟΪΣΤΟΡΙΚΟΥΣ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ

Μιχαήλ Δ.Ε., Παπαβασιλείου Σ., Μανώλης Σ.Κ.
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα.

Ο φυλετικός διμορφισμός (ΦΔ) είναι ένα ερευνητικό θέμα που απασχολεί έντονα τους επιστήμονες μέχρι σήμερα, ιδιαίτερα τους παλαιοανθρωπολόγους αλλά και τους βιοαρχαιολόγους. Ο ανθρώπινος σκελετός εμφανίζει ΦΔ, όμως, δεν είναι διμορφικές όλες οι περιοχές του και δεν έχουν τον ίδιο βαθμό έκφρασης. Συνεπώς, η ακρίβεια προσδιορισμού του φύλου, εξαρτάται από την περιοχή που είναι διαθέσιμη. Υπάρχουν μελέτες που εστιάζουν στον προσδιορισμό του φύλου από διάφορα οστά του σκελετού και όχι στον βαθμό ΦΔ, το μέγεθος του οποίου μπορεί να διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό, αλλά συνολικά σε παγκόσμια κλίμακα φαίνεται να είναι ο ίδιος. Η παρούσα εργασία διερευνά την παρουσία ΦΔ σε επιλεγμένες κρανιακές μεταβλητές. Το κρανιακό υλικό προέρχεται από την βάση δεδομένων προϊστορικών κρανίων της Νότιας Ελλάδας και από την Σύγχρονη Σκελετική Συλλογή Αναφοράς του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, ΕΚΠΑ. Τα μετρικά δεδομένα από 15 κρανιακές μεταβλητές αναλύθηκαν κι εξήχθησαν τα περιγραφικά στατιστικά (μέση τιμή, τυπική απόκλιση) και υπολογίστηκε ο Δείκτης Φυλετικού Διμορφισμού με την εξίσωση: SDI=(M–F)/([M+F]/2). Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι οι πιο διμορφικές διάμετροι διαχρονικά και γεωγραφικά είναι οι ακόλουθοι: ZYB, NPH, NLB, NLH, δηλαδή οι διάμετροι ύψους και πλάτους του προσώπου και της μύτης, ενώ η διάμετρος GOL (δλδ μέγιστο μήκος κρανίου) είναι η επόμενη πλέον διμορφική διάμετρος. Όλες οι υπόλοιπες εμφανίζουν χαμηλά ποσοστά ΦΔ. Μια σημαντική παρατήρηση στα κρανία της Κρήτης είναι ο πολύ χαμηλός ΦΔ. Μια σκέψη ήταν να υπολογίσουμε τον ΦΔ των πρώιμων Μινωικών κρανίων και των Υστερομινωικών. Όμως το αποτέλεσμα δεν είναι διαφωτιστικό. Προσπαθώντας να δώσουμε μια ερμηνεία καταλήγουμε ότι θα μπορούσε να οφείλεται α) σε μια απόκριση σε διατροφικό στρες ή άλλες αλλαγές του περιβάλλοντος των αναπτυσσόμενων νεαρών ατόμων, που έλαβε χώρα στη διάρκεια της πρώιμης νεολιθικής περιόδου (αρνητική δευτερογενής τάση) ή β) σε γενετική προσαρμογή σε μια ποικιλία οικολογικών (νησιωτικό περιβάλλον) και κοινωνικο-οικονομικών παραγόντων. Συνοψίζοντας μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι το γεωγραφικό και διαχρονικό πρότυπο του κρανιακού φυλετικού διμορφισμού είναι σχεδόν αναλλοίωτο τα τελευταία 4.000 χρόνια. Αυτό το εύρημα θα μπορούσε δευτερευόντως να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του φύλου σε αποσπασματικά κρανία αρχαιολογικών σκελετών.

THE PATTERN OF CRANIAL SEXUAL DIMORPHISM IN PREHISTORIC HELLENIC POPULATIONS

Michael D., Papavasileiou S., Manolis S.K.
Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece.

Sexual Dimorphism (SD) is a research issue that preoccupies intensely scientists to date, especially paleoanthropologists but also bioarcheologists. The human skeleton exhibits SD, but are not dimorphic all areas and do not have the same degree of expression. Consequently, the accuracy of sex determination depends on the area that is available. There are studies that are focused on various bones of the skeleton for sex determination and not upon the degree of sexual dimorphism, the size of which may vary from population to population, but overall on a global scale seems to be the same. This work investigates the presence of sexual dimorphism in selected cranial variables. The cranial data derived from the database of prehistoric skulls of southern Greece and the Athens Collection (modern skeletal reference collection) which is housed at the Department of Animal & Human Physiology, Athens University. The biometric data of 15 cranial variables were analyzed and extracted the descriptive statistics from which the Sexual Dimorphism Index (SDI) was calculated using the equation SDI = (M-F)/([M+F]/2). The results showed that the most dimorphic diameters temporally and geographically are: ZYB, NPH, NLB, NLH, (the height and width diameters of the face and nose), while the diameter GOL (maximum length of skull) is the next most dimorphic diameter. All the other variables show low percentage of SD. Another important observation in the Minoan skulls (Crete Isl.) is the very low SD. Then we decided to calculate the SD of the early and late Minoans, but the results were not enlightening. Trying to interpretate this observation we conclude that it could be a result of: a) a response to nutritional stress or improvements in the environment of growing adolescents which took place during the early Neolithic period (negative secular trend) or b) a genetic adaptation to a variety of ecological (i.e. insular environment) and social-economic factors. In sum we can argue that the geographical and temporal pattern of the cranial sexual dimorphism is almost constant the last four millennia. This finding could secondarily be used for sex determination in fragmentary archaeological skulls.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΟΦΙΛΟΥ ΜΥΚΗΤΑ MYCOGONE ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Μίχου Α., Πυρρή Ι., Παρμακέλης Α., Ζ. Γκόνου-Ζάγκου
Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157 84 Αθήνα

Ο αναμορφικός μύκητας Mycogone (Hypocreales, Hypocreaceae) αποτελεί ένα βασικό γένος που περιλαμβάνει είδη μυκητόφιλα, δηλαδή είδη που αναπτύσσονται αποκλειστικά πάνω σε καρποσώματα (μανιτάρια) Βασιδιομυκήτων. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν μακρο- και μικρο- μορφολογικά 11 στελέχη του γένους Mycogone σε καθαρή καλλιέργεια. Τα στελέχη αυτά είναι κατατεθειμένα στη Συλλογή Καλλιεργειών της Μυκητοθήκης ATHUM του Πανεπιστημίου Αθηνών και έχουν απομονωθεί από προσβεβλημένα βασιδιοκάρπια των γενών Agaricus, Amanita, Cortinarius, Tricholoma και Ramaria, τα τελευταία προερχόμενα από ποικίλα ενδιαιτήματα της Ελλάδας. Παράλληλα, έγινε μοριακή ανάλυση με εμπλουτισμό αλυσιδωτής αντίδρασης (PCR) της ITS1-5,8S-ITS2 περιοχής και τμήματος του μιτοχονδριακού γονιδίου της μικρής rRNA ριβοσωμικής υπομονάδας (rns). Η μέχρι τώρα ταξινομική μελέτη με βάση τη μορφολογία, σε συνδυασμό με τη φυλογενετική ανάλυση που προέκυψε από τη στοίχιση των αλληλουχιών των δύο γονιδιακών περιοχών, οδήγησε σε χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με τη διαειδική διαφοροποίηση και ομαδοποίηση των ελληνικών στελεχών. Ο μυκητόφιλος μύκητας Mycogone παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον τόσο για τον οικολογικό ρόλο που επιτελεί στη φύση, όσο και για τις ταξινομικές προκλήσεις που κρύβει, καθώς και για τη βιοχημική και βιοτεχνολογική αξία των δευτερογενών μεταβολιτών που παράγει.

P

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR ANALYSES OF STRAINS OF THE MYCOPHILIC FUNGUS MYCOGONE IN GREECE

Michou A., Pyrri I., Parmakelis A., Z. Gonou-Zagou
Department of Ecology & Systematics, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, GR-15784, Athens, Greece

The anamorphic fungus Mycogone comprises species that are obligatory mycophilic, growing especially on the fruit-bodies (mushrooms) of Basidiomycetes. During this survey, the macroscopical and microscopical characters of 11 strains have been studied in pure culture. The strains are deposited in the Culture Collection of Fungi of the Mycetotheca ATHUM of the University of Athens and have been isolated from infected fruit-bodies of the genera Agaricus, Amanita, Cortinarius, Tricholoma and Ramaria, all of them deriving from various Greek habitats. At the same time, the ITS1-5,8S-ITS2 region of the nuclear rRNA gene complex and the mitochondrial gene of the small rRNA subunit (rns) have been amplified using the PCR method. The morphology-based taxonomy in combination with the phylogenetic analysis of the sequenced genes has led to interesting conclusions concerning discrimination and inter-specific clustering within the genus. The mycophilic fungus Mycogone is an interesting genus, when taking into consideration the magnitude of its ecological role, its taxonomic implications and finally its ability to produce high value secondary metabolites.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΑΡΕΡΜΗΝΕΥΣΙΜΩΝ ΜΟΝΟ-ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΣΕ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΟΝΟΥΣ ΚΑΘΟΡΙΣΤΕΣ ΔΩΔΕΚΑ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΣΕΙΣ

Μουσχουντή Θεοδώρα, Τσαούσης Γεώργιος, Χαμόδρακας Σταύρος
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701

Τα αμυλοειδή μπορούν να οριστούν ως εξωκυτταρικές ή ενδοκυτταρικές εναποθέσεις αδιάλυτων πρωτεϊνικών ινιδίων που δημιουργούνται από πρωτεΐνες ή πεπτίδια, όταν αυτά διπλώνονται με «λάθος» τρόπο και αυτοσυγκροτούνται, και οι οποίες πιθανότατα συσχετίζονται με την καταστροφή κυττάρων και ιστών, σε ένα πλήθος ασθενειών γνωστών ως αμυλοειδώσεων. Παρόλο που οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στο σχηματισμό των αμυλοειδών ινιδίων δεν έχουν ακόμη διασαφηνιστεί πλήρως, έχει καταστεί σαφές ότι μικρά πεπτιδικά τμήματα των πρωτεϊνών ευθύνονται για την συσσωμάτωσή τους, τα οποία ονομάζονται αμυλοειδογόνοι καθοριστές. Ως μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) ορίζονται οι κληρονομήσιμες αντικαταστάσεις ενός νουκλεοτιδίου στα άτομα ενός πληθυσμού, όταν εμφανίζονται με συχνότητα μεγαλύτερη του 1%. Όταν τα SNPs οδηγούν σε αλλαγή ενός αμινοξέος ονομάζονται παρερμηνεύσιμα (missense) και σε ορισμένες περιπτώσεις συσχετίζονται με ασθένειες. Σε αυτή την εργασία παρουσιάζεται η συσχέτιση των παρερμηνεύσιμων μονο-νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών με τους αμυλοειδογόνους καθοριστές, στις δομές 12 πρωτεϊνών, γνωστής δομής, που σχετίζονται με αμυλοειδώσεις. Δεδομένα για παρερμηνεύσιμους μονο-νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς συγκεντρώθηκαν από τις βάσεις δεδομένων Uniprot, dbSNP, Ensembl, SNP4disease και SNPdbe, καθώς κι από βιβλιογραφικές αναφορές. Επιπλέον, μελετάται η θέση των πολυμορφισμών σε σχέση με τους αμυλοειδογόνους καθοριστές των πρωτεϊνών, βάσει πειραματικών δεδομένων και των αποτελεσμάτων του αλγόριθμου πρόβλεψης αμυλοειδογόνων καθοριστών AMYLPRED.

STUDYING MISSSENSE SNPs ON THE 'AGGREGATION-PRONE' PEPTIDES OF TWELVE PROTEINS RELATED TO WELL-KNOWN AMYLOIDOSES

Mouschounti Theodora, Tsaousis Georgios, Hamodrakas Stavros
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15701

Amyloidoses are a group of diseases, which are related to protein misfolding and subsequent aggregation to deposits of ordered, polymerized protein subunits, forming the so-called amyloid fibrils. Each specific amyloidosis is usually related to one specific type of protein. Although the mechanisms involved in the formation of amyloid fibrils are not yet clear, it has been shown that short, peptide stretches, are responsible for this type of protein aggregation. These short peptide stretches are called amyloidogenic determinants or 'aggregation-prone' peptides. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are inherited single nucleotide substitutions among individuals of a species and are defined as such when they occur at a rate greater than 1% in a population. When the SNPs result to an amino acid substitution, they are called missense SNPs which, in some cases, are reported to be associated with disease. In this work we present the correlation of missense SNPs with 'aggregation-prone' peptides, on the structures of twelve (12) proteins associated with amyloidoses. Data for missense SNPs were collected from public databases such as Uniprot, dbSNP, Ensembl, SNP4disease and SNPdbe, as well as from the literature. The location of missense SNPs were studied in relation to the location of 'aggregation-prone' peptides, based on experimental data and on the results of the prediction algorithm AMYLPRED.

Η ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗΣ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΑΥΤΗ ΤΗΣ ΤΕΣΤΟΣΤΕΡΟΝΗΣ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ ΑΠΟ ΤΗ ΔΥΝΗΤΙΚΗ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΝΔΡΑ

Μπαζιώτη Γεωργία, Λυμπέρη Στεφανία, Ηλιάδου Κ. Πασχαλία, Τσαμέτης Χρήστος, Μηντζιώρη Γεσθημανή, Αδάμου Βασίλειος, Κουθούρης Ακύλας-Γεώργιος, Ταρλατζής Κ. Βασίλειος, Γουλής Γ. Δημήτριος, Μαυραγάνη-Τσιπίδου Πηνελόπη

1/ Τμήμα Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα 2/ Μονάδα Ενδοκρινολογίας Αναπαραγωγής, Α' Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η οστεοκαλσίνη, μία ορμόνη που εκκρίνεται από τους οστεοβλάστες, ρυθμίζει την παραγωγή τεστοστερόνης (Τ) στους ποντικούς, ενώ έχει βρεθεί θετική συσχέτιση μεταξύ της οστεοκαλσίνης και της τεστοστερόνης στους άνδρες. Σκοπός αυτής της έρευνας ήταν να μελετήσουμε εάν υπάρχει διαφορά στα επίπεδα της οστεοκαλσίνης στον ορό υπογοναδικών και ευγοναδικών ανδρών με υπογονιμότητα. Τριάντα υπογόνιμοι Καυκάσιοι άνδρες (μέση ηλικία ± τυπικό σφάλμα 34.9 ± 1.2 έτη) χωρίστηκαν σε δύο υποομάδες: άνδρες με υπογοναδισμό [Τ ορού < 250 ng/dL (n = 15)] ή ευγοναδισμό [Τ ορού ≥ 250 ng/dL (n = 15)]. Δέκα υγιείς Καυκάσιοι άνδρες από τον γενικό πληθυσμό χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου (ηλικία 34.5 ± 2.1 έτη). Σε όλους τους υπό μελέτη άνδρες προσδιορίστηκαν οι κλινικές, ορμονικές [ωχρινοτόπος, ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη, προλακτίνη, Τ, ανασταλτίνη-Β, antimüllerian ορμόνη, οστεοκαλσίνη] κυτταρολογικές παράμετροι και αυτές του σπερμοδιαγράμματος. Η συγκέντρωση της οστεοκαλσίνης βρέθηκε χαμηλότερη στους υπογοναδικούς-υπογόνιμους άνδρες σε σχέση με τους ευγοναδικούς-υπογόνιμους και την ομάδα ελέγχου (γόνιμοι υγιείς άνδρες) (7.39 ± 1.52, 13.41 ± 1.20 και 11.05 ± 1.21, αντίστοιχα, p = 0.020). Όταν όλοι οι ευγοναδικοί άνδρες (γόνιμοι και υπογόνιμοι) μελετήθηκαν ως μία ομάδα η συγκέντρωση της οστεοκαλσίνης βρέθηκε στατιστικά σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με την ομάδα των υπογόνιμων-υπογοναδικών (12.46 ± 0.88 and 7.39 ± 1.52, respectively, p = 0.010). Όταν όλοι οι υπό μελέτη άνδρες αναλύθηκαν ως μία ομάδα, η συγκέντρωση της οστεοκαλσίνης βρέθηκε να σχετίζεται θετικά με τη συγκέντρωση της τεστοστερόνης (r = 0.442, p = 0.004) και της προλακτίνης (r = 0.385, p = 0.021). Συμπερασματικά, η συγκέντρωση της οστεοκαλσίνης σχετίζεται με αυτήν της τεστοστερόνης ανεξάρτητα από τη δυνητική γονιμότητα του άνδρα. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διευκρινιστεί ο ρόλος της αλληλεπίδρασης οστεοκαλσίνης - Τ στην υπογονιμότητα.

OSTEOCALCIN LEVELS ARE ASSOCIATED WITH TESTOSTERONE LEVELS REGARDLESS OF THE FERTILITY STATUS

Bazioti Georgia 1,2, Lymperi Stefania 1,2, Iliadou K. Paschalia 1, Tsametis Christos 1, Mintziori Gesthimani 1, Adamou Vassilios 1, Kouthouris Akyllas - Georgios 1, Tarlatzis C. Basil 1, Goulis G.Dimitrios 1, Mavragani-Tsipidou Penelope 1

1/ Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece 2/ Unit of Reproductive Endocrinology, First Department of Obstetrics and Gynecology, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Recent studies provided evidence that osteocalcin (Ocn), an hormone secreted by bone-forming-osteoblasts, regulates testosterone (T) production in mice, whereas a positive association between Ocn and T has been observed in humans. The aim of this study was to investigate whether there is a difference in serum Ocn concentration between hypogonadal and eugonadal men with infertility. Thirty infertile Caucasian men (mean age ± standard error of the mean 34.9 ± 1.2 years) were divided into two subgroups: men with hypogonadism [serum T < 250 ng/dL (n = 15)] or eugonadism [serum T ≥ 250 ng/dL (n = 15)]. Ten healthy Caucasian men from the general population (age 34.5 ± 2.1 years) were used as controls. Clinical, hormonal (FSH, LH, prolactin, T, inhibin-B, antimüllerian hormone, Ocn), sperm and cytologic parameters were determined in all studied men. Ocn concentration was lower in the hypogonadal infertile men as compared to the eugonadal infertile ones and the fertile control group (7.39 ± 1.52, 13.41 ± 1.20 and 11.05 ± 1.21, respectively, $p = 0.020$). When all eugonadal men (infertile and fertile) were analyzed as a single group, Ocn concentration was significantly higher compared with the hypogonadal infertile group (12.46 ± 0.88 and 7.39 ± 1.52, respectively, $p = 0.010$). When all studied men analyzed as a single group, serum Ocn concentration was positively correlated with serum T ($r = 0.442$, $p = 0.004$) and prolactin concentration ($r = 0.385$, $p = 0.021$). In conclusion, Ocn concentration is associated with T concentration regardless of the fertility status. Further studies are required in order to clarify the complex interplay between Ocn and T in men with infertility.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ CK2 ΚΑΙ ΤΗΣ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ P0 ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Σοφία Μπάμπαλη, Ιωάννα Γιαγκλήση, Σοφία Κουγιανού - Κουτσούκου
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15701

Η πρωτεϊνική κινάση CK2 υπερεκφράζεται στους περισσότερους καρκίνους και σε συνθήκες στρες ενώ λειτουργεί ως καθολικός αναστολέας της απόπτωσης. Είναι μία πλειοτροπική κινάση Ser/Thr, η οποία αποτελείται από δύο καταλυτικές (α ή/και α΄) και δύο ρυθμιστικές (β) υπομονάδες και φωσφορυλιώνει περισσότερα από 300 υποστρώματα. Εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, την εμβρυογένεση, την κυτταρική διαφοροποίηση, κ.α. Η CK2 κινάση φωσφορυλιώνει τις P- πρωτεΐνες του ριβοσωμικού μίσχου P0(P1/P2)2 και ρυθμίζει τη ριβοσωμική ενεργότητα κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η απομόνωση της ανασυνδυασμένης ριβοσωμικής ανθρώπινης πρωτεΐνης P0 μετά από έκφραση του cDNA της σε κύτταρα Escherichia coli. Για την απομόνωση της χρησιμοποιήθηκαν δύο φορείς έκφρασης, ο pRSET, ο οποίος προσθέτει μία αλληλουχία πολύ-ιστιδίνης στην πρωτεΐνη που λειτουργεί ως προσδέτης μετάλλων και επιτρέπει την απομόνωση της με χρωματογραφία συγγένειας, και ο φορέας έκφρασης pT7-7. Η έκφραση με τον φορέα pRSET έδωσε μικρή ποσότητα ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης συγκριτικά με τον pT7-7, από τον οποίο η HuP0 πρωτεΐνη απομονώθηκε με κλασμάτωση του κυτταρικού εκχυλίσματος με (NH4)2SO4. Η ανασυνδυασμένη HuP0 πρωτεΐνη ταυτοποιήθηκε με ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα και ανάλυση κατά Western και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα για ανίχνευση αυτοαντισωμάτων σε ορό ασθενών με αυτοάνοσες ασθένειες όπως ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, η σκληροδερμία και ο νεανικός διαβήτης, με SDS-PAGE και ανοσομεταφορά κατά Western. Η ανασυνδυασμένη HuP0 πρωτεΐνη χρησιμοποιήθηκε επίσης ως υπόστρωμα για την ανάλυση της ενεργότητας της ενδογενούς HuCK2α κινάσης από ανθρώπινα κύτταρα με δοκιμασία κινάσης και χρήση 32P-ATP ως δότη φωσφόρου. Ελέγχθηκε ακόμη και η φωσφορυλίωση της HuP0 από την ανασυνδυασμένη CK2 κινάση τού εντόμου Ceratitis capitata η οποία εμφανίζει μεγάλη ομολογία με την ανθρώπινη CK2 κινάση. Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ε. Λ. Κ. Ε. του Πανεπιστημίου Αθηνών (στην Σ.Κ)

STUDY OF PROTEIN KINASE CK2 AND THE RIBOSOMAL P0 PROTEIN IN HUMAN CELLS

Sophia Bampali, Ioanna Yiaglissi, Sophia Kouyanou-Koutsoukou
University of Athens, Faculty of Biology, Department of Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 15701

Protein kinase CK2 is overexpressed in most cancers and at stress conditions, while it acts as a universal inhibitor of apoptosis. It is a pleiotropic Ser/Thr kinase composed of two catalytic (α and/or α′) and two regulatory (β) subunits and phosphorylates more than 300 substrates. It is involved in the regulation of the cell cycle, embryogenesis, cell differentiation etc. The CK2 kinase phosphorylates also the P-proteins of the ribosomal stalk P0(P1/P2)2 and regulates the ribosomal activity during protein synthesis. In this work we present the isolation of the recombinant protein HuP0 after expression of its cDNA in Escherichia coli using two different expression vectors: the pRSET expression vector, which adds a polyhistidine tag that functions as metal binding, allowing the purification of the recombinant protein by affinity chromatography, and the expression vector pT7-7. Expression with pRSET resulted in a small quantity of the recHuP0 protein compared with the pT7-7 expression system, used for the isolation of recHuP0 by fractionation with (NH4)2SO4. The recHuP0 protein was identified by Western analysis with a specific monoclonal antibody and was used as a substrate for the detection of auto-antibodies in the serum of patients with auto-immune diseases, like Systemic Lupus Erythromatosus sclerodermia and Diabete by SDS-PAGE and Western analysis. The recHuP0 protein was also used as a substrate for the analysis of the activity of the endogenous HuCK2a kinase in human cells by kinase assay, using 32P-ATP as phosphate donor. The phosphorylation of HuP0 by the recombinant CK2 protein of the insect Ceratitis capitata, which is highly homologous to the human CK2 kinase, was also examined.

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΤΟΠΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΟΣΦΡΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ, Bactrocera oleae

Μπελαβίλας - Τροβάς Αλέξανδρος, Τσουμάνη Κωνσταντίνα, Ματθιόπουλος Κώστας
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26, 41221, Λάρισα

Η διερεύνηση της μοριακής βάσης του οσφρητικού συστήματος των εντόμων αποτελεί ένα αξιοσημείωτο πεδίο τόσο της βασικής όσο και της εφαρμοσμένης έρευνας για δύο βασικούς λόγους. Αφενός λόγω των δομικών ιδιαιτεροτήτων των συστημάτων αυτών σε σχέση με άλλους οργανισμούς, που επιτρέπουν περαιτέρω εξελικτικές και συγκριτικές αναλύσεις. Αφετέρου για τη σημασία του σε βασικές λειτουργίες των εντόμων, όπως η μεσολάβησή του στην αναγνώριση της τροφής αλλά και στην αναπαραγωγή, συμπεριλαμβάνοντας τόσο τη σύζευξη όσο και την ωοαπόθεση. Η εξάρτηση της συμπεριφοράς του εντόμου και κατ' επέκταση της βιωσιμότητάς του από παράγοντες του οσφρητικού συστήματος, καθιστά το σύστημα αυτό έναν ελκυστικό στόχο για την ανάπτυξη εναλλακτικών παρεμβατικών μεθόδων ελέγχου. Ειδικότερα για έντομα οικονομικής σημασίας που λειτουργούν παρασιτικά σε προϊόντα των αγροτικών καλλιεργειών όπως ο δάκος της ελιάς, Bactrocera oleae, η διεύρυνση των μοριακών μας γνώσεων αναφορικά με το οσφρητικό τους σύστημα μπορεί να συντελέσει καθοριστικά στη βελτίωση ή και στον αποτελεσματικότερο σχεδιασμό νέων μέσων αντιμετώπισής του. Προς την κατεύθυνση αυτή, στην παρούσα μελέτη ενισχύθηκαν αλληλουχίες του οσφρητικού συστήματος του δάκου χρησιμοποιώντας ετερόλογους εκκινητές αντίστοιχων γενετικών τόπων του συγγενικού του είδους Ceratitis capitata. Τα προϊόντα ενίσχυσης αρχικά ταυτοποιήθηκαν με υβριδοποίηση κατά Southern, ακολούθως κλωνοποιήθηκαν και προσδιορίστηκε η αλληλουχία τους. Βάσει των αλληλουχιών αυτών σχεδιάστηκαν νέοι ομόλογοι εκκινητές, οι οποίοι χρησιμοποιηθήκαν σε μια πρωταρχική ανάλυση της έκφρασης των γενετικών αυτών τόπων σε επίπεδο τρανσκριπτόματος, προσδιορίζοντας με ποσοτική Real-time PCR τα επίπεδα έκφρασης mRNA που απομονώθηκαν από ιστούς που εμπλέκονται στο οσφρητικό σύστημα αρσενικών και θηλυκών εντόμων.

MOLECULAR CLONING AND ANALYSIS OF GENETIC LOCI RELATED TO THE OLFACTORY SYSTEM OF THE OLIVE FRUIT FLY, Bactrocera oleae

Belavilas – Trovas Alexandros, Tsoumani Konstantina, Mathiopoulos Kostas
Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, Ploutonos 26, 41221, Larissa, Greece

The examination of the molecular basis of the insects' olfactory system is a remarkable field of both basic and applied research for two main reasons. Firstly because of its structural features with regard to other organisms, allowing evolutionary and comparative genomic analyses. Secondly for its significant role on many basic insects' functions such as the intervention in food recognition as well as reproduction, including mating and oviposition. The dependence of insect behavior and therefore its viability on olfactory factors renders olfaction an attractive target for the development of alternative control methods. Specifically for insects of economic importance that have a parasitic action on cultivation products, like olive fruit fly, Bactrocera oleae, broadening of our molecular knowledge regarding the olfactory system can contribute to the improvement or and more effective design of new means of control. Towards this direction, in the present study B. oleae olfactory related sequences were amplified using heterologous primers of respective genetic loci of its closely related species Ceratitis capitata. The amplification products were initially identified by Southern analysis, then subsequently cloned and sequenced. Based on these sequences new homologous primers were designed and further used in a primary expression analysis of the respective genetic loci on a transcriptomic level, thus determining the expression levels of mRNA that was isolated from tissues which are implicated to the male as well as the female olfactory system by quantitative Real-time PCR.

Η ΑΠΩΛΕΙΑ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ Tpl2 ΠΡΟΩΘΕΙ ΤΗ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Μπουρουλίτη Άννα[1], Κυριακή Φωκά[1], Αθανάσιος Αραμπατζιόγλου[1], Αποστολία Παπαστεργίου[1], Βασσίλειος Μεντώνης[1], William Oemler[2], Philip N. Tsichlis[2], Ιωάννα Μαρουλάκου

1/Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμειο Θράκης - 2/ Oncology Research Institute, Tufts Medical Center, Boston, Massachusetts, USA

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου σε γυναίκες προσβεβλημένες από καρκίνο και η προέλευσή του εντοπίζεται κυρίως από τα επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένα. Η Tpl2 (Tumor progression locus 2), επίσης γνωστή ως COT και MAP3K8 (MAP3 kinase 8), είναι μια κινάση σερίνης-θρεονίνης η οποία αποτελεί καίριο μέλος πολλών σηματοδοτικών μονοπατιών. Από προηγούμενες μελέτες η Tpl2 έχει συσχετιστεί με τον καρκίνο του μαστού, καθώς έχει αποδειχτεί ότι αποτελεί στόχο ενσωμάτωσης του DNA του προϊού MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus) όπως εντοπίστηκε στα επαγόμενα μαστικά αδενοκαρκινώματα ποντικών, και επίσης ότι συχνά υπερεκφράζεται σε δείγματα καρκίνου του μαστού στον άνθρωπο. Με βάση τις μελέτες αυτές, κάναμε την υπόθεση ότι η Tpl2 μπορεί να έχει ρυθμιστικό ρόλο στην εξέλιξη της καρκινογένεσης του μαστικού αδένα. Η πειραματική μας προσέγγιση για την επαλήθευση της υπόθεσής μας έγινε με γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, διασταυρώνοντας πρότυπα καρκίνου του μαστού, διαγονιδιακά ποντίκια τα οποία εκφράζουν το Neu ή το PyMT (Polyoma Virus Middle T antigen) ογκογονίδιο με ποντίκια στα οποία έχει γίνει στοχευμένη διακοπή της έκφρασης της Tpl2. Έτσι, μελετώντας τις επιπτώσεις που έχει η απώλεια έκφρασης της Tpl2 στην εξέλιξη του καρκίνου του μαστού βρήκαμε, και στα δύο μοντέλα, αύξηση στη διεισδυτικότητα των καρκινικών κυττάρων αλλά και στην μεταστατική τους ικανότητα όπως αναδεικνύεται με την σημαντική αύξηση των μεταστατικών εστιών στον πνεύμονα. Ο φαινότυπος αυτός μπορεί να αποδοθεί εν μέρει στην αύξηση της κυτταρικής επιβίωσης η οποία προκλήθηκε από την απώλεια της έκφρασης της Tpl2. Σε αυτή τη μελέτη επίσης αναφέρεται για πρώτη φορά ότι η απώλεια της Tpl2 έχει την ικανότητα να αναστείλει τη φυσιολογική απόπτωση κατά τη διαδικασία της υποστροφής του μαστικού αδένα (involution) και επαναφοράς του στο φυσιολογικό μέγεθος και την κατάσταση που είχε πριν την εγκυμοσύνη. Αυτή η αντι-αποπτωτική δραστηριότητα της έλλειψης της έκφρασης της Tpl2 βρήκαμε να σχετίζεται με την παρουσία φωσφορυλιωμένης Akt. Επιπλέον, η στοχευμένη διακοπή έκφρασης της Tpl2 στα MMTV-Neu ή –PyMT μοντέλα ποντικών έχει ως αποτέλεσμα την διάρρηξη της κυτταρικής συνάφειας μεταξύ των μαστικών επιθηλιακών κυττάρων, λόγω της διακεκομμένης έκφρασης της β-κατενίνης κατά τα προχωρημένα στάδια της καρκινογένεσης. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σημαντική αλλαγή στην υποκυτταρική κατανομή της β-κατενίνης και μάλιστα η αυξημένη πυρηνική της έκφραση. Αυτά τα ευρήματα καταδεικνύουν ότι η απώλεια της Tpl2 στους μαστικούς όγκους συμβάλλει στην αυξημένη διεισδυτική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων και στον αυξημένο αριθμό μεταστατικών εστιών, επάγοντας αλλαγές σε πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια που με τη σειρά τους οδηγούν σε αλλαγή της συμπεριφοράς των κυττάρων.

DISRUPTION OF Tpl2 SIGNALING PROMOTES INVASION AND METASTASIS OF BREAST CANCER

Bourouliti Anna[1], Kyriaki Foka[1], Athanasios Arampatzioglou[1], Apostolia Papastergiou[1], Vassileios Mentonis[1], William Oemler[2], Philip N. Tsichlis[2], Ioanna G. Maroulakou[1]
1/Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Greece - 2/ Oncology Research Institute, Tufts Medical Center, Boston, Massachusetts, USA

Breast cancer is the leading cause of cancer-related death in women and it originates from mammary epithelial cells. Tumor progression locus 2 (TPL2), also known as COT or MAP3 kinase 8 (MAP3K8), is a serine-threonine kinase with a pivotal role in several intracellular signaling pathways. Tpl2 has been associated with breast cancer as it has been shown that is activated by provirus integration in MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus) - induced mammary adenocarcinomas in mice, and also that it is frequently overexpressed in human breast cancer. Based on these studies we hypothesize that Tpl2 function regulates carcinogenic potential of mammary gland. To address the precise impact of Tpl2 function in breast cancer progression, invasion and metastasis we have generated transgenic mice expressing Neu or PyMT (Polyoma Virus Middle T antigen) oncogene into Tpl2 knockout genetic background. We found that Tpl2 ablation markedly increases the incidence of pulmonary metastasis in both models by increasing cell survival. This study is the first report on the ability of ablation of Tpl2 to inhibit physiological apoptosis during involution. This anti-apoptotic effect correlates with sustained phosphorylation of Akt. Moreover, loss of Tpl2 in the MMTV-Neu or -PyMt mouse model resulted in disruption of cell-cell contacts by loss of β-catenin in the mammary epithelial cells during the late stages of carcinogenesis and also leads to sub-cellular distribution of β-catenin by increased nuclear localization. These findings indicate that Tpl2 loss in mammary tumors contributes to invasiveness and metastatic dissemination by inducing a range of functional changes.

ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΑΠΟ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ: ΠΙΘΑΝΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ

Κωνσταντίνα Β. Μωυσή, Μαρία Σ. Κουταλιανού, Γιώργος Χ. Καπετανάκης, Alexander L. Savvides, Ευστάθιος Α. Κατσίφας, Δημήτρης Γ. Χατζινικολάου, Αμαλία Καραγκούνη
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας, Πανεπιστημιούπολη 15781, Αθήνα

Με τις τιμές των καυσίμων να αυξάνονται συνεχώς, το βιοντίζελ ως εναλλακτικό καύσιμο τα τελευταία χρόνια ελκύει το ενδιαφέρον των επιστημόνων. Σήμερα, η πιο συνηθισμένη πρώτη ύλη για βιοντίζελ είναι τα φυτικά έλαια. Ωστόσο, η διαθεσιμότητά τους μειώνεται και αναζητούνται νέες πρώτες ύλες. Τα μικροφύκη έχουν αναγνωριστεί ως μια καλή πρώτη ύλη για βιοντίζελ εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λιπίδια και τις χαμηλές απαιτήσεις τους σε θρεπτικά υποστρώματα. Ο σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η μελέτη της ικανότητας παραγωγής λιπιδίων κατάλληλων για βιοντίζελ, από μικροφύκη απομονωμένα από Ελληνικά οικοσυστήματα Τα μικροφύκη που χρησιμοποιήθηκαν απομονώθηκαν από την Ακρόπολη και τον Ασπρόπυργο. Έγινε επιλογή των στελεχών με τη μεγαλύτερη παραγωγή βιομάζας και εκείνα με τη μεγαλύτερη απόδοση επιλέχθηκαν για εξαγωγή των λιπιδίων τους. Τα παραγόμενα λιπίδια αναλύθηκαν με Αέρια Χρωματογραφία και ταυτοποιήθηκαν. Επιλέχθηκαν δύο στελέχη (Chlorella sp., και Blindingiua minima) που έδωσαν τη μεγαλύτερη παραγωγή βιομάζας και λιπιδίων ταυτόχρονα. Οι συνθήκες ανάπτυξής τους βελτιστοποιήθηκαν (pH, θερμοκρασία, θρεπτικά) σε καλλιέργειες των 20 λίτρων. Κάτω από συνθήκες στέρησης νιτρικών και τα δύο στελέχη παρουσίασαν μεγαλύτερη παραγωγή λιπιδίων. Χρησιμοποιώντας τις βέλτιστες συνθήκες, καλλιέργιες ημιπιλοτικής κλίμακας (30 λίτρα) πραγματοποιήθηκαν με μεγάλες αποδόσεις σε βιομάζα (5g/l και 3g/l για κάθε στέλεχος αντίστοιχα) και λιπίδια (700mg/l και 600mg/l). Συμπερασματικά, η παραγωγή λιπιδίων που επιτεύχθηκε ήταν υψηλή, ωστόσο περαιτέρω βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάπτυξης θα μπορούσε να οδηγήσει σε υψηλότερες αποδόσεις.

MICROALGAE FROM GREEK ENVIRONMENTS: POTENTIAL USE FOR BIODIESEL PRODUCTION

Moisi K., Koutalianou M., Kapetanakis G., Alexander L. Savvides, Katsifas E., Xatzinikolaou D., Karagouni A.

National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Microbiology Group, 15781 Athens, Greece

Even though oil is the most important natural source of energy is also a major pollutant of the environment. Our aim was to isolate bacteria capable of biodegrading oil. 100 bacteria were isolated from sampling sites in Lake Koumoundourou and coastal area of Aspropyrgos, using the serial dilution method and plating on Walne Medium Agar supplemented with 5% v/v crude oil. The isolated bacteria were tested for the presence of the gene of the n-alkane monooxygenase using primers to amplify the gene (alkB). Selected bacteria carrying the gene alkB were identified by analyzing their 16S rDNA sequence. The selected bacteria were cultured in liquid batch cultures with Walne Medium supplemented with 5% v/v crude oil (WM5%) 30 bacteria of them with the ability to degrade crude oil over 50 %. were selected. The selected bacteria were members of the genera Pseudomonas, Nitratireductor and Thalassospira. The strains Nitratireductor sp. ASTH5, Thalassospira sp. ASTH12 and Pseudomonas sp. ASK47a were cultured in liquid batch cultures with WM5% and their biodegradation rates were estimated. The strain Pseudomonas sp. ASK47a showed the highest biodegradation. Finally three consortia were constructed with three different bacteria strains each and used to study the synergistic effect on the degradation of petroleum residues. Each consortium was inoculated in liquid batch cultures with WM5%. The gas chromatography mass analysis showed that the consortium consisting of the strains Thalassospira sp. ASTH19, Nitratireductor sp. ASTH5 and Stenotrophomonas sp. KP8 presented the highest degradation rate of 78%. In conclusion the use of bacterial consortia yielded a threefold degradation rates compared to using individual strains.

ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Νασοπούλου Μ.[1], Μανώλης Σ.Κ.[2], Σπηλιοπούλου Χ.[1], Μωραΐτης Κ.[1]
1Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ. Μ. Ασίας 75, Γουδή 11527, Αθήνα. 2Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας ΕΚΠΑ. Πανεπιστημιόπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα. Email: mary_nas86@hotmail.com smanol@biol.uoa.gr kmoraitis@med.uoa.gr

Ο καθορισμός της ταυτότητας θεωρείται μείζονος σημασίας κατά την ιατροδικαστική διερεύνηση ατόμων αγνώστων στοιχείων. Για την επίτευξή του χρησιμοποιείται η οπτική επισκόπηση, καθώς και δακτυλοσκοπικές, ανθρωπολογικές, οδοντιατρικές και ακτινογραφικές μέθοδοι, αλλά και η μέθοδος αποτυπώματος DNA. Επίσης, η αξιολόγηση ιδιαίτερων γνωρισμάτων του ατόμου, καθώς και η ανεύρεση συνοδών αντικειμένων είναι δυνατόν να συμβάλουν στην ταυτοποίηση. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η συγκριτική μελέτη των μεθόδων που εφαρμόστηκαν στο Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ για την ταυτοποίηση αγνώστων πτωμάτων κατά τα έτη 1997-2009. Μελετήθηκαν 155 περιστατικά που αφορούσαν σε άτομα αγνώστων στοιχείων από τα οποία τα 86 ταυτοποιήθηκαν, ενώ τα 69 παρέμειναν άγνωστα. Όσον αφορά στην κατανομή των ανευρεθέντων πτωμάτων ανά γεωγραφικό διαμέρισμα το 68,4% των υποθέσεων προέρχονταν από την Κεντρική Ελλάδα, ενώ το 32,1% από την υπόλοιπη Ελλάδα. Στην επιλογή της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε συνέβαλε τόσο η κατάσταση διατήρησης του πτώματος όσο και το συγκριτικό υλικό που ήταν διαθέσιμο για το κάθε άτομο (π.χ., προσωπικά έγγραφα, ιατρικές γνωματεύσεις κ.α.). Η μέθοδος της οπτικής επισκόπησης ήταν αυτή που χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση του μεγαλύτερου αριθμού των αγνώστων πτωμάτων που εξετάστηκαν (47,7%) και ακολούθησε η ταυτοποίηση με ανθρωπολογικές μεθόδους (16,3%). Η μέθοδος αποτυπώματος DNA, καθώς και η ταυτοποίηση από τα συνοδά αντικείμενα του άτομου συνέβαλαν στον ίδιο βαθμό στον καθορισμό της ταυτότητας (10,5%). Η ταυτοποίηση με οδοντιατρικές μεθόδους επετεύχθη σε 5 περιπτώσεις (5,8%), ενώ με δακτυλοσκοπικές σε 4 (4,7%). Τέλος, η χρήση ιδιαίτερων γνωρισμάτων του ατόμου επέτρεψε την ταυτοποίηση 3 ατόμων (3,5%), ενώ η διαθεσιμότητα προθανάτιου απεικονιστικού υλικού συνέβαλε στην αναγνώριση ενός ατόμου (1,2%).

A RETROSPECTIVE STUDY OF THE METHODS USED FOR THE FORENSIC IDENTIFICATION OF UNKNOWN INDIVIDUALS IN GREECE

Nasopoulou M.[1], Manolis S.K.[2], Spiliopoulou C.[1], Moraitis K.1

1Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine, University of Athens. 75 M. Asias Str., 11527 Athens, Greece. 2Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens. Panepistimiopolis 15784 Athens, Greece. Email:
mary_nas86@hotmail.com smanol@biol.uoa.gr kmoraitis@med.uoa.gr

The identification of unknown bodies is of major importance in medicolegal death investigation. Visual inspection, fingerprinting, dental, x-ray and anthropological methods, as well as DNA analysis are some of the methods used for human identification. In addition, the evaluation of unique features of the body and the recovery of personal effects may help the identification process. The aim of this study is to compare the methods used at the Department of Forensic Medicine and Toxicology of University of Athens Medical School to identify unknown bodies during a 13-year period (1997-2009). A total of 155 cases of unknown corpses were studied from which 86 were successfully identified, while the rest 69 remained unidentified. In regard to the geographic distribution of the recovered bodies, 68.4% were found in Central Greece, while 32.1% in the rest of the country. The identification method used was chosen by taking into account not only the state of preservation of the body but also the availability of antemortem records. Visual inspection was used to identify the majority of unknown bodies (47.7%) followed by anthropological identification (16.3%). DNA profiling as well as the identification using personal effects have contributed to the same extent in personal identification (10.5%). Dental identification was achieved in 5 cases (5.8%) while the identification using fingerprints in 4 cases (4.7%). Finally, the evaluation of unique features of the decedent allowed the identification of 3 individuals (3.5%), while the availability of antemortem x-rays contributed to the identification of one unknown person (1.2%).

ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Νάστου Αικατερίνη Δέσποινα, Τσαούσης Γεώργιος, Χαμόδρακας Σταύρος
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701

Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες επιτελούν σημαντικές λειτουργίες του κυττάρου. Οι περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες βρίσκονται προσκολλημένες στην επιφάνεια της μεμβράνης με ασθενείς αλληλεπιδράσεις. Σκοπός της παρούσας εργασίας, ήταν η μελέτη του συνόλου των αλληλεπιδράσεων των ανθρώπινων περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών στο επίπεδο της πλασματικής μεμβράνης. Συγκεντρώσαμε 277 περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες από τη βάση δεδομένων UniProtKB/Swissprot και απομονώσαμε δεδομένα πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων μέσω της κοινοπραξίας IMEx. Συλλέχθηκαν δεδομένα για ένα δίκτυο πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, το οποίο οπτικοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος Cytoscape. Οι πρωτεΐνες ομαδοποιήθηκαν με βάση την υποκυτταρική τους θέση, καθιστώντας με αυτό τον τρόπο το δίκτυο περισσότερο πληροφοριακό. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ομαδοποίηση με χρήση του αλγορίθμου MCL, με σκοπό την εύρεση λειτουργικών οντοτήτων. Για την ανάλυση του δικτύου χρησιμοποιηθηκαν αρχές της θεωρίας γράφων για την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τα βιολογικά χαρακτηριστικά του δικτύου και με τις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις στο επίπεδο της μεμβράνης. Παράλληλα, η λειτουργική ανάλυση του δικτύου έδειξε συσχέτιση πρωτεϊνών με συγκεκριμένα μεταβολικά μονοπάτια. Επιπρόσθετα, περίπου 10% των συνταγογραφούμενων φαρμάκων, βρέθηκαν να στοχεύουν σε περιφερειακές πρωτεΐνες της πλασματικής μεμβράνης του ανθρώπου. Συμπερασματικά, το δίκτυο αλληλεπιδράσεων των περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεΐνων που κατασκευάστηκε, παρέχει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τον ρόλο των πρωτεϊνών αυτών στο κύτταρο.

THE HUMAN PLASMA MEMBRANE PERIPHEROME: VISUALIZATION AND ANALYSIS OF INTERACTIONS

Nastou Aikaterini Despoina, Tsaousis Georgios, Hamodrakas Stavros
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15701, Greece

A major part of membrane function is conducted by its proteins, both integral and peripheral. Peripheral membrane proteins temporarily adhere to biological membranes, either to the lipid bilayer or to integral membrane proteins with non-covalent interactions. The aim of the current study was the construction and analysis of the interactions of the human plasma membrane peripherome. For this purpose, a set of 277 peripheral plasma membrane proteins of the human cell has been collected. In addition, a dataset of interactions has been collected for these proteins from the IMEx (International Molecular Exchange Consortium) data resource, which contains a non-redundant set of protein-protein interaction data from major public domain databases. This dataset has been merged and filtered and the network created has been visualized using Cytoscape. Protein clustering has been done based on subcellular location, thus rendering the network more informative. Further clustering has been performed, using the MCL algorithm in order to detect functional modules. Moreover, functional and graph theory based analyses have been performed. Data from graph theory based analysis has been used to assess biological features of the network. Studies focused on functional analysis showed an association of our proteins with several metabolic processes. In addition, interaction data with drug molecules show that ~10% of peripheral membrane proteins interact with approved drugs, suggesting their potential implications in disease. In conclusion, we reveal new features and properties regarding the protein-protein interaction network created by peripheral proteins of the human plasma membrane. Acknowledgments: The present work was funded by the SYNERGASIA 2009 PROGRAMME, co-funded by the European Regional Development Fund and National resources (Project Code 09SYN-13-999), General Secretariat for Research and Technology of the Greek Ministry of Education and Religious Affairs, Culture and Sports.

ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΩΝ DNA ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ Χ

Νιαούρης Αθανάσιος, Αυγερινού Αφροδίτη, Κουβάτση Αναστασία
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, 54124 Θεσσαλονίκη

Οι μικροδορυφορικοί δείκτες STRs είναι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA, μήκους 2-6 νουκλεοτιδίων. Οι STRs χρησιμοποιούνται ως μοριακοί δείκτες στη γενετική για εύρεση συγγένειας, σε πληθυσμιακές μελέτες καθώς και σε ιατροδικαστικές και εγκληματολογικές υποθέσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι δείκτες STRs του χρωμοσώματος Χ παρουσιάζουν μικρότερη γενετική ποικιλομορφία και μεγαλύτερες τιμές ανισορροπίας σύνδεσης σε σχέση με αυτούς που βρίσκονται σε αυτοσωμικά χρωμοσώματα. Μελετήθηκαν οι γενετικοί δείκτες DXS6789, DXS7423 και GATA31E08 του χρωμοσώματος Χ σε δείγμα 111 μη συγγενικών ατόμων του ελληνικού πληθυσμού (74 άντρες, 37 γυναίκες), με καταγωγή για τρεις τουλάχιστον γενιές από την ίδια περιοχή. Η ανάλυση έγινε με την ενίσχυση του προς μελέτη γενετικού τόπου με PCR, ηλεκτροφόρηση των προϊόντων σε πηκτή πολυακρυλαμίδης και χρώση νιτρικού αργύρου. Για κάθε δείκτη υπολογίστηκαν, με τη βοήθεια κατάλληλων στατιστικών πακέτων, οι συχνότητες των αλληλομόρφων, ο βαθμός ετεροζυγωτίας (HET), ο βαθμός περιεχόμενης πληροφορίας πολυμορφισμού (PIC) και η τιμή διακριτικής ικανότητας (PD). Ανιχνεύτηκαν 7, 5, και 7 αλληλόμορφα για τους δείκτες DXS6789, DXS7423 και GATA31E08 αντίστοιχα. Το ισοζύγιο Hardy-Weinberg ισχύει στο δείγμα των θηλυκών ατόμων και για τους τρεις δείκτες. Ο βαθμός ετεροζυγωτίας (HET) υπολογίστηκε στο δείγμα των γυναικών ίσος με 0,723 για το δείκτη DXS6789, 0,604 για τον δείκτη DXS7423 και 0,793 για το δείκτη GATA31E08. Ο δείκτης με τους μεγαλύτερους βαθμούς περιεχόμενης πληροφορίας (PIC) και διακριτικής ικανότητας (PD) είναι ο GATA31E08 (PIC=0,763, PDM=0,793) και αυτός με τους μικρότερους, ο DXS7423 (PIC=0,543, PDM=0,604). Οι PIC και PDM τον δείκτη DXS6789 είναι 0,681 και 0,726 αντίστοιχα. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων συγκρίθηκαν με εκείνες άλλων ευρωπαϊκών πληθυσμών. Η μελέτη θα συνεχιστεί καθώς τα δεδομένα για STRs του χρωμοσώματος Χ μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πληθυσμιακές αναλύσεις, αλλά και στην ιατροδικαστική διερεύνηση σχέσεων συγγένειας μεταξύ ατόμων του πληθυσμού.

POPULATION DATA OF X-CHROMOSOME MICROSATELLITE LOCI

Niaouris Athanasios, Avgerinou Afroditi, Kouvatsi Anastasia
Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki , 54124 Thessaloniki

Microsatellite loci (STRs) are repeating DNA sequences of 2-6 nucleotides. They are used as molecular markers, in population studies, as well as in forensic cases. X-chromosome, STRs, in particular, show lower genetic polymorphism and greater linkage disequilibrium values than autosomal STRs. In the present study, genetic markers DXS6789, DXS7423 and GATA31E08 of X chromosome were analyzed in a population sample of 111 unrelated Greek individuals (74 men, 37 women) who originated from the same geographical region for at least three generations. Analysis was conducted by PCR amplification of the genetic locus, followed by product separation on polyacrylamide gel and silver staining. The allele frequencies, the degree of heterozygosity (HET), the polymorphism information content (PIC) and the power of discrimination (PD) were calculated for each marker by the appropriate statistical packages. For DXS6789, DXS7423 and GATA31E08 STRs, 7, 5 and 7 alleles were detected respectively. The women sample was found to be in Hardy-Weinberg equilibrium for all three markers studied. Heterozygosity was calculated in the women sample to be 0.723 for marker DXS6789, 0.604 for marker DXS7423 and 0.793 for marker GATA31E08. The STR with the greatest polymorphism information content (PIC) and power of discrimination (PD) values was GATA31E08 (PIC=0.763, PDM=0.793) and this with the lowest values was DXS7423 (PIC=0.543, PDM=0.604). PIC and PDM for DXS6789 STR are 0.681and 0.726 respectively. The calculated allele frequencies were compared with those from other European populations. The study will be continued as X-chromosome STRs data is useful in population genetic analysis and in forensic investigation of human relationships.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ DGGE

Αναστάσιος Νικολάου[1], Ηλιάνα Γεωργανά[1], Σεβαστιανός Ρούσσος[2], Αλέξης Γαλάνης[1], Ιωάννης Κουρκουτάς[1]

1/Ερευνητική ομάδα Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας και Μοριακής Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη, 68100, Ελλάδα - 2/Μεσογειακό Ινστιτούτο Βιοποικιλότητας και Οικολογίας, Πανεπιστήμιο Μασσαλίας, Μασσαλία, 421 F-13397, Γαλλία

Η παραγωγή ελαιολάδου αποτελεί έναν πολύ σημαντικό κλάδο της Ελληνικής γεωργίας με την χώρα μας να κατατάσσεται τρίτη στη συγκεκριμένη δραστηριότητα παγκοσμίως. Κατά την ελαιοπαραγωγική περίοδο η λειτουργία των ελαιοτριβείων παράγει δύο κύρια είδη παραπροϊόντων, τα οποία αποτελούν παράγοντες περιβαλλοντικής επιβάρυνσης. Τα υγρά απόβλητα, που προκύπτουν στις διάφορες φάσεις παραγωγής του λαδιού είναι πλούσια σε οργανικό φορτίο και γνωστά και ως «κατσίγαρος». Τα στερεά παραπροϊόντα παράγονται κυρίως από την συμπίεση κατά την τριφασική μέθοδο διαχωρισμού και αναφέρονται συνήθως με την ονομασία «ελαιοπυρήνας» (olive cake). Ο ελαιοπυρήνας περιέχει σπασμένους ή ραγισμένους πυρήνες, τον πολτό, τις φλούδες καθώς και μια μικρή ποσότητα ελαίου και νερού. Στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας αποτέλεσε ο προσδιορισμός της μικροβιακής χλωρίδας σε δείγματα από την επιφάνεια και την εσωτερική στιβάδα στερεών αποβλήτων ελαιοτριβείου, τα οποία υπέστησαν ξήρανση. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε από ελαιοτριβείο στην περιοχή Βήσσας της Σύρου τον Απρίλιο του 2012. Για την ανάλυση εφαρμόστηκε η ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης με αποδιατακτικές συνθήκες (DGGE). Σύμφωνα με τη ανάλυση τα κύρια βακτήρια που ανιχνεύθηκαν ανήκαν στα γένη των λακτοβακίλλων και λακτόκοκκων. Οι κυριότεροι ζυμομύκητες που ανιχνεύθηκαν ήταν τα είδη Issatchenkia terricola, Candida cabralensis και Pichia deserticola. Ανάμεσα στους μικροοργανισμούς που ταυτοποιήθηκαν, ανιχνεύθηκαν και δυνητικά παθογόνοι μικροοργανισμοί όπως ζυμομύκητες των γενών Candida και Pichia, καθώς και το παθογόνο γένος Legionella.

DGGE METHODOLOGY FOR MOLECULAR IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS IN SOLID OIL MILL BYPRODUCTS

Anastasios Nikolaou[1], Iliana Georgana[1], Sevastianos Roussos[2], Alexis Galanis[1], Ioannis Kourkoutas[1]

1/Applied Microbiology and Molecular Biotechnology Research Group, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Dragana, Alexandroupolis, GR 68100, Greece - 2/Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie marine et continentale (IMBE), Aix-Marseille Université, Campus Sciences St Jérôme - Service 421 F-13397 Marseille cedex 20– France

Greece is a major olive oil producing country. During the olive mills operating period solid and liquid waste are produced. The liquid waste is rich in organic load and generated in various stages during the oil extraction. Solid byproducts are produced by the compression of the phase separation process and commonly referred to as “olive cake”. The olive cake is environmentally pollutant as it consists of broken or cracked cores, pulp, peels, small quantity of oil and water. The aim of the present study was the determination of the microbial flora in solid oil mill waste, subjected to drying process. Specifically, the DGGE methodology was applied for the detection of bacteria and yeasts in surface and inner layer samples of solid byproducts. All samples were obtained from an oil mill in Vyssas territory in Syros island. The samples were collected on April 2012. According to the results, the main bacteria detected belong to the genera of Lactococcus and Lactobacilli. The main yeast species detected were Issatchenkia terricola, Candida cabralensis and Pichia deserticola. Among others, potentially pathogenic microorganisms were detected, such as yeasts of the genera Candida and Pichia, as well as the pathogenic genus Legionella.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΤΟΥ ΑΙΘΑΝΟΛΟΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ *Zymomonas mobilis*

Νταβίντοβα Έλενα, Παππά Κατερίνα
Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, Τ.Κ. 15701

Το Zymomonas mobilis είναι ένα α-πρωτεοβακτήριο η χρήση του οποίου ενδιαφέρει για παραγωγή βιοαιθανόλης. Ως πηγή άνθρακα μπορεί να χρησιμοποιήσει μόνο γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη, και γι' αυτό επιδιώκεται η μεταβολική του διεύρυνση ως προς την κατεύθυνση καταβολισμού φθηνών και πρόσφορων υποστρωμάτων (π.χ. αδρής βιομάζας). Η διεύρυνση του οργανισμού απαιτεί εισαγωγή γονιδίων, η οποία επιτυγχάνεται αποκλειστικά μέσω σύζευξης ή μέσω μετασχηματισμού με τη μέθοδο της ηλεκτροδιάτρησης, που πλεονεκτεί ως προς την ευκολία και την ταχύτητα. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ικανότητα μετασχηματισμού διαφορετικών στελεχών του Z. mobilis μέσω ηλεκτροδιάτρησης και αναζητήθηκαν οι βέλτιστες παράμετροι αυτής. Συγκρίθηκε η απόδοση μετασχηματισμού του βιομηχανικού στελέχους ATCC 31821 [CP4] με χρήση των ευρέως-φάσματος-ξενιστών φορέων κλωνοποίησης pBBR1MCS και pSUP104, από τα οποία ο πρώτος παρουσίασε αξιοσημείωτα καλύτερη εισαγωγή. Εξετάστηκε μία σειρά παραγόντων που θα μπορούσαν να επηρεάζουν την απόδοση του μετασχηματισμού, όπως: i) η φάση ανάπτυξης της καλλιέργειας, ii) η ποσότητα του DNA που εισάγεται, iii) η επίδραση του χρόνου φύλαξης των δεκτικών κυττάρων, και iv) φυσικές παράμετροι όπως η αντίσταση, η τάση του ρεύματος και η διάρκεια του παλμού κατά την ηλεκτρική εκκένωση. Εφαρμόζοντας τις βέλτιστες παραμέτρους μετασχηματισμού όπως οριστικοποιήθηκαν από τα παραπάνω, έγινε σύγκριση της δεκτικότητας των στελεχών Z. mobilis ATCC 31821 [CP4] και [ZM4] (βιομηχανικά στελέχη), ATCC 10988 (λεκτότυπος είδους) και NCIMB 11163, από την οποία προέκυψε ότι το στέλεχος ZM4 είναι το πλέον δεκτικό. Επιπλέον, με στόχο την ανάπτυξη πρόσφορου εργαλείου μεταλλαξογένεσης στον οργανισμό, αποπειράθηκε ο μετασχηματισμός του CP4 από το σύμπλοκο Tn-τρανσποζάσης (transposome) EZ-Tn5TMTnp, ο οποίος δεν υπήρξε αποδοτικός. Τέλος, στα αλληλουχημένα γονιδιώματα του Z. mobilis και με χρήση βιοπληροφορικών εργαλείων, πραγματοποιήθηκε αναζήτηση και εντοπισμός γονιδίων που είναι γνωστό από άλλα βακτήρια ότι συμμετέχουν στη διαδικασία του μετασχηματισμού.

STUDY OF TRANSFORMATION IN DIFFERENT STRAINS OF THE ETHANOL-PRODUCING BACTERIUM Zymomonas mobilis

Davydova Elena, Pappas Katherine
Department of Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Ilisia, Athens 15701

Zymomonas mobilis is a fermenting α-proteobacterium that attracts interest for bioethanol production. As carbon source it can only utilize glucose, fructose and sucrose, and thus it is essential to engineer the organism in order to enable it to consume inexpensive and plentiful substrates such as raw biomass. The metabolic broadening of Z. mobilis entails gene introduction that can only be accomplished via conjugation or transformation with the use of electroportation, which is usually simpler and faster. In the present work, we studied the ability of different strains of Z. mobilis to transform and we sought to optimize electroporation conditions. We compared the efficiency of entry of two different broad-host-range cloning vectors in the industrial strain ATCC 31821 [CP4], pBBR1MCS and pSUP104, of which the former exhibited substantially higher transformation efficiencies. We examined factors that could affect competence, such as: i) the bacterial culture growth phase, ii) the quantity of DNA to be introduced, iii) the length of competent cell storage, and iv) physical parameters at the electroporation procedure, i.e., current resistance, voltage or pulse duration. Optimal parameters that were determined were then employed to compare the transformation efficiencies of Z. mobilis strains ATCC 31821 [CP4] and [ZM4] (industrial strains), ATCC 10988 (type-strain), and NCIMB 11163, where it became evident that ZM4 is superior in DNA uptake. Moreover, and in order to develop a highly applicable mutagenesis tool for Z. mobilis, the transposome EZ-Tn5TMTnp was used to transform CP4, which generally resulted in low yields. Finally, in the sequenced genomes of Z. mobilis strains and with the use of bioinformatic tools, an effort was made to identify genes that, based on previous knowledge, participate in competence, transformation and foreign DNA protection.

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΓΛΥΚΕΡΟΛΗΣ ΜΕΣΩ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ: ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΫΔΡΟΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΠΟΛΥΥΔΡΟΞΥΑΛΚΑΝΟΪΚΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΥΟ ΣΤΑΔΙΩΝ

Ντάικου Ιωάννα, Κουμελης Ιωάννης, Δουναβης Αθανάσιος, Λυμπερατος Γεράσιμος
1 Ιδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας/Ινστιτούτο Επιστημών Χημικής Μηχανικής, 26504, Πατρα 2 Σχολη Χημικων Μηχανικων, Εθνικο Καποδιστριακο Πανεπιστημιο Αθηνων, 15780, Αθηνα

Η γλυκερόλη (1,2,3 προπανοτριόλη) είναι μία πολυόλη που χρησιμοποιείται ευρέως στην βιομηχανία καλλυντικών, τροφίμων, φαρμάκων κ.λπ. Τα τελευταία χρόνια το κόστος και η διαθεσιμότητα της έχουν αλλάξει σημαντικά ως συνέπεια της βιομηχανικής παραγωγής βιοντήζελ κατά την οποία μεγάλες ποσότητες γλυκερόλης προκύπτουν ως παραπροϊόν. Αυτή η ακατέργαστη γλυκερόλη θεωρείται απόβλητο, και ως εκ τούτου είναι σημαντικό να αναπτυχθούν νέες και βιώσιμες λύσεις για τη διαχείριση και αξιοποίηση της. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας διερευνήθηκε η παραγωγή βιοϋδρογόνου και πολυ-υδροξυαλκανοϊκών εστέρων (ΠΥΑ) από βιομηχανική γλυκερόλη σε συνεχές σύστημα δύο σταδίων. Το υδρογόνο είναι ένα αέριο καύσιμο μεγάλης ενεργειακής πυκνότητας που μπορεί να παραχθεί εύκολα από διάφορα οργανικά απόβλητα μέσω ανάερόβιας ζύμωσης. Οι ΠΥΑ είναι ενδοκυτταρικά μικροβιακά πολυμερή με ιδιότητες παρόμοιες των πετροχημικών πλαστικών, και βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στο τομέα συσκευασίας τροφίμων. Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκαν δύο διαφορετικές διεργασίες βασισμένες στη χρήση μικτών μικροβιακών καλλιέργειών. Η παραγωγή βιοϋδρογόνου πραγματοποιήθηκε μέσω αναερόβιας ζύμωσης της βιομηχανικής γλυκερόλης με μικτές οξεογόνες καλλιέργειες σε συνεχή αντιδραστήρα στήλης ανοδικής ροής. Η απορροή του αντιδραστήρα προωθούταν στη συνέχεια σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου περιοδικής λειτουργίας όπου πραγματοποιούνταν ο αερόβιος πολυμερισμός των ζυμωτικών προϊόντων προς παραγωγή ΠΥΑ, μέσω μικτών εμπλουτισμένων καλλιεργειών υπό περιορισμό αζώτου. Η απόδοση του οξεογόνου αντιδραστήρα, εκτιμήθηκε βάσει της απόδοσης υδρογόνου και του ποσοστού οξίνισης του υποστρώματος. Η απόδοση υδρογόνου, φάνηκε να επηρεάζεται από το pH και το ρυθμό οργανικής φόρτισης. Η απόδοση του συστήματος παραγωγής ΠΥΑ υπολογίστηκε ως g ΠΥΑ/g στερεών και ως g ΠΥΑ/g χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου. Η σύσταση του ζυμωτικού μίγματος φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά τόσο τις αποδόσεις σε ΠΥΑ όσο και τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων ΠΥΑ.

EXPLOITATION OF CRUDE GLYCEROL VIA MICROBIAL PROCESSES: PRODUCTION OF BIOHYDROGEN AND POLYHYDROXYALKANOATES IN A TWO STAGE SYSTEM

Ntaikou Ioanna [1],, Koumelis Ioannis [1], Dounavis Athanasios [1], Lyberatos Gerasimos.,[1,2]
ICEHT/FORTH

Glycerol (1,2,3 propanetriol) is a polyol widely used in cosmetics, food pharmaceutical industries. In recent years the cost and availability of glycerol have changed significantly as a result of industrial biodiesel production during which large quantities of glycerol are generated as a byproduct. This crude glycerol is actually a waste, and therefore it is important to develop new and sustainable solutions for its management and exploitation. In the present work we investigated the production of biohydrogen and polyhydroxyalkanoates (PHAs) from industrial glycerol in continuous two-stage system. Hydrogen is a gaseous fuel of high energy density that can be easily produced from various organic wastes via anaerobic fermentation. PHAs are intracellular microbial polymers with properties similar to those of petrochemical plastics, and are widely used in the food packaging sector. In this study we developed two different processes based on the use of mixed microbial consortia. The production biohydrogen was achieved via anaerobic fermentation of glycerol using immobilized mixed acidogenic cultures in a continuous up-flow column bioreactor. The effluent of the reactor was then forwarded to a sequential batch bioreactor periodic where the polymerization of the fermentative products of the first reactor was conducted, using enriched PHAs producing cultures under nitrogen limitation. The performance of acidogenic reactor was evaluated in terms of hydrogen yield and rate of acidification of the substrate. The yield of hydrogen seemed to be affected by pH and the rate of organic load. The performance of PHAs producing reactor was evaluated in terms of g PHAs/g TSS and g PHAs/g chemical oxygen demand. The composition of the fermenting mixture appeared to significantly affect both the PHAs yield as well as the structural and chemical characteristics of the produced PHAs.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΒΙΟΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ ΤΩΝ ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΘΟΦΟΡΙΑ ΤΗΣ Lavandula angustifolia

Ντάνα Φανή[1], Λάζαρη Διαμάντω[2], Χασιώτης Χρήστος[3], Πούλιος Στυλιανός[1], Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος[1]

1/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Θεσσαλονίκη, 54124 - 2/Τμήμα Φαρμακογνωσίας-Φαρμακολογίας, Σχολή Φαρμακευτικής, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, 54124 - 3/Τμήμα Δασοπονίας και Διαχείρισης Φυσικού Περιβάλλοντος, ΤΕΙ Λάρισας, Καρδίτσα, 43100

Η λεβάντα καλλιεργείται ευρέως για το αιθέριο έλαιο της, τα οποία βρίσκουν εφαρμογές στην παραγωγή καλλυντικών, τη βιομηχανία τροφίμων και την εναλλακτική ιατρική. Οι ιδιότητες του αιθερίου ελαίου της οφείλονται στα μονοτερπένια, μία ομάδα ισοπρενοειδών χαμηλού μοριακού βάρους (C10). Η παραγωγή του αιθερίου ελαίου στη λεβάντα καθορίζεται κυρίως από το γενότυπο του φυτού, ενώ επηρεάζεται τόσο από το αναπτυξιακό στάδιό του όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Με σκοπό την εξέταση της έκφρασης των γονιδίων της βιοσύνθεσης των μονοτερπενίων στην Lavandula angustifolia var. etherio, συλλέχθηκε φυτικό υλικό από δύο καλλιέργειες (Κάτω Σχολάρι, Κιλκίς). Υπολογίστηκε η σχετική έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν για τις συνθετάσες των μονοτερπενίων, της λιναλοόλης και του λεμονενίου, LaLINS και LaLIMS και του γονιδίου LaTPS-l σε φύλλα, άνθη και βλαστούς ταξιανθίας ξεχωριστά με ποσοτική RT-PCR. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκφραση των συγκεκριμένων γονιδίων παρουσιάζει ιστοεξειδίκευση και συγκεκριμένα, διαφέρει στα άνθη και τα φύλλα, ενώ στον βλαστό ήταν ιδιαίτερα περιορισμένη. Επίσης, μελετήθηκαν οι μεταβολές στην σχετική έκφραση των LaLINS και LaLIMS κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας του φυτού. Τέλος, εξετάστηκε αν η έκφραση του γονιδίου της συνθετάσης της λιναλοόλης LaLINS αντικατοπτρίζει και τη συγκέντρωση της στο αιθέριο έλαιο του φυτού κατά την ανθοφορία.

EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN MONOTERPENE BIOSYNTHETIC PATHWAY DURING FLOWERING OF Lavandula angustifolia

Dana Fani[1], Lazari Diamanto[2], Hassiotis Cristos[3], Poulios Stylianos[1], Vlachonasios Konstantinos[1]

1/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki (AUTH), Thessaloniki, 54124 - 2/Department of Pharmacognosy-Pharmacology, School of Pharmacy, AUTH, Thessaloniki, 54124 - 3/Department of Forestry and Natural Environment Administration, Technical University of Larissa, Karditsa, 43100

Lavender is widely cultivated for essential oil, which is used for cosmetics, food industry and alternative medicine. The properties of the essential oil refer to monoterpenes, an isoprenoid group of low molecular weight (C10). The production of essential oil in lavender mainly is determined by the plant genotype, while can be influenced by both developmental stage and environmental factors. In order to examine the expression of genes involved in biosynthesis of monoterpenes in Lavandula angustifolia var. etherio, plant material was collected from two cultures located at Kato Scholari and Kilkis. The relative expression of monoterpene synthase genes LaLINS, LaLIMS and LaTPS-l was calculated in each tissue separately using quantitative PCR. The results showed that these genes have tissue-specific expression, which differentiate in the flowers and leaves, while in the stem gene expression was low. We also studied the changes in the relative expression of LaLINS and LaLIMS during flowering period. Finally, it was examined whether the expression of LaLINS reflects the concentration of linalool in the plant essential oil during flowering.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΤΟΥ p53 ΣΤΟΝ ΕΠΑΝΑΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΟ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

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

Η μέθοδος που μετατρέπει διαφοροποιημένα σωματικά κύτταρα, σε πολυδύναμα βλαστοκύτταρα, γνωστά και ως επαναπρογραμματιζόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα ή Induced Pluripotent Stem Cells (IPSCs), αποκτά ολοένα και σημαντικότερες προοπτικές στον τομέα της αναγεννητικής ιατρικής. Τα κύτταρα αυτά μπορούν να παραχθούν από σωματικά κύτταρα με την εκτοπική υπερέκφραση των μεταγραφικών παραγόντων Oct3/4, Sox2, Klf4 και c-Myc. Η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου, εξαρτάται άμεσα από την τεχνική εισαγωγής τους είτε με ένθετο ή και μη-ένθετο τρόπο. Όπως έχει ήδη δειχτεί η καταστολή του p53 με siRNA, αυξάνει την αποτελεσματικότητα του επαναπρογραμματισμού και έχει συνδεθεί με τον περιορισμό της κυτταρικής διαίρεσης και την επαγωγή της απόπτωσης. Παρόλα αυτά, ο ρόλος της καταστολής του p53 δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί.Μελετήσαμε το ρόλο της καταστολής του p53 στα αρχικά στάδια της διαδικασίας επαναπρογραμματισμού, και την σχέση αυτού με τα παρατηρούμενα αυξημένα επίπεδα κυτταρικού θανάτου. Η υπερέκφραση των τεσσάρων παραγόντων με λεντι-ιό, σε πρωτογενή δερματικά κύτταρα, είχε σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του p53 μονοπατιού σηματοδότησης. Η χρήση του αναστολέα pifithrin-α, οδήγησε στην πλήρη επαναφορά του μεταγραφικού μονοπατιού σε φυσιολογικά επίπεδα. Ο επαναπρογραμματισμός με την μη-ένθετη ιική μέθοδο Sendai δεν είχε καμία επίδραση στο μεταγραφικό μονοπάτι του p53. Η παροδική διαμόλυνση με mRNA των τεσσάρων παραγόντων οδήγησε σε επιτυχή επαναπρογραμματισμό παρουσία του αναστολέα, αλλά χωρίς σημαντική βελτίωση της αποτελεσματικότητας, όπως είχε αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες. Επίσης δεν παρατηρήθηκε επαγωγή της φυσικής ανοσολογικής απόκρισης μέσω του γονιδιακού δικτύου της ιντερφερόνης 1 (IFN1).Η λειτουργική ανάλυση των γονιδίων που βρέθηκαν με σημαντική διαφορετική έκφραση, θα οδηγήσουν στην καλύτερη κατανόηση του ρόλου του p53 στην παραγωγή κυττάρων iPSCs.

THE INVOLVEMENT OF p53 TRANSCRIPTIONAL CIRCUIT IN ADULT SOMATIC CELL REPROGRAMMING

Ntafou D.
Department of Genetics, Development and Molecular Biology School of Biology Faculty of Sciences Aristotle University of Thessaloniki Thessaloniki 541 24 Greece

The process of somatic cell reprogramming is gaining increasing interest as reprogrammed cells are considered to hold a great therapeutic potential. Induced pluripotent stem (iPS) cells can be generated from various somatic cells by introduction of Oct3/4, Sox2, Klf4 and c-Myc using an array of delivery methods, both integrating and non-integrating. Pluripotency can be induced without c-Myc, but with lower efficiency. Recent studies reported that inhibition of the p53 tumor suppressor profoundly facilitates reprogramming and attributed this effect to the ability of p53 to restrict proliferation and induce apoptosis. A p53 siRNA mediated inhibition was recently shown to promote human iPS cell generation, but specificity and mechanisms remain to be determined. In this study we investigated the role of p53 inhibition in relation to increased cell death during the early stages of reprogramming by both, genome integrating and non-integrating methodologies. Lentiviral transduction of the four reprogramming factors into primary human foreskin fibroblasts resulted in the activation of p53 downstream signaling. This effect was almost completely reverted by the presence of the p53 inhibitor, pifithrin-α. Reprogramming by Sendai virus transduction did not have significant effects on transcriptional p53 signaling. Interestingly, mRNA mediated reprogramming, resulted in significant induction of the p53 signaling pathway and the majority of downstream genes. Suppression of p53 did not increase the efficiency of human iPS cell generation, as was previously reported. Induction of innate immune response through the IFN1 gene network was also not activated. Functional analyses of the significantly differentially expressed genes may uncover a novel mechanism by which p53 affects mRNA mediated reprogramming elucidating further the role of p53 in regulating induction to pluripotency.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΤΙΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Ντι Λορεντσο Τζώρτζια Μαρία [1,2], Αρσενάκης Μηνάς[1], Γκέλης Σπύρος[2]
1/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη 2/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη

Τα κυανοβακτήρια είναι μια σημαντική πηγή δευτερογενών μεταβολιτών, από τους οποίους μερικοί έχουν φαρμακευτικό ενδιαφέρον. Κάποια από αυτά τα βιολογικώς ενεργά μόρια παρατηρήθηκε να έχουν αντιβακτηριακές δράσεις. Στην εργασία αυτή ελέγχθηκε η επίδραση εκχυλισμάτων 25 στελεχών κυανοβακτηρίων (εφτά στελέχη Anabaena, τρία στελέχη Jaaginema, εννέα Microcystis, δύο Pseudanabaena και τα στελέχη Stigonematales 053, Rivulariaceae 052, Limnothrix 0310 και Aphanocapsa 095) που απομονώθηκαν από λίμνες της Ελλάδας σε τέσσερα διαφορετικά βακτήρια, τα Escerichia coli 8879, Pseudomonas aeruginosa 12469, Bacillus subtilis 3610 και Staphylococcus aureus 9518. Τα υδατικά εκχυλίσματα κυανοβακτηρίων παρασκευάστηκαν με λυφίλιση της βιομάζας της καλλιέργειας στην εκθετική φάση ανάπττυξης, ενυδάτωση της ξηρής βιομάζας τους με διασαπεσταγμένο νερό και λύση των κυττάρων με τη χρήση υπερήχων, φυγοκέντρηση και αποστείρωση του υπερκείμενου σε ηθμούς 0.45μm. Τα τέσσερα στελέχη των βακτηρίων επιστρώθηκαν σε τρυβλία Petri, τοποθετήθηκαν απορροφητικά δισκία διαμέτρου 0.5cm εμποτισμένα με τα εκχυλίσματα κάθε στελέχους κυανοβακτηρίου. Μετά από 48 ώρες επώασης στους 37oC, μετρήθηκε η ζώνη αναστολής περιφερικά των δισκίων για κάθε εκχύλισμα. Για όσα στελέχη παρατηρήθηκε ζώνη αναστολής έγινε τιτλοποίηση του στελέχους (μέτρηση cfu/ml) στα χρονικά διαστήματα 0h 3h, 8h και 24h, αντίστοιχα. Από τα τέσσερα στελέχη βακτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν, μόνο το στέλεχος Staphylococcus aureus 9518 ανταποκρίθηκε με τη μεγαλύτερη ευαισθησία σε πέντε από τα 25 εκχυλίσματα κυανοβακτηρίων, εμφανίζοντας ζώνη αναστολής μέχρι και 1.1cm. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα δείχνουν ότι: α) τα στελέχη Microcystis flos-aquae 1510, Jaaginema 0210 και Pseudanabaena 3010 έχουν βακτηριοστατική δράση ενάντια στο Staphylococcus aureus 9518, β) το Limnothrix 0310 δε φαίνεται να επιδρά σημαντικά στην ανάπτυξη του βακτηρίου, ενώ γ) το Rivulariaceae 052 φαίνεται να ευνοεί την αύξηση του Staphylococcus aureus 9518.

SCREENING FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CYANOBACTERIAL EXTRACTS

di Lorentzo G.M [1,2], Arsenakis M.[1], Gelis S.[2]
1/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124 Thessaloniki, Greece 2/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124 Thessaloniki, Greece

Cyanobacteria are known to be a rich source of secondary metabolites, some of which are of pharmaceutical importance due to their antibacterial properties. In this study we investigated the antibacterial activity of 25 cyanobacterial aqueous extracts (seven Anabaena strains, three Jaaginema strains, nine Micocystis strains, two Pseudanabaena strains and Stigonematales 053, Rivulariacecae 052, Limnothrix 0310, Aphanocapsa 095 strain) isolated from lakes of Greece on four different bacteria, Escerichia coli 8879, Pseudomonas aeruginosa 12469, Bacillus subtilis 3610 and Staphylococcus aureus 9518. The aqueous cyanobacterial extracts were prepared by freeze-drying the biomass of exponential growth phase cultures for every strain, followed by hydration of the dry biomass with double distilled water and sonication. The extracts clarified by centrifugation and sterilized by filtration through a 0.45μm filter. The four bacterial strains were spread on Petri plates and 0.5cm diameter filter paper discs impregnated with the extracts were placed on the plates. After 48 hours of incubation at 37o C the inhibition zones were measured for every cyanobacterial extract. For extracts showing clear inhibition zones, the bacterial growth was evaluated by titration and Colony Form Units (cfu/ml) were calculated at times 0, 3, 8 and 24 hours. Clear inhibition zones (the largest of which was 1.1cm), were observed for five of the 25 cyanobacterial extracts against Staphylococcus aureus 9518. The preliminary results show that: i) Microcystis flos-aquae 1510, Jaaginema 0210 and Pseudanabaena 3010 exhibit inhibitory activity against Staphylococcus aureus 9518, ii) Limnothrix 0310 does not affect the bacterial growth at all and iii) Rivulariaceae 052 instead of inhibition appears to enhance the growth of Staphylococcus aureus 9518.

ΠΡΟΤΥΠΑ ΕΝΔΗΜΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΚΑΘΕΣΤΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΤΩΝ ΕΣΩΤΕΡΙΚΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΤΗΣ ΒΑΛΚΑΝΙΚΗΣ ΧΕΡΣΟΝΗΣΟΥ

Ανθή Οικονόμου[1], Fabien Leprieur[2], Ιωάννης Λεονάρδος[1]
1Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα, Ελλάδα 2 Laboratoire Ecologie des Systèmes Marins Côtiers UMR 5119, CNRS, IRD, IFREMER, UM2, UM1, cc 093, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 5, France

Η οριοθέτηση βιογεωγραφικών περιοχών συχνά θεωρείται ένα αρχικό βήμα προς την κατεύθυνση, τουλάχιστον, της υλοποίησης και της αξιολόγησης των προτεραιοτήτων διατήρησης. Επιπλέον, η κοινή εξερεύνηση των χωρικών μοντέλων της ποικιλότητας, του ενδημισμού και των απειλούμενων ειδών μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση των προσπαθειών διατήρησης και της αειφόρου χρήσης της βιοποικιλότητας σε πολλαπλές χωρικές κλίμακες. Για να εξερευνήσουμε το σχετικό βαθμό ενδημισμού των βιογεωγραφικών περιοχών της Βαλκανικής Χερσονήσου, υπολογίστηκε ο αριθμός των ενδημικών ειδών, λαμβάνοντας υπόψη το συνολικό αριθμό των ιθαγενών ειδών σε κάθε βιογεωγραφική περιοχή (ποσοστό ενδημικών ειδών). Τέλος, υπολογίσαμε τον αριθμό των ειδών που αποδίδεται σε κάθε κατηγορία Red List σύμφωνα με το IUCN και συνεπώς, το ποσοστό κάθε κατηγορίας σε κάθε βιογεωγραφική περιοχή. Μεταξύ των βιογεωγραφικών περιοχών, η μεγαλύτερη αφθονία παρουσιάζεται στα Κεντρικά Βαλκάνια ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό των ενδημικών ειδών παρατηρήθηκε στις βιογεωγραφικές περιοχές «Πρέσπες» και «Ιόνιο». Τέλος, το υψηλότερο ποσοστό των ειδών που ανήκουν στην Κόκκινη Λίστα των απειλούμενων ειδών παρατηρείται στις Πρέσπες ακολουθούμενη από την περιοχή του Ιόνιου και Βόρειας Αδριατικής.Η ανάδειξη των βιογεωγραφικών περιοχών του «Ιονίου» και των «Πρεσπών» ως hotspots θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, στο πλαίσιο ενός πιο αποτελεσματικού σχεδιασμού και στοχευμένης έρευνας για τη βιοποικιλότητα.Συμπερασματικά, η διερεύνηση του βαθμού ενδημισμού και απειλούμενων ειδών μπορεί να συμβάλλει στην ανάδειξη των «hotspots» της Βαλκανικής Χερσονήσου με στόχο την υλοποίηση ενός δικτύου προστατευόμενων περιοχών των εσωτερικών υδάτων σε όλη την Βαλκανική χερσόνησο.

PATTERNS OF ENDEMISM AND CONSERVATION STATUS OF THE BALKAN FRESHWATER FISH FAUNA

Anthi Oikonomou[1], Fabien Leprieur[2], Ioannis Leonardos[1]
1Laboratory of Zoology Biological Applications and Technology Dept. University of Ioannina 45110 Ioannina Greece

The delimitation of biogeographical regions is often considered an initial step toward, at least, implementation and evaluation of conservation priorities. Moreover, the joint exploration of spatial patterns of diversity and endemism of endangered species can help to improve conservation efforts and sustainable use of biodiversity at multiple spatial scales. To explore the relative degree of endemism of the biogeographical regions of the Balkan Peninsula, we estimated the number of endemic species (percentage of endemic species). Finally, we calculated the number of species assigned to each Red List category according to IUCN and therefore the percentage of each category in each biogeographical region. Between biogeographical regions, the greatest species richness occurs in the Central Balkans and the highest percentage of endemic species is observed in Prespa and Ionian biogeographical regions. Finally, the highest proportion of species belonging to the Red List of threatened species is observed in the Prespaecoregionfollowed by the area of the North Adriatic and Ionian Sea. The highlighting of the Ionian and Prespa biogeographical regions should be taken into account in a more effective planning and targeted biodiversity research. In conclusion, the present study can contribute to the emergence of «hotspots» in the Balkan Peninsula with a view to implementing a network of protected areas of freshwater ecosystems throughout the Balkan Peninsula.

ΕΚΑΤΟΝΤΑΔΕΣ ΖΕΥΓΗ ΒΑΣΕΩΝ ΑΝΟΔΙΚΑ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ HSP27 ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΘΕΡΜΟΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ

Οικονομου Κ., Μιντζας Α.
Πανεπιστήμιο Πατρών

Οι μικρές θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες (sHSPs) διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους τόσο στο μοριακό τους βάρος (12-43 kDa) όσο και στην αμινοξική τους αλληλουχία, με εξαίρεση μια συντηρημένη περιοχή 80-100 αμινοξέων στο καρβοξυτελικό τους άκρο που παρουσιάζει υψηλή ομολογία με την αντίστοιχη περιοχή της α-κρυσταλλίνης. Ο κύριος ρόλος των sHSPs είναι η πρόσδεσή τους σε μερικώς αποδιαταγμένες πρωτεΐνες εμποδίζοντας έτσι την συσσωμάτωσή τους. Επιπρόσθετα, οι πρωτεΐνες αυτές εμπλέκονται σε πολλές άλλες κυτταρικές λειτουργίες όπως η κυτταρική αύξηση, η διαφοροποίηση, η απόπτωση, η ρύθμιση του οξειδωτικού στρες και η ακεραιότητα του κυτταροσκελετού. Στη παρούσα εργασία μελετήσαμε τη θερμοεπαγόμενη ρύθμιση του μικρού θερμονοεπαγόμενου γονιδίου hsp27 της μεσογειακής μύγας. Για το σκοπό αυτό, κατασκευάστηκαν διαγονιδιακά στελέχη τα οποία έφεραν το γονίδιο της λουσιφεράσης κάτω από τον έλεγχο διαφόρων τμημάτων της 5’ περιοχής (-2808/+150) του γονιδίου hsp27. Τα στελέχη που περιείχαν το γονίδιο της λουσιφεράσης υπό τον έλεγχο ολόκληρης της -2808/+150 περιοχής του γονιδίου hsp27 παρουσίασαν υψηλά θερμοεπαγόμενα επίπεδα του γονιδίου αναφοράς, παρόμοια με εκείνα του ενδογενούς γονιδίου. Τα στελέχη που περιείχαν το γονίδιο της λουσιφεράσης υπό τον έλεγχο των περιοχών -1378/+150 και -978/+150, οι οποίες περιλάμβαναν αντίστοιχα 5 και 3 δυνητικά στοιχεία απόκρισης στη θερμότητα (HSEs), έδωσαν χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι αλληλουχίες, ανοδικά των HSEs, του γονιδίου hsp27 απαιτούνται για τη μέγιστη θερμοεπαγόμενη έκφρασή του. Το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται από την ανάλυση στελεχών που περιείχαν το γονίδιο της λουσιφεράσης υπό τον έλεγχο της -2808/+150 ελλειμματικής περιοχής η οποία δεν περιλάμβανε τα 5 HSEs. Τα στελέχη αυτά έδωσαν σημαντικά θερμοεπαγόμενα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου αναφοράς. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η πλήρης θερμοεπαγωγή του γονιδίου hsp27 της μεσογειακής μύγας δεν εξαρτάται μόνο από τα HSEs αλλά και από άλλες ανοδικές αλληλουχίες.

SEVERAL HUNDRED BASE PAIRS UPSTREAM OF THE MEDFLY HSP27 GENE ARE REQUIRED FOR ITS HEAT INDUCTION

Economou K., Mintzas A.
University of Patras

Small heat shock proteins (sHsps) are the most diverse in structure and function amongst the various families of Hsps, varying greatly in size and amino acid sequence. However, the majority of them are characterized by an evolutionary conserved C-terminal α-crystalin domain of about 80-100 amino acid residues. The primary role of sHsps is to bind partially denatured proteins and prevent their aggregation. In addition, these proteins are involved in several cellular processes including cell growth, differentiation, apoptosis, signal transduction, oxidative stress and modulation of cytoskeletal integrity. In the present work, we studied the heat inducible regulation of the medfly hsp27 gene. For this purpose, we constructed transgenic strains which contained the reporter luciferase gene under the control of various overlapping fragments of the -2808/+150 5' region of the hsp27 gene. The analysis of these strains for heat inducible induction showed that the region -2808/+150 of the hsp27 gene drove high levels of reporter gene activity similar to the endogenous gene. This region contains 5 potential heat shock elements (HSEs) and hundreds of bp upstream sequences. The strains containing the regions -1378/+150 and -978/+150, which include 5 and 3 potential HSEs respectively, showed lower heat inducible levels of the reporter gene suggesting that the region upstream of the HSEs contains sequences that enhance heat shock expression of the hsp27 gene. This conclusion is supported from the analysis of strains carrying a deletion of the -2808/+150 region that contains all 5 heat shock elements. These strains gave significant heat shock levels of reporter gene activity. In conclusion, our results indicate that the full heat induction of the medfly hsp27 gene does depend only on the HSEs but also on further upstream sequences.

ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΣΤΙΧΕΛΑΙΟΥ

Παναγάκη Δήμητρα[1], Γαβριηλίδης Μαξίμ[1], Μπάτζιου Κρυσταλλένια[1], Καλαμάρα Παρασκευή[1], Χαρτοματσίδου Τατιάνα[1], Παντελίδου Χριστίνα[1], Δροσοπούλου Ελένη[1], Βλαστός Δημήτριος[2], Μαυραγάνη-Τσιπίδου Πηνελόπη[1]

1/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη - 2/Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδας, 30100 Αγρίνιο

Η μαστίχα είναι αρωματική φυσική ρητίνη, η οποία εξάγεται από το μαστιχόδενδρο της Χίου (Pistacia lentiscus L. variation chia). Χρησιμοποιείται ευρέως από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα σε προϊόντα υγείας, κοσμετικής και τροφίμων. Το μαστιχέλαιο είναι ένα ρητινώδες υγρό που παράγεται μέσω απόσταξης της φυσικής μαστίχας. Είναι 100% φυσικό προϊόν και περιέχει μία εξαιρετική ποικιλία θεραπευτικών & αρωματικών συστατικών. Στην παρούσα μελέτη γίνεται έλεγχος της γενοτοξικής δράσης του μαστιχέλαιου, καθώς και της πιθανής αντιγενοτοξικής δράσης του σε σχέση με τον ισχυρά μεταλλαξιγόνο παράγοντα MMC (mitomycin-C). Εφαρμόστηκε η δοκιμή SMART (Somatic Mutation And Recombination Test), μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος, που προσδιορίζει όχι μόνο τη μεταλλαξιγόνο και ανασυνδυαστική αλλά και την αντι-μεταλλαξιγόνο δράση των υπό μελέτη ουσιών. Ως πειραματόζωο χρησιμοποιείται το έντομο Drosophila melanogaster, ένας από τους οργανισμούς-μοντέλα για in vivo μελέτες τοξικότητας. Η χρήση των γενετικών δεικτών mwh και flr της Drosophila επιτρέπουν την αναγνώριση μεταλλάξεων ή ανασυνδυασμών σε άτομα trans-ετερόζυγα ως προς τους δυο αυτούς δείκτες. Για τον έλεγχο της δράσης του μαστιχέλαιου πραγματοποιήθηκαν χρόνιες επιδράσεις σε προνύμφες Drosophila τριών ημερών παρουσία α) μαστιχέλαιου σε τελικές συγκεντρώσεις 0.01, 0.05, 0.10, 0.50 και 1.00%, β) μυτομυκίνης C σε τελική συγκέντρωση 2.50 μg/ml και γ) μίγματος των δύο ουσιών στις παραπάνω συγκεντρώσεις. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της μεταλλαξιγόνου, ανασυνδυαστικής ή αντι-μεταλλαξιγόνου δράσης των υπό εξέταση συστατικών πραγματοποιείται με τη καταγραφή του αριθμού των κηλίδων διαφορετικού φαινότυπου στα φτερά των ενήλικων εντόμων. Η στατιστική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων έδειξε ότι το μαστιχέλαιο σε όλες τις συγκεντρώσεις, που ελέγχθηκαν, δεν αυξάνει τη συχνότητα των κηλίδων σε σχέση με το μάρτυρα, υποδεικνύοντας την απουσία μεταλλαξιγόνου ή/και ανασυνδυαστικής δράσης του. Στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις και πειραματικές συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν δεν παρατηρήθηκε αντι-μεταλλαξιγόνος δράση του μαστιχέλαιου έναντι της μιτομυκίνης-C.

GENOTOXIC AND ANTI-GENOTOXIC EFFECT OF CHIOS MASTIC OIL

Panagaki Dimitra[1], Gavriilidis Maxim[1], Batziou Krystallenia[1], Kalamara Paraskevi[1], Chartomatsidou Tatiana[1], Pandelidou Christina[1], Drosopoulou Eleni[1], Vlastos Dimitrios[2], Mavragani-Tsipidou Pinelopi[1]

1/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 54124, Thessaloniki - 2/Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Western Greece, 30100 Agrinio

Chios mastic gum is a resinous, fluid substance, which is collected from the schinos tree (Pistacia lentiscus var. Chia). Mastic oil is produced by distillation of natural gum. It is a pure natural product, containing a great variety of therapeutic and aromatic ingredients. In the present study, the genotoxic and /or anti-genotoxic activity of mastic oil was evaluated applying the SMART assay (Somatic Mutation And Recombination Test), a widely used method that determines not only the mutagenic and recombinogenic but also the anti-mutagenic activity of the compounds under investigation. Drosophila melanogaster, a model-organism for in vivo toxicology research, was used in this assay. Its genetic markers mwh and flr allow the detection of mutations and recombination in the wings of trans-heterozygous flies. In order to explore the genotoxic potential of mastic oil, Drosophila third instar larvae were treated with (i) mastic oil at final concentrations 0.01, 0.05, 0.10, 0.50 and 1.00%, (ii) the mutagenic factor mitomycin-C at final concentration 2.50 μg/ml and (iii) mixtures of the two substances at the above mentioned concentrations. The genotoxic, recombinogenic and anti-genotoxic activity of the assessed substances was estimated by recording the number of spots of mutant phenotype on the wing blade. Statistical analysis of the results showed that mastic oil at the concentrations applied did not increase the mutant spot frequency compared to the negative control series indicating the absence of its mutagenic and/or recombinogenic activity. No anti-genotoxic activity of mastic oil against mitomycin-C was observed.

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΟΞΕΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ ΣΕ ΜΥΔΙΑ *Mytilus galloprovincialis*

Πανέτας Ιωάννης[1], Κουτσογιαννάκη Σοφία[1], Γάλλιος Π. Γεώργιος[2], Καλογιάννη Μάρθα[1]
1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσ/νίκη 541 24- 2/Εργαστήριο Γενικής και Ανόργανης Χημικής Τεχνολογίας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσ/νίκη 541 24

Η αυξανόμενη χρήση νανοσωματιδίων σε καινοτόμες τεχνολογίες και ειδικότερα σε ιατρικές, βιομηχανικές και στρατιωτικές εφαρμογές, έχει εγείρει πολλά ερωτήματα σχετικά με τον πιθανό ρόλο τους στην υγεία και το περιβάλλον. Κατά την άποψη μας η εκτίμηση της τοξικότητας των νανοσωματίδιων οξειδίων του σιδήρου σε θαλάσσιους οργανισμούς δεν έχει μελετηθεί και χρήζει διερεύνησης. Επομένως, στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να εκτιμήσουμε την τοξικότητα των νανοσωματιδίων οξειδίων του σιδήρου σε παραμέτρους που σχετίζονται με το οξειδωτικό stress, στο μύδι Mytilus galloprovincialis. Το οξειδωτικό stress αποτελεί μια διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ παραγωγής και εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών, η οποία μπορεί να προκληθεί από την τοξική επίδραση ουσιών. Στη συγκεκριμένη μελέτη, τα μύδια εκτέθηκαν για 7 ημέρες σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων οξειδίων του σιδήρου. Στα απομονωμένα αιμοκύτταρα εκτιμήθηκε η συγκέντρωση δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και συγκεκριμένα του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H2O2), η υπεροξείδωση των μεμβρανικών λιπιδίων μέσω προσδιορισμού των επιπέδων της μαλονδιαλδεΰδης (MDA) καθώς και ο βαθμός βλάβης του γενετικού υλικού (DNA damage) μέσω του Comet assay. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις των νανοσωματιδίων οξειδίων του σιδήρου (10mg/L και 50mg/L) προκάλεσαν στατιστικά σημαντική αύξηση όλων των παραμέτρων που μελετήσαμε, την πρώτη και έβδομη ημέρα έκθεσης των ζώων. Συμπερασματικά, οι σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων οξειδίων του σιδήρου που χρησιμοποιήθηκαν προκάλεσαν διαταραχή της οξειδωτικής ισορροπίας του κυττάρου, όπως διαπιστώθηκε από τη στατιστικά σημαντική αύξηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών, της υπεροξείδωσης των λιπιδίων, καθώς και της βλάβης του DNA, σε σύγκριση με τα ζώα που δεν εκτέθηκαν στα νανοσωματίδια.

TOXICITY OF IRON OXIDES NANOPARTICLES IN Mytilus galloprovincialis

Panetas Ioannis[1], Koutsogiannaki Sophia[1], Gallios P. George[2], Kaloyianni Martha[1]
1/Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki - 2/Division of General and Inorganic Chemical Technology, School of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki (Box 116), 541 24 Thessaloniki

The excessive use of iron oxides nanoparticles in innovative technologies concerning medical, industrial and military applications has raised many questions about their potential role in health and environment. According to our opinion the estimation of iron oxides nanoparticles toxicity in marine organisms hasn't been studied yet, and deserves investigation. Thus, the aim of the present study was to evaluate the toxicity of iron oxides nanoparticles in parameters related to oxidative stress in the mussel Mytilus galloprovincialis. Toxic effectors potentially induce oxidative stress, which represents an imbalance between production and neutralization of reactive oxygen species. In the present study the mussels were exposed to different concentrations of iron oxides nanoparticles for 1, 3 and 7 days. Isolated hemocytes of Mytilus galloprovincialis were used in order to estimate the concentration of reactive oxygen species (ROS) and specifically of hydrogen peroxide (H2O2), the degree of lipid peroxidation as measured by estimating malondialdehyde (MDA) content, and the evaluation of DNA damage by the comet assay. Our results showed that concentrations of 10mg/L and 50 mg /L iron oxides nanoparticles caused statistically significant increase of all the parameters studied, the 1st and 7th day of exposure. Consequently, the relatively low concentrations of nanoparticles used, caused perturbation of the oxidative balance in Mytilus galloprovincialis hemocytes, as measured by the statistically significant increase in hydrogen peroxide production, in lipid peroxidation as well as in the degree of DNA-damage, in comparison to the mussels that were not exposed to iron oxides nanoparticles.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΣΤΕΡΗΣΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ ΤΗΣ TAU ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ

Πανοπούλου Μυρτώ, Παππά Ελπινίκη, Μαυροειδή Παναγιώτα, Ευθυμιόπουλος Σπύρος
Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια

Η νόσος Alzheimer είναι πιο κοινή μορφή άνοιας και χαρακτηρίζεται από προοδευτική απώλεια μνήμης και έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών. Νευροπαθολογικά χαρακτηρίζεται από την παρουσία νευριτικών πλακών, που αποτελούνται από εναποθέσεις πεπτιδίων β-αμυλοειδούς (Αβ), και ενδοκυτταρικών νευροϊνιδιακών δεματίων (NFTs), αποτελούμενα κυρίως από υπερφωσφορυλιωμένη tau πρωτεΐνη. Η tau ανήκει στην οικογένεια των MAPs (Microtubule-Associated Proteins) και υπό φυσιολογικές συνθήκες συμβάλλει στον πολυμερισμό και τη σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων. Η μείωση της συγγένειάς της με αυτούς λόγω της παθολογικής υπερφωσφορυλίωσης, οδηγεί σε συσσώρευσή της στους άξονες των νευρώνων και, κατ' επέκταση, στη διαταραχή της μορφολογίας και της φυσιολογίας τους. Σε ποσοστό 95% οι περιπτώσεις εμφάνισης Alzheimer θεωρούνται σποραδικές. Ένας από τους παράγοντες που συνεισφέρουν στην ανάπτυξη σποραδικής μορφής της νόσου είναι η μειωμένη παροχή αίματος στον εγκέφαλο, και κατά συνέπεια της γλυκόζης και του οξυγόνου. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι στα αρχικά στάδια της νόσου, αναστέλλονται οι βιοσυνθετικές διεργασίες του κυττάρου και μειώνονται τα επίπεδα του ενεργειακού μεταβολισμού ως προστατευτικός μηχανισμός των νευρώνων έναντι στην περιορισμένη παροχή θρεπτικών στοιχείων και οξυγόνου στο μικροπεριβάλλον τους. Στη συγκεκριμένη μελέτη ερευνήσαμε την επίδραση της στέρησης γλυκόζης και οξυγόνου στην φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης tau σε συγκεκριμένα αμινοξικά κατάλοιπα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, μειώνονται τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης σε συγκεκριμένα αμινοξικά κατάλοιπα, ως αποτέλεσμα των μειωμένων ενεργειακών αποθεμάτων των κυττάρων. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση ότι σε πρωταρχικό στάδιο της νόσου μειώνεται ο μεταβολισμός των νευρώνων ως αποτέλεσμα των μειωμένων ενεργειακών αποθεμάτων τους λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητας οξυγόνου και γλυκόζης. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ).

STUDY OF THE EFFECT OF GLUCOSE AND OXYGEN DEPRIVATION ON TAU PHOSPHORYLATION

Panopoulou Myrto, Pappa Elpiniki, Mavroeidi Panagiota, Efthimiopoulos Spiros
Department of Biology, Division of Human and Animal Physiology, University of Athens, Panepistimiopolis, Ilisia

Alzheimer's Disease (AD) is nowadays the most common form of dementia and is characterized by progressive loss of memory, which finally leads to elimination of human cognitive functions. The neuropathology of the disease is characterized by the presence of extracellular amyloid plaques that consist of amyloid β peptides (Aβ) and intracellular neurofibrillary tangles (NFTs) consisting mainly of hyper-phosphorylated tau protein. Tau is a member of the MAP (Microtubule-Associated Proteins) family, which under physiological conditions promotes the polymerization and stabilization of microtubules. Reduction of tau's affinity for the microtubules, due to its pathological hyper-phosphorylation, results in accumulation of the protein in the axons and disruption of the neurons' normal morphology and physiology. Among the various factors involved in the development of sporadic AD forms, which represent about 95% of AD cases, is cerebral blood hypoperfusion. The delivery of nutrients, such as glucose, and oxygen supply is thus reduced. Recent studies suggest that, at the early stage of the disease, occurs down-regulation of biosynthesis and energy metabolism, as a protective response to the reduced levels of nutrients and oxygen. On the current study, we investigated the effect of glucose and oxygen deprivation on tau phosphorylation at specific sites. Our results show low levels of phosphorylated tau protein, probably due to low energy supplies of the cells, thus supporting the hypothesis that, at the early stage of AD, the energy metabolism of the neurons is limited as a survival strategy against the glucose and oxygen deprivation. This research has been co-financed by the European Union and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF).

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ Akt ΣΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΥΡΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κυριακή Παπαγεωργίου [1,2], Θεολόγος Μιχαηλίδης[1,2]

1 Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα. 2 Ίδρυμα Τεχνολογίας & Έρευνας – Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιοϊατρικών Ερευνών, Πανεπιστημιούπολη, 45110 Ιωάννινα.

Η πρωτεΐνη Akt είναι μια κινάση σερίνης/θρεονίνης η οποία ενεργοποιείται παρουσία αυξητικών παραγόντων, όπως είναι η ινσουλίνη, και αποτελεί μέρος σηματοδοτικών μονοπατιών τα οποία ρυθμίζουν βασικές λειτουργίες της κυτταρικής ανάπτυξης όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση. Ένας απ' τους κύριους μηχανισμούς με τους οποίους η Akt προάγει τις παραπάνω λειτουργίες είναι η αναστολή της κινάσης GSK3 και η ενεργοποίηση του συμπλόκου mTORC1. Βασική προϋπόθεση για την ενεργοποίηση της κινάσης Akt είναι η φωσφορυλίωση της στη θέση Thr308 από την PDK1 καθώς και στη θέση Ser473 από το σύμπλοκο mTORC2. Στόχος μας είναι η μελέτη της επίδρασης του μονοπατιού Akt/mTOR στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση της νευροβλαστωματικής κυτταρικής σειράς Neuro2A. Η συγκεκριμένη μελέτη περιελάμβανε την φαρμακολογική αναστολή των μονοπατιών Akt και mTOR και παρακολούθηση των μεταβολών στη μορφολογία και στην έκφραση πρωτεϊνών-στόχων. Μέσω ανάλυσης FACS διαπιστώσαμε ότι οι παραπάνω παράγοντες προκαλούν αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G0/G1. Παρατηρήσαμε επίσης ότι η φωσφορυλίωσεις της κινάσης Akt στα κατάλοιπα Thr308 και Ser473 μεταβάλλονται με διαφορετικό τρόπο κατά την αναστολή, αλλά και κατά την ενεργοποίηση του κυτταρικού κύκλου μετά την απομάκρυνση των αναστολέων. Η παρούσα μελέτη θα μπορούσε να συνεισφέρει στην εύρεση μορίων-στόχων των μονοπατιών Akt – mTOR, η έκφραση των οποίων ενδέχεται να σχετίζεται άμεσα με την έναρξη και την εξέλιξη του νευροβλαστώματος. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος 'Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση' του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

THE Akt SIGNALING PATHWAY ON NEYROBLASTOME CELL PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION

Papageorgiou K[1,2], Michaelidis T.M.[1,2]

1Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, 45110 Ioannina.
2 Foundation for Research and Technology-Hellas, Institute of Molecular Biology & Biotechnology, Department of Biomedical Research, Ioannina.

The serine/threonine kinase Akt is stimulated by a variety of growth factors (e.g. insulin) and is a central node of signaling pathways which coordinate critical functions of cell growth such as proliferation and differentiation. Among the major mechanisms through which Akt regulates these processes appear to be the inhibition of GSK3 kinase and the activation of mTORC1 pathway. Akt becomes activated as a result of phosphorylation on Thr308 from PDK1 and Ser473 from mTORC2. Our purpose is to study the effect of Akt/mTOR signaling on proliferation and differentiation of neuroblastoma cell lines. Using selective pharmacological inhibitors of the Akt and mTOR pathways we monitored differences in cell morphology and expression of key target proteins. Inhibition of either pathway resulted in cell cycle arrest at G0/G1 phase. Our results revealed a differential mode of regulation of phosphorylation of the Thr308 and Ser473 residues. Our data may provide new insights for the identification of target molecules that are modulated early after the activation of the Akt – mTOR signaling pathways, and might be linked to the onset and progression of neuroblastoma. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program ‘Education and Lifelong Learning’of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund.

ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΜΕΣΟΛΙΘΙΚΗΣ-ΝΕΟΛΙΘΙΚΗΣ ΜΕΤΑΒΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Παπαγεωργοπούλου Χριστίνα
Τμήμα Ιστορίας και Εθνολογίας, Εργαστήριο Ανθρωπολογίας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Παναγή Τσαλδάρη 1, 69100 Κομοτηνή

Το αρχαίο DNA και γενικά η παλαιογενετική, έχουν δώσει τα τελευταία χρόνια μια νέα ώθηση σε ένα ευρύ φάσμα επιστημονικών τομέων, τόσο των φυσικών όσο και των ανθρωπιστικών επιστημών. Η δυνατότητα αξιόπιστης ανάλυσης γενετικού υλικού απευθείας από σκελετούς αρχαιολογικής προέλευσης μας δίνει σήμερα τη δυνατότητα να εξετάσουμε με άμεσο τρόπο τη δημογραφική και βιολογική ιστορία ενός πληθυσμού. Διαχρονικά ερωτήματα επανέρχονται στο προσκήνιο υπό το πρίσμα των νέων τεχνολογιών. Η «Νεολιθική δημογραφική μετάβαση» η μετάβαση δηλ. από τους κυνηγούς-τροφοσυλλέκτες στη μόνιμη εγκατάσταση και στην εμφάνιση της γεωργίας, με όλες τις δημογραφικές και εξελικτικές συνέπειες που την ακολούθησαν, είναι ένα από αυτά τα ερωτήματα. Αν και σχετικά με αυτό το θέμα έχει συντελεστεί τα τελευταία χρόνια, με τη βοήθεια της παλαιογενετικής, μεγάλη πρόοδος, περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη. Η Ελλάδα αποτελεί κλειδί για την κατανόηση της Μεσο-Νεολιθικής μετάβασης στην Ευρώπη. Η παρούσα εργασία ανακατασκευάζει τη δομή και τη δημογραφία των Μεσολιθικών και των Νεολιθικών πληθυσμών στην Ελλάδα, με τη χρήση κλασικών και νέων (next generation sequencing -NGS) βιομοριακών μεθόδων και μεθόδων πληθυσμιακής γενετικής. Σκελετικά δείγματα από ελληνικές Μεσολιθικές και Νεολιθικές θέσεις έχουν αναλυθεί για τον προσδιορισμό (1) της γενετικής συμβολής των τοπικών Μεσολιθικών κυνηγών-τροφοσυλλεκτών στις πρώτες αγροτικές κοινωνίες, (2) την επίδραση των πληθυσμών από τη Μέση και τη Δυτική Ανατολία στους ελληνικούς Νεολιθικούς πληθυσμούς και (3) τη σχέση των ελληνικών πληθυσμών με άλλους Νεολιθικούς πληθυσμούς της Ευρώπης. Θα παρουσιαστούν επίσης στρατηγικές για την καλύτερη διατήρηση, συντήρηση και ορθή δειγματοληψία, πρωτόκολλα mtDNA capture enrichment ειδικά για κακώς διατηρημένο DNA καθώς και τα ποσοστά επιτυχίας εξαγωγής DNA από σκελετικό υλικό του ελλαδικού χώρου.

POPULATION GENETICS OF THE MESOLITHIC-NEOLITHIC TRANSITION IN GREECE

Papageorgopoulou Ch.
Laboratory of Anthropology, Department of History and Ethnology, Demokritus University of Thrace, P. Tsaldari 1, 69100-Komotini, Greece

Ancient DNA and palaeogenetics, have given the last years a novel shove on a wide field of scientific fields, including both the natural sciences and the humanities. The possibility of a reliable genetic analysis directly from archaeological skeletal material, gives us the opportunity to examine the demographic and biological history of a population. Under this aspect long-standing questions under the light of new technological advances have come to the forefront. The "Neolithic demographic transition" the shift from a hunting-gathering subsistence to agriculture and permanent settlement, and its demographic and evolutionary consequences, is one of these questions. A lot of progress has been made on this issue for certain parts of Europe; however, significant research is still needed. Greece is one of the key areas to the understanding of the Meso-Neolithic transition in Europe. The present paper will reconstruct the structure and demography of Mesolithic and Neolithic human populations in Greece using next generation mitochondrial DNA sequencing and population genetic analysis. Human skeletal samples from Greek Mesolithic and Neolithic sites have been investigated to determine (1) the genetic input of the local Mesolithic hunter-gatherers to the first farming societies, (2) the influence of populations from Middle and Western Anatolia on Greek Neolithic populations and (3) the relation of Greek populations to other early Neolithic populations of Europe. Ancient mtDNA capture and enrichment protocols have been established for highly degraded archaeological material and new standards using next generation sequencing methodologies will be presented. Preservation and sampling strategies as well as success rate for the Greek material will be also addressed.

ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΚΥΑΝΟΤΟΞΙΝΗΣ ΚΥΛΙΝΔΡΟΣΠΕΡΜΟΣΙΝΗΣ (CYN) ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΚΑΡΛΑ (ΘΕΣΣΑΛΙΑ)

Παπαδημητρίου Θεοδότη[1], Ιφιγένεια Κάγκαλου[2]
1Φορέας Διαχείρισης Περιοχής Οικοανάπτυξης Κάρλας-Μαυροβουνίου-Κεφαλόβρυσου-Βελεστίνου, Στεφανοβίκειο Μαγνησίας, Ελλάδα.

Οι αθροίσεις κυανοβακτηρίων θεωρείται πλέον ένα ευρέως διαδεδομένο πρόβλημα και απειλή για τα υδάτινα οικοσυστήματα αλλά ταυτόχρονα συνιστά και ένα σοβαρό θέμα δημόσιας υγείας εφ'όσον ενοχοποιούνται για την παραγωγή των κυανοτοξινών. Από τις πλέον γνωστές κυανοτοξίνες θεωρούνται οι μικροκυστίνες και οι κυλινδροσπερμοσίνες (CYN) λειτουργώντας κυρίως ως ηπατοτοξίνες ενώ έχει τεκμηριωθεί ο ρόλος τους ως αναστολείς της πρωτεϊνικής σύνθεσης, ως μεταλλαξιογόνες ουσίες κ.λ.π. Συγκεκριμένα η CYN απομονώθηκε εξ'αρχής από το είδος Cylindrospermopsis raciborski αλλά επίσης παρέγεται και από τα κυανοβακτήρια Anabaena, Aphanizomenon, Raphidiopsis, και Lyngbya. Η παρουσία των CYN εντοπίστηκε πρώτα σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές ενώ σήμερα είναι γνωστό ότι έχει ταυτοποιηθεί και σε πολλά υδάτινα σώματα εύκρατων περιοχών, ενώ συνδέεται άμεσα με την αύξηση της συχνότητας και παραμονής των κυανοβακτηριακών αθροίσεων εξ'αιτίας της κλιματικής αλλαγής. Η νέα λίμνη Κάρλα θεωρείται ένα υδάτινο σώμα με κακή οικολογική ποιότητα δεχόμενο πλήθος ανθρωπογενών παρεμβάσεων. Έχει δημοσιευθεί η παρουσία εν δυνάμει τοξικών κυανοβακτηρίων, καθώς επίσης και η ανίχνευση μικροκυστινών στο νερό και σε ιστούς ψαριών. Στην παρούσα μελέτη, μελετάται η παρουσία CYN για πρώτη φορά στην Ελλάδα. Πραγματοποιήθηκαν μηνιαίες δειγματοληψίες για χρονική περίοδο ενός έτους. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωση των κυλινδροσπερμοψινών στα δείγματα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της ELISA. Από τα αποτελέσματα προκύπτει η διαρκής παρουσία CYN υποδεικνύοντας έναν σοβαρό παράγοντα κινδύνου. Συγκρίνοντας τις ευρισκόμενες συγκεντρώσεις με τα όρια που έχουν θεσπιστεί για το πόσιμο νερό από Χώρες όπως η Αυστραλία και η Αμερική προκύπτει ότι υπερβαίνουν τα προτεινόμενα όρια. Αξιολογώντας επίσης τα αποτελέσματα με βάση την προτεινόμενη συγκέντρωση «στην οποία δεν παρατηρείται μεταβολή» μετά από κατάποση, προκύπτει και πάλι υπέρβαση του ορίου. Τέλος συζητούνται οι σχέσεις άλλων αβιοτικών παραμέτρων με την δυναμική των CYN.

OCCURRENCE OF CYLINDROSPERMOPSIN (CYN) IN WATER SAMPLES FROM THE RE-CONSTRUCTED LAKE KARLA (THESSALY-GREECE)

Th. Papadimitriou[1], I. Kagalou[2]
Management Body of Ecodevelopment Area of Karla, Mavrovouni, Kefalovriso, Velestino, Greece.

Blooms of cyanobacteria occur worldwide in freshwater posing a health risk for humans and the environment since they are associated with the production of cyanotoxins. Known toxins include microcystins and cylindrospermosins acting as hepatotoxins provoking also protein synthesis and genotoxicity. Cylindrospermosin (CYN) was first isolated and identified in a cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborski but it has been also found in other genera of cyanobacteria. It was believed that CYN was only occurred in tropical and subtropical freshwater but, nowadays, CYN is a widely distributed contaminant of freshwater while the potential raising of cyanobacterial blooms due to the climate change indicates that the exposure to this toxin will probably increase in the future. This is the first report about the occurrence of CYN in a Greek freshwater body. Lake Karla is a newly re-constructed lake and it has already been affected by both agricultural and industrial land uses. Furthermore, extensive blooms were recorded in Lake Karla, dominated by toxin producing species. In the present study, we evaluated, using enzyme-linked immunoassay (ELISA), levels of CYN in lake water during a period of 12 months. The presence of CYN throughout the monitoring period in lake water demonstrates the potential risks of toxicity all year around and for the whole lake. Up till now there are no officially established guideline toxicity levels for CYN. Comparing with those reported from Australia, N.Zealand and Washington State, the founded concentrations in lake Karla exceed the suggested limits for safe drinking water consumption. Lake Karlas' values also exceed the experimental suggested 'No observed adverse effect level' (NOAEL) value posed for oral uptake. In the present study we also examine the effect of other related water variables on CYN dynamics.

ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΛΙΜΝΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ 16S rRNA

Παπαδημητρίου Σοφία, Γκέλης Σπύρος
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124, Θεσσαλονίκη

Τα κυανοβακτήρια αποτελούν μία από τις κύριες ομάδες οργανισμών που συνιστούν το φυτοπλαγκτό των εσωτερικών υδάτων και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στο σχηματισμό πληθυσμιακών εκρήξεων, με επιπτώσεις στα υδάτινα οικοσύστηματα και την ανθρώπινη υγεία. Οι φυλογενετικές σχέσεις των κυανοβακτηρίων του Ελλαδικού χώρου δεν είναι ιδιαίτερα γνωστές και μόνο τρία στελέχη του γένους Limnothrix έχουν χαρακτηριστεί γενετικά. Το γονίδιο 16S rRNA αποτελεί ένα ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο στην προσπάθεια μιας πολυφασικής προσέγγισης της ταξινόμησης των κυανοβακτηρίων, συμβάλλοντας στην περαιτέρω διερεύνηση της βιοποικιλότητάς τους και στην αποτελεσματικότερη οικολογική τους διαχείριση, καθώς έχει βρεθεί πως πολλά είδη κυανοβακτηρίων είναι τοξικά. Στην έρευνα αυτή χρησιμοποιήθηκαν στελέχη κυανοβακτηρίων από τις τάξεις Chroococcales, Oscillatoriales και Nostocales, τα οποία απομονώθηκαν από λίμνες της Ελλάδας (Αμβρακία, Βόλβη, Δοϊράνη, Κερκίνη, Μικρή Πρέσπα, Παμβώτιδα, Παραλίμνη, Πικρολίμνη και Χειμαδίτιδα) και είχαν ήδη ταξινομηθεί μορφολογικά, τουλάχιστον μέχρι το επίπεδο της οικογένειας. Απομονώθηκε ολικό γενωμικό DNA από ζωντανά κύτταρα καλλιεργειών και ενισχύθηκε η περιοχή του γονιδίου 16S rRNA με τη μέθοδο Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR). Ακολούθησε η αλληλούχιση του γονιδίου, σύγκριση των αλληλουχιών των στελεχών με τις κατατεθειμένες αλληλουχίες στις δημόσιες βάσεις δεδομένων (BLASTn) και φυλογενετική ανάλυση με την κατασκευή φυλογενετικών δέντρων χρησιμοποιώντας τις μεθόδους Ένωσης Γειτόνων (NJ) και Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML). Η φυλογενετική ανάλυση με τη χρήση του γονιδίου 16S rRNA επιβεβαίωσε τη γενετική ποικιλομορφία στα στελέχη Anabaena, Limnothrix, Jaaginema, Pseudanabaena και Microcystis. Παρατηρήθηκε, μάλιστα, διαφορά της μοριακής έναντι της μορφολογικής ταξινόμησης στο επίπεδο του είδους για τα στελέχη του γένους Microcystis, ενώ τα δεδομένα μας έδειξαν πως χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση και, ενδεχομένως, επαναπροσδιορισμός των ταξινομικών σχέσεων ανάμεσα στα γένη Limnothrix – Jaaginema και Pseudanabaena – Leptolyngbya με τη συμβολή περισσότερων δεδομένων.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF CYANOBACTERIAL STRAINS FROM LAKES OF GREECE USING 16S rRNA GENE

Papadimitriou Sofia, Gkelis Spyros
Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124, Thessaloniki, Greece

Cyanobacteria are one of the basic freshwater phytoplankton components and play a critical role in the formation of blooms with implications on aquatic ecosystems as well as human health. Little is known about the phylogenetic relationships of cyanobacteria in Greece, where so far only three strains of the genus Limnothix have been characterized. 16S rRNA gene is an essential tool in the cyanobacteria polyphasic approach classification, contributing to the further examination of their biodiversity and to a more effective ecological management, as many species of cyanobacteria are toxic. In this project, we used cyanobacteria strains classified to Chroococcales, Oscillatoriales and Nostocales, isolated from lakes of Greece (Amvrakia, Volvi, Doirani, Kerkini, Mikri Prespa, Pamvotida, Paralimni, Pikrolimni and Cheimaditida) and previously morphologically identified, at least down to the family level. We isolated the whole genomic DNA from living cells and amplified the 16S rRNA gene (about 1600 bp) using Polymerase Chain Reaction (PCR). We sequenced the 16S rRNA gene, compared the sequences of all strains with those deposited in public databases (BLASTn) and performed phylogenetic analysis by the construction of phylogenetic trees using the Neighbor Joining (NJ) and Maximun Likelihood (ML) methods. The phylogenetic analysis using the 16S rRNA gene confirmed the existence of genetic diversity in Anabaena, Limnothrix, Jaaginema, Pseudanabaena, and Microcystis strains. Specifically, differences were noticed at the species level between molecular and morphological classification of the genus Microcystis, while our data suggest further examination and, possibly, a redefinition of taxonomic relationships among the genera Limnothrix – Jaaginema and Pseudanabaena – Leptolyngbya with the contribution of more data.

ΗΧΟΒΟΛΙΣΤΙΚΗ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΓΛΥΦΟΥ ΤΟΥ ΠΥΘΜΕΝΑ ΚΑΙ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΛΙΜΝΟΘΑΛΑΣΣΑΣ ΓΙΑΛΟΒΑΣ, Ν. ΜΕΣΣΗΝΙΑΣ

Μαρία Παπακωνσταντίνου[1], Γεώργιος Παπαθεοδώρου[2], Εύα Παπαστεργιάδου[1]
1/Τομέας Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα 2/ Εργαστήριο Θαλάσσιας Γεωλογίας και Φυσικής Ωκεανογραφίας, Τμήμα Γεωλογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Οι λιμνοθάλασσες αποτελούν υψηλής οικολογικής αξίας οικοσυστήματα της παράκτιας ζώνης και αποτελούν οικότοπους προτεραιότητας της Οδηγίας 92/43/ΕΚ. Η λιμνοθάλασσα της Γιάλοβας βρίσκεται ΒΔ της Πύλου (Ν. Μεσσηνίας) και περιλαμβάνεται στο Οικολογικό Δίκτυο «Φύση 2000». Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η διερεύνηση της οικολογικής κατάστασης της λιμνοθάλασσας μέσω της ηχοβολιστικής αποτύπωσης του αναγλύφου του πυθμένα, της παρακολούθησης αβιοτικών και βιοτικών παραμέτρων και η δημιουργία θεματικού χάρτη των καλύψεων/ χρήσεων γης της ευρύτερης περιοχής του Δικτύου «Φύση 2000» με χρήση Γεωγραφικών Συστημάτων Πληροφοριών (ΓΣΠ). Στα πλαίσια της έρευνας πεδίου, πραγματοποιήθηκαν δύο δειγματοληψίες, κατά την ξηρή (Αύγουστος 2012) και υγρή περίοδο (Απρίλιος 2013). Η ηχοβολιστική αποτύπωση του πυθμένα, έγινε με τη χρήση ηχοβολιστή πλευρικής σάρωσης (Side Scan Sonar). Προέκυψαν 6 διαφορετικοί ακουστικοί τύποι που αντιστοιχούν σε διαφορετικό ποσοστό φυτοκάλυψης (πυκνή, λιγότερο πυκνή, αραιή, πολύ αραιή, σπάνια και καθόλου). Παράλληλα, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού και συλλέχθηκαν δείγματα υδρόβιας χλωρίδας από 9 διαφορετικούς σταθμούς, από τα οποία αναγνωρίστηκαν τα κυρίαρχα είδη Ruppia cirrhosa, Cymodocea nodosa και Cladophora glomerata. Με χρήση των Γεωγραφικών Συστημάτων Πληροφοριών (ΓΣΠ) και με υπόβαθρο ένα μωσαϊκό ορθοφωτοχαρτών, καταγράφηκαν οι καλύψεις/ χρήσεις γης του συστήματος ταξινόμησης Corine Landcover στα όρια του Δικτύου «Φύση 2000». Από την ταξινόμηση που πραγματοποιήθηκε προέκυψε ένα μωσαϊκό φυσικών, ημιφυσικών και μη φυσικών οικοσυστημάτων που συνθέτουν συνολικά την περιοχή έρευνας.

SIDE SCAN SONAR BOTTOM RELIEF INTERPRETATION AND ECOLOGICAL EVALUATION OF GIALOVA LAGOON, MESSINIA, GREECE

Maria Papakonstantinou[1], George Papatheodorou[2], Eva Papastergiadou[1]
1/Section of Plant Biology, Department of Biology, University of Patras, 26 500, Patras 2/ Laboratory of Marine Geology and Physical Oceanography, Department of Geology, University of Patras, 26500, Patras

Coastal lagoons are important aquatic ecosystems with high ecological value. According to the Directive 92/43/EE, they have been defined as a priority habitat type. Gialova lagoon is located in the north-west of Pylos city (Prefecture of Messinia) and is part of the Ecological Network "Natura 2000". The aim of the current research is the assessment of the ecological quality of the lagoon using side scan sonar technique, the monitoring of abiotic and biotic parameters and LCLU mapping, through GIS, according to the boundaries of the "Natura 2000" network. In the framework of the field research, two sampling campaigns were carried out in August 2012 and in April 2013, during the dry and wet period, respectively. Side scan sonar imagery resulted in 6 different acoustic types which correspond to different percentage of plant cover (thick, less than thick, sparse, too sparse, rare, and absent). Samplings of physicochemical parameters and aquatic vegetation were carried out from 9 different sampling stations. Macrophytes Ruppia cirrhosa, Cymodocea nodosa and Cladophora glomerata were recorded in the lagoon. Additionally, LCLU were estimated with the help of ortho-corrected aerial photographs using Corine Landcover 2000 classification system and the mosaic of natural, semi-natural and non-natural ecosystems was presented.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ΣΕ ΘΕΣΕΙΣ ΕΞΟΡΥΞΗΣ ΛΙΓΝΙΤΗ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΠΤΟΛΕΜΑΪΔΑΣ

Πασχαλίδου Αναστασία, Δροσοπούλου Ελένη, Μαυραγάνη-Τσιπίδου Πηνελόπη, Παπαθεοδώρου Μ. Ευφημία, Στάμου Π. Γεώργιος, Σκούρας Γ. Ζαχαρίας

1/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 54124, Θεσσαλονίκη - 2/Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 54124, Θεσσαλονίκη

Οι μικροοργανισμοί του εδάφους αποτελούν σημαντικούς βιοδείκτες της γονιμότητάς του, αλλά και της οικολογικής διαταραχής που υφίσταται από ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διερεύνηση της μικροβιακής δραστηριότητας και ποικιλότητας του εδάφους σε περιοχές εξόρυξης πετρωμάτων και μεταλλευμάτων, καθώς βρίσκει εφαρμογή στο σχεδιασμό αποκατάστασης των περιοχών αυτών. Οι σύγχρονες μεταγονιδιωματικές προσεγγίσεις ξεπερνούν το πρόβλημα της αδυναμίας καλλιέργειας της συντριπτικής πλειοψηφίας των μικροοργανισμών των περιβαλλοντικών δειγμάτων και μπορούν να προσφέρουν σημαντικές πληροφορίες για τις εδαφικές μικροβιακές κοινότητες. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η μικροβιακή ποικιλότητα του εδάφους σε θέσεις εξόρυξης λιγνίτη στην περιοχή της Πτολεμαΐδας. Πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία επιφανειακού εδάφους (βάθος 10 cm) σε δύο θέσεις, οι οποίες καλύφθηκαν με χώμα και αδρανή υλικά από την εξόρυξη και παραχωρήθηκαν για καλλιέργεια σιτηρών. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε σε εδάφη που καλλιεργήθηκαν για πρώτη (δείγμα 0) και για πέμπτη χρονιά (δείγμα 5). Από τα δείγματα απομονώθηκε ολικό DNA, ενισχύθηκαν τμήματα των βακτηριακών 16S rRNA γονιδίων με τη χρήση παγκόσμιων εκκινητών (27F, 1391R) και κατασκευάστηκαν βιβλιοθήκες. Αναλύθηκαν 49 κλώνοι από τη βιβλιοθήκη του δείγματος 0 και 48 από αυτή του δείγματος 5 και αναγνωρίστηκαν 39 ταξινομικές μονάδες (OTUs) σε κάθε μία. Τα δεδομένα δείχνουν, ότι παρά τη διατάραξη του εδάφους που συνοδεύει την εξόρυξη, το χώμα του δείγματος 0 δεν είναι νεκρό από μικροοργανισμούς. Ωστόσο, φαίνεται πως η ποικιλότητα των βακτηρίων είναι μεγαλύτερη στο δείγμα των 5 ετών, καθώς σε αυτό αντιπροσωπεύονται περισσότερα βακτηριακά φύλα.

SOIL MICROBIAL DIVERSITY IN LIGNITE POST MINING SITES IN PTOLEMAIDA (GREECE)

Paschalidou Anastasia[1], Drosopoulou Elena[1], Mavragani-Tsipidou Penelope[1], Papatheodorou M. Efimia[2], Stamou P. George[2], Scouras G. Zacharias[1]

1/Dept. of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, AUTH, 54124, Thessaloniki - 2/Dept. of Ecology, School of Biology, Faculty of Sciences, AUTH, 54124, Thessaloniki

Soil microorganisms are considered to be important biomarkers of soil fertility, as well as of the ecological disturbance caused by human activities. Research on the microbial activity and diversity at post mining sites attracts particular interest and is expected to contribute to successful reclamation management. Metagenomic approaches allow researchers to study microbial communities from environmental samples without the need for cultivation providing important information. The present study focuses on the soil microbial diversity at post mining sites in the lignite mining region of Ptolemaida. Soil samples (10 cm deep) were collected from two sites covered by mining material (soil and mine spoil) and cultivated for the first year (sample 0) and for five years (sample 5). Total DNA was extracted from the samples, fragments of the bacterial 16S rRNA genes were amplified using universal primers (27F, 1391R) and two 16S rDNA libraries were constructed. Through the analysis of 49 and 48 clones, from the library of sample 0 and sample 5 respectively, 39 operational taxonomic units were identified in each one. Analysis showed that, despite the soil disturbance, both samples contain a variety of bacterial species from different phyla. However, more phyla are represented in the soil that has been cultivated for 5 years suggesting a higher bacterial diversity.

Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ OCT-4 ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΤΡΑΧΗΛΟ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΜΕ HPV ΛΟΙΜΩΞΗ ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ

Πάττα Τζέσικα, Στεφανίδης Κωνσταντίνος, Ντυνοπούλου Βασιλική, Λουτράδης Δημήτρης

Εργαστήριο Αναπαραγωγικής Βιολογίας και Αναγεννητικής Ιατρικής, Α' Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική Γ.Ν.Α

Τις τελευταίες δεκαετίες η επιστημονική κοινότητα έχει επικεντρώσει το ενδιαφέρον της στα ανθρώπινα βλαστικά κύτταρα. Ένα γονίδιο που χρησιμοποιείται ευρέως για την ταυτοποίηση των βλαστικών κυττάρων είναι το γονίδιο Oct-4 το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη με δράση μεταγραφικού παράγοντα. Ο παράγοντας αυτός σε συνεργασία με τους παράγοντες Sox2 και Nanog ενεργοποιεί συγκεκριμένα μονοπάτια σηματοδότησης με στόχο τη διατήρηση της πολυδυναμικότητας και της ικανότητας για αυτοανανέωση των εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων και γι αυτό το λόγο το γονίδιο Oct-4 χαρακτηρίζεται ως δείκτης πολυδυναμικότητας. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να προσδιορίσουμε την έκφραση του γονιδίου Oct-4 σε κύτταρα του τραχήλου μήτρας από φυσιολογικές γυναίκες, γυναίκες με HPV λοίμωξη και γυναίκες με καρκίνο του τραχήλου μήτρας. Κύτταρα του τραχήλου μήτρας καλλιεργήθηκαν σε κατάλληλες συνθήκες και έπειτα απομονώθηκε από αυτά το γενετικό υλικό, ώστε να ανιχνευτούν ποσοτικά τα επίπεδα του m-RNA του γονιδίου Oct-4 με τη βοήθεια της Real-time RT-PCR. Τα αποτελέσματα έδειξαν έκφραση του γονιδίου Oct-4 στα κύτταρα τραχήλου των φυσιολογικών γυναικών, επιδεικνύοντας έτσι πως κάποια κύτταρα του συνολικού πληθυσμού εμφανίζουν χαρακτηριστικά βλαστικών κυττάρων. Στις γυναίκες που είχαν μολυνθεί από κάποιο τύπο HPV παρατηρήθηκε υπερέκφραση του γονιδίου Oct-4 σε σχέση με τις φυσιολογικές γυναίκες, γεγονός που δηλώνει ότι ο HPV ιός μπορεί να οδηγεί στην υπερέκφραση του με στόχο το «μπλοκάρισμα» της διαφοροποίησης των βλαστικών κυττάρων του τραχήλου. Η έκφραση του Oct-4 παραμένει αρκετά υψηλή και στις γυναίκες με καρκίνο του τραχήλου μήτρας, υποδηλώνοντας πως τα καρκινικά κύτταρα πιθανόν να χρησιμοποιούν τα βασικά χαρακτηριστικά των βλαστικών κυττάρων. Συμπερασματικά μπορούμε να υποθέσουμε την προέλευση του καρκίνου του τραχήλου μήτρας από βλαστικά κύτταρα που υπάρχουν φυσιολογικά στον ιστό και μέσω της δράσης του ιού HPV αποκλίνουν ταχύτερα και περισσότερο από τη φυσιολογική ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου.

THE EXPRESSION OF THE GENE OCT-4 IN CELLS, WHICH WERE ISOLATED FROM THE CERVIX OF WOMEN WITH HPV INFECTION IN COMPARISON TO NORMAL WOMEN

Patta Jessica,, Stefanidhs Konstantinos,, Dinopoulou Vasiliki,, Loutradis Dimitris
Lab of Reproductive Biology and Regenerative Medicine, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital

The last decades, the scientific community has focused its interest in the human stem cells. One gene that is common used for the identification of stem cells is the gene Oct-4, which codes a transcription factor protein. This factor in cooperation with the factors Sox2 and Nanog activate specific signaling pathways in order to maintain the pluripotentiality and the ability of self-renewal of the stem cells and that's why Oct-4 is characterized as a marker of pluripotency. The aim of this study was to identify the expression of gene 0ct-4 in cervical cells from normal women, women with HPV infection and women with cervical cancer. Cervical cells were cultured under appropriate conditions and afterwards we isolated the genetic material so that we could detect quantitatively the levels of Oct-4 m-RNA with the help of real-time RT-PCR. The results showed expression of the gene Oct-4 in the cervical cells of normal women, demonstrating that some cells from the total population have stem cells characteristics. In the women, who had been infected from some type of HPV, overexpression was observed in relation to normal women, a fact that declares that HPV virus can lead to this overexpression aiming the "locking" of differentiation of the cervical stem cells. The expression of Oct-4 remains high and in women with cervical cancer, suggesting that cancer cells probably use the basic characteristics of stem cells. In conclusion, we can assume the origin of cervical cancer from stem cells that are normally present in the tissue and through the HPV virus they deviate faster and more from the normal cell cycle.

ΕΡΕΥΝΩΝΤΑΣ ΜΙΑ ΣΧΕΣΗ 100 ΕΚΑΤΟΜΜΥΡΙΩΝ ΧΡΟΝΩΝ: ΑΝΘΗ ΚΑΙ ΑΓΡΙΟΜΕΛΙΣΣΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΔΕΜ

Πετανίδου Θεοδώρα
Εργαστήριο Βιογεωγραφίας & Οικολογίας Τμήμα Γεωγραφίας Πανεπιστήμιο Αιγαίου E-mail: t.petanidou@aegean.gr

Η επικονίαση αποτελεί οικοσυστημική υπηρεσία κεφαλαιώδους σημασίας για τη διατήρηση της βιοποικιλότητας και τη λειτουργία των οικοσυστημάτων (συνεπώς, πόρος ανεκτίμητος), καθώς και για την υποστήριξη της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής και της παγκόσμιας οικονομίας (άρα, πόρος πολύτιμος). Σε παγκόσμια κλίμακα, οι επικονιαστικές υπηρεσίες προσφέρονται από πληθυσμούς εξημερωμένων και άγριων επικονιαστών, στην πλειονότητά τους έντομα, μεταξύ των οποίων σημαντικότερες είναι οι μέλισσες (εκτιμώμενος αριθμός ειδών 25.000). Σήμερα, σε παγκόσμια κλίμακα, οι επικονιαστές μειώνονται ανησυχητικά. Ως τεκμηριωμένα ή πιθανά αίτια μείωσης της βιοποικιλότητάς τους αναφέρονται, μεταξύ άλλων, η απώλεια και ο κατακερματισμός των ενδιαιτημάτων, οι αλλαγές χρήσεων γης, η απώλεια της φυτικής ποικιλότητας, η χημική καταπολέμηση των καλλιεργειών, διάφοροι παθογόνοι οργανισμοί και παράσιτα, η αλλαγή κλίματος. Η μείωση της βιοποικιλότητας των επικονιαστών αντιμετωπίζεται σήμερα ως μία από τις μέγιστες απειλές του πλανήτη, αφού θεωρείται ότι έχει παρόμοια εμβέλεια και επιπτώσεις, όπως η πλανητική αλλαγή, η απόρριψη χημικών στο περιβάλλον και οι βιολογικές εισβολές. Η ομιλία θα επικεντρωθεί στα αποτελέσματα της πρωτογενούς έρευνας που πραγματοποιείται στην Ελλάδα από τα μέσα της δεκαετίας του 1980 έως σήμερα. Κύριες κατευθύνσεις αυτής της έρευνας αποτελούν τα δίκτυα των σχέσεων αμοιβαιότητας και η ενεργειακή βάση των σχέσεων σε επίπεδο βιοκοινότητας, η βιοποικιλότητα των άγριων μελισσών, ο ρόλος των ανθικών χαρακτηριστικών, οι απειλές που οι επικονιαστές αντιμετωπίζουν (οικολογικές εισβολές, φωτιές, βόσκηση, κεραίες κινητής τηλεφωνίας, κλιματική αλλαγή). Μέρος της τρέχουσας έρευνας, που γίνεται στο πλαίσιο του Προγράμματος ΘΑΛΗΣ, αφορά στη δημιουργία: (α) υποδομών και εργαλείων για έρευνα επικονίασης στην Ελλάδα (Μελισσοθήκη του Αιγαίου, μιας μουσειακής συλλογής αναφοράς μελισσών στη Μυτιλήνη· κλείδες αναγνώρισης επικονιαστών), (β) ανθρώπινου κεφαλαίου ταξινομητών και (γ) εθνικού καταλόγου επικονιαστών και, συναφώς, καταλόγου κινδυνευόντων ειδών, με στόχο την ενσωμάτωση της παραγόμενης γνώσης στις πολιτικές και τα σχέδια διαχείρισης.

STUDYING A 100 MILLION YEARS OLD RELATIONSHIP: FLOWERS AND WILD BEES OF THE GREEK EDEN

Petanidou Th.
Department of Geography University of the Aegean E-mail: t.petanidou@aegean.gr

Pollination is a key ecosystem service that is essential for the conservation of wildlife and ecosystem functioning (thus, an invaluable resource), and the world's agricultural production and economy (thus, a valuable resource). On a global scale, pollination services are provided by populations of managed and wild animal pollinators, the majority of which are insects. Bees are the most important pollinator group with an estimated 25,000 species. Worldwide pollinators are declining today. Likely causes of such a decline are habitat fragmentation and loss, excessive land use and land use change, pesticide use, various pathogens and parasites, climate change, and the Colony Collapse Disorder phenomenon. Thus, the maintenance of pollinator diversity has been an increasing global concern and it is considered a daunting threat to the planet, having similar far-reaching impacts, as climate change, chemical waste deposit and biological invasions. The talk will summarise the research carried out in Greece since the 1980s to date. Main research areas are plant–pollinator interaction networks and the energetics of pollination at the community level; wild bee diversity; the importance of floral traits; the threats pollinators face (biological invasions, fires, grazing, excessive bee-keeping, mobile telecommunication antennas, climate change). Ongoing research (project carried out within the framework of the THALES Program) aims at creating: (i) the necessary infrastructure and facilities to support pollination studies in Greece (e.g. the Melissotheque of the Aegean, a reference bee collection in Mytilene; and the first taxonomic keys for pollinators), (ii) human capital and expertise for bee taxonomy, and (iii) a checklist vis-à-vis the Red Data list of the pollinators of Greece to be followed by the formation of pollinator-friendly management issues to be applied in the country.

ΤΑ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΤΩΝ ΠΑΡΑΚΤΙΩΝ ΑΛΙΠΗΓΩΝ ΤΗΣ ΑΙΔΗΨΟΥ ΚΑΙ Η ΔΙΑΧΡΟΝΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΒΙΟΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ ΤΟΥΣ

Βασιλική Πετρουλάκη, Βασιλική Λαμπρινού, Αδριανή Πανταζίδου, Αθηνά Οικονόμου-Αμίλλη

Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα

Οι θερμοπηγές αποτελούν εξειδικευμένα και σταθερά οικοσυστήματα με ακραίες οικολογικές παραμέτρους (θερμοκρασία, χημική σύσταση υδάτων, κ.α.) που φιλοξενούν ενδιαφέρουσες κοινωνίες μικροφυκών, συνήθως κυανοβακτηρίων, οι οποίες έχουν συσχετιστεί και με τις ιαματικές ιδιότητες των θερμομεταλλικών υδάτων. Στην Ελλάδα υπάρχει παράδοση στη μελέτη αυτών των οργανισμών με δημοσίευση σχετικών εργασιών και με υλικό που έχει κατατεθεί στο Βοτανικό Μουσείο του Πανεπιστημίου Αθηνών. Ως εκ τούτου, ενδιαφέρουσα θεωρήθηκε η αξιοποίηση μη-δημοσιευμένου ερμπαριακού υλικού από τις παράκτιες αναβλύσεις των θερμοπηγών της Αιδηψού (φωτογραφικό υλικό και κατατεθειμένα μικροσκοπικά παρασκευάσματα, των ετών 1958-1960, από τις συλλογές Κ. Αναγνωστίδη) και η σύγκρισή του με σύγχρονο υλικό (των ετών 2004 και 2009). Οι θερμοπηγές της Αιδηψού κατατάσσονται από χημική άποψη στις αλιπηγές και από άποψη θερμοκρασίας ανήκουν στις ευθέρμες (30-400C), ακροθέρμες (40-600C) και υπερθέρμες (> (600C). Συγκεκριμένα μελετήθηκαν δείγματα από τις παράκτιες αναβλύσεις, με στόχο την παρακολούθηση της χρονικής εξέλιξης των βιοκοινοτήτων τους. Συνολικά προσδιορίστηκαν 28 είδη κυανοβακτηρίων (13 είδη από τις παλαιές δειγματοληψίες, και 23 και 14 από τις δειγματοληψίες των ετών 2004 και 2009 αντιστοίχως). Ένδεκα (11) ταξινομικές μονάδες είναι κοινές σε παρελθόντα και σύγχρονα δείγματα (Chroococcus minutus, Cyanobacterium minervae, Phormidium animale, Spirulina major, Synechococcus bigranulatus κ.ά), η οικολογία των οποίων παραπέμπει σε οργανισμούς θερμόφιλους, κοινούς σε περιβάλλοντα θερμοπηγών ανά τον κόσμο. Δέκα πέντε (15) θερμόφιλα είδη δεν είχαν καταγραφεί στο παρελθόν (Lyngbya martensiana, Phormidium ambiguum, Phormidium corium, Leptolyngbya tenuis, κ.α.), ενώ δύο (2) είδη – το θερμόφιλο Aphanocapsa thermalis, και το αεροφυτικό και ευκαιριακά θερμόφιλο Aphanothece castagnei – φαίνεται να απουσιάζουν από τα σύγχρονα δείγματα. Η σύνθεση των κυανοβακτηριακών κοινοτήτων στις παράκτιες θερμές πηγές της Αιδηψού φαίνεται να παραμένει διαχρονικά σταθερή. Η μεγαλύτερη ποικιλότητα ειδών στα σύγχρονα δείγματα αποδίδεται στην ενδελεχή έρευνα φυσικού αλλά και καλλιεργημένου υλικού. Ενδιαφέρουσα θα ήταν η μελλοντική σύγκριση των κυανοβακτηρίων από φυσικές απορροές και από απορροές μετά τη χρήση του νερού για λουτροθεραπεία με στόχο τη μελέτη της ανθρωπογενούς επίδρασης (π.χ. έργα διευθέτησης και εγκλεισμού των υδάτων για ανάγκες λουτροθεραπείας) στη διαμόρφωση των βιοκοινοτήτων. Επίσης ενδιαφέρουσα κρίνεται γενικότερα η μελέτη των μεταβολικών προϊόντων των θερμόφιλων κυανοβακτηρίων και η συμβολή τους στις ιαματικές ιδιότητες των υδάτων.

THE COMMUNITY TEMPORAL VARIATION OF CYANOBACTERIA IN THE THERMAL SPRINGS OF AEDIPSOS

Vassiliki Petroulaki, Vassiliki Lamprinou, Adriani Pantazidou, Athena Economou-Amilli
Faculty of Biology, Department of Ecology and Systematics, UoA, Panepistimiopolis, Ilisia 15784, Athens

Thermal springs are specific stable ecosystems where extreme ecological parameters (mainly high temperature, spring-specialized chemical composition) are prevailing and interesting microalgae communities –mainly of cyanobacteria– are thriving; their species composition has variously been connected with the healing properties of the warm water (balneotherapy). In Greece there is a tradition in the study of microorganisms from thermal springs, and apart from the published data there is available herbarium material in the Botanical Museum of the Athens University. Here, the temporal succession of the cyanobacteria communities from coastal outflows of Aedipsos thermal springs is concluded based on non-published photographic material and slides (K. Anagnostidis collections, of the years 1958–1961) and after comparison with contemporary samples (of the years 2004 and 2009). The saline Aedipsos thermal springs were chosen for study since they are ranked among the eutherms (30-400C), akrotherms (40-600C) and hypertherms (>(600C).A total number of 28 cyanobacteria species were identified (13 from the older specimens, and 23 and 14 from recent specimens of the years 2004 and 2009 respectively). Eleven (11) taxa are common both in older and recent specimens (e.g. Chroococcus minutus, Cyanobacterium minervae, Phormidium animale, Spirulina major, Synechococcus bigranulatus), representing thermophilic organisms, common in thermal springs all over the world. Fifteen (15) thermophilic species have not been recorded in the older specimens (e.g. Lyngbya martensiana, Phormidium ambiguum, Phormidium corium, Leptolyngbya tenuis), whereas two (2) species – the thermophilic Aphanocapsa thermalis, and the aerophytic and occasionally thermophilic Aphanothece castagnei – seem to be absent from recent specimens. The community composition of cyanobacteria in the coastal outflows of Aedipsos thermal springs seems to remain constant over time. The highest species diversity in recent specimens is attributed to a thorough investigation of natural and cultivated material. It would be interesting in the future to compare the cyanobacteria composition both from natural outflows and from runoff after using the water for spa with a view to study the anthropogenic impact (e.g. constructions for improvements to and sequestering water needs for bathing). Also interesting would be the general study of metabolic products of thermophilic cyanobacteria and their contribution to the healing properties of water.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ Bactrocera oleae (Diptera: Tephritidae) ΑΠΟ ΤΟ ΙΡΑΝ, ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Πετροπούλου Α. Χρηστίνα[1], Moezipour Mitra[1,2], Γρηγορίου Μαρία-Ελένη[1], Αυγουστίνος Αντώνιος[1,3], Μαθιόπουλος Κώστας[1]

1Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας- Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Λάρισα, Ελλάδα 2Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran 3Present address: Insect Pest Control Laboratory, Joint FAO/IAEA Programme of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Vienna, Austria

Η ελιά, Olea europaea, είναι ένα αειθαλές δέντρο της οικογένειας των Ελαιοειδών (Oleaceae), το οποίο συναντάται κατά κύριο λόγο στην λεκάνη της Μεσογείου. Ο καρπός της ελιάς είναι πολύ βασικός για τη Μεσογειακή διατροφή, τόσο ως εδώδιμος όσο και για την παραγωγή ελαιόλαδου. Ο δάκος της ελιάς, Bactrocera oleae, αποτελεί το κυριότερο παράσιτο των ελαιοκαλλιεργειών και η εξάπλωσή του εείναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την παρουσία της ελιάς. Η καλλιέργεια της ελιάς στο Ιράν χρονολογείται από το 3000 π.Χ. ενώ σήμερα περισσότερο από 100 000 εκτάρια γης είναι καλυμμένα με ελαιόδεντρα. Ενώ η παρουσία της ελιάς στο Ιράν αρχίζει από τόσο παλιά, οι πρώτες αναφορές για την εμφάνιση του δάκου στη χώρα έγιναν σχετικά πρόσφατα, τον Ιούλιο του 2004. Ακόμη δεν έχει διευκρινιστεί αν αυτό οφείλεται σε ραγδαία αύξηση ενός ήδη υπάρχοντος πληθυσμού ή αποτελεί φαινόμενο εισβολής του εντόμου από άλλες περιοχές. Γι' αυτό το λόγο, συλλέχθηκαν άτομα δάκου από διάφορες περιοχές του Ιράν και αναλύθηκαν γενετικά χρησιμοποιώντας μικροδορυφορικούς δείκτες. Οι δείκτες αυτοί αποτελούν υποσύνολο αυτών που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση ενδημικών πληθυσμών δάκου γύρω από τη Μεσογειακή λεκάνη αλλά και για τη μελέτη της εισβολής του εντόμου στην Καλιφόρνια. Οι μικροδορυφορικοί δείκτες έχουν αποδειχτεί πολύ χρήσιμα εργαλεία τόσο στη μελέτη της γενετικής δομής φυσικών πληθυσμών, όσο και στη διερεύνηση φαινομένων προσφάτων εισβολών στα έντομα οικονομικής σημασίας. Τέτοιες αναλύσεις μπορούν να συνεισφέρουν ουσιαστικά στον επιτυχή σχεδιασμό στρατηγικών ελέγχου με σκοπό την αποφυγή μελλοντικών εισβολών, καθώς η λεπτομερή γνώση της βιολογίας, της γενετικής δομής και της γεωγραφικής ποικιλότητας ενός είδους, είναι στοιχεία απαραίτητα για την ορθή και αποτελεσματική εφαρμογή τους.

GENETIC ANALYSIS OF OLIVE FLY, Bactrocera oleae (Diptera: Tephritidae) POPULATIONS IN IRAN USING MICROSATELLITE MARKERS

Petropoulou Ch.[1], Moezipour Mitra [1,2], Grigoriou A.-E., Avgoustinos A. [1,3], Mathipoulos K.[1]
1University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Larissa, Greece 2Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran 3Present address: Insect Pest Control Laboratory, Joint FAO/IAEA Programme of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Vienna, Austria

The Olive tree, Olea europaea (Oleaceae), is native to coastal areas of the eastern Mediterranean region, from Syria and the maritime parts of Asia Minor and northern Iran at the south end of the Caspian Sea. Its fruit, the olive, is of major agricultural importance in the Mediterranean region, where 98% of trees are grown, as the source of olive oil. The olive fruit fly, Bactrocera oleae, is the main pest of the olive fruit. Being strictly monophagus, the olive fly has been restricted to the cultivation zone of the olive tree. Olive tree cultivation in Iran goes back to 3000 BCE and today Iran has more than 100,000 hectares of olive crop area. Although olive tree has a long history in Iran, olive fly was identified for the first time in alarming numbers just recently, in July 2004. Therefore, it is very important to analyze whether it represents/constitutes a new invasion or an increase of a pre-existing population. To address this question, field-collected flies from three different provinces were genotyped using microsatellite markers. The markers used in this study are a subset of those previously used for the analysis of endemic olive fly populations around the Mediterranean basin, as well as of the invasion of B. oleae in California. Microsatellite markers have proven a very powerful tool for the analysis of population structuring and recent invasions phenomena in insects of economic importance. Such analyses can contribute to better planning of control strategies to avoid future infestations, since the detailed knowledge of the biology, genetic structure and geographical variability of a given species is a prerequisite for establishing control methods such as quarantine, phytosanitary control and eradication.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΝΔΗΜΙΚΟΥ ΦΥΤΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ ΤΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ Asperula baenitzii Heldr. ex. Boiss.

Πιτσιλή Ευγενία, Ανδριόπουλος Παύλος, Παρμακέλης Αριστείδης, Αριανούτσου-Φαραγγιτάκη Μαργαρίτα

Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα.

Τα είδη του γένους Asperula που ανήκουν στο sectio Thliphthisa έχουν χαρακτηριστεί παλαιομεσογειακά. Η ενδημική A. baenitzii εξαπλώνεται αποκλειστικά στα όρη Πάρνηθα και Πατέρας της Αττικής. Οι πληθυσμοί της διαφοροποιούνται ως προς αυξητικά και αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά, αλλά και ως προς χαρακτηριστικά του ενδιαιτήματος. Στην παρούσα εργασία γίνεται: α) Διερεύνηση της γενετικής ποικιλότητας μεταξύ των πληθυσμών της A. baenitzii και β) μελέτη των φυλογενετικών σχέσεων με άλλα είδη του ίδιου γένους. Η καταγραφή της γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών αναμένεται να συμβάλλει στην ερμηνεία των διαφοροποιήσεων των λειτουργικών χαρακτηριστικών των πληθυσμών του είδους και στη διάκριση διαφορών που μπορούν να αποδοθούν σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και αυτών που έχουν φυλογενετική συνιστώσα. Νουκλεοτιδικές αλληλουχίες διαγονιδιακών περιοχών του χλωροπλάστη προερχόμενες από υλικό που συλλέχθηκε από τα όρη Πάρνηθα, Πατέρας και Όλυμπος, αναλύθηκαν μαζί με αλληλουχίες από βάσεις δεδομένων για όλα τα είδη Asperula για τα οποία ήταν διαθέσιμες. Με βάση αυτές τις αλληλουχίες έγινε εκτίμηση των γενετικών αποστάσεων μεταξύ των πληθυσμών όλων των ειδών και κατασκευή φυλογενετικού δέντρου για όλα τα είδη. Σε κάθε όρος η Asperula baenitzii διαμορφώνει υποπληθυσμούς χωρίς σημαντική γενετική διαφοροποίηση μεταξύ τους, ενώ οι πληθυσμοί των δύο ορεινών όγκων, Πάρνηθας και Πατέρα διαθέτουν μεγαλύτερη γενετική διαφοροποίηση. Με βάση τη φυλογενετική ανάλυση επιβεβαιώνεται η θέση της A. baenitzii στο sectio Thliphthisa. Η θέση της στο φυλογενετικό δένδρο συνοδεύεται από πολύ υψηλή στατιστική στήριξη και καταδεικνύει ότι τα πιο συγγενικά της τάξα είναι τα είδη A. chlorantha και A. muscosa. Η χρονολόγηση της διαφοροποίησης του είδους στην περιοχή μας, αποτελεί τον επόμενο στόχο της έρευνας.

GENETIC DIVERSITY OF THE ENDEMIC TO ATTIKA PLANT SPECIES Asperula baenitzii Heldr. ex.Boiss.

Pitsili Eugenia, Andripoulos Pavlos, Parmakelis Aristeidis, Arianoutsou- Farangitaki Margarita

Dept. of Ecology and Systematics, Faculty of Biology,National Kapodostrian University of Athens, Panepistimioupoli Ilisia, 15784, Athens.

Asperula species belonging to Thliphthisa sectio have been characterized as paleo- mediterranean. Asperula baenitzii is a plant species endemic to Pateras and Parnitha mountains, Attika. Different populations of the species seem to exploit different habitat types while they differentiate in their reproductive and vegetative growth traits. In this current study we investigate a) the genetic diversity of the different populations of A. baenitzii and b) the phylogenetic relationships between other species of the same genus. It is expected that our findings will contribute to understanding whether the differences observed in population functional traits can be attributed to either environmental filtering or phylogenetic signal. Samples used for molecular analysis were collected from Pateras and Parnitha mountains as well as Olympus mountain in Thessalia. Chloroplast intragenic spacers were amplified and all-against-all blast in Genbank was performed in the sequences obtained. A Neighbor – joining phylogenetic tree was constructed to illustrate the relationships between populations. The results obtain show no genetic differences between subpopulations of the same mountain region whereas populations distributed in different mountains are genetically distinct. Furthermore, it was clearly shown (with high statistical support) that A. baenitzii belongs to the Thliphthisa sectio and the most closely related taxa were A. muscosa and A. chlorantha. Our future aim is to estimate the diversification point of the populations of A. baenitzii studied.

ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΝΗΣΩΝ- ΤΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΟΥ Lepus europaeus

Πλαγεράς Δημήτρης[1], Γιαννούλης Θεμιστοκλής[1], Σταμάτης Κώστας[1], Αμούτζιας Γρηγόρης[1], Μούτου Α. Κατερίνα[1], Μπιλλίνης Χαράλαμπος[2], Μπίρτσας Περικλής[3], Μαμούρης Ζήσης[1]

1Εργαστήριο Γενετικής, Εξελικτικής και Συγκριτικής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. 2Εργαστήριο Λοιμωδών Νοσημάτων Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας 3Τμήμα Δασοπονίας και Διαχείρισης Φυσικού Περιβάλλοντος, ΤΕΙ Λάρισας

Ο ευρωπαϊκός λαγός (Lepus europaeus) αποτελεί ένα ευρέως διαδεδομένο είδος στην Ευρώπη, με μεγάλη ποικιλία ενδιαιτημάτων και ιδιαίτερη οικονομική σημασία. Η εκτεταμένη κατανομή του και το γεγονός ότι οι πληθυσμοί του ανταποκρίνονται ταχύτατα στις αλλαγές ενδιαιτημάτων, το καθιστούν ένα είδος μοντέλο, μέσω του οποίου μπορούμε να εξάγουμε χρήσιμα συμπεράσματα για τη συμπεριφορά, τη βιολογία και την πληθυσμιακή δομή των άγριων πληθυσμών πολλών θηλαστικών. Σε αυτή την εργασία, η οποία έρχεται να προστεθεί σε μια σειρά αντίστοιχων μελετών που διενεργηθήκαν σε Ελλάδα, Ευρώπη και Ανατολία τα προηγούμενα χρόνια, πραγματοποιήθηκε πληθυσμιακή ανάλυση ενός μεγάλου αριθμού δειγμάτων ευρωπαϊκού λαγού σε ένα εκτεταμένο δίκτυο δειγματοληψίας σε ελληνικά νησιά, στη Κύπρο, στη Νέα Ζηλανδία, στη Μεγάλη Βρετανία, καθώς και στην ηπειρωτική Ελλάδα και την Τουρκία. Η μελέτη στηρίχτηκε στην ανάλυση δυο μοριακών δεικτών του μιτοχονδριακού DNA (Cytb, D-loop) και ενός μοριακού δείκτη του πυρηνικού DNA του Μείζονος Συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας (MHC-DQA). Βασικός στόχος της εργασίας ήταν να ερευνηθεί το κατά πόσον διαφοροποιείται η γενετική δομή και οι ρυθμοί φυλογένεσης των νησιωτικών πληθυσμών του ευρωπαϊκού λαγού σε σχέση με τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς, εξαιτίας της γεωγραφικής και συνεπώς αναπαραγωγικής, απομόνωσης που αυτοί υφίστανται. Η μελέτη των αποτελεσμάτων φανέρωσε υψηλό πολυμορφισμό και σαφή διαχωρισμό των ομάδων και κατανομή τους στις τρεις μεγάλες απλοομάδες που είχαν βρεθεί σε προηγούμενες μελέτες. Είναι προφανής η πτώση του πολυμορφισμού στα νησιά σε σχέση με την ηπειρωτική Ευρώπη ως προς το mtDNA. Αντιθέτως, το γονίδιο του MHC (DQA) ακολουθεί ένα τελείως διαφορετικό πρότυπο κατανομής με έντονο πολυμορφισμό και στα νησιά. Η διαφοροποίηση αυτή οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στα διαφορετικά πρότυπα εξέλιξης των δύο γονιδιακών συστημάτων.

POPULATION GENETICS OF ISLANDS -THE CASE OF Lepus europeaus

Plageras Dimitrios[1], Giannoulis Themistoklis[1], Stamatis Costas[1], Amoutzias Grigorios[1], Moutou A. Katerina[1], Billinis Charalambos[2], Birtsas Periklis[3], Mamuris Zissis[1]

1Laboratory of Genetics, Evolutionary and Comparative Biology, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly 2Laboratory of Microbiology and Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly 3Department of Forestry and Natural Environment Administration, Technological Education Institute of Larissa, Karditsa, Greece and Hunting Federation of Macedonia and Thrace, Thessaloniki, Greece

The brown hare (Lepus europaeus) is a widely spread species in Europe, with a great variety of habitats and special economic importance. It's extensive distribution and the fact that its populations respond rapidly to any habitat's changes, makes it an ideal model-organism, from which we can deduce useful conclusions concerning the behavior, the biology and the population structure of the wild populations of many mammals. This study follows a series of corresponding studies on brown hare in Greece, Europe and Anatolia during the past few years. A population analysis of a large number of brown hare specimens was conducted in an extended sampling network in Greek islands, Cyprus, New Zealand, the United Kingdom, as well as in the Greek mainland and Turkey. The study was based in the analysis of two molecular markers of mitochondrial DNA (Cytb, D-loop) and one molecular indicator of nuclear DNA (MHC-DQA). Our aim was to determine how the genetic structure and the phylogenetic rates of brown hares of the island populations differ, compared with that of the mainland populations, because of the geographical and therefore reproductive isolation that they undergo. Our results indicated high amount of polymorphisms and clear separation of groups and their distribution in the three large haplo-groups which have been found in previous studies. However, lesser amounts of polymorphisms were found in the islands compared to those in the European mainland, concerning mitochondrial DNA. On the contrary, the MHC gene (DQA) follows an entirely different distributional pattern, with high polymorphism in the islands as well as in the mainland. This differentiation is attributed to the different evolution patterns of the two genetic systems.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ H2AX ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Πουλιλιού Ε. Σταματία, Καλαμίδα Ε. Δήμητρα, Μητράκας Γ. Αχιλλέας, Κουκουράκης Ι. Μιχαήλ

Μονάδα Ακτινοβιολογίας και Ακτινοπαθολογίας, Κλινική Ακτινοθεραπείας/Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

Η H2 AX ανήκει στην οικογένεια των H2A ιστονών και συμμετέχει στο σχηματισμό του ευκαρυωτικού DNA σε χρωματίνη. Φωσφορυλιώνεται στην θέση Serine-139 και η φωσφορυλιωμένη μορφή ονομάζεται γ H2AX. Η ακτινοβολία προκαλεί την δημιουργία DNA Double-Strand Breaks (DSB) δηλαδή θραύσεις στο γενετικό υλικό. Τα DSB επάγουν την φωσφορυλίωση της H2 AX στην χρωματινική περιοχή που προκαλούνται. Η φωσφορυλίωση γίνεται από την οικογένεια P13 κινασών και συγκεκριμένα από την ATM κινάση. Ένα αντίσωμα για την γH2 AX μπορεί να μετρήσει τα επίπεδα βλάβης του DNA πριν και μετά την αγωγή. Τα κύτταρα με αυξημένη H2 AX έχουν αυξημένη γενομική αστάθεια και ευαισθησία σε γενοτοξικούς παράγοντες. Παρατηρήσεις ενισχύουν την άποψη ότι η H2AX είναι απαραίτητη ώστε η σπασμένη αλυσίδα να επιστρέψει στην αρχική της μορφή. Η γH2 AX μορφή, συνήθως σε μικρό αριθμό μπορεί να υπάρχει στο κύτταρο ακόμη και απουσία εξωγενών παραγόντων, εξαιτίας της DNA ζημιάς που μπορεί να προκαλείται από το κυτταρικό γήρας ή από τις ενδογενείς δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS). Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η μελέτη της H2AX ιστόνης στα λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος ασθενών με καρκίνο υπό ακτινοθεραπεία. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη αυτή είναι η απομόνωση και καλλιέργεια λεμφοκυττάρων, ανοσοαποτύπωμα κατά Western και ανοσοφθορισμός. Συμπερασματικά η φωσφορυλίωση της γH2 AX στους πυρήνες των κυττάρων επάγεται στα 30 λεπτά και επανέρχεται στα επίπεδα των μη ακτινοβολημένων στις 4 ώρες μετά από ακτινοβόληση με 2Gy.

H2AX STUDY IN ANTICANCER TREATMENT

Pouliliou S.E., Kalamida E.D., Mittrakas G.A., Koukourakis I.M.
Unit of Radiobiology and Radiopathology,Department of Radiotherapy /Oncology, School of Medicine, Democritus University of Thrace Alexandroupolis

H2AX protein is a member of H2A histones family and contributes to the transformation of eukaryotic DNA to chromatin. γH 2AX constitutes the phosphorylated form of H2Ax on Serine-139. The radiation causes DNA Double-Strand Breaks (DSB) and these breaks induce the phosphorylation of H2Ax around to the region of the damage. ATM, a member of P13 kinase family, is responsible for this phosphorylation. A specific antibody for γH2AX could show to us the level of DNA damage. The cells with high level of H2AX present higher level of genomic instability and higher sensitivity to genotoxic factors. In previous studies it is showed that H2AX is really important for the DNA repair. Moreover, there is a small amount of γH2 AX due to DNA damage which is caused by cell senescence and endogenous ROS. In this research, we studied the level of H2AX in lymphocytes. These cells derived from patients with cancer who are under radiation treatment. The experimental procedures which are used in this study are culture and isolation of lymphocytes, Western Blot and immunofloresence. Taking our data into consideration we concluded that the level of γ H2AX in cells' nuclei, induced 30 minutes after radiation and decreased 4 hours after radiation, reached at the same level with non-irradiated cells.

ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΛΥΣΗ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΦΟΡΟΥ ΣΤΟ ΧΕΡΣΑΙΟ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟ *Cornu asprersum*

Μαρία Ρεντζή, Αλεξάνδρα Στάικου
Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη

Το είδος Cornu aspersum ανήκει στα χερσαία πνευμονοφόρα γαστερόποδα και είναι ταυτόχρονα ερμαφρόδιτο και υποχρεωτικά ετερογονιμοποιούμενο είδος. Κατά τη σύζευξη τα σαλιγκάρια ανταλλάσσουν αμοιβαία σπέρμα που μεταφέρεται μέσα σε θήκη από χιτίνη που ονομάζεται σπερματοφόρο. Στο αναπαραγωγικό τους σύστημα εντοπίζονται τμήματα που υδρολύουν το σπερματοφόρο που δέχονται και το περιεχόμενο σπέρμα ενώ μικρός αριθμός σπερματοζωαρίων αποφεύγει τη καταστροφή και αποθηκεύεται στη σπερματοθήκη. Στα ερμαφρόδιτα είδη με εσωτερική γονιμοποίηση θεωρείται ότι τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των σπερματοζωαρίων καθώς και η μορφολογία και μορφομετρία του αναπαραγωγικού συστήματος επηρεάζουν την αναπαραγωγική επιτυχία τόσο της αρσενικής όσο και της θηλυκής αναπαραγωγικής λειτουργίας και κατά συνέπεια υφίστανται ισχυρή εξελικτική πίεση. Στη παρούσα εργασία παρουσιάζεται η καταγραφή των σταδίων μεταφοράς του σπερματοφόρου καθώς και η κατάληξη του σε σαλιγκάρια που έχουν εμπλακεί σε απλή και σε πολλαπλές συζεύξεις. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν σαλιγκάρια από πληθυσμό της Κρήτης. 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. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε σε σαλιγκάρια που συζεύχθηκαν περισσότερες από μία φορές. Ο σχηματισμός και η πλήρωση του σπερματοφόρου με σπέρμα ολοκληρώνεται σε διάστημα 6 ωρών ενώ η μεταφορά του σπερματοφόρου στο άλλο άτομο διαρκεί λίγα λεπτά. Σε όλα τα σαλιγκάρια που εξετάσθηκαν το σπερματοφόρο βρέθηκε στον βοηθητικό αγωγό της σπερματοκύστης, και ποτέ στο στέλεχος της σπερματοκύστης, ούτε μετά από πολλαπλές συζεύξεις. Στα σαλιγκάρια που είχαν συζευχθεί περισσότερες από μία φορές (2-4) ίχνη των υδρολυμένων σπερματοφόρων ήταν ανιχνεύσιμα στο βοηθητικό αγωγό της σπερματοκύστης έως και 8-10 ημέρες μετά τη τελευταία σύζευξη.

SPERMATOPHORE TRANSFER AND DIGESTION IN THE LAND SNAIL *Cornu aspersum*

Maria Rentzi, Alexandra Staikou
Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

Cornu aspersum is a simultaneously hermaphroditic and obligatory outcrossing terrestrial gastropod. During copulation snails exchange spermatophores which contain huge amounts of sperm. The spermatophores enter the diverticulum of the bursa copulatrix, in the reproductive system of the recipient snail, where they are destroyed along with the majority of the sperm. A small number of sperm escapes destruction and is stored in the spermatheca. In simultaneously hermaphroditic species with internal fertilization it is generally believed that quantitative and qualitative characteristics of sperm as well as genital morphology and morphometry influence reproductive success of both sexual functions and consequently receive strong evolutionary pressures. The present study is part of a wider one on patterns of spermatophore formation and transfer and focuses on the spermatophore's fate in the reproductive system of the recipient. The latter is examined in both once and multiply mated snails. Snails were collected from a population from Crete and were transferred to the laboratory where mating trials were performed. Snail pairs were killed in liquid nitrogen at regular time intervals after initiation of copulation, their reproductive system was excised, and the presence and position of the spermatophore was recorded. Additionally a group of snails were allowed to mate freely and multiply mated snails were killed after a time period of 12 days. Spermatophore formation and filling were completed within the first 6 hours of copulation while spermatophore transfer took only a few minutes. In all snails examined the spermatophore was found in the diverticulum of the recipient snail. No spermatophore was found in the spermatheca duct. In multiply mated snails traces of the digested spermatophores were found in the diverticulum up to 8-10 days after the last copulation.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ p53 ΣΤΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΜΥΔΙ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

Ρήγα Αμαλία, Παπάζογλου Ηλέκτρα, Πασχαλίδου Αναστασία, Παντζαρτζή Χρύσα, Δροσοπούλου Ελένη, Σκούρας Γ. Ζαχαρίας

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

Η οικογένεια p53 είναι μια από τις σημαντικότερες οικογένειες πρωτεΐνών με ογκοκατασταλτική δράση. Τα μέλη της ενεργοποιούνται ως απόκριση σε βλάβες του DNA και λειτουργούν ως μεταγραφικοί παράγοντες. Ενεργοποιούν μονοπάτια που, ανάλογα με τη φάση του κυτταρικού κύκλου, οδηγούν είτε σε παύση αυτού και διόρθωση των βλαβών στο DNA, είτε σε απόπτωση και καταστροφή του κυττάρου. Οι περισσότερες από τις μισές περιπτώσεις καρκίνου στον άνθρωπο σχετίζονται με μεταλλάξεις ή ελλείμματα στο γονίδιο της p53. Στα θηλαστικά, τα μέλη της οικογένειας κωδικοποιούνται από τρία διαφορετικά γονίδια, ενώ στα δίθυρα, οι πρωτεΐνες της οικογένειας (TAp63/p73, ΔNp63/p73, p53) προκύπτουν από μία μεταγραφική μονάδα, ως αποτέλεσμα εναλλακτικού ματίσματος ή εναλλακτικών θέσεων έναρξης της μεταγραφής. Τα δίθυρα, μεταξύ των οποίων είδη του γένους Mytilus, θεωρούνται σημαντικοί βιοδείκτες της θαλάσσιας ρύπανσης, ενώ έχουν τη φυσική τάση να αναπτύσσουν διάφορες μορφές νεοπλασίας, κάποιες από τις οποίες έχουν συσχετιστεί με μεταλλάξεις της οικογένειας p53. Σκοπός της παρούσης εργασίας είναι η διερεύνηση της οργάνωσης του γονιδίου που κωδικοποιεί για την οικογένεια p53 στο μεσογειακό μύδι, Mytilus galloprovincialis. Σχεδιάστηκαν εκκινητές, χρησιμοποιώντας γονιδιωματικές αλληλουχίες του M. galloprovincialis και cDNA αλληλουχίες από άλλα είδη του γένους, και στη συνέχεια ενισχύθηκαν και αναλύθηκαν τμήματα της μεταγραφικής μονάδας της οικογένειας p53. Η ανάλυση μας επέκτεινε τη γνωστή αλληλουχία τόσο προς το 5′ όσο και προς το 3′ άκρο του γονιδίου.

THE ORGANIZATION OF THE p53 FAMILY GENE IN THE MEDITERRANEAN MUSSEL MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

Riga Amalia, Papazoglou Ilektra, Paschalidou Anastasia, Pantzartzi Chrysa, Drosopoulou Elena, Scouras G. Zacharias

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

The p53 family is one of the most important protein families with suppressive action. Its members are activated as a response to DNA mutations and act as transcription factors regulating genes in order to inhibit creation and proliferation of abnormal cells. They regulate pathways which, depending on the phase of cell cycle, lead either to cell cycle control and DNA repair or to apoptosis and cell destruction. More than half of the cases of cancer in human are related to mutations or deletions in the p53 family. In mammals, the members of the family are encoded by different genes. In bivalves, the three family proteins (Tap63/p73, ΔNp63/p73, p53) are produced by alternative splicing or alternative transcription initiation from a single transcription unit. Marine bivalves, including the members of the Mytilus genus, are considered important bio-sensors of coastal pollution and have the natural tendency to develop various forms of neoplasia, some of which have been associated with abnormal p53 proteins. The purpose of the present study is the investigation of the genomic organization of the p53 family gene in the Mediterranean mussel, Mytilus galloprovincialis. Primers were designed, based on known genomic sequences of M. galloprovincialis and cDNA sequences from other Mytilus species, and fragments of the p53 transcription unit were amplified and analyzed.

Η ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ A313G ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ GSTP1 ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΜΥΕΛΟΓΕΝΟΥΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ

Ροσμαράκη Φ.

1) Τμήμα Κυτταρογενετικής, Εργαστήριο Υγειοφυσικής & Περιβαλλοντικής Υγείας, ΙΠΡΕΤΕΑ, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αθήνα 2) Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία (ΟΜΛ) είναι ένα κακόηθες νεόπλασμα που χαρακτηρίζεται από ραγδαία ανάπτυξη των λευκοκυττάρων που συσσωρεύονται στο μυελό των οστών (ΜΟ). Στην παθογένεση της ΟΜΛ έχει αναφερθεί ότι μπορεί να εμπλέκονται γενετικοί πολυμορφισμοί γονιδίων αποτοξικοποίησης. Το γονίδιο S-τρανσφεράσης της γλουταθειόνης P1 (GSTP1) εμπλέκεται στο μεταβολισμό γονοτοξικών ουσιών. Άτομα που φέρουν τον πολυμορφισμό A313G στο γονίδιο GSTP1 σε ετερόζυγη (A/G) ή ομόζυγη κατάσταση (G/G) παρουσιάζουν μειωμένη ή ολική απώλεια της ενζυμικής ενεργότητας, σε σύγκριση με τους ομοζυγώτες για το φυσιολογικό αλληλόμορφο (A/A). Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση του πιθανού ρόλου του πολυμορφισμού A313G GSTP1 στην προδιάθεση εμφάνισης ΟΜΛ και η συσχέτισή του με ειδικές για την ΟΜΛ χρωμοσωματικές αλλοιώσεις. Η γονοτυπική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με Real-Time PCR και PCR-RFLP σε DNA από δείγματα μυελού των οστών ή/και περιφερικού αίματος 184 ασθενών με ΟΜΛ και 370 υγιών δοτών. Παθολογικοί καρυότυποι βρέθηκαν στο 62.6% των ασθενών, εκ των οποίων 32.1% παρουσίασαν σύνθετο καρυότυπο και 20.5% μονοσωμικό. Η συχνότητα των μεταλλαγμένων γονοτύπων (A/G και G/G) ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες ($p<0.0001$). Ο πολυμορφισμός δεν φάνηκε να σχετίζεται με το φύλο ή την ηλικία διάγνωσης. Μετά από κατηγοριοποίηση των ασθενών βάσει καρυοτύπου, παρατηρήθηκε υψηλότερη συχνότητα ομοζυγωτών για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (G/G) στους ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο, σε σύγκριση με τους ασθενείς με παθολογικό καρυότυπο (19.5% vs 8.9%, αντίστοιχα, $p=0.056$). Σημαντικά αυξημένη ετεροζυγωτία παρατηρήθηκε στους ασθενείς που έφεραν τις χρωμοσωμικές αλλοιώσεις –Y και -7/del(7q). Συμπερασματικά, ο πολυμορφισμός A313G του γονιδίου GSTP1 που σχετίζεται με μείωση ή ολική απώλεια της ενζυμικής δράσης πιθανόν να αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα στην εμφάνιση ΟΜΛ. Ειδικότερα η παρουσία του πολυμορφισμού σε ομόζυγη ή ετερόζυγη κατάσταση πιθανόν να εμπλέκεται στην εμφάνιση ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο ή συγκεκριμένες κυτταρογενετικές αλλοιώσεις.

THE POSSIBLE IMPLICATION OF A313G GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE-P1 GERMLINE POLYMORPHISM IN THE PATHOGENESIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Rosmaraki F.

1) Laboratory of Health Physics & Environmental Health, NCSR "Demokritos", Athens, Greece 2) Department of Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

Acute myelogenous leukemia (AML) is a malignant neoplasm marked by diffuse replacement of the bone marrow (BM) development of leukocytes and their precursors. Genetic approaches for understanding the etiology of AML comprise polymorphic variants in xenobiotic metabolizer loci. Glutathione S-transferases (GSTs) are phase-II detoxification enzymes and are involved in numerous carcinogens and anticancer drugs inactivation. The GSTP1 gene is subjected to a single nucleotide polymorphism (A313G) that decreases the catalytic activity, and consequently, its detoxification capacity. Individuals heterozygous (A/G) or homozygous (G/G) for the mutant allele present decreased or loss of enzymatic activity than homozygotes for the wild type allele (A/A). This study investigates the possible implication of GSTP1 polymorphism in AML susceptibility and/or the occurrence of AML-specific chromosomal abnormalities. Genomic DNA was isolated from BM and/or peripheral blood samples. Real-Time PCR and PCR-RFLP assays were applied to detect the GSTP1 polymorphism in 184 AML patients and 370 unrelated healthy donors. Abnormal karyotypes were found in 62.6% of patients and among them, 32.1% had complex karyotypes while 20.5% monosomal. A significantly higher incidence of the mutant GSTP1 genotypes (A/G and G/G) was observed in AML patients, as compared to the controls ($p<0.0001$). No association was found between the GSTP1 polymorphism and gender or age at diagnosis. Stratification of patients according to karyotype revealed an increased frequency of homozygotes G/G among patients with normal karyotypes, as compared to the abnormal (19.5% vs 8.9% respectively, $p=0.056$). Furthermore, the GSTP1 heterozygosity was correlated with –Y and -7/del(7q). Our results suggest that the GSTP1 A313G polymorphism may be a predisposing factor for the development of AML. Moreover, homozygosity or heterozygosity of the GSTP1 polymorphism seems to be associated with AML development with normal karyotype or specific chromosomal abnormalities.

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΕΝΟΣ ΝΕΟΥ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΟΝΟΥ ΚΑΘΟΡΙΣΤΗ, ΠΕΝΤΑΠΕΠΤΙΔΙΟΥ-ΑΝΑΛΟΓΟΥ ΤΗΣ β-ΑΛΥΣΙΔΑΣ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

Ρούσσου Άννα [1,], Λούρος Νικόλαος [1,], Τσιολάκη Παρασκευή [1,], Μπαλτατζής Γεώργιος [2,], Πατσούρης Ευστράτιος [2,], Οικονομίδου Βασιλική [1], Χαμόδρακας Σταύρος [1]

1/Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01 - 2/Α΄ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μικράς Ασίας 75, Αθήνα 11527

Η ινσουλίνη, μια μικρή πεπτιδική ορμόνη που ρυθμίζει τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα, δημιουργεί, υπό κατάλληλες συνθήκες, αμυλοειδή ινίδια in vitro αλλά και in vivo, όπως έχει δειχθεί σε αμυλοειδείς εναποθέσεις ασθενών με διαβήτη τύπου-ΙΙ, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ενέσιμη μορφή ινσουλίνης, προκαλώντας σοβαρές βιοϊατρικές και βιοτεχνολογικές επιπλοκές (ιατρογενής αμυλοείδωση). Μέχρι σήμερα, έχουν προταθεί αρκετά μοντέλα ινιδογένεσης της ινσουλίνης, τα οποία προσπαθούν να ρίξουν φως στον μηχανισμό αυτοσυγκρότησης των αμυλοειδών ινιδίων της ινσουλίνης. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιώντας τον συναινετικό αλγόριθμο πρόγνωσης 'αμυλοειδογόνου προδιάθεσης', A MYLPRED, που αναπτύχθηκε στο εργαστήριό μας, προβλέφθηκε ένα πενταπεπτίδιο-ανάλογο του καρβοξυ-τελικού άκρου της β-αλυσίδας της πρωτεΐνης, ως πιθανός 'αμυλοειδογόνος καθοριστής'/'επιρρεπές σε συσσωμάτωση' πεπτίδιο. Μετά την σύνθεση του προβλεπόμενου πεπτιδίου έγιναν οι παρακάτω πειραματικές μελέτες: α) χρώση με Congo Red και παρατήρηση με πολωτική μικροσκοπία β) φασματοσκοπία υπερερύθρου ATR-FTIR γ) ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (TEM) και δ) περίθλαση ακτίνων-Χ σε προσανατολισμένη ίνα δημιουργημένη από αμυλοειδή ινίδια στα οποία αυτοσυγκροτείται το πενταπεπτίδιο. Από τα πειραματικά αποτελέσματα συγκεντρώνονται ισχυρότατες ενδείξεις, για το χαρακτηρισμό/ρόλο του υπό μελέτη πενταπεπτιδίου ως 'αμυλοειδογόνου καθοριστή'/'επιρρεπούς σε συσσωμάτωση' πεπτιδίου, το οποίο θα πρέπει να παίζει σημαντικό ρόλο στην ιατρογενή αμυλοείδωση.

IDENTIFICATION OF A NOVEL 'AGGREGATION-PRONE'/ 'AMYLOIDOGENIC DETERMINANT' PENTAPEPTIDE IN THE SEQUENCE OF THE β-CHAIN OF HUMAN INSULIN

Roussou Anna [1], Louros Nikolaos [1], Tsiolaki Paraskevi [1], Baltatzis Georgios [2], Patsouris Efstratios [2], Iconomidou Vassiliki [1], Hamodrakas Stavros [1]

1/Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01, Greece-2/1st Department of Pathology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, 75 Mikras Assias, Goudi 11527, Greece

Insulin, a small polypeptide hormone that controls the levels of glucose in blood, forms amyloid-like fibrils both in vitro and in vivo (iatrogenic amyloidosis). To date, several studies of insulin's native conformation have been made and several models of amyloid fibril formation have been proposed. A pentapeptide -analogue of the C-terminal of the B-chain of human insulin was predicted by a consensus method for amyloid propensity (AMYLPRED) that was developed in our lab, as an amyloidogenic determinant/'aggregation-prone' peptide. This peptide was synthesized and it was studied experimentally in this work, by Congo Red staining and polarized light microscopy, ATR-FTIR, transmission electron microscopy (TEM) and X-ray fiber diffraction using oriented fibers formed by self-assembled amyloid-like fibrils from this pepntapeptide. The experimental results strongly indicate that this pentapetide is indeed an 'amyloidogenic determinant'/'aggregation-prone' peptide, which should play a significant role in iatrogenic amyloidosis.

ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗ ΔΡΟΣΟΦΙΛΑ ΑΠΟ ΗΜ ΠΕΔΙΟ ΓΕΝΝΗΤΡΙΑΣ CW/FM ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ (100-900 MHz), ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΕΝΤΑΣΕΙΣ

Νίκη Ε. Σαγιόγλου[1], Αικατερίνη Σ. Σκουρολιάκου[2], Ιωάννης Κ. Γιανναράκης[1], Λουκάς Χ. Μαργαρίτης[1]

1Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών , Πανεπιστημιόπολη, Ιλίσια ΤΚ 157842Τμήμα Φυσικής και Χημείας, ΤΕΙ Αθήνας, Αιγάλεω ΤΚ 12210

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει παρατηρηθεί ραγδαία αύξηση ασύρματων συσκευών που παράγουν ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαφορετικών συχνοτήτων, αλλά και η παρουσία μεγάλου αριθμού κεραιών σε κατοικημένες περιοχές, γεγονότα που καθιστούν αναγκαία τη μελέτη της επίδρασης των κυμάτων αυτών σε οργανισμούς-μοντέλα. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η σύγκριση της δράσης συνεχών κυμάτων (CW) έναντι κυμάτων που φέρουν διαμόρφωση συχνότητας (FM). Ως πρότυπο σύστημα μελέτης χρησιμοποιήθηκε η διαδικασία ωογένεσης του δίπτερου εντόμου Drosophila melanogaster αγρίου τύπου Oregon R. Έντομα ηλικίας 6 ημερών εκτέθηκαν για χρόνο 6 λεπτών σε διαφορετικές εντάσεις και συχνότητες στο κοντινό πεδίο της κεραίας. Η πηγή που χρησιμοποιήθηκε ήταν γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων τύπου HP 8924E CDMA MS SERVISE Test Set 30-1000MHz, ενώ οι συχνότητες που μελετήθηκαν ήταν: 100MHz (συχνότητες ραδιοφωνίας FM), 395MHz (συχνότητες επικοινωνίας TETRA), 682MHz (συχνότητες τηλεοπτικών σταθμών) και 900MHz (συχνότητες κινητής τηλεφωνίας GSM900). Η μέση τιμή έντασης ηλεκτρικού πεδίου Ε μετρήθηκε για 6 λεπτά σύμφωνα με τις οδηγίες τις ICNIRP, με φασματικό αναλυτή Narda SRM-3000. Οι τιμές SAR υπολογίστηκαν από τη σχέση SAR= σ E2/ρ με καθορισμένη ειδική αγωγιμότητα σ=1.19 Siemens/m και πυκνότητα μάζας ρ=1000 Kg/m3 για έντομα. Η ισχύς εξόδου που χρησιμοποιήθηκε ήταν 10dBm και μετρήθηκε σε τιμές ηλεκτρικού πεδίου για τις ακόλουθες συχνότητες και τιμές SAR στις διαμορφώσεις CW / FM αντίστοιχα, ως εξής: Για τα 100MHz 3.75 V/m 0.017 W/Kg, 5 V/m 0.030 W/Kg. Για τα 395MHz 8 V/m 0.076 W/Kg, 7.8 V/m 0.072W/Kg. Για τη συχνότητα 682MHz, 6V/m 0.043 W/Kg για CW και 4.6V/m, 0.025W/Kg για FM αντίστοιχα. Τέλος, για τη συχνότητα των 900MHz οι τιμές ήταν 3.1V/m με SAR 0.011W/Kg για CW και 3.2V/m με SAR 0.012W/Kg για FM. Έγινε επίσης μελέτη επιπτώσεων με χαμηλότερες εντάσεις 0dBm και -10dBm. Σε διάστημα 4-5 ωρών μετά την ακτινοβόληση αφαιρέθηκαν οι ωοθήκες των εντόμων και ακολούθησε ανίχνευση κατακερματισμένου DNA με πορτοκαλί της ακριδίνης. Η καταμέτρηση των αποπτωτικών ωοθυλακίων έγινε σε μικροσκόπιο φθορισμού. Τα αποτελέσματα της μελέτης αποδεικνύουν μια περισσότερο επιβλαβή επίδραση των διαμορφωμένων κυμάτων (FM) σε σχέση με τα συνεχή (CW) σε όλες τις συχνότητες και εντάσεις ακτινοβόλησης, εκτός αυτής των 395MHz όπου παρατηρήθηκε μεγαλύτερο ποσοστό αποπτωτικών ωοθυλακίων στο CW σήμα και που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης εάν πρόκειται για το λεγόμενο «παράθυρο συχνοτήτων βιολογικής δράσης» αν και καθημερινή ακτινοβόληση μιας ώρας για 5 ημέρες έδειξε την αναμενόμενη μεγαλύτερη επίδραση FM σήματος έναντι CW. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΘΑΛΗΣ – ΕΚΠΑ – MIS 375784 – Βιολογικές επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας: μια διεπιστημονική προσέγγιση. Συντονιστής Λ.Χ.Μ.

APOPTOTIC CELL DEATH IN DROSOPHILA OOGENESIS IS INDUCED BY CW/FM SIGNAL GENERATOR UNDER DIFFERENT MODULATION, FREQUENCIES AND POWER DENSITY

Niki E. Sagioglou [1], Aikaterini S. Skouroliakou [2], Yannis K. Giannarakis [1], Lukas H. Margaritis [1]

1Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, Athens University, Panepistimiopolis 15784, Athens, Greece2Department of Physics and Chemistry, TEI of Athens, Aigaleo 12210, Athens, Greece

In the last few decades a rapid increase in the use of wireless devises that produce electromagnetic waves has been observed. Also the presence of a large number of mast antennas in residential areas enhances the need to study the effects of those waves in model biological systems. In the current study we compared the induction in apoptotic cell death from continuous waves (CW) versus frequency modulated (FM) signals (signal generator type HP 8924E CDMA MS SERVISE Test Set 30-1000MHz) in various frequencies (100-900 MHz). As a model system we used the oogenesis process in the insect Drosophila melanogaster wild type Oregon R. The flies were exposed for 6 minutes during the 6th day of their lives at different intensities and frequencies in the near field of the antenna. Frequencies selected were 100MHz (corresponding to FM band), 395MHz (corresponding to the frequency range of TETRA - Trans European Trunked Radio Access), 682MHz (corresponding to the range of TV stations) and 900MHz (corresponding to mobile GSM-Global System for Mobile Communications). Average E-fIield intensity was measured for 6 minutes, according to ICNIRP (1998), with the Narda SRM-3000 spectrum analyzer. SAR values were calculated accordind to the formula SAR= σE2/ϱ with electric conductivity and density values defined for insects (σ=1.19 Siemens/m and ϱ=1000 Kg/m3). The output power used was 10dBm with E filed and SAR values at the CW/FM emission modes as follows: at 100MHz 3.75 V/m and 0.017 W/Kg for CW and 5 V/m and 0.030 W/Kg for the FM signal. At 395MHz, 8 V/m and 0.076 W/Kg for CW and 7.8 V/m and 0.072 W/Kg for the FM signal. At 682MHz the E-field was 6 V/m with SAR 0.043 for CW and 4.6 V/m with SAR 0.025 W/Kg for the modulated signal. Finally, at 900MHz E-field was 3.1 V/m and SAR 0.011 W/Kg for CW and 3.2 V/m and 0.012 W/Kg for the FM signal. We also used less power output that included 0dBm and -10dBm. A few hours (4-5) after exposure, ovaries were removed, stained with acridine orange for fragmented DNA and apoptotic follicles were counted under a fluorescence microscope. Our results demonstrate a more hazardous effect of the modulated (FM) waves compared to the continuous waves (CW) in all frequencies and intensities of irradiation, besides the frequency of 395MHz which induced a higher apoptotic value in the continuous signal, an observation that requires further investigation under the prism of the so called «frequency window of bioactivity". However, longer (1 h) and daily (5 days) exposure maintains the higher impact of FM vs. CW signals. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: THALES. Investing in knowledge society through the European Social Fund. UoA- MIS 375784 – Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: a multidisciplinary approach coordinated by L.H.M

ΤΡΑΝΣΚΡΙΠΤΟΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ BACTROCERA OLEAE ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΛΟΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ

Σαγρή Ευθυμία[1], Σαλπέα Κλέλια[2], Reczso Martin[2], Χαροκόπος Βαγγέλης[2], Ραγκούσης Γιάννης[2], Ματθιόπουλος Κώστας[1]

1/Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας- Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Λάρισα-Ελλάδα- 2/ Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών Αλέξανδρος Φλέμινγκ, Αθήνα-Ελλάδα

Η Ελλάδα είναι η τρίτη χώρα παγκοσμίως στην παραγωγή ελιάς, με κύρια προϊόντα τις επιτραπέζιες ελιές και το ελαιόλαδο. Ο σημαντικότερος εχθρός της ελιάς είναι ο δάκος, Bactrocera oleae, ένα έντομο που ανήκει στην οικογένεια των Tephritidae. Η οικονομική σπουδαιότητα της καλλιέργειας καθιστά το έντομο στόχο εναλλακτικών μεθόδων ελέγχου, όπως η τεχνική του στείρου εντόμου (SIT). Ωστόσο η αποτελεσματική SIT απαιτεί την κατανόηση των ειδών γενετικά, μοριακά και σε επίπεδο πληθυσμού. Για το σκοπό αυτό προχωρήσαμε στην τρανσκριπτομική ανάλυση του εντόμου, σε μια προσπάθεια να εντοπιστούν μονοπάτια και μηχανισμοί που εμπλέκονται τόσο σε συστήματα φυλοδιαχωρισμού αλλά και ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα όπως ο νατουραλίτης spinosad. Μέχρι τώρα, όλες οι προσπάθειες για τον εντοπισμό των γενετικών τόπων που συμμετέχουν σε διάφορες λειτουργίες στο έντομο B. oleae βασίστηκαν σε σύγκριση βάση ομολογίας με τα άλλα δίπτερα. Με την τρανσκριπτομική ανάλυση δύναται να διερευνηθεί η διαφορά της έκφρασης του τρανσκριπτόματος σε επιλεγμένες συνθήκες και να προσδιοριστούν μηχανισμοί που δρουν σε μετα-μεταγραφικό και μετα-μεταφραστικό επίπεδο. Σε μια πρώτη προσπάθεια να μελετηθεί η διαφορική έκφραση του τρανσκριπτόματος μεταξύ των δύο φύλων αλλά και των ευαίσθητων και ανθεκτικών στο spinosad εντόμων, συλλέχθηκαν συγκεκριμένοι ιστοί με την αναμενόμενη γονιδιακή έκφραση και ακολούθησε η μέθοδος RNA sequencing. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν περαιτέρω μέσω της βιοπληροφορικής και τα γονίδια που υπερεκφράζονται σε αρσενικά, θηλυκά, ανθεκτικά και ευαίσθητα έντομα μελετήθηκαν περαιτέρω λειτουργικά με real time PCR με σκοπό να διερευνηθεί η διαφορική έκφραση του προφίλ τους.

TRANSCRIPTOMICS ANALYSIS OF BACTROCERA OLEAE WITH EMPHASIS IN SEX SEPARATION AND INSECTICIDE RESISTANCE SYSTEMS

Sagri Efthymia[1], Salpea Klelia[2], Recszo Martin[2], Harokopos Vaggelis[2], Ragoussis John[2], Mathiopoulos Kostas[1]

1/University of Thessaly- Department of Biochemistry and Biotechnology, Larissa-Greece - 2/ Biomedical Sciences Research Center Alexander Fleming, Athens-Greece

Greece is the third olive producing country worldwide, both with regard to table olives and olive-oil. The most important enemy of the olive tree is the olive fruit fly, Bactrocera oleae, an insect which belongs to the Tephritidae family. Its economic importance makes the insect a target of alternative control methods such as the Sterile Insect Technique. However, an effective SIT necessitates an understanding of the species at the genetic, molecular and population level. Towards this purpose, we departed in the analysis of the transcriptome of the insect, in an effort to indentify pathways and mechanisms involved either in sex determination cascades or in insecticide resistance in the naturalyte spinosad. Till now, all efforts to identify genetic loci involved in different functions in B. oleae were based on homology comparisons with other diptera. The whole transcriptomic analysis intends to investigate the differential expression of the transcriptome at selected conditions and identify mechanisms acting at the post-transcriptional or post-translational level. In a first attempt to study the differential expression of the transcriptome of the two sexes and between sensitive and resistant flies in spinosad, specific tissues with the expected gene expression were collected and followed by RNA seq analysis. Results were further bioinformatically analyzed and the genes that were overexpressed in male, female, resistant and sensitive flies were functionally studied by real time PCR in order to investigate their differentially expressed profile.

Η ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ S3/K ΣΕ ΣΤΗΛΕΣ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΛΗΡΩΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΑΥΞΑΝΕΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ Cr(VI) ΣΕ Cr(III)

Σάκουλα Δήμητρα [1], Τίκα Ελισάβετ [1], Φατούρος Δημήτριος [2], Μπακανδρίτσος Αριστείδης [3], Σκούρας Ζαχαρίας [1], Γιάγκου Μηνάς [1]

[1]Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ [2]Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΑΠΘ [3]Τμήμα Επιστήμης των Υλικών, Πανεπιστήμιο Πατρών

Το βακτηριακό στέλεχος S3/K είναι ένα σιδηροβακτήριο, το οποίο απομονώθηκε από την ενεργό ιλύ μονάδας επεξεργασίας αστικών λυμάτων και έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται και να ανάγει υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI). Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η ικανότητα του μικροοργανισμού να ακινητοποιείται σε στήλες από διάφορα φυσικά πληρωτικά υλικά και νανοϋλικά. Πραγματοποιήθηκε ακινητοποίηση του στελέχους σε στήλες που αποτελούνταν από πριονίδι ξύλου Populus alba, πολυστυρένιο και υαλοβάμβακα. Αποδοτικότερη όλων αποδείχθηκε η στήλη που περιείχε πληρωτικό υλικό από πριονίδι ξύλου Populus alba, καθώς παρουσία του συγκεκριμένου υποστρώματος ο μικροοργανισμός ήταν ικανός να ανάγει έως και 800 mg/l Cr(VI) σε χρονικό διάστημα 168 ωρών. Περαιτέρω διερεύνηση της ανάπτυξης του μικροοργανισμού παρουσία καθαρής λιγνίνης και καθαρής κυτταρίνης έδειξε ότι, η λιγνίνη έχει την ικανότητα να απορροφά ορισμένη ποσότητα Cr(VI) (2600 mg/g λιγνίνης) γεγονός που εξηγεί την αυξημένη ικανότητα αναγωγής του Cr(VI) από το S3/K. Η κυτταρίνη έχει την ικανότητα να επιταχύνει το ρυθμό αναγωγής του Cr(VI), χωρίς ωστόσο, να μειώνει το χρόνο αναγωγής της ολικής συγκέντρωσης του. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν πειράματα ακινητοποίησης του μικροοργανισμού σε στήλες που περιείχαν ως πληρωτικό υλικό, ρινίσματα σιδήρου και παραμαγνητικά νανοσωματίδια σιδήρου διατεταγμένα σε μαγνητικό πεδίο. Παρουσία ρινισμάτων σιδήρου το βακτηριακό στέλεχος S3/K είναι ικανό να ανέχεται και να ανάγει έως και 500 mg/l Cr(VI). Αντίθετα, παρουσία των παραμαγνητικών νανοσωματιδίων σιδήρου ο μικροοργανισμός είναι ικανός να ακινητοποιείται πλήρως και να ανάγει ποσότητες χρωμίου ίσες με 250 mg/l Cr(VI). Παρατήρηση, κυττάρων του S3/K έπειτα από χρώση με Prussian blue έδειξε ότι, τα νανοσωματίδια εισέρχονται στο εσωτερικό των βακτηριακών κυττάρων γεγονός που εξηγεί την ακινητοποίησή τους στο μαγνητικό πεδίο. Συμπερασματικά, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση του μικροοργανισμού ως πιθανό μέσο για τη διαχείριση και βιοαπορρύπανση λυμάτων επιβαρημένων με Cr(VI).

IMMOBILISATION OF BACTERIAL STRAIN S3/K ON COLUMNS CONTAINING SEVERAL SUBSTRATES INCREASES REDUCTION OF Cr(VI) TO Cr(III)

Sakoula Dimitra [1], Tika Elisavet [1], Fatouros Dimitrios [2], Bakandritsos Aristeidis [3], Skouras Zacharias [1], Yiangou Minas [1]

1Dept. of Genetics, Dev. & Molecular Biology, School of Biology, AUTH 2Dept. of Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, AUTH 3Dept of Materials Science, University of Patras

Bacterial strain S3/K is an iron bacterium, isolated from activated sludge wastewater treatment plant, and has the capacity to reduce high concentrations of Cr(VI). In the present study we investigated the immobilization of S3/K in columns filled with natural substrates or nanomaterials. For this reason, immobilization of microorganism's cells in columns filled with Populus alba sawdust, plastic and glasswool was carried out. The most efficient of all were proven to be columns containing Populus alba sawdust, as in the presence of this particular substrate S3/K was able to tolerate and reduce up to 800 mg/l Cr(VI) within 168 hours. Further investigation of microorganism's growth in the presence of lignin or cellulose showed that lignin exhibit capacity to absorb a certain quantity of Cr(VI) (2600 mg/g of lignin), which explains the induced activity of Cr (VI) reduction by S3/K. Moreover, cellulose was capable of accelerating Cr(VI)'s reduction rate, without however reducing time needed for its total concentration to be reduced. Furthermore, we conducted experiments for S3/K's immobilization in columns containing as substrates iron fines and paramagnetic iron nanoparticles arranged in a magnetic field. In the presence of iron fines S3/K was able to tolerate and reduce up to 500 mg/l Cr(VI). In contrast, in the presence of paramagnetic iron nanoparticles S3/K was fully immobilized and able to simultaneously reduce up to 250 mg/l Cr(VI). Light microscopy of Prussian blue stained S3/K's cells showed that nanoparticles were capable of entering the cytoplasm. This fact explains the immobilization of S3/K's cells in the magnetic field. In conclusion, further experimentation is required and it is of particular interest to investigate S3/K's potential use for managing and bioremediation of wastewater contaminated with Cr(VI).

EX VIVO ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ CeO2 ΣΤΙΣ ΝΕΥΡΙΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΟΥ ΙΣΧΙΑΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ

Σαμσούρης Χρήστος
ΑΠΘ, ΕΚΕΤΑ

Η αυξημένη χρήση νανοσωματιδίων (ΝΣ) σε είδη ευρείας κατανάλωσης, όπως καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα, έχει προκαλέσει ανησυχία όσον αφορά τις συνέπειες στην υγεία των χρηστών. ΝΣ εισέρχονται στον οργανισμό από διάφορες οδούς. Για την είσοδο των ΝΣ στον εγκέφαλο οι νευρικές ίνες του οσφρητικού νεύρου είναι η μοναδική δίοδος όπως έχουν δείξει σχετικές έρευνες. Ο τρόπος μεταφοράς των ΝΣ προς τον εγκέφαλο έχει μελετηθεί in vivo με την εναπόθεση τους στο οσφρητικό επιθήλιο. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να αναπτύξουμε μια ex vivo μεθοδολογία που θα επιτρέπει την διερεύνηση της κίνησης των ΝΣ στο εσωτερικό των αξόνων. Χρησιμοποιήθηκαν νευρικές ίνες από το ισχιακό νεύρο του βατράχου που τοποθετήθηκε σε ένα ειδικό τρίχωρο σύστημα ηλεκτροφυσιολογικών καταγραφών που αποτελείται από τον χώρο διέγερσης, εμποτισμού και καταγραφής. Το σύστημα επιτρέπει την συνεχή, επί 48 ώρες, καταγραφή του συνθέτου δυναμικού ενέργειας (ΣΔΕ). Στο χώρο διέγερσης όπου βρίσκεται το αρχικό (proximal) τμήμα του ισχιακού νεύρου τοποθετήθηκε διάλυμα ΝΣ CeO2 (διαμέτρου 20-200nm) με συγκέντρωση 0,14 mg/L. Μετά τον μηδενισμό του ΣΔΕ, αδρανοποίηση του νεύρου, στις 40-50 ώρες, το νεύρο επεξεργάσθηκε με 20 % γλουταραλδεΰδη. Στη συνέχεια τα νεύρα επεξεργάστηκαν και η παρατήρηση των ΝΣ έγινε με FTIR-μικροσκόπιο. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως τα νανοσωματίδια στην συγκεκριμένη συγκέντρωση δεν παρουσιάζουν νευροτοξικότητα μιας και όλα τα νεύρα (μάρτυρες και εκτεθειμένα) έχουν τον ίδιο χρόνο ημιζωής 36 με 40 ώρες. Τα ΝΣ φαίνονται να κινούνται στις νευρικές ίνες χρησιμοποιώντας τους μοριακούς μηχανισμούς κίνησης των αξόνων και όχι με απλή διάχυση. Η απόσταση που διανύουν είναι περίπου 4-4,5 cm από το αρχικό (proximal) στο τελικό (distal) μέρος του ισχιακού. Τέλος, τα νανοσωματίδια φαίνονται να παρουσιάζουν μεγαλύτερη κινητικότητα όταν το νεύρο διεγείρεται συνεχώς για την παραγωγή ΣΔΕ.

E EX VIVO ASSESSMENT OF THE CeO2 NANOPARTICLES TRENSPORT IN THE NERVE FIBRES OF THE FROG SCIATIC NERVE

Samsouris Christos
AUTH, CERTH/CPERI

The increasing commercial use of nanoparticles (NPs), like in cosmetics and pharmaceutical products, has raised the public concern about their health impact. NPs enter the body in many ways. For their entrance to the brain, the only way is the olfactory nerves, as shown by other workers. . The way that NPs travel to the brain has been studied in vivo by application on the olfactory epithelium. In our research, we developed an ex vivo methodology based on the sciati nerve of the frog for the study of NPs movement inside of the nerve fibres. The nerve was placed in a three-chamber system for electrophysiological recordings that is composed of a stimulation, a perfusion and a recording chamber. The system allows a constant, 48 hours long recording of the nerve compound action potential (nCAP). In the stimulation chamber, the proximal part of the nerve was exposed to 0.14 mg/L solution of CeO2 NPs having a diameter of 20-200 nm. When the nCAP was eliminated, after 40-50 hours, the nerve was fixed with 20% glutaraldehyde. Following that, the nerves were treated and observed using an FTIR-microscope. The results have shown that the NPs in the current concentration do not show neurotoxicity since both control and NP-treated nerves show half lifespan time of 36 to 40 hours. The NPs seem to move in the neural fibers using the axon's molecular mechanisms and not just by diffusing. The distance of their movement is approximately 4-4,5 cm from the proximal to the distal part of the sciatic nerve. Finally, the NPs seems to move faster when the nerve is being stimulated to generate a nCAP.

ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΣΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

Σαράντη Ευαγγελία

1Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιον Αθηνών 2Εργαστήριο Έρευνας Μυοσκελετικού Συστήματος, Νοσοκομείο ''ΚΑΤ'', Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιον Αθηνών

Η εκτενής μελέτη του μεταβολισμού των οστών έχει αναδείξει ποικίλες ασθένειες που σχετίζονται με αυτόν. Τόσο η οστεοπόρωση όσο και η ατελής οστεογένεση χαρακτηρίζονται από μείωση της οστικής μάζας και ευθραυστότητα των οστών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί: G1546T του γονιδίου COL1A1, A1330V και V667M του γονιδίου LRP5 και ο πολυμορφισμός BsmI (g.63980G>A) στην περιοχή 3' του VDR σε 30 άτομα με ατελή οστεογένεση και οστεοπόρωση. Απομονώθηκε DNA από περιφερικό αίμα και η γονοτυπική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Real time PCR. Η μελέτη του πολυμορφισμού G1546T του COL1A1 γονιδίου έδειξε ότι 8% είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο T, 48% ετεροζυγώτες και 44% ομόζυγοι για το φυσιολογικό αλληλόμορφο. Στην ομάδα των ατόμων με οστεοπόρωση το μεγαλύτερο ποσοστό (84,5%) ήταν ομοζυγώτες για το φυσιολογικό αλληλόμορφο του πολυμορφισμού A1330V του LRP5 γονιδίου, σε αντίθεση με τον πολυμορφισμό V667M όπου το 100% ήταν ετεροζυγώτες. Το 42,9% και το 21,4% ήταν ετεροζυγώτες ή ομοζυγώτες για το φυσιολογικό αλληλόμορφο, αντίστοιχα, για τον πολυμορφισμό του γονιδίου VDR και 35,7% ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, η αυξημένη ετεροζυγωτία του πολυμορφισμού G1546T του γονιδίου COL1A1 στα άτομα με ατελή οστεογένεση καθώς και η υψηλή συχνότητα των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων του πολυμορφισμού V667M του γονιδίου LRP5 και του πολυμορφισμού του γονιδίου VDR στα άτομα με οστεοπόρωση, υποδηλώνουν τη σημαντικότητα της μελέτης των παραπάνω πολυμορφισμών σε νοσήματα του μεταβολισμού των οστών. Η ποικιλομορφία στα κλινικά χαρακτηριστικά όσο και η δυσκολία της διαφοροδιάγνωσης στα νοσήματα αυτά πολλές φορές, αναδεικνύει την ανάγκη της ταυτοποίησης της ασθένειας όχι μόνο με βάση τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά αλλά και τα γονοτυπικά δεδομένα με στόχο την καλύτερη πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία τους.

ANALYSIS OF POLYMORPHISMS IN GENES INVOLVED IN BONE METABOLISM

Saranti E.

1Department of Genetics &Biotechnology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens 2Laboratory for the Research of Musculoskeletal Systems, ''KAT'' Hospital, National and Kapodistrian University of Athens

Extensive studies on bone metabolism have revealed a variety of related disorders. Both osteoporosis and osteogenesis imperfecta (OI) are disorders that cause low bone mass and bone fragility. In the present study, we investigated the polymorphisms: G1546T in the COL1A1 gene, A1330V and V667M in the LRP5 gene and the BsmI polymorphism (g.63980G>A) in the 3' region of the VDR gene in 30 patients with OI and osteoporosis. Genomic DNA was isolated from peripheral blood samples. Genotyping was performed by Real Time PCR. Analysis of the polymorphism G1546T in the COL1A1 gene showed that 8% were homozygous for the mutant T allele, 48% were heterozygous and 44% were homozygous for the wild type allele. In the group of patients with osteoporosis, 84,5% were homozygous for the wild type allele of the polymorphism A1330V in the LRP5 gene, whereas 100% were heterozygous for the V667M polymorphism. Concerning the polymorphism in the VDR gene, 42,9% were heterozygous, 21,4% were homozygous for the wild type allele and 35,7% were homozygous for the mutant allele. Our results, such as the high frequency of the heterozygosity of the polymorphism G1546T in the COL1A1 gene in patients with OI in addition to the high frequency of the mutant alleles of the polymorphism V667M in the LRP5 and the polymorphism in the VDR gene in patients with osteoporosis, indicate the significance of the study of the above polymorphisms in bone disorders. The variety of the clinical features and the difficulty of carrying out differential diagnosis in these diseases, underline the necessity to distinguish bone disorders, not only based on the phenotypic/clinical but on genotypic data as well, in order to achieve the best prevention, diagnosis and cure.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟΥ ΤΗΣ ΔΕΚΑΠΕΠΤΙΔΙΟΥ

Σελεμενάκης Πλάτωνας[1,2], Τσιμαράτου Κατερίνα [1], Στιβαρού Ντόρα [1], Πατέρας Ιωάννης [1], Κοτσίνας Αθανάσιος [1], Τσιτσιλώνη Ουρανία[2], Γοργούλης Βασίλειος [1]

1/Ομάδα Μοριακής Καρκινογένεσης, Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Γουδί, Αθήνα 1152 - 2/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784

Η προθυμοσίνη α (προΤα) είναι ένα πολυπεπτίδιο μήκους 109 αμινοξέων, μέλος των α-θυμοσινών. Δρα ενδοκυτταρικά, ρυθμίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αναστέλλοντας την απόπτωση και εξωκυτταρικά δρώντας ανοσορυθμιστικά. Η εξωκυτταρική λειτουργία της ασκείται κυρίως από το καρβοξυτελικό της δεκαπεπτίδιο, προΤα(100-109), το οποίο, κατά την απόπτωση, αποκόπτεται από το υπόλοιπο μόριο από τις ενεργοποιημένες κασπάσες και εξωκυτταρώνεται. Έχει παρατηρηθεί αυξημένο ποσοστό έκφρασης της προΤα σε έντονα πολλαπλασιαζόμενους φυσιολογικούς ιστούς (πχ. νεανικό θύμο) όπως και σε πολλούς τύπους ανθρώπινου καρκίνου (πχ. μαστού, εντέρου, προστάτη, θυρεοειδούς). Ως εκ τούτου, η προΤα μπορεί να αποτελέσει σημαντικό μοριακό δείκτη πρόγνωσης και διάγνωσης του καρκίνου. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η έκφραση της προΤα σε διάφορους τύπους καρκίνου με ανοσοϊστοχημεία. Αναπτύξαμε αντίσωμα κουνελιού που αναγνωρίζει εξίσου καλά το προΤα(100-109) και την ακέραιη προΤα. Από τον αντιορό απομονώθηκαν οι ανοσοσφαιρίνες τάξης G (IgG). Χρησιμοποιώντας τις IgG σε αραίωση 1:1000, αρχικά προτυποποιήθηκαν οι κατάλληλες συνθήκες επεξεργασίας των δειγμάτων για την αποτελεσματικότερη αναγνώριση της προΤα από το αντίσωμα. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα HeLa, τα οποία ενδογενώς υπερεκφράζουν την προΤα. Μετά από ανοσοϊστοχημική χρώση παρατηρήθηκε αμιγώς πυρηνική εντόπιση της προΤα. Ακολούθησε ανοσοϊστοχημική ανάλυση δειγμάτων από καρκίνο του μαστού. Στα πρώτα δείγματα από in situ, διηθητικό και μεταστατικό (λεμφαδένας) καρκίνο του μαστού παρατηρήθηκε επίσης ισχυρό πυρηνικό σήμα στα κακοήθη κύτταρα σε σχέση με τον παρακείμενο υγιή ιστό, ενώ σε όλη την έκταση του διηθητικού και μεταστατικού ιστού παρατηρήθηκαν διάσπαρτα καρκινικά κύτταρα με πυρηνικό και κυτταροπλασματικό εντοπισμό του μορίου. Παράλληλα αναλύονται δείγματα από καρκίνο του προστάτη και τραχήλου της μήτρας διαφόρων σταδίων. Το ποσοστό έκφρασης της προΤα, όπως και ο υποκυτταρικός της εντοπισμός θα συσχετιστούν με τον πολλαπλασιασμό, τον τύπο και το στάδιο του καρκίνου. Χρηματοδότηση: FP7 REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

STUDY OF PROTHYMOSIN α DURING THE DEVELOPMENT OF NEOPLASIAS USING AN ANTIBODY RAISED AGAINST ITS CARBOXYTERMINAL DECAPEPTIDE

Selemenakis Platonas[1,2], Tsimaratou Katerina [1], Stivarou Dora [1], Pateras Ioannis [1], Kotsinas Athanassios [1], Tsitsilonis Ourania[2], Gorgoulis Vassilios [1]

1/Molecular Carcinogenesis Group, Laboratory of Histology-Embryology, Medical School, Goudi, Athens 1152 - 2/Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Athens 15784

Prothymosin α (proTα) is a polypeptide 109 amino acid long, member of α-thymosins. It functions intracellularly, controlling cell proliferation and inhibiting apoptosis, and extracellularly, as an immunomodulator. Its extracellular function is in principle mediated by the carboxy-terminal decapeptide proTα(100-109), which is cleaved from the intact molecule by activated caspases during apoptosis, and subsequently is exocytosed. Increased expression of proTα has been reported in highly proliferating normal tissues (eg. young thymus), and in many types of human cancer (eg. breast, colon, prostate and thyroid). Therefore, proTα may be considered as an important molecular biomarker for the early prognosis/diagnosis of cancer. In the present report, we studied proTα expression in various types of cancer by immunohistochemistry. We generated rabbit antibodies recognizing equally well proTα(100-109) and intact proTα and isolated the G-class immunoglobulins from the antiserum. These were further used at a 1:1000 dilution to initially establish the optimal conditions for sample processing ensuring the efficient recognition of proTα by the antibody. As a control, we used HeLa cells, which endogenously overexpress proTα. After immunohistochemical staining, we observed that proTα was exclusively localized in the cell nucleus. We further performed immunohistochemical analysis of breast cancer samples. In the first samples from in situ, invasive and metastatic (lymphnode) breast cancer tissues, we also detected a strong nuclear staining in the malignant cells compared to the adjacent normal tissue, while in the entire area of the invasive and metastatic tissues we observed dispersed cancer cells with both nuclear and cytoplasmatic localization of the molecule. In parallel, we are analyzing samples from prostate and cervix cancer of different stages. The expression of proTα and its subcellular localization will be correlated with proliferation, type and stage of cancer. Funding: FP7 REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

ΕΧ VIVO ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΗ ΙΟΝΙΖΟΥΣΑΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΒΑΣΗΣ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΣΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΣΠΕΡΜΑ

Ρ.Π. Σελίμου[1], Α.Κ. Μαντά[1], Α.Α. Αργυρίου[2], Π.Ε. Γιαννίτση[2], Λ.Χ Μαργαρίτης[1]
1.Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,Τμήμα βιολογίας ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολη Ιλίσια, ΤΚ 15784,2.Εργαστήριο Εξωσωματικής Γονιμοποίησης, MEDIMALL, Πύργος Αθηνών, ΤΚ 11527

Η ολοένα αυξανόμενη χρήση πηγών μη ιονίζουσας ακτινοβολίας στην καθημερινότητα, εγείρει ερωτηματικά για την ασφάλεια της ανθρώπινης υγείας. Προς αναζήτηση απαντήσεων, σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης ΗΜΑ βάσης ασύρματου τηλεφώνου σε ανθρώπινα σπερματοζωάρια και η παρατήρηση τυχόν αλλαγών σε ποιοτικές παραμέτρους που χαρακτηρίζουν την γονιμοποιητική ικανότητα. Για τον σκοπό αυτό, δείγματα νωπού σπέρματος υποβλήθηκαν σε συνεχή ακτινοβόληση βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT (1880 - 1890 MHz), διάρκειας μιας ώρας, με μέση τιμή έντασης ηλεκτρικού πεδίου Ε=2,7 V/m. Αρχικά, ελέγχθηκε η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και παρατηρήθηκε σαφής μείωση στα ακτινοβολημένα δείγματα συγκριτικά με τα δείγματα- μάρτυρες. Πραγματοποιήθηκε ανίχνευση, μέσω φθορισμομετρίας, τυχόν αλλαγών στα επίπεδα των ελευθέρων ριζών και συγκεκριμένα των «ενεργών ριζών οξυγόνου» (ROS – reactive oxygen species). Στα ακτινοβολημένα δείγματα διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων ROS έναντι των μαρτύρων. Τέλος, εξετάσθηκε τυχόν επίδραση της ΗΜΑ στο DNA των σπερματοζωαρίων, μέσω χρώσης με πορτοκαλί της ακριδίνης. Παρατήρηση των δειγμάτων σε μικροσκόπιο φθορισμού, έδειξε αύξηση του ποσοστού φθορισμού των σπερματοζωαρίων στα ακτινοβολημένα δείγματα σε σύγκριση με το ποσοστό των αντίστοιχων μαρτύρων. Κατά συνέπεια, συμπεραίνεται ότι το ανθρώπινο σπέρμα είναι ευάλωτο στην έκθεση σε ΗΜΑ, η οποία είναι ικανή να προκαλέσει μείωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων, αύξηση των επιπέδων ROS και βλάβες στο DNA τους, συμβάλλοντας ενδεχομένως στην ανδρική υπογονιμότητα. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΘΑΛΗΣ – ΕΚΠΑ – MIS 375784 – Βιολογικές επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας: μια διεπιστημονική προσέγγιση" . Συντονιστής Λ.Χ.Μ.

EX VIVO STUDY OF EFFECT OF NON IONIZING ELECTROMAGNETIC RADIATION EMITTED FROM DECT BASE IN HUMAN SPERM

R. Selimou[1], A.K.Manta[1], A.A.Argyriou[2], P.E. Giannitsi[2], L.H.Margaritis[1]
1. Departement of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopoli, Ilisia 15784, 2. IVF Laboratory, MEDIMALL, Pyrgos Athinon 11527

The increasing use of sources of non-ionizing radiation in everyday life raises questions about the safety of human health. Looking for answers, the aim of this work was to study the effect of EMF emitted by a base of cordless DECT-type phone in human spermatozoa and the observation of possible changes in quality parameters, which characterize the fertilizing ability. For this purpose, samples of fresh sperm were continuously irradiated by Wireless DECT base (1880-1890 MHz), for one hour, with an average value of electric field strength E = 2,7 V/m. Initially, mobility of spermatozoa was tested and showed a clear decrease in the irradiated samples compared to controls. Moreover, potential changes in the levels of free radicals, and especially reactive oxygen species (ROS) were examined by fluorescent spectroscopy. Exposed samples showed statistically significant increase in ROS levels compared to controls. Finally, any effect of EMF in the DNA of sperm was performed by acridine- orange staining. Observation of the samples by fluorescent microscopy showed an increase in the rate of fluorescent sperm of the irradiated samples compared to the percentage of the controls, respectively. Consequently, it is concluded that human sperm is vulnerable to EMF exposure, which causes a decrease in spermatozoa motility, increased ROS levels and DNA damage, possibly contributing to male infertility. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: THALES. Investing in knowledge society through the European Social Fund. UoA- MIS 375784 – Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: a multidisciplinary approach coordinated by L.H.M.

Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ PLERIXAFOR+G-CSF ΚΙΝΗΤΟΠΟΙΕΙ ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (HSCs) ΜΕ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΗΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΣΕ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΟΝΤΙΚΟΥ ΜΕ ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑ

Σιαμέτης Αθανάσιος[1,2], Ψαθά Νικολέττα[1,2], Σγουραμάλη Ελένη[1,2], Γούναρη Ελένη[1,2], Χρυσικοπούλου Έλενα[1,2], Αναγνωστόπουλος Αχιλλεύς[1], Γιάγκου Μηνάς[2], Γιαννάκη Ευαγγελία[1]

1/Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική-ΜΜΜΟ, Νοσοκομείο Γ.Παπανικολάου Θεσσαλονίκη - 2/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ, Θεσσαλονίκη

Η Γονιδιακή θεραπεία αντιπροσωπεύει πλέον ρεαλιστική θεραπευτική προσέγγιση για τη θαλασσαιμία και το κινητοποιημένο περιφερικό αίμα την προτιμώμενη πηγή HSCs για γενετική τροποποίηση. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να προσδιοριστεί η βέλτιστη στρατηγική κινητοποίησης που θα αποδώσει υψηλό αριθμό HSCs με αυξημένη ικανότητα εμφύτευσης και επαναποικισμού του μυελού των οστών (ΜΟ) σε πειραματικό μοντέλο θαλασσαιμίας. Ολικό περιφερικό αίμα από 3 θαλασσαιμικούς δότες (Hbbth-3/45.2+) που κινητοποιήθηκαν με G-CSF ή Plerixafor ή το συνδυασμό Plerixafor+G-CSF μεταμοσχεύθηκε σε μονήρεις συγγενεϊκούς λήπτες (B6.BoyJ/45.1+), μαζί με 0.5X106 κύτταρα ΜΟ του λήπτη (3:1 ανταγωνιστική μεταμόσχευση), μετά από ολόσωμη ακτινοβόληση. Η κινητοποίηση αξιολογήθηκε ως απόλυτος αριθμός των Lin-/sca-1+/c-kit+ κυττάρων (LSKs) και CFU-GM στο περιφερικό αίμα με κυτταρομετρία ροής (FCM). Το ποσοστό εμφύτευσης ελεγχόταν μηνιαία βάσει της χίμαιρας του δότη στο αίμα του λήπτη με FCM (% 45.2+ κυττάρων στα 45.1+ ζώα). Η αιματολογική αποκατάσταση των ληπτών εκτιμήθηκε βάσει του απόλυτου αριθμού λευκοκυττάρων στις 14, 21 και 28 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση. Έξι μήνες μετά την πρωτογενή μεταμόσχευση πραγματοποιήθηκε δευτερογενής, μη ανταγωνιστική μεταμόσχευση. Η κινητοποίηση με Plerixafor+G-CSF απέδωσε σημαντικά περισσότερα LSKs και CFU-GM έναντι των άλλων μεθόδων ($p<0.001$, $p<0.05$). Τα Plerixafor+G-CSF κύτταρα επέτυχαν ταχύτερη αιματολογική αποκατάσταση και σημαντικά υψηλότερα ποσοστά εμφύτευσης, σε σχέση με τα G-CSF- ή Plerixafor- κινητοποιημένα κύτταρα ($p\leq0.05$). Η υπεροχή αυτή πιθανόν οφείλεται στον σημαντικά αυξημένο αριθμό αρχέγονων και προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων στο Plerixafor+G-CSF μόσχευμα, έναντι των υπολοίπων ($p<0.05$). Η υπεροχή εμφύτευσης διατηρήθηκε και στις δευτερογενείς μεταμοσχεύσεις, υποδεικνύοντας και ποιοτικό πλεονέκτημα των κινητοποιημένων με Plerixafor+G-CSF κυττάρων. Συνοψίζοντας, τα κινητοποιημένα με Plerixafor+G-CSF HSCs αποτελούν βέλτιστη πηγή μοσχεύματος για τη γονιδιακή θεραπεία της β-θαλασσαιμίας, λόγω της αποτελεσματικότερης κινητοποίησης, της ταχύτερης αιματολογικής αποκατάστασης και της υπεροχής τους στην εμφύτευση.

THE COMBINATION OF PLERIXAFOR+G-CSF MOBILIZES HEMATOPOIETIC STEM CELLS (HSCs) WITH ENHANCED ENGRAFTING AND LONG-TERM REPOPULATION CAPACITY

Siametis Athanasios[1,2], Psatha Nikoletta[1,2], Sgouramali Eleni[1,2], Gounari Eleni[1,2], Chrysikopoulou Elena[1,2], Anagnostopoulos Achilles[1], Yiangou Minas[2], Yannaki Evangelia[1]
1/Gene and Cell Therapy Center, Hematology-BMT Unit, G.Papanicolaou Hospital, Thessaloniki - 2/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

Gene therapy (GT) represents a realistic potential for thalassemia and the mobilized peripheral blood is the preferable HSC source for genetic modification. The aim of the present study is to determine the optimal mobilization strategy that yields high numbers of HSCs with enhanced engrafting and long-term repopulation capacity in a thalassemic mouse model. Total blood from 3 thalassemic donors (Hbbth-3/45.2+) mobilized by G-CSF-alone, Plerixafor-alone or the combination of both was infused into lethally irradiated congenic mice (B6.BoyJ/45.1+), along with 0.5X106 45.1+ competitor bone marrow (BM) cells. Mobilization was evaluated by flow cytometry (FCM) as the absolute numbers of Lin-/sca-1+/c-kit+ cells and CFU-GM in donors' blood. Donor chimera was tested monthly by FCM as the frequency of 45.2+ cells in recipients' blood. Hematological recovery was assessed by white blood counts at 14, 21 and 28 days post-transplantation. To evaluate the repopulating/self-renewal activity of mobilized HSCs, 6 months after primary transplantation, BM cells from competitively engrafted mice were injected into lethally-irradiated secondary recipients in a noncompetitive manner (secondary transplantation). Mobilization with Plerixafor+G-CSF- yielded significantly higher numbers of LSKs and CFU-GM over G-CSF-alone or Plerixafor-alone ($p<0.001$, $p<0.05$). Also, Plerixafor+G-CSF-mobilized cells achieved earlier hematological reconstitution and increased donor chimera over G-CSF- or Plerixafor-mobilized cells in the transplanted mice ($p\leq0.05$). The superior engraftment of Plerixafor +G-CSF cells probably reflected the higher stem/progenitor cell content in the grafts mobilized by the combination ($p<0.05$). However, a qualitative engraftment benefit of Plerixafor+G-CSF cells was also evident in secondary mice, as the chimerism levels were maintained or even increased over primary transplantation. Overall, Plerixafor+G-CSF-mobilized HSCs represent an optimal graft for GT of thalassemia because of more efficient mobilization, faster hematological recovery and superiority in engraftment over single-agent-mobilized cells.

ΚΕΛΥΦΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ Mastus ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΓΕΩΜΕΤΡΙΚΗΣ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ

Σιταρά Κυπαρισσία[1], Κοτσακιόζη Παναγιώτα[2], Παρμακέλης Αριστείδης[1]
1/Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα- 2/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα

Το γένος Mastus (Gastropoda, Pulmonata, Buliminidae) έχοντας ολο-μεσογειακή εξάπλωση περιλαμβάνει 33 είδη, από τα οποία 26 διαφοροποιούνται στον χώρο του Αιγαίου (23 είναι ενδημικά του Αιγαίου και 18 από αυτά κατανέμονται μόνο στην Κρήτη). Στο Αιγαίο εμφανίζει μεγάλο βαθμό μορφολογικής διαφοροποίησης σε αντίθεση με τη μονομορφικότητα που εμφανίζει στο μεγαλύτερο μέρος της υπόλοιπης κατανομής του. Η μελέτη της κελυφικής διαφοροποίησης των χερσαίων σαλιγκαριών είναι ιδιαιτέρως σημαντική καθώς πολλά χαρακτηριστικά του κελύφους χρησιμοποιούνται για τη συστηματική κατάταξη των ειδών. Ωστόσο, κάποια από αυτά ενδέχεται να αποτελούν προσαρμογές στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η μορφολογία του κελύφους στο Mastus εμφανίζει μεγάλο βαθμό ομοπλασίας ιδιαίτερα εντός της Κρήτης και από τις μέχρι τώρα μελέτες φαίνεται ότι οι διάφορες κελυφικές μετρήσεις μπορούν να ξεχωρίσουν ικανοποιητικά ορισμένα μόνο είδη, καθώς επίσης ότι οι σχέσεις των ειδών με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του κελύφους δεν συνάδουν με την υπάρχουσα ταξινόμηση. Συνεπώς, υπάρχουν ενδείξεις ότι πολλά μορφολογικά χαρακτηριστικά ίσως αποτελούν αποκρίσεις στο περιβάλλον. Στην εργασία αυτή, πραγματοποιείται για πρώτη φορά μελέτη της κελυφικής διαφοροποίησης του γένους αυτού σε ένδο- και δια-ειδικό επίπεδο, με γεωμετρική μορφομετρία. Με τη μέθοδο αυτή μπορούν να αποκαλυφθούν λεπτές διαφορές στη μορφολογία των υπό μελέτη ειδών/πληθυσμών που δεν είναι εμφανείς με την κλασσική μορφομετρία. Στη συνέχεια, αυτές μπορούν να εξεταστούν ως προς τη συσχέτιση τους με περιβαλλοντικές συνθήκες.

THE DIFFERENTIATION OF THE GENUS Mastus IN GREECE USING MORPHOMETRIC GEOMETRICS.

Sitara Kyparissia[1], Kotsakiozi Panayiota[2], Parmakelis Aristeidis[1]

1/Faculty of Biology, Department of Ecology and Systematics, University of Athens, Panepistimioupoli Ilisia, GR-15784, Athens, Greece- 2/ Faculty of Biology, Department of Animal and Human physiology, University of Athens, Panepistimioupoli Ilisia, GR-15784, Athens, Greece.

The genus Mastus (Gastropoda, Pulmonata, Buliminidae) exhibits circum-Mediterranean distribution and includes 33 species, 26 of which are differentiated in the area of Aegean (23 are endemic to the Aegean and 18 of them are distributed only in Crete). In the Aegean there is a great extent of morphological differentiation compared to the invariability that is exhibited in the larger part of its remaining distribution. The study of land snails' shell diversification is particularly important, as shell characters are traditionally used in land snails' systematics. However, some of these characters may reflect adaptations to local environmental conditions. The shell morphology of Mastus exhibits great homoplasy, especially in Crete. Furthermore, according to literature, it seems that only certain species can be effectively distinguished based on shell features. In addition, species' relationships based on shell characters, are not congruent with the current classification. Therefore, there are indications that many of the morphological characters may be of adaptative nature. In this study, shell differentiation of this genus, is approached for the first time, at the intra- and inter-specific level, using geometric morphometrics. Implementing this methodology allows subtle morphological differences of the studied species/populations to be revealed. Following this, the identified differences can be analyzed for their correlation with the environmental conditions.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ C825T ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ GNB3 ΜΕ ΤΗΝ ΑΘΛΗΤΙΚΗ ΕΠΙΔΟΣΗ

Σκεντέρης Νικόλαος-Ταξιάρχης, Παπαδημητρίου Ιωάννης, Κουβάτση Αναστασία
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Η υψηλή αθλητική επίδοση είναι ένας πολύπλοκος φαινότυπος που επηρεάζεται από πολλούς περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες και έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης αρκετών ερευνητών. Αρκετοί πολυμορφισμοί έχουν συνδεθεί με την φυσική κατάσταση, ώστε να χαρακτηρίσουμε αυτή ως ένα πολυγονιδιακό χαρακτηριστικό. Αντικείμενο μελέτης της εργασίας μας είναι η διερεύνηση της συμβολής του πολυμορφισμού rs5443 (C825T) του γονιδίου GNB3 στην αθλητική επίδοση υψηλού επιπέδου. Το γονίδιο κωδικοποιεί την Gβ3 υπομονάδα της οικογένειας των G πρωτεϊνών. Η ανάλυση της γενετικής σύστασης έγινε σε 107 Ελληνες αθλητές παγκοσμίου επιπέδου (78 δύναμης και 28 αντοχής) και σε 136 τυχαία άτομα του ελληνικού πληθυσμού–μη αθλητές. Πραγματοποιήθηκε απομόνωση του DNA από λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος με τη μέθοδο της φαινόλης, και ενισχύθηκε ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός με PCR με ειδικά σχεδιασμένους εκκινητές. Τα προϊόντα της PCR υπέστησαν πέψη με το ένζυμο περιορισμού BsaJI και στη συνέχεια διαχωρίστηκαν σε πηκτή αγαρόζης. Υπολογίστηκαν οι συχνότητες των αλληλομόρφων, των γενοτύπων και έγινε έλεγχος για ισορροπία Hardy-Weinberg στις πληθυσμιακές ομάδες. Η σύγκριση των συχνοτήτων μεταξύ των ομάδων αθλητών – μαρτύρων, αθλητών ταχύτητας – μαρτύρων, αθλητών αντοχής – μαρτύρων και αθλητών ταχύτητας – αθλητών αντοχής έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0,05$), γεγονός που σημαίνει ότι ο πολυμορφισμός σχετίζεται με την αθλητική επίδοση. Η συχνότητα του γενοτύπου GNB3 825CC είναι υψηλότερη στους αθλητές δύναμης, ενώ η συχνότητα του γενοτύπου GNB3 825CT είναι υψηλότερη στους αθλητές αντοχής. Σε προηγούμενη μελέτη δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού C825T και της αθλητικής επίδοσης.

ASSOCIATION OF THE OF THE GNB3 C825T POLYMORPHISM WITH ATHLETIC PERFORMANCE

Skenteris Nikolaos- Taxiarchis, Papadimitriou Ioannis, Kouvatsi Anastasia
Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki , 54124 Thessaloniki

Athletic ability is a complex phenotype influenced by both environmental and genetic factors. Many polymorphisms have been correlated with physical fitness, so we should characterize that the athletic performance is a polygenic trait. This study was designed to analyze the GNB3 C825T polymorphism frequency distribution within elite athletes group and non athletes groups in the Greek population. The GNB3 gene encodes the Gβ3 subunit of G proteins. A total of 107 elite athletes were included in the study, they had participated in national/international track and field championship. Athletes were divided into two groups: i) endurance athletes (28 samples) and ii) power athletes (78 samples). The control group consisted of 136 non-athletes Greek healthy individuals. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes using the phenol protocol method. Genotyping of the GNB3 C825T polymorphism was performed using polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The amplified fragments underwent digestion by BsaJI under conditions recommended by manufacturer. The alleles and genotypes frequencies were estimated and the Hardy-Weinberg equilibrium was tested for all population groups. We observed a statistically significant difference in GNB3 C825T polymorphism genotype frequencies between endurance athletes and controls, power athletes and controls as well as between endurance and power athletes. The GNB3 825CC genotype is higher in elite power athletes, while the GNB3 825CT is higher in elite endurance athletes. Earlier studies did not find an association between the GNB3 C825T polymorphism and elite athletic status in population samples from Israel and Spain.

ΦΩΤΟΛΥΤΙΚΗ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΚΑΙ ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΥΠΟΒΑΘΜΙΣΗ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΗΣ 2-ΧΛΩΡΟΠΥΡΙΔΙΝΗΣ ΣΕ ΥΔΑΤΙΚΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

Σκουτέλης Χαράλαμπος, Αντωνοπούλου Μαρία, Κωνσταντίνου Ιωάννης, Παπαδάκη Μαρία, Βλαστός Δημήτρης

*Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδας, Γ. Σεφέρη 2, 30100 Αγρίνιο, *email: dvlastos@cc.uoi.gr*

Η ευρύτατη χρήση των αλογονομένων πυριδίνων στη βιομηχανία φαρμάκων, καλλυντικών και αγροχημικών και η μερική απομάκρυνσή τους με συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας αποβλήτων έχει ως αποτέλεσμα την ανίχνευση αυτών και των μεταβολιτών τους σε βιομηχανικά και αστικά απόβλητα. Σε προγενέστερη μελέτη της φωτολυτικής επεξεργασίας υδατικών διαλυμάτων 2-χλωροπυριδίνης (2-chloropyridine, 2-CPY), παρατηρήθηκε αύξηση της γενοτοξικότητας του διαλύματος στα πρώτα στάδια, λόγω της παρουσίας προϊόντων διάσπασης της μητρικής ένωσης. Στην παρούσα μελέτη εκτιμήθηκε η γενοτοξική υποβάθμιση σε συνδυασμό με τη φωτολυτική διάσπαση των παραπροϊόντων επεξεργασμένων υδατικών διαλυμάτων 2-CPY. Στο επεξεργασμένο διάλυμα προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του υποστρώματος και των παραπροϊόντων καθώς και η γενοτοξικότητα τους. Η γενοτοξική δράση των φωτολυτικών παραγώγων της 2-CPY προσδιορίστηκε με την εφαρμογή της τεχνικής των μικροπυρήνων (micronuclei, MN) με χρήση κυτταροχαλασίνης-Β (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. Για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των προϊόντων διάσπασης χρησιμοποιήθηκε αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Εξετάστηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις (5, 10 και 25 μg ml-1) τεσσάρων παραγώγων της 2-CPY και παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική επαγωγή MN σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις στα τρία παράγωγα. Πραγματοποιήθηκαν φωτολυτικά πειράματα σε υδατικά διαλύματα 0.2 L με 2 g L-1 2-CPY σε φυσικό pH, με χρήση UV στα 254 nm, σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου με ανακυκλοφορία. Η γενοτοξικότητα του φωτο-κατεργαζόμενου διαλύματος μεγιστοποιήθηκε ή/και παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα στα μέγιστα των συγκεντρώσεων των παραγόμενων φωτο-προϊόντων. Φωτολυτική επεξεργασία σε παρατεταμένους χρόνους οδήγησε στην υποβάθμιση της γενοτοξικότητας του διαλύματος στο επίπεδο του μάρτυρα.

PHOTOLYTIC DESTRUCTION AND GENOTOXICITY REDUCTION OF 2-CHLOROPYRIDINE BY-PRODUCTS IN AQUEOUS SOLUTIONS

Skoutelis Charalambos, Antonopoulou Maria, Konstantinou Ioannis, Papadaki Maria, Vlastos Dimitris

*Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Western Greece, Seferi 2, 30100 Agrinio, *email: dvlastos@cc.uoi.gr*

Halogenated pyridines are extensively used by the pharmaceutical, cosmetics and agrochemical industry. Their wide use has resulted in the identification of these and their metabolites in wastewaters. As pollutants are persistent and their removal is not possible by conventional treatment methods. In our previous work where the photolytic treatment of 2-chloropyridine (2-CPY) has been investigated, an increase of solution's genotoxicity was observed, in early treatment stages, due to the formation of 2-CPY by-products. The aim of this study is to investigate the photolytic destruction and genotoxicity reduction of 2-CPY by-products in aqueous solutions. 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. The identification and quantification of 2-CPY photocatalytic by-products were performed via GC-MS as well as HPLC analysis. Substrate concentration, intermediates concentration and solution genotoxicity were measured as a function of treatment time. 5, 10 and 25 μg ml-1 concentration treatments of four 2-CPY photo-products were tested in cultured human lymphocytes applying the CBMN assay. All solution concentrations of three of 2-CPY photo-products were found to be genotoxic. Photolytic experiments of 0.2 L with 2 g L-1 of 2-CPY in aqueous solution's at ambient pH, were conducted by means of UV irradiation at 254 nm in a batch reactor with internal recycle. Results showed that genotoxicity of phototreated solution's was maximized or/and maintained at high levels when 2-CPY intermediates' concentrations peaked. The genotoxicity of phototreated solutions was reduced near to the control level after prolonged UV irradiation.

ΑΠΟΑΔΕΝΥΛΑΣΕΣ ΚΑΙ microRNAs: ΜΙΑ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΣΧΕΣΗ;

Σκουτνικ Διάνα[1], Μαραγοζίδης Π.[1,2], Κυριτσης Α.[1], Valerio del Vescovo[3], Χατζηλεοντιάδου Δήμητρα, Γουργουλιάνης Ι.Κωνσταντίνος, Miclela-Alessandra Denti[3], Μπαλατσός Νικόλαος Α.Α.

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ1
Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece 2
Respiratory Medicine Department, School of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece 3
Centre for Integrative Biology, University of Trento, Trento, Italy ,ΠΑΝΕΠΙΣΤΉΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ(ΛΑΡΙΣΑ)

Στον καρκίνο, η απορρύθμιση της σταθερότητας των mRNAs μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη σύνθεση των προϊόντων ογκογονιδίων ή / και μείωση των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών. Τα microRNAs (miRNAs) και οι αποαδενυλάσες είναι και οι δύο βασικοί παράγοντες που ελέγχουν την αφθονία των mRNAs· τα πρώτα στοχεύοντας προς αποσύνθεση ειδικά mRNAs, και οι τελευταίες καταλύοντας το πρώτο βήμα στην αποικοδόμηση των mRNAs, δηλαδή στη βράχυνση της πολύ-(Α) ουράς. Πολλά miRNAs έχουν βρεθεί να εμπλέκονται σε κακοήθειες, ενώ αποαδενυλάσες δείχνουν διαφοροποιημένη έκφραση σε οξείες λευχαιμίες. Πρόσφατες έρευνες έχουν αποκαλύψει μια άμεση σύνδεση μεταξύ miRNA-σχετιζόμενων πρωτεϊνών και αποαδενυλασών. Στηριζόμενοι στα προηγούμενα, μελετάμε τη σύνδεση μεταξύ της έκφρασης miRNAs και αποαδενυλασών στον καρκίνο. Στην παρούσα εργασία, με τη χρήση shRNAs έγινε γονιδιακή σίγηση των αποαδενυλασών PARN και CNOT6L, στην ανθρώπινη κυτταρική σειρά από καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων του πνεύμονα (NCI-H520). Ακολούθησε εξέταση του προτύπου έκφρασης miRNAs με μικροσυστοιχίες (microarrays), η οποία κατέδειξε μια σειρά από miRNAs με απορυθμισμένη έκφραση. Προκειμένου να επιλεγούν και να εξεταστούν συγκεκριμένα miRNAs ως προς την αλληλεπίδρασή τους με τις δύο αποαδενυλάσες, τα αποτελέσματα που εξήχθησαν από τις μικροσυστοιχίες, συνδυάστηκαν με in silico υπολογιστικές μεθόδους πρόβλεψης δυνητικών miRNAs, τα οποία στοχεύουν εξειδικευμένα τις αποαδενυλάσες στην 3'-UTR περιοχή τους. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν τα υπολογιστικά προγράμματα TargetScan, PITA, miRanda και HOCTAR. Επιλέχθηκαν τα ανθρώπινα miR-29a και miR-181a τα οποία υπερεκφράστηκαν στα κύτταρα NCI H520 ξεχωριστά. Η υπερέκφραση ελέγχθηκε με qRT-PCR, ενώ με qRT-PCR προσδιορίστηκαν και τα επίπεδα των mRNA των αποαδενυλασών PARN και CNOT6L.

DEADENYLASES AND miRNA EXPRESSION: A DYNAMIC RELATION?

Diana Scutelnic[1], Panagiotis Maragozidis[1,2], Athanasios Kyritsis[1], Valerio del Vescovo[3], Dimitra Chatzileontiadou[1], Konstantinos I. Gourgoulianis[2],, Miclela-Alessandra Denti[3], Nikolaos A.A. Balatsos[1]

Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly 1 Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece 2 Respiratory Medicine Department, School of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece 3 Centre for Integrative Biology, University of Trento, Trento, Italy (Larissa)

In cancer, deregulation of mRNA stability can lead to increased synthesis of oncogene products and / or decrease of tumor suppressor proteins. microRNAs (miRNAs) and deadenylases are both key players that control mRNA abundance; the former by targeting specific mRNAs for decay, the latter by catalyzing the first step in mRNA degradation, i.e. the shortening of poly(A) tails. Many miRNAs have been found to implicate in malignancies, while deadenylases show altered expression in acute leukemias. Recent work has revealed a direct link between miRNA-associated proteins and deadenylases. Based on the previous, we study the link between miRNA and deadenylase expression in cancer. In the present work, we silence the expression of PARN and CNOT6L deadenylases using shRNAs, in the human cell line of squamous cell lung cancer (NCI-H520), and analyse the levels of miRNA content by miRNA microarrays. Examination of the expression pattern showed a number of miRNAs with deregulated expression. In order to select and examine particular miRNAs for their putative interactions with both deadenylases (PARN and CNOT6L), the results obtained from microarrays, were combined with in silico computational prediction methods so as to predict potential miRNAs, which target specifically the two deadenylases at their 3'-UTR. For this purpose, the computational programs TargetScan, PITA, miRanda and HOCTAR, were used. The selected human miRNAs, miR-29a and miR-181a, were separately overexpressed in NCI H520 cells. The overexpression was confirmed with qRT-PCR, followed by mRNA levels quantitation of the deadenylases PARN and CNOT6L also with qRT-PCR.

Η ΑΣΙΤΙΑ ΚΑΙ ΟΙ ΚΥΜΑΙΝΟΜΕΝΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΚΡΑΝΙΟ (Argyrosomus regius)

Σουμαλεύρης Αλέξανδρος[1], Φειδάντσης Κωσταντίνος[1], Χατζηφώτης Σταύρος[2], Αντωνοπούλου Ευθυμία[1]

1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ. ,54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα- 2/2Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Ιχθυοκαλλιέργειας. Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, 71003 Ηράκλειο, Ελλάδα

Τα ψάρια αντιμετωπίζουν συχνά καταστάσεις κυμαινόμενης θερμοκρασίας και ασιτίας στο φυσικό τους περιβάλλον. Παρόμοιες συνθήκες μπορούν να εφαρμοστούν και στις υδατοκαλλιέργειες αποσκοπώντας στην αύξηση και στην καλύτερη ποιότητα του εδώδιμου μέρους των ψαριών και, κατ' επέκταση, στην αύξηση της οικονομικής τους αξίας. Ο κρανιός (Argyrosomus regius) αποτελεί ένα νεοεισαγόμενο είδος στις υδατοκαλλιέργειες. Ως εκ τούτου, ελάχιστη πληροφορία υπάρχει σχετικά με την επίδραση των περιβαλλοντικών μεταβολών στην κυτταρική απόκριση στο στρες. Για τους παραπάνω λόγους, άτομα κρανιού τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές με διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες (17oC, 20oC, 23oC και 26oC). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος τα ψάρια παρέμεναν νηστικά. Ακολούθησαν τρείς δειγματοληψίες με χρονική απόσταση είκοσι επτά ημερών μεταξύ της πρώτης από την δεύτερη και δέκα εννέα ημερών μεταξύ της δεύτερης από την τρίτη με παράλληλη καταμέτρηση του βάρους των ψαριών. Ως δείκτες καταπόνησης της συνεργιστικής δράσης της θερμοκρασίας και της ασιτίας, επιλέχθηκαν οι πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος Hsp70 και Hsp90. Κατά τις προαναφερθέντες χρονικές περιόδους γινόταν λήψη του ήπατος και στη συνέχεια ποσοτικός προσδιορισμός των Hsps τους με τη μέθοδο της SDS ηλεκτροφόρησης σε πολυακρυλαμίδη. Έπειτα από ανάλυση των αποτελεσμάτων παρατηρήθηκαν υψηλές τιμές έκφρασης τόσο της Hsp70 όσο και της Hsp90 τους 26oC, κατά την δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία. Συμπερασματικά, θεωρούμε ότι η βέλτιστη, θερμοκρασία ανάπτυξης του κρανιού, υπό την επιβολή ασιτίας είναι αυτή των 23oC, καθώς παρατηρείται αύξηση των ψαριών, ενώ ταυτόχρονα τα επίπεδα των πρωτεϊνών-δεικτών καταπόνησης μειώνονται.

EFFECT OF STARVATION AND VARIOUS TEMPERATURES ON THE HEAT SHOCK PROTEINS LEVELS IN MEAGRE (Argyrosomus regius)

Soumalevris Alexandros[1], Feidantsis Kostantinos[1], Chatzifotis Stauros[2], Antonopoulou Efthymia[1]

1/Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, AUTH, 54124, Thessaloniki, Greece-2/ Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Hellenic Center of Marine Research, 71003 Heraklion, Greece

Fish usually undergo situations of varying temperature and starvation in their natural environment. Similar conditions can be applied in aquaculture aiming at the deposition of fat in the tissues of fish and hence at the increase of their economic value. The meagre (Argyrosomus regius) is a newly introduced species in the aquaculture section. Therefore, little information is known regarding the effect of environmental changes on its cellular stress response. For these reasons, meagre individuals were acclimated in four different tanks which prevailed different temperature conditions (17oC, 20 oC, 23 oC and 26 oC). Throughout the experimental procedure fish remain fasted, followed by three samplings with time distance of twenty-seven days between the first from the second and nineteen days between the second and the third one, while measuring the mass of experimental animals. Heat shock proteins Hsp70 and Hsp90 were used as cellular stress indicators of the synergistic effect of temperature and starvation. During the above mentioned periods liver samples were dissected and quantification of Hsps was determined according to SDS-Page electrophoresis method. Analysis of the results showed increased Hsp70 and Hsp90 expression at 26oC during the second and third sampling. In conclusion, we believe that the optimal temperature for growth of the meagre, under the imposed starvation is at 23oC, as the specific growth rate were increased, while protein levels of marker decreased.

ΠΙΘΑΝΟΣ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΟΓΚΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ LMP1 ΤΟΥ ΙΟΥ EPSTEIN-BARR ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ Β-ΛΕΜΦΩΜΑΤΑ ΧΑΜΗΛΗΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ

Σοφοτασιου Μ.
Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας Α Παθολογικής Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Εισαγωγή Ο Epstein-Barr (EBV) προκαλεί χρόνια ασυμπτωματική λοίμωξη. Η κύρια ογκοπρωτεΐνη του LMP1 (latent membrane protein) δρα αντιαποπτωτικά σε Β-λεμφώματα χαμηλής κακοήθειας, όπως η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία. Πρόσφατα αναφέρεται και προαποπτωτική δράση. Η SURVIVIN, μέλος της οικογένειας IAP (Inhibitors of Apoptosis Protein) εμπλέκεται μέσω της απόπτωσης και της κυτταρικής διαίρεσης στην παθοφυσιολογία του καρκίνου. Σκοπός Μελέτη της έκφρασης της LMP1 σε ασθενείς με Β-λεμφώματα χαμηλής κακοήθειας και θετικούς στον EBV και συσχέτισή της με την έκφραση της SURVIVIN. Μεθοδολογία Συλλέχθηκαν δείγματα περιφερικού αίματος 64 ασθενών. Προσδιορίστηκε το ιϊκό φορτίο στον ορό με χημειοφωταύγεια (CLIA-L; DiaSorin). Απομονώθηκε DNA και ποσοτικοποιήθηκε το BXL-1 (LightCycler® 2.0 Roche). Απομονώθηκε RNA και συντέθηκε cDNA για περαιτέρω ανάλυση με RT-PCR and qRT-PCR. Ως γονίδιο αναφοράς και ενδογενούς ελέγχου χρησιμοποιήθηκε το ABL και ως θετικός μάρτυρας η ανθρώπινη κυτταρική σειρά MDA-V. Τα προϊόντα της RT-PCR ημιποσοτικοποιήθηκαν με τη μέθοδο της πυκνομετρίας και η στατιστική ανάλυση έγινε με paired t test. Ποσοτικοποιήθηκαν επίσης η SURVIVIN (LightCycler® 2.0 Roche) και η στατιστική ανάλυση έγινε με Mann-Whitney test. Αποτελέσματα 1. Το 93,7% των ασθενών είναι οροθετικοί στον EBV. 2. Στο 42.18% (27/64) των οροθετικών ασθενών ανιχνεύτηκε το BXLF-1 (titers - εύρος περιεκτικότητας: 12 - 15600 αντίγραφα/mL, M.O.: 1758.12 αντίγραφα/mL). 3. Η έκφραση της LMP1 ανιχνεύτηκε στο 81,48% των οροθετικών EBV ασθενών (22/27) και τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν με αντίδραση Sanger. 4. Τα επίπεδα έκφρασης της SURVIVIN είναι 8,37 φορές υψηλότερα σε οροαρνητικούς ασθενείς συγκριτικά με τους οροθετικούς και 7,19 φορές υψηλότερα σε ασθενείς που δεν εκφράζουν LMP1 συγκριτικά με αυτούς που εκφράζουν. Συζήτηση Αν και ο αντιαποπτωτικός ρόλος της LMP1 είναι καλά τεκμηριωμένος, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδηλώνουν ένα πιθανό προαποπτωτικό ρόλο, γεγονός που συμφωνεί με πρόσφατες δημοσιεύσεις.

APOPTOTIC EFFECTS OF LMP1 ONCOPROTEIN OF EPSTEIN-BARR VIRUS IN PATIENTS WITH LEUKEMIC LOW GRADE B-CELL LYMPHOMAS

Sofotasiou M.

Laboratory of Molecular Biology of 1st Department of Internal Medicine, Medical School, National and Kapodistrian Univercity of Athens.

Backround Epstein-Barr (EBV) causes a lifelong asymptomatic infection. Its major oncoprotein LMP1 (latent membrane protein) has an antiapoptotic role in low grade B-cell lymphomas, such as chronic lymphocytic leukemia. Lately, proapoptotic properties of the protein have been described as well. SURVIVIN, member of the Inhibitors of Apoptosis Protein, has been implicated in the pathophysiology of cancer with apoptosis and cell division. Aim This study investigates the postulated apoptotic effects of LMP1 in EBV-positive low grade B-cell lymphomas, by correlating its expression to SURVIVIN expression. Patients and methods The study included 64 blood samples of patients with non-EBV-related leukemic low grade B-cell lymphomas. EBV serological status was determined by chemiluminescent immunoassay (CLIA-L; DiaSorin). DNA was extracted and BXLF-1 was quantified (LightCycler® 2.0 Roche). For LMP1 and SURVIVIN mRNA expression, RNA was extracted, cDNA was synthesized and used in conventional RT-PCR and qRT-PCR, with ABL housekeeping gene as endogenous control and MDA-V human cell line as positive control. Densitometric Quantification (DQ) was applied for data analysis of RT-PCR products and results were analysed using paired t test. SURVIVIN mRNA quantification was based on external standards and Mann-Whitney statistic test was applied. Results Most patients (93.75%) were EBV-seropositive. BXLF-1 was detected in 27/64 (42.18%) patients (EBV+) in titers ranging from 12 copies/mL to 15600 copies/mL (mean value 1758.12 copies/mL). LMP1 was expressed in 22/27 (81.48%) EBV+. Sanger reaction validated the results. SURVIVIN expression was 8.37 times higher in EBV-negative patients in comparison to EBV-positive and 7.19 times higher in LMP1-negative versus LMP1-positive patients. Discussion Although LMP1 has been traditionally described as an anti-apoptotic molecule, the results of our study indicate a possible proapoptoric effect, a result that is consistent with recently published studies.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ & ΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΙΚΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ

Στέφη Α.Λ.[1,2], Βελέντζας Α. [1], Σκουρολιάκου Α.Σ.[3], Κεφαλάς Α.Κ[2], Παλλές Δ.[2], Μαργαρίτης Λ.Χ.[1]

1/Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84, 2/Ινστιτούτο Θεωρητικής Φυσικής Χημείας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασιλέως Κωνσταντίνου 48, Αθήνα 11635, /2Τμήμα Φυσικής και Χημείας, ΤΕΙ Αθήνας, Αιγάλεω ΤΚ 12210

Το ανθρακικό ασβέστιο (CaCO3) είναι ένα απλό ανόργανο μόριο που απαντά τόσο στο περιβάλλον όσο και στον ανθρώπινο οργανισμό. Ο καλσίτης και ο αραγωνίτης αποτελούν τις κυρίως κρυσταλλικές μορφές του ανθρακικού ασβεστίου, με τον καλσίτη να ευνοείται θερμοδυναμικά περισσότερο από τον αραγωνίτη. Σκοπός της εργασίας είναι η επίδραση μαγνητικών και ηλεκτρομαγνητικών πεδίων για διαφορετικά χρονικά διαστήματα στη μικροκρυστάλλωση του CaCO3 για την κατανόηση του μηχανισμού των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πεδίων και της ύλης. Προκειμένου να διαπιστωθούν οι πιθανές μετατροπές της μιας κρυσταλλικής μορφής στην άλλη, χρησιμοποιήθηκαν πρωτότυπες πειραματικές διατάξεις για την εφαρμογή των πεδίων σε κορεσμένο διάλυμα CaCO3, ενώ η αξιολόγηση των κρυστάλλων έγινε με τη χρήση πολωτικού μικροσκοπίου, ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης σε συνδυασμό με το λογισμικό Image Pro Plus v.6 για μετρήσεις παραμέτρων των κρυστάλλων, φασματοσκοπία Raman και περίθλαση ακτίνων-Χ. Τα αποτελέσματα από τα πειράματα έδειξαν ότι η διαμόρφωση αραγωνίτη στο μη εκτεθειμένο δείγμα αλλάζει σε καλσίτη στο στατικό μαγνητικό, στο σωληνοειδές και στο GSM, ενώ παραμένει αραγωνίτης στο DECT. Παράλληλα, μείωση της μέσης κρυσταλλικής επιφάνειας της τάξης του 98% στο DECT, 96% στο GSM, 93% για το στατικό και 74 % στο στατικό μαγνητικό για έκθεση 30 λεπτών. Τα ανωτέρω μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα για τη συμβολή των πεδίων, αρνητικά ή θετικά στη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας, μέσω των κρυστάλλων και τη μετατροπή τους από τη μια μορφή στην άλλη. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΘΑΛΗΣ – ΕΚΠΑ – MIS 375784 – Βιολογικές επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας: μια διεπιστημονική προσέγγιση" .Συντονιστής Λ.Χ.Μ.

EFFECT OF ELECTROMAGNETIC AND MAGNETIC FIELDS ON CALCIUM CARBONATE MICROCRYSTALLIZATION

Stefi A.L.[1,2], Velentzas A. [1], Skouroliakou A.S.[3], Kefalas A.K.[2], Palles D. [2], Margaritis L.H.[1]
1Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 84, 3/Department of Physics and ChemistryTEI of Athens, Aigaleo 12210, Athens, Greece

Calcium carbonate (CaCO3) is a simple inorganic molecule that exists both in the environment and the human body. The calcite and aragonite are the particular crystalline forms of calcium carbonate to calcite and thermodynamically more favored than aragonite. The purpose of this study is the effect of magnetic and electromagnetic fields for different time intervals mikrokrystallization of CaCO3for understanding the mechanism of interactions between fields and matter. In order to detect the possible modifications of one crystalline form to another, novel experimental devices were used for the application of fields in a saturated solution of CaCO3, while the evaluation of the crystal was done by using polarizing microscope, scanning electron microscopy in conjunction with Image Pro Plus software v.6 parameter measurements for the crystals, Raman spectroscopy and X-ray diffraction. The results of the experiments showed that the formulation in aragonite unexposed sample changes in the static magnetic calcite, the solenoid and the GSM, while aragonite remains in DECT. Furthermore, reducing the average crystal surface of about 98% to DECT, 96% in the GSM, 93% for the static and 74% in static magnetic for 30 minutes exposure. The above can be used to draw useful conclusions on the contribution of fields, negative or positive in creating atheromatic plaque through crystals and convert them from one format to another. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: THALES. Investing in knowledge society through the European Social Fund. UoA- MIS 375784 – Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: a multidisciplinary approach coordinated by L.H.M.

ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΔΙΚΤΥΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ GATA-1 ΣΤΗΝ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ

Στρουμπούλης Ιωάννης
Τμήμα Μοριακή Ογκολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», Φλέμιγκ 34, 11672 Βάρη

Η αιμοποίηση είναι η διαδικασία μέσω της οποίας οι διαφορετικοί πληθυσμοί των κυττάρων του αίματος αναπληρώνονται σε καθημερινή βάση από μια μικρή δεξαμενή πολυδύναμων, αυτο-ανανεούμενων αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων. Οι μεταγραφικοί παράγοντες παίζουν καίριο ρόλο στην δέσμευση και διαφοροποίηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων κατά μήκος συγκεκριμένων αιμοποιητικών σειρών, ρυθμίζοντας την ενεργοποίηση ή την καταστολή ιστο-ειδικών γονιδιακών δικτύων που διαμορφώνουν την τελική ταυτότητα του ώριμων κυττάρων του αίματος. Το εργαστήριο μας επικεντρώνεται στην μελέτη του μεταγραφικού παράγοντα GATA-1 ως υπόδειγμα κύριου μεταγραφικού ρυθμιστή στη διαφοροποίηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Σε μια προσπάθεια να κατανοήσουμε την μοριακή βάση των λειτουργιών του GATA-1, εφαρμόζουμε συνδυαστικές πρωτεομικές και γονιδιωματικές προσεγγίσεις, προκειμένου να ταυτοποιηθούν οι πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις του GATA-1, όπως επίσης και το πλέγμα των γονιδιακών του στόχων στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Οι μελέτες μας έχουν δείξει ότι ο GATA-1 ενεργεί παράλληλα ως καταστολέας και ενεργοποιητής της γονιδιακής έκφρασης, μέσω του σχηματισμού διακριτών πρωτεϊνικών συμπλόκων με άλλους αιμοποιητικούς μεταγραφικούς παράγοντες και σύμπλοκα αναδιάταξης και τροποποίησης της χρωματίνης 1. Τα σύμπλοκα αυτά φαίνεται να ρυθμίζουν διαφορετικές πλευρές της ερυθροποίησης. ΄Εχουμε εφαρμόσει επίσης μεθοδολογία ανοσοκατακρήμνισης της χρωματίνης (ChIP) σε συνδυασμό με μαζική παράλληλη αλληλούχιση και βιοπληροφορική ανάλυση προκειμένου να προσδιοριστούν οι θέσεις πρόσδεσης του GATA-1 στο γονιδίωμα των ερυθροκυττάρων. Με αυτό τον τρόπο αναγνωρίστηκαν τρεις κλάσεις γονιδιακών στόχων του GATA-1 με ξεχωριστά επιγενετικά προφίλ και λειτουργικά χαρακτηριστικά 2. Μελλοντικές μελέτες περιλαμβάνουν την επέκταση των ερευνών μας σε πρόσθετες αιμοποιητικές σειρές όπου επίσης ο GATA-1 πληροί καίριες λειτουργίες, όπως τα ηωσινόφιλα και βασεόφιλα κύτταρα. Συμπερασματικά, οι μελέτες μας ρίχνουν φως στη μοριακή βάση των δράσεων του GATA-1 στην διαφοροποίηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και προσφέρουν νέα γνώση για τις λειτουργίες των μεταγραφικών παραγόντων γενικότερα στην αιμοποίηση.

GATA-1 REGULATORY NETWORKS IN ERYTHROID CELLS

Strouboulis John
Division of Molecular Oncology, Biomedical Sciences Research Center "Alexander Fleming", 34 Fleming Street, 16672 Vari, Greece

Hematopoiesis is the process by which the multitude of blood cells is replenished on a daily basis by a small pool of multipotent, self renewing hematopoietic stem cells (HSCs). DNA binding transcription factors play critical roles in directing the commitment and differentiation of HSCs along specific lineages, by driving the activation and repression of specific transcription programs which, together, shape the identity of the mature blood cell type. Our lab is focusing on the GATA-1 transcription factor as an example of a master transcriptional regulator in the differentiation of the erythroid (red blood cell) hematopoietic lineage. In an effort to understand the molecular basis for GATA-1 functions, we are taking a combined proteomic and genomic approach in order to identify the protein interaction partners and gene targets for GATA-1 in erythroid cells. Our work has shown that GATA-1 serves as a repressor and activator by forming distinct protein complexes with other transcription factors and chromatin remodeling and modification complexes, which appear to regulate distinct facets of erythroid differentiation 1. We have also employed chromatin immunoprecipitation (ChIP) coupled to massive parallel sequencing and bioinformatic analysis in order to identify the genomic sites of GATA-1 in erythroid cells. This work identified three classes of GATA-1 target genes, each with distinct epigenetic profiles and functional characteristics 2. Future work includes the expansion of our investigations in additional hematopoietic lineages, such as eosinophils and mast cells, where GATA-1 also fulfills essential functions. Taken together, our work is shedding light on the molecular basis of GATA-1 function in erythroid cell differentiation and provides new paradigms for transcription factor functions in hematopoiesis. 1. Rodriguez, P., Bonte, E., Krijgsveld, J., Guyot, B., Heck, A., Vyas, P., de Boer, E., Grosveld, F. and Strouboulis, J. "GATA-1 forms distinct activating and repressive complexes in erythroid cells." EMBO J., 2005, 24, pp. 2354–2366. 2. Papadopoulos GL, Karkoulia E, Tsamardinos I, Porcher C, Ragoussis J, Bungert J, Strouboulis J. "GATA-1 genome-wide occupancy associates with distinct epigenetic profiles in mouse fetal liver erythropoiesis." Nucleic Acids Res. 2013 Mar 21. [Epub ahead of print].

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ BDNF, KCTD15, CDKAL1 ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Σφυρόερα Ειρήνη, Γερούση Μαρίνα, Λαΐδου Σταματία, Ρούσκας Κωνσταντίνος, Κουβάτση Αναστασία

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

Η παχυσαρκία είναι νόσος του ενεργειακού μεταβολισμού που χαρακτηρίζεται από παθολογικά αυξημένη συσσώρευση λίπους στο ανθρώπινο σώμα, ως αποτέλεσμα διαταραχής του ενεργειακού ισοζυγίου μεταξύ της πρόληψης και της κατανάλωσης ενέργειας. Στην Ελλάδα, το ποσοστό παχύσαρκων ατόμων είναι 22,5% (26% στους άνδρες και 18,2% στις γυναίκες). Γενετικοί παράγοντες φαίνεται ότι αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον και παίζουν καθοριστικό ρόλο στη παθογένεια της παχυσαρκίας. Η αναζήτηση πολυμορφισμών γονιδίων που σχετίζονται με την εκδήλωσή της αποτελεί αντικείμενο πολυάριθμων σύγχρονων ερευνών. Στην παρούσα εργασία έγινε γενοτύπηση 222 παχύσαρκων ατόμων (ΔΜΣ>30 Kg/m2) και 223 ατόμων φυσιολογικού βάρους-μάρτυρες (ΔΜΣ<25 Kg/m2), για τρεις μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς: rs988712 στο γονίδιο BDNF, rs29941 στο γονίδιο KCTD15 και rs2206734 στο γονίδιο CDKAL1. Η ανίχνευση των πολυμορφισμών έγινε με τη μέθοδο PCR-RFLP και ανάλυση σε ηλεκτροφόρηση αγαρόζης ή ακρυλαμίδης. Υπολογίστηκαν οι συχνότητες των αλληλομόρφων, των γενοτύπων, και έγινε έλεγχος για την ισορροπία Hardy-Weinberg και στις δύο πληθυσμιακές ομάδες. Ο έλεγχος της πιθανής συσχέτισης των τριών πολυμορφισμών με την παχυσαρκία έγινε με το μοντέλο της λογιστικής παλινδρόμησης. Θεωρώντας για κάθε πολυμορφισμό ως αλληλόμορφο κινδύνου εκείνο το οποίο από τη βιβλιογραφία είχε ήδη χαρακτηριστεί έτσι, υπολογίστηκαν οι τιμές OR και p, προσαρμοσμένες ως προς το φύλο και την ηλικία, για τα τρία γενετικά μοντέλα (συνυπερέχον, υπερέχον και υποτελές). Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση των πολυμορφισμών rs29941 και rs2206734 με την παχυσαρκία, ενώ για τον rs988712 διαπιστώθηκε συσχέτιση, τόσο στο συνυπερέχον (p=0,016) όσο και στο υπερέχον μοντέλο (p=0,001). Η σύγκριση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών παραμέτρων μεταξύ ατόμων με διαφορετικό γενότυπο έδειξε ότι η επίδραση του αριθμού αλληλομόρφων κινδύνου συσχετίζεται με το Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) (p=0,014) και το βάρος (p=0,007). Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός βρέθηκε ότι σχετίζεται επίσης με την παχυσαρκία στο Γαλλικό πληθυσμό, αλλά όχι στο Γερμανικό.

ASSOCIATION OF BDNF, KCTD15, CDKAL1 GENES POLYMORPHISMS WITH OBESITY IN THE GREEK POPULATION

Sfyroera Eirini, Gerousi Marina, Laidou Stamatia, Rouskas Konstantinos, Kouvatsi Anastasia

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

Obesity is a disease of energy metabolism which is characterized by pathologically increased fat accumulation in the human body as a result of imbalance between the intake and expenditure of energy. In Greece, the percentage of obese individuals is 22.5% (26% in men and 18.2% in women). Genetic factors interact with the environment and affect significantly the pathogenesis of obesity. Subject of many, contemporary studies is the research of genes polymorphisms associated with the appearance of the disease. In the present study, genotyping of 222 obese individuals (BMI>30 Kg/m2) and 223 individuals with normal weight-controls (BMI<25 Kg/m2) was carried out for three SNPs: rs988712 in BDNF gene, rs29941 in KCTD15 gene and rs2206734 in CDKAL1 gene. The methods which were used for SNPs detection were the PCR-RFLP and electrophoresis in agarose and acrylamide. The frequencies of alleles and genotypes were estimated and the Hardy-Weinberg equilibrium was checked for both cohorts. The analysis of potential correlation of the above-mentioned SNPs with obesity was carried out with the logistic regression model. As risk allele for each SNP was considered the allele that had already been identified in previous studies. Thus, OR and p values were calculated, adjusted for sex and age, for the three genetic models (additive, dominant and recessive). Results analysis showed that there is no connection between rs29941 and rs2206734 polymorphisms and obesity, while rs988712 is associated both in additive (p=0,016) and dominant (p=0,001) model. The comparison of anthropometric and biochemical parameters between individuals with different genotypes showed that the risk allele effect is correlated with Body Mass Index (BMI) (p=0.014) and weight (p=0.007). This particular polymorphism was also found to be associated with obesity in the French population, but not in German.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΛΓΗΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΤΡΑΜΑΔΟΛΗΣ ΣΕ ΔΥΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΕΙΔΗ ΜΥΩΝ

Ειρήνη Συμεών[1,2], Ευάγγελος Μπαλάφας[1], Αλεξία Πολυσίδη[1], Μαριάννα Στασινοπούλου[1], Παύλος Αλεξάκος[1], Χρυσάνθη Βογιατζάκη[2], Νικολαος Κωστομητσόπουλος[1]

1 Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής Ι.ΙΒ.Ε.Α.Α. 2 Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων

Η τραμαδόλη αποτελεί συνθετικό οπιοειδές αναλγητικό το οποίο χρησιμοποιείται στην αντιμετώπιση του οξέος πόνου. Σκοπός της μελέτης, είναι η εκτίμηση της αναλγητικής δράσης της ενδοπεριτοναϊκής χορήγησης τραμαδόλης καθώς και της επίδρασης της στη συμπεριφορά σε δυο διαφορετικά στελέχη μυών. Χρησιμοποιήθηκαν 39 αρσενικοί μύες της φυλής C57Bl/6J και 38 της φυλής Balb/c ηλικίας 12 εβδομάδων. Τα ζώα του κάθε στελέχους χωρίστηκαν τυχαία σε 3 ομάδες. Στην ομάδα Α, ομάδα ελέγχου, χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός (n=12-13/στέλεχος), στην ομάδα Β (n=13/στέλεχος) χορηγήθηκε τραμαδόλη σε δόση 10mg/kg ενώ στην ομάδα Γ (n=13/στέλεχος) χορηγήθηκε τραμαδόλη σε δόση 40mg/kg. Η κινητικότητα των μυών καταγράφηκε με χρήση λογισμικού καταγραφής βίντεο κατά τη δοκιμασία ανοιχτού πεδίου για 30 λεπτά, ενώ καταγράφηκε η διανυόμενη απόσταση (cm). Η αναλγητική δράση εκτιμήθηκε κατά τη δοκιμασία θερμαινόμενης επιφάνειας, 30 ή 60 λεπτά μετά τη χορήγηση του φαρμάκου ενώ καταγράφηκε η λανθάνουσα περίοδος του πρώτου ποδικού αντανακλαστικού. Οι μετρήσεις κατά τη δοκιμασία ανοιχτού πεδίου φανερώνουν μια δοσο-εξαρτώμενη ελάττωση της κινητικής δραστηριότητας στο στέλεχος Balb/c μετά από χορήγηση τραμαδόλης. Αντιθέτως, οι μύες του στελέχους C57Bl/6J μετά τη χορήγηση τραμαδόλης 40mg/kg εμφάνισαν υπερκινητικότητα. Σε ότι αφορά στη δοκιμασία της θερμαινόμενης επιφάνειας μόνο η χορήγηση της τραμαδόλης 40 mg/kg αύξησε το χρόνο αντίδρασης των μυών και των δύο στελεχών, ενώ η ίδια δόση είχε μεγαλύτερη αναλγητική δράση στους μύες Balb/c σε σύγκριση με τους μύες C57Bl/6. Συμπερασματικά, η αναλγητική δράση και η επίδραση στη συμπεριφορά της τραμαδόλης δεν εξαρτάται μόνο από τη δοσολογία αλλά και από το στέλεχος του μυός στο οποίο χορηγείται. Το γεγονός αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη κατά το σχεδιασμό της αναλγητικής αγωγής των ζώων που χρησιμοποιούνται σε επώδυνα πειραματικά πρωτόκολλα.

EVALUATION OF THE ANALGESIC EFFECT OF TRAMADOL IN TWO DIFFERENT STRAINS OF MICE

Eirini Symeon [1,2], Evangelos Balafas[1], Alexia Polissidis[1], Marianna Stasinopoulou[1], Pavlos Alexakos[1], Chrysanthi Voyiatzaki[1], Nikolaos Kostomitsopoulos[1]

1 Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens B.R.F.A.A., Centre of Experimental Surgery. 2 Technological Educational Institute of Athens, Department of Medical Laboratories.

Tramadol is a synthetic opioid analgesic used to treat acute pain. The aim of the study was to evaluate the analgesic and behavioral effect of intraperitoneal tramadol administration in two different strains of mice. Subjects were 12 week-old male C57Bl/6J (n=39) and Balb / c (n=38) mice. Mice of each strain were randomly divided into 3 groups: group A: the control group treated with saline (n=12-13/strain), group B: treated with tramadol 10mg/kg (n=13/strain) and group C: treated with tramadol 40mg/kg (n=13/strain). Locomotor activity was recorded with video tracking software in an open-field for 30 minutes and distance travelled (cm) was recorded. Analgesia was measured using the hot-plate test, 30 or 60 minutes after drug administration and latency to first hindpaw reaction was recorded. Open field measurements revealed a dose-dependent decrease in locomotor activity in the Balb/c mice following tramadol administration. In contrast the C57Bl/6J mice that received 40 mg/kg tramadol showed hyperactivity. Regarding hot-plate analgesia only administration of 40 mg/kg tramadol showed a significant increase of hot-plate latencies in the two strains and the same dose induced significantly greater analgesia in Balb/c as compared with the C57Bl/6 mice. In conclusion, tramadol's analgesic and behavioral effect depends not only on its dosage, but also on the strain in which it is administered. This fact should be taken into account in the design of analgesic treatment regimens for animals to be used in painful experimental protocols.

ΦΩΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΠΟΒΟΛΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ PsbS ΣΤΟ Arabidopsis thaliana ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΤΡΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ

Μαργαρίτα Τάκου, Ηλέκτρα Σπερδούλη, Μιχάλης Μουστάκας
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Η αποβολή υπό μορφή θερμότητας της πλεονάζουσας ενέργειας που δεν χρησιμοποιείται για φωτοχημεία είναι γνωστή ως μη φωτοχημική απόσβεση (NPQ) και θεωρείται ένας σημαντικός μηχανισμός φωτοπροστασίας που αποτρέπει την καταστροφή των κέντρων αντίδρασης. Είναι γενικά αποδεκτό ότι για το μηχανισμό της μη φωτοχημικής απόσβεσης (NPQ), το βασικό στοιχείο είναι η απόσβεση qE, που εξαρτάται από τη διαμεμβρανική βαθμίδωση πρωτονίων (ΔpH), η οποία είναι αποτέλεσμα της φωτοσυνθετικής μεταφοράς ηλεκτρονίων. Καθοριστικό ρόλο για τη διαμόρφωση NPQ κατέχει η υπομονάδα του φωτοσυστήματος ΙΙ, πρωτείνη S (PsbS). Για το λόγο αυτό μελετήσαμε την κατανομή της αποροφούμενης ενέργειας σε συνθήκες στρες ξηρασίας σε φυτά Arabidopsis thaliana άγριου τύπου (wt, Columbia-0) και μεταλλάγματα npq4 από τα οποία απουσίαζε η πρωτείνη PsbS. Σε συνθήκες στρες ξηρασίας, η κατανομή της ενέργειας για μεταφορά ηλεκτρονίων στα μεταλλάγματα npq4 ήταν μεγαλύτερη από ότι στα wt σε μεγάλο εύρος εντάσεων φωτισμού με αποτέλεσμα τη διαμόρφωση ΔpH που είναι συνδεδεμένο με τη δημιουργία qE, μία διαδικασία που θεωρούνταν προηγουμένως αδύνατη για τα npq4 μεταλλάγματα. Από τα αποτελέσματα αυτά προέκυψε ότι τα φυτά Arabidopsis στα οποία λείπει η πρωτείνη PsbS διαθέτουν έναν ανταγωνιστικό μηχανισμό για την προστασία τους από τη φωτοαναστολή κατά τη διάρκεια του στρες ξηρασίας, που έχει ως αποτέλεσμα τη μικρότερη πίεση αποδιέγερσης από ότι στα wt. Η ύπαρξη του φωτοπροστατευτικού μηχανισμού για την απομάκρυνση της περίσσειας ενέργειας στα μεταλλάγματα npq4 πιστεύεται ότι οφείλεται στην κυκλική ροή ηλεκτρονίων γύρω από το φωτοσύστημα Ι, το οποίο πρόσφατα βρέθηκε ότι προάγει το ΔpH και επομένως συντελεί στην απόσβεση qE σε άθικτους χλωροπλάστες φυτών Arabidopsis thaliana που δεν διέθεταν την πρωτεΐνη PsbS. Ευχαριστίες: Η συγκεκριμένη έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας με το ερευνητικό έργο No. 09FR47.

PHOTOPROTECTIVE ENERGY DISSIPATION IN THE PRESENCE OR ABSENCE OF PsbS PROTEIN IN Arabidopsis thaliana UNDER DROUGHT STRESS

Margarita Takou, Ilektra Sperdouli, Michael Moustakas
Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

Dissipation of excess absorbed light energy in photosystem II (PSII) antenna as heat, through a process known as non-photochemical quenching (NPQ), is considered to be an important photoprotection process preventing photodamage to the reaction center. It is commonly accepted that the photosystem II subunit S protein, PsbS, is required for this NPQ mechanism and that the major component of NPQ, known as qE, is dependent upon the transmembrane proton gradient (ΔpH), formed as a result of photosynthetic electron transport. In this study, we evaluated the allocation of absorbed light energy in PSII of Arabidopsis thaliana wild-type (wt) Columbia-0 and Arabidopsis plants lacking PsbS (npq4 mutants) under drought stress (DS). Under DS, allocation of energy to electron transport in npq4 mutants was higher than in wt plants over a wide range of light intensities, thus contributing to the formation of a ΔpH and linked to qE generation, previously believed to be an impossible process for the npq4 mutants. The data suggested that Arabidopsis plants lacking PsbS were found to possess a competent mechanism that protects them against photoinhibitory damage under DS, resulting in lower excitation pressure than in wt. The existence of this photoprotective mechanism of energy dissipation in npq4 mutants is believed to occur through cyclic electron flow around photosystem I, that has been found recently to enhance ΔpH and produce rapidly reversible qE-type quenching in intact chloroplasts from Arabidopsis plants lacking the PsbS protein. Acknowledgments: This work was supported by the European Fund of Regional Growth and the Hellenic General Secretariat for Research and Technology under the project No. 09FR47.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ DNA-BARCODING ΣΤΗΝ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΙΔΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ

Ταστσόγλου Σπύρος, Σταμάτης Κώστας, Σαρρή Κωνσταντίνα, Σαραφίδου Θεολογία, Γιαννούλης Θεμιστοκλής, Μαμούρης Ζήσης
Εργαστήριο Γενετικής, Εξελικτικής και Συγκριτικής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Η χρήση μοριακών δεικτών και κυρίως του μιτοχονδριακού DNA αποτελεί πλέον μια διαδεδομένη μέθοδο για την ταυτοποίηση ειδών, τη μελέτη της βιοποικιλότητας, τη διερεύνηση των σχέσεων μεταξύ οργανισμών, την ιχνηλασιμότητα τροφίμων κτλ. Η δυνατότητα αυτή του μιτοχονδριακού DNA προκύπτει από το γεγονός ότι εξελίσσεται ταχύτερα από το πυρηνικό γονιδίωμα (~10 φορές) και εμφανίζει τόσο συντηρημένες περιοχές μεταξύ των ειδών, ώστε να είναι δυνατός ο σχεδιασμός εκκινητών που θα ενισχύσουν τα αντίστοιχα τμήματα σε ένα μεγάλο εύρος οργανισμών, όσο και πολυμορφικές, ώστε να είναι δυνατός ο γενετικός διαχωρισμός τους. Το τμήμα που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως μέχρι σήμερα είναι ένα μέρος του γονιδίου της υπομονάδας Ι της οξειδάσης του κυτοχρώματος (COI). Παρόλα αυτά, υπάρχει η δυνατότητα ανάπτυξης νέων μοριακών δεικτών, οι οποίοι θα παρέχουν επιπλέον πληροφορίες και θα συνεισφέρουν στον αποτελεσματικότερο διαχωρισμό των ειδών. Για το σκοπό αυτό, επιλέχθηκε ένα τμήμα του μιτοχονδριακού γονιδίου που κωδικοποιεί για τη μεγάλη ριβοσωμική υπομονάδα (16S rRNA) ώστε να ελεγχθεί η καταλληλότητά του να διαχωρίσει διάφορα είδη εντόμων ως μοριακός δείκτης. Το συγκεκριμένο τμήμα έχει χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν με επιτυχία για το διαχωρισμό ειδών θηλαστικών, πτηνών, ερπετών, ψαριών και μαλακίων. Το εν λόγω τμήμα ενισχύθηκε με επιτυχία σε 65 είδη εντόμων, τα οποία προέρχονται από ξεχωριστές τάξεις (κολεόπτερα, ορθόπτερα, δίπτερα και λεπιδόπτερα). Στη συνέχεια, τα προϊόντα της PCR αλληλουχήθηκαν για να μελετηθεί ο γενετικός πολυμορφισμός μεταξύ των ειδών. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, φαίνεται ότι το τμήμα του γονιδίου 16S rRNA είναι ικανό να διαχωρίσει αποτελεσματικά τα διαφορετικά είδη εντόμων, ακόμα και αν ανήκουν στο ίδιο γένος, και να παρέχει πληροφορίες για τις εξελικτικές τους σχέσεις.

APPLICATION OF DNA-BARCODING TO IDENTIFY INSECT SPECIES

Tastsoglou Spyros, Stamatis Costas, Sarri Konstantina, Sarafidou Theologia, Giannoulis Themistoklis, Mamuris Zissis

Laboratory of Genetics, Evolutionary and Comparative Biology, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly

The use of genetic markers, and especially those derived from mitochondrial DNA, is a widespread method to identify species and to investigate biodiversity and interspecific relationships, as well as food traceability. Mitochondrial DNA contains well conserved sequences, enabling the design of primers able to amplify the same region in a wide range of organisms, as well as highly variable sequences, that allow interspecific distinction. The most widely used genetic marker is part of the subunit I cytochrome oxidase gene (COI). However, the need to develop new, supplementary genetic markers that will contribute to more effective distinction of species still exists. On that cause, part of the 16S rRNA gene has been selected to test its suitability to separate insect species. In the past, this sequence has been successfully used to separate mammal, bird, reptile, fish and mollusk species. In this recent study it was amplified successfully in 65 insect species originating from different taxa (coleoptera, orthoptera, diptera and lepidoptera). The PCR products were sequenced in order to study the genetic variability between these species. The results indicate that the analyzed 16S rRNA sequence can be used effectively to distinguish different insect species, even those sharing the same genus, and provide additional information concerning their evolutionary relationship.

ΣΥΣΤΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΤΟΠΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΗΣ α1-ΟΞΙΝΗΣ ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ (AGP) ΣΕ ΑΡΘΡΙΤΙΚΟΥΣ ΕΠΙΜΥΣ

Τέστα Θεοδολίντα, Κυριάκου Κάλια, Κλεισιάρη Ευανθία, Γιάγκου Μηνάς
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ.

Η πειραματική αρθρίτιδα (ΠΑ) που επάγεται σε επίμυς με χορήγηση του ανοσοενισχυτικού του Freund (FCA: Freund's Complete Adjuvant) προσομοιάζει τη ρευματοειδή αρθρίτιδα στον άνθρωπο και χαρακτηρίζεται από ανάπτυξη φλεγμονής στις αρθρώσεις. Συνοδεύεται από αύξηση ή μείωση της συγκέντρωσης και αλλαγές στο πρότυπο γλυκοσυλίωσης και έκκρισης της α1-όξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP) σε κύτταρα αίματος, μυελού των οστών και της άρθρωσης. Πιστεύεται ότι συμμετέχει στο μηχανισμό παθογένειας της αρθρίτιδας. Διερευνήθηκε με ανοσοϊστοχημεία η παραγωγή της AGP στο έντερο ΠΑ επίμυων. Παρατηρήθηκε αύξηση στη σύνθεση της AGP από τα επιθηλιακά κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου πριν την ανάπτυξη των συμπτωμάτων της αρθρίτιδας, γεγονός που δείχνει διαφορική συστημική παραγωγή της. Η αδυναμία απομόνωσης ικανού αριθμού κυττάρων της άρθρωσης, οδήγησε στη χρήση του μοντέλου του ραχιαίου αεροθύλακα που πιστεύεται ότι προσομοιάζει την άρθρωση. Παρατηρήθηκαν μορφολογικά χαρακτηριστικά που αφορούν ομοιότητες στη δομή της μεμβράνης του αεροθύλακα και της άρθρωσης, καθώς και η δημιουργία κοκκιώδους φλεγμονώδους ιστού (pannus) στον αεροθύλακα επίμυων ως απόκριση στο FCA. Διαπιστώθηκε, μετά από χρώση με Alizarin Red και Alcian Blue, ότι η αγωγή με FCA στον αεροθύλακα επάγει τη σύνθεση κολλαγόνου και την απασβέστωση της μεμβράνης, χαρακτηριστικά της οστεοχονδρογένεσης που επίσης παρατηρείται στην αρθριτική άρθρωση. Με ανάλυση κατά Western τόσο στο εξίδρωμα του αεροθύλακα όσο και στο εκχύλισμα των κυττάρων της μεμβράνης προσδιορίστηκε η διαφορική σύνθεση των διαφόρων ισομορφών της AGP (40, 45, 50, 55, 70-90 kDa), στη φάση έναρξης και στη φάση έξαρσης της αρθρίτιδας. Όλα τα παραπάνω δείχνουν ότι η διαφορική συστεμική ή τοπική (μυελό των οστών, εντερικό επιθήλιο και άρθρωση) σύνθεση των διαφόρων ισομορφών της AGP, πιθανά σχετίζεται με το μηχανισμό ανάπτυξης αρθρίτιδας στους επίμυς.

SYSTEMIC AND LOCAL PRODUCTION OF α1-ACID GLYCOPROTEIN (AGP) IN ARTHRITIC RATS

Testa Theodolinda, Kyriakou Kalia, Kleisiari Evanthia, Yiangou Minas
1. Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, AUTH

Adjuvant arthritis (AA), induced in rats by the administration of FCA (FCA: Freund's Complete Adjuvant), resembles rheumatoid arthritis in human and is characterized by the development of inflammation in joints. It is accompanied by the increase or decrease of the concentration and changes in the glycosylation profile of AGP in blood and bone marrow cells as well as in joints. AGP is believed to be involved in the pathogenesis of arthritis. AGP production was investigated by immunohistochemistry in the intestine of AA rats. It was observed that AGP is increased in the epithelial cells of the intestinal mucosa before the onset of arthritis thus indicating AGP differential systemic production. Difficulties in isolating sufficient number of cells of the joint, led us to use the air pouch system, that resembles the arthritic joint. Morphological similarities were observed between the structure of the air pouch membrane and the arthritic joint as well as the formation of inflammatory granulation tissue (pannus) in the rat air pouch in response to FCA administration. Furthermore, after Alizarin Red and Alcian Blue staining revealed that FCA administration in the air pouch, induces the synthesis of collagen and the decalcification of the membrane, characteristics of osteochondrogenesis also observed in the arthritic joint. Western blot analysis of the air pouch exudate, membrane and pannus extracts, showed the differential synthesis of various AGP isoforms (40, 45, 50, 55, 70-90 kDa), during the early and active phase of arthritis. All of the above data indicate that the differential systemic or local (bone marrow, intestinal epithelium and joint) synthesis of various AGP isoforms, may potentially participate in the development of AA in rats.

Ο ΔΙΑΦΟΡΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ S36, S38 ΚΑΙ S18 ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΡΧΙΤΕΚΤΟΝΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΣΤΟ ΔΙΠΤΕΡΟ ΕΝΤΟΜΟ Drosophila melanogaster

Γεωργία Χ. Τζάφα[1], Μαρία Μ. Τσιόκα[1], Αθανάσιος Δ. Βελεντζας[1], Παναγιώτης Δ. Βελέντζας[1,2], Βασιλική Ε. Μπάκου[1], Νίκη Ε. Σαγιόγλου[1], Gail L. Waring[3], Λουκάς Χ. Μαργαρίτης[1], Ισιδώρα Σ. Παπασιδέρη[1], Δημήτριος Ι. Στραβοπόδης[1]

*1Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784, Αθήνα. 2Department of Cancer Biology, University of Massachusetts, Medical School, Worcester, MA 01605, USA.3Department of Biology, Marquette University, WLS 109, PO Box 1881, Milwaukee, WI 53201-1881, USA.*Ισότιμη Συμμετοχή*

Το χόριο αποτελεί το κέλυφος του ώριμου ωοθυλακίου στο Δίπτερο έντομο Drosophila melanogaster και παράγεται από περιφερειακά οργανωμένες ομάδες θυλακοκυττάρων κατά την τελευταία φάση της ωογένεσης, ευρέως γνωστή ως χοριογένεση. Στην παρούσα μελέτη, διερευνάται ο εν δυνάμει διαφορικός ρόλος των S36, S38 και S18 πρωτεϊνών στη διαμόρφωση της αρχιτεκτονικής δομής του χορίου, δια μέσου της δημιουργίας διπλά διαγονιδιακών εντόμων, μετά από εφαρμογή του δυαδικού GAL4/UAS γενετικού συστήματος, το οποίον στοχεύει, μέσω της RNAi παρεμβατικής τεχνολογίας, στην κατά περίπτωση εκλεκτική και ισχυρή αποσιώπηση του μηχανισμού σύνθεσης των υπό μελέτη χοριονικών πρωτεϊνών στο θυλακοκυτταρικό διαμέρισμα. Πραγματοποιήθηκαν πειραματικές δοκιμασίες ελέγχου βιωσιμότητας και εκκολαψιμότητας, ενώ η δομική οργάνωση του χορίου ώριμων και γεννημένων ωοθυλακίων των διπλά διαγονιδιακών στελεχών αποκαλύφθηκε δια μέσου Φωτονικής Μικροσκοπίας (LM), Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM) και Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Διέλευσης (TEM). Διαπιστώθηκε, ότι όσον αφορά στους πληθυσμούς που χαρακτηρίζονται από δραστική μειορρύθμιση της έκφρασης των S36, S38 και S18 πρωτεϊνών, αντίστοιχα, η βιωσιμότητα της πρώτης γενεάς απογόνων παραμένει ανεπηρέαστη, σε αντίθεση με την εκκολαψιμότητα που εμφανίζεται σχεδόν μηδενική, αποκλειστικά και μόνο για τα S36 και S38 διπλά διαγονιδιακά ωοθυλάκια. Μορφολογική ανάλυση λεπτής δομής αποκαλύπτει την απουσία της τυπικής δομής του χορίου, με εμφανή απώλεια μορφογένεσης στυλίσκων και πλευρικών κοιλοτήτων, ενώ η ένταση του παθολογικού φαινοτύπου αποδεικνύεται συγκριτικά ισχυρότερη στο κυτταρικό περιβάλλον μειωμένης έκφρασης της S36 χοριονικής πρωτεΐνης. Επιπρόσθετα, σε αντίθεση με την S18, ο θεμελιώδης, και μη πλεονάζων, ρόλος των S36 και S38 πρωτεϊνών στην ανάπτυξη των αναπνευστικών νηματίων (RF) θεμελιώνεται από την απόκτηση έντονα δυσμορφικών φαινοτύπων αυτών στα αντίστοιχα διπλά διαγονιδιακά ωοθυλάκια. Τέλος, δια μέσου της χρησιμοποίησης του υποστρώματος της διαμινοβενζιδίνης (DAB), καταδεικνύεται η ανομοιόμορφη κατανομή ενεργότητας του ενζύμου της χοριονικής υπεροξειδάσης του υδρογόνου στα S36 και S38 διπλά διαγονιδιακά στελέχη.

DIFFERENTIAL ROLE OF S36, S38 AND S18 PROTEINS IN THE ARCHITECTURAL ORGANIZATION OF Drosophila melanogaster CHORION

Georgia C. Tzafa[1], Maria M. Tsioka[1], Athanassios D. Velentzas[1], Panagiotis D. Velentzas[1,2], Vasiliki E. Mpakou[1], Niki E. Sagioglou[1], Gail L. Waring[3], Lukas H. Margaritis[1], Issidora S. Papassideri[1], Dimitrios J. Stravopodis[1]

*1Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou 15784, Athens, Greece.2Department of Cancer Biology, University of Massachusetts, Medical School, Worcester, MA 01605, USA.3Department of Biology, Marquette University, WLS 109, PO Box 1881, Milwaukee, WI 53201-1881, USA.*Equal Contribution*

Chorion represents the eggshell of Drosophila melanogaster mature follicle and is produced by peripherally organized groups of follicle cells during the last phase of oogenesis, widely known as choriogenesis. The present study aims to illuminate the potentially differential and critical role of S36, S38 and S18 proteins in the architectural organization of Drosophila chorion, through generation of GAL4/UAS-mediated double transgenic flies, which targets to employ the RNAi-induced silencing of each chorionic component examined, specifically in the follicle cell compartment. Viability and eclosion assays were performed, while the structural integrity of double transgenic mature and laid eggs was revealed by Light Microscopy (LM), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM) technological approaches. Regarding fly strains carrying dramatically reduced S36, S38 and S18 protein expression levels in follicle cells, it proved that the viability of F1 progeny remained unaffected, in contrast to the eclosion process that was severely harmed exclusively in the S36 and S38 downregulated transgenic follicles. Ultrastructural analysis demonstrates the loss of chorion typical structure and architectural organization, with evident absence of pillars and lateral cavities, and disruption of tripartite nature of endochorion, whereas the obtained pathological phenotype presented with comparably higher strength in the cellular environment of reduced S36 protein content. Moreover, in contrast to S18, the fundamental, and non-redundant, role of S36 and S38 chorionic proteins in morphogenesis of the respiratory filaments (RF) is documented by the growth of highly dysmorphic RF structures in double transgenic follicles. Finally, through the application of a diaminobenzidine (DAB)-based cyto-chemical protocol, follicle cell-specific downregulation of S36 and S38 proteins resulted in an irregular distribution and topology of the chorionic hydrogen peroxidase activity, therefore corroborating the collapse of chorionic primary scaffold.

ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΕ ΑΙΜΟΔΟΤΕΣ ΠΟΥ ΠΛΗΡΟΥΝ ΤΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ, ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΣΕ ΤΡΑΠΕΖΕΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

Τζούνακας Β.[1], Τσολού Ε.[2], Τσουμπελή Μ.[2], Γεωργατζάκου Χ.[1], Σταμούλης Κ.[3], Κριεμπάρδης Α.[2], Αντωνέλου Μ.[1], Παπασιδέρη Ι.[1]

(1)Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα, (2) Εργαστήριο Αιματολογίας και Ιατρικής Μεταγγίσεων, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επαγγελμάτων Υγείας και Πρόνοιας, ΤΕΙ Αθήνας, (3) Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας

Οι εγγενείς φυσιολογικές διαφορές στο αιματολογικό πρότυπο των αιμοδοτών, πιθανώς καθορίζουν, σε κάποιο βαθμό, τις διαφορές που παρατηρούνται τόσο σε επίπεδο προ-αποθηκευτικών αλλοιώσεων όσο και ανάκτησης μετά από μετάγγιση. Ωστόσο, πριν την αιμοδότηση, εκτός από τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη, δεν εξετάζονται άλλα εργαστηριακά χαρακτηριστικά του αιμοδότη. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διαλεύκανση των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του δότη που επηρεάζουν πιθανώς την ικανότητα αποθήκευσης των ερυθροκυττάρων του. Για το λόγο αυτό 101 υγιείς άρρενες αιμοδότες, οι οποίοι πληρούσαν τα κριτήρια αιμοδοσίας, αξιολογήθηκαν για τον τρόπο ζωής τους, καθώς και για αιματολογικές, βιοχημικές και ερυθροκυτταρικές παραμέτρους. Οι περισσότερες από τις μεταβλητές που εξετάστηκαν βρέθηκαν εντός των φυσιολογικών ορίων, με εξαίρεση τα επίπεδα ουρικού οξέως, χοληστερόλης, LDL και Fe. Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (TAC) κυμαίνεται μεταξύ 678 και 1286μM Fe2+ ενώ το 37,3% των δοτών παρουσίασε μη φυσιολογικές τιμές. Αν και η μέση ερυθροκυτταρική ευθραυστότητα (MCF) κυμάνθηκε μεταξύ 0,34 και 0,49% [NaCl], το 19% εμφανίσε παθολογικές τιμές. Στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ (i) MCF και αιμόλυσης, (ii) TAC και ουρικού οξέως, TIBC και σωματικής άσκησης, (iii) ασβεστίου και MCV, RDW, (iv) καπνίσματος και κατανάλωσης αλκοόλ ή σωματικής άσκησης ($p < 0,05$). Η ποικιλομορφία που παρατηρήθηκε μεταξύ των αιμοδοτών, τόσο στα ερυθρά αιμοσφαίρια όσο και στο πλάσμα, ενδέχεται να οδηγεί σε διαφορετικό σημείο εκκίνησης για την ανάπτυξη της αποθηκευτικής βλάβης των ερυθροκυττάρων. Η υψηλή οσμωτική ευθραυστότητα και η αυξημένη αιμόλυση πιθανά επηρεάζουν την ποιότητα αποθήκευσης, ενώ οι χαμηλές τιμές TAC μπορεί να οδηγήσουν σε υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού στρες, ικανά να πυροδοτήσουν μονοπάτια κυτταρικής γήρανσης. Επιπλέον, η υψηλή συχνότητα εμφάνισης αυξημένων βιοχημικών δεικτών, όπως ο σίδηρος, μάλλον δείχνει μια ανάγκη για εξατομίκευση της Μετάγγισης Αίματος, ανάλογα με τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του δέκτη.

HEMATOLOGICAL AND CELLULAR EVALUATION OF BLOOD FROM ELIGIBLE MALE DONORS BEFORE STORAGE AT BLOOD BANK CONDITIONS

Tzounakas V.[1], Tsolou E.[2], Tsoumpeli M.[2], Georgatzakou H.[1], Stamoulis K.[3], Kriebardis A.[2], Antonelou M.[1], Papassideri I.[1]

(1) Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, NKUA, Greece, (2) Laboratoty of Hematology and Transfusion Medicine, Dpt. of Medical Laboratories, Faculty of Health and Caring Professions, TEI of Athens, Greece, (3) National Blood Centre

The inherent physiological differences in the hematological profile across the population of blood donors might determine to some extent the wide variability observed in the pre-storage lesions and post-transfusion erythrocyte recovery. However, apart from the Hb or hematocrit levels, other physical characteristics of donated blood have not been considered so far before the donation. This study focused on the elucidation of the donor-specific factors that probably affect the storability, namely the storage capacity of donor's RBCs. For this purpose 101 healthy male eligible blood donors were evaluated for lifestyle as well as for haematological, serum biochemical and RBCs corpuscular parameters. Most of the variables examined were found within the normal range, with the exception of uric acid, cholesterol, LDL and Fe levels. Plasma total antioxidant capacity (TAC) ranged from 678 to 1286μM Fe2+ while 37,3% of the subjects showed abnormal values. Although the Mean Corpuscular Fragility (MCF) varied between 0,34 and 0,49% [NaCl], 19% of the donors demonstrated pathologic erythrocyte fragility. Statistically significant correlations were found between (i) MCF and haemolysis levels, (ii) TAC and uric acid, TIBC, physical exercise, (iii) calcium and MCV, RDW, (iv) smoking and alcohol consumption or physical exercise at $p<0.05$. The diversity observed among the eligible blood donors, at both RBCs corpuscular and plasma levels, may lead to a different starting point for the development of RBCs storage lesion in individual units. High osmotic fragility and increased hemolysis may underlie poor storability, while low TAC may lead to higher basal levels of oxidative stress, capable of triggering senescence pathways. Additionally, the high incidence of elevated biochemical markers, such as iron, among the donors, probably indicates a need for personalization of Blood Transfusion depending on the particular characteristics of the recipient.

ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ Lactobacillus casei: ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ IN VITRO ΚΑΙ IN VIVO

Αγγελική Τιπτιρή-Κουρπέτη [1,4], Στυλιανή Ηλιάκη [1,4], Χριστίνα Σίμογλου-Καραλή [1,4], Δήμητρα Δημητρέλλου [2], Μαρία Καρούτσου [1], Βαλεντίνα Σανταρμάκη [2], Πέτρος Υψηλάντης [3], Κωνσταντίνος Σιμόπουλος [3], Ιωάννης Κουρκουτάς [2], Κατερίνα Χλίχλια [1,5]
Εργαστήριο Μοριακής Ανοσοβιολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, 68100 Αλεξανδρούπολη

Τα προβιοτικά είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί (βακτήρια ή ζύμες), τα οποία όταν χορηγηθούν σε επαρκείς ποσότητες έχουν ευεργετικές για την υγεία δράσεις. Τα προβιοτικά και συγκεκριμένα τα βακτήρια γαλακτικού οξέος έχουν συσχετιστεί με ανοσοενίσχυση, αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινική δράση. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η in vitro και in vivo αντικαρκινική δράση του Lactobacillus casei (ATCC 393) καθώς και εκχυλισμάτων αυτού. Προκειμένου να εκτιμηθεί η in vitro αναστολή της καρκινικής ανάπτυξης πραγματοποιήθηκαν δοκιμασίες κυτταρικής βιωσιμότητας (XTT και SRB) σε κυτταρικές σειρές αδενοκαρκινώματος μυός και ανθρώπου με ποικίλα εκχυλίσματα L. casei. Επιλεγμένα εκχυλίσματα L. casei εμφάνισαν σημαντική αντικαρκινική δράση. Συγκεκριμένα, εκχύλισμα L. casei που υπέστη βρασμό και έκθεση σε υπερήχους (HKSONsup) μείωσε τη βιωσιμότητα CT26 κυττάρων αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου κατά 85% μετά από 48ωρη επώαση. Ομοίως, επίδραση με το θρεπτικό μέσο καλλιέργειας L. casei (CM) οδήγησε σε αναστολή της ανάπτυξης κατά 80%. Παρόμοια δράση, 65% μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων μετά από επώαση 48 ωρών, εμφάνισε και το εκχύλισμα του L. casei που υπέστη βρασμό (HK). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι σε σύγκριση με τα κύτταρα HeLa τα κύτταρα CT26 εμφάνισαν μεγαλύτερη ευαισθησία και κυτταρική θνησιμότητα μετά από επώαση προβιοτικών. Επιπλέον, εξετάστηκε η βιολογική σημασία των in vitro αποτελεσμάτων σε συνγονικό μοντέλο αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου σε μύες. Η χορήγηση HKSONsup σε καθημερινή βάση σε ποντικούς BALB/c απέτρεψε σε σημαντικό βαθμό την ανάπτυξη όγκου, όπως διαπιστώθηκε από την μείωση της εμφάνισης καθώς και του μεγέθους του αναπτυσσόμενου όγκου 7 ημέρες μετά την χορήγηση συνγονικών καρκινικών κυττάρων. Πρόκειται να διεξαχθούν περαιτέρω πειράματα, προκειμένου να αποκαλυφθεί ο ακριβής μηχανισμός δράσης της αναστολής της βιωσιμότητας καρκινικών κυττάρων και της ανάπτυξης του όγκου. 4 ισότιμη συμβολή συγγραφέων / equally contributing authors 5 corresponding author: achlichl@mbg.duth.gr Η μελέτη υλοποιείται στο πλαίσιο της Δράσης «Ενίσχυση Μεταδιδακτόρων Ερευνητών/ τριών» του ΕΠΕΔΒΜ με Δικαιούχο την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας και συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) και από Εθνικούς Πόρους.

ANTI-CANCER PROPERTIES OF Lactobacillus casei: INHIBITION OF GROWTH OF COLON ADENOCARCINOMA CELLS IN VITRO AND IN VIVO

Angeliki Tiptiri-Kourpeti [1,4], Styliani Iliaki [1,4], Christina Simoglou-Karali [1,4], Dimitra Dimitrellou [2], Maria Karoutsou [1], Valentina Santarmaki [2], Petros Ypsilantis [3], Constantinos Simopoulos [3], Yiannis Kourkoutas [2,] Katerina Chlichlia [1,5]

Laboratory of Molecular Immunobiology, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University Campus-Dragana, 68100 Alexandroupolis, Greece

Probiotics are commonly defined as viable microorganisms (bacteria or yeasts) which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. Probiotics, and specifically Lactic Acid Bacteria (LAB) are believed to have immuno-enhancing, anti-inflammatory and anti-cancer properties. The aim of the present study was to evaluate the anti-cancer efficacy of the Lactobacillus casei strain ATCC 393 (and fractions/extracts thereof) against experimental colon cancer in vitro and in vivo. In order to evaluate the in vitro inhibition of tumor cell growth, cell viability assays (XTT and SRB) were performed on murine and human colon adenocarcinoma cell lines cultured with different fractions of L. casei. Selected fractions/extracts of L. casei showed a significant anti-proliferative effect. In particular, a dramatic drop (~85%) in cell proliferation of colon adenocarcinoma cells was observed after incubation of CT26 cells with a supernatant fraction of heat killed and sonicated L. casei (HKSON sup) for 48 hours. Additionally, treatment of CT26 cells with conditioned medium (CM) resulted in a decrease of 80% in cell viability, while treatment with heat-killed whole L.casei (HKwh) for the same period of time revealed inhibition of 65 % as compared to control PBS-treated cells. Interestingly, CT26 cells were more sensitive than HeLa cells to the anti-proliferative action of L. casei. We then evaluated the biological significance of the in vitro findings in a syngeneic murine tumor model of colon cancer. Treatment of mice with HKSONsup prevented significantly the establishment of tumor as evidenced by the reduction in incidence and size of the growing tumor 7 days following administration of CT26 cells. Experiments are currently underway to unravel the direct mechanism of Lactobacillus-mediated tumor growth inhibition. The research project is implemented within the framework of the Action: Supporting Postdoctoral Researchers, of the Operational Program: Education and Lifelong Learning (Action's Beneficiary, General Secretariat for Research and Technology), and is co-financed by the European Social Fund (ESF) and the Greek State.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΟΜΑΔΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΔΙΑΠΕΡΝΟΥΝ ΜΙΑ ΦΟΡΑ ΤΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ

Τούντας Κωνσταντίνος, Μπεϊλέρη Όλγα, Λίτου Ζωή, Τσαούσης Γεώργιος, Χαμόδρακας Σταύρος

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

Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν το 20-30% του πρωτεώματος τόσο των ευκαρυωτικών όσο και των προκαρυωτικών οργανισμών. Ο ρόλος τους στην επιβίωση και στην κυτταρική επικοινωνία είναι καθοριστικός, αφού λειτουργούν ως μεταφορείς, υποδοχείς, μόρια αγκυροβόλησης και ένζυμα. Επιπλέον, περισσότερο από το 50% των συνταγογραφούμενων φαρμάκων στοχεύουν σε μεμβρανικές πρωτεΐνες. Οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες διαπερνούν τη μεμβράνη μία ή περισσότερες φορές. Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε τις πρωτεΐνες που διαπερνούν μία φορά τη μεμβράνη (single-pass membrane proteins), οι οποίες κατατάσσονται σε τέσσερις τύπους (I-IV), ανάλογα με την τοπολογία και τον τρόπο που οδηγούνται στη μεμβράνη. Το σύνολο των πρωτεϊνών που μελετήθηκαν προήλθε από την Uniprot/Swiss-Prot και στη συνέχεια επεξεργάστηκε χρησιμοποιώντας προγράμματα γραμμένα σε Perl. Το τελικό σύνολο περιλάμβανε αποκλειστικά ανθρώπινες πρωτεΐνες και πιο συγκεκριμένα 161 τύπου I, 98 τύπου II, 9 τύπου III και 10 τύπου IV. Οι πρωτεΐνες τύπου III και IV ήταν λίγες σε αριθμό και δεν μελετήθηκαν περαιτέρω. Εξετάστηκε το μήκος και η αμινοξική σύσταση των διαμεμβρανικών τμημάτων για κάθε τύπο, λαμβάνοντας υπόψη την υποκυτταρική τους θέση. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς το μήκος του διαμεμβρανικού τμήματος των πρωτεϊνών τύπου I και II, ωστόσο παρατηρήθηκαν μικρές διαφοροποιήσεις στην αμινοξική σύσταση, ανάλογα με τον τύπο και την υποκυτταρική τους θέση. Για τη λειτουργική ομαδοποίηση των πρωτεϊνών, χρησιμοποιήθηκαν σύγχρονοι NLP αλγόριθμοι όπως η τεχνική Latent semantic analysis (LSA), αλλά και πιο κοινές τεχνικές στατιστικής ανάλυσης/ομαδοποίησης δεδομένων, όπως το k-means clustering. Ως είσοδος δόθηκαν προεπεξεργασμένα σύνολα δεδομένων του πεδίου Function των αρχείων Uniprot/ Swiss-Prot, για όλες τις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που διαπερνούν μία φορά τη μεμβράνη. Στόχος ήταν η δημιουργία/ανακάλυψη νέων λειτουργικών ομαδοποιήσεων για τους τέσσερις τύπους πρωτεϊνών που διαπερνούν μια φορά τη μεμβράνη.

COMPUTATIONAL STUDIES AND FUNCTIONAL CLUSTERING OF SINGLE-SPANNING MEMBRANE PROTEINS

Tountas Konstantinos, Bejleri Olga, Litou Zoi, Tsaousis Georgios, Hamodrakas Stavros
Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01

Membrane proteins represent ca. 20–30% of both eukaryotic and prokaryotic proteomes. They play crucial roles in cell survival and cell communication, as they function as transporters, receptors, anchors and enzymes. More than 50% of all prescribed drugs are targeting membrane proteins. Transmembrane proteins either span the membrane once (single-spanning membrane proteins) or several times (multi-spanning membrane proteins). This work was focused on single-spanning proteins, which are classified into four types (I-IV), depending on their topology and membrane targeting. The dataset was obtained from Uniprot/SwissProt and was further filtered using Perl scripts. The final dataset consists of 161 type I, 98 type II, 9 type III and 10 type IV human proteins. Type III and IV membrane proteins were under-represented and were excluded from further analysis. We examined the length and amino acid percentage content of transmembrane segments for each type (I and II) with respect to their subcellular location. There were no significant statistical differences in the length of the transmembrane segments of both types. However, a slight difference in the amino acid percentage content was observed, depending on the type and subcellular location. For functional clustering, modern NLP algorithms (e.g. Latent semantic analysis, LSA) and common techniques for statistical data analysis/clustering, such as k-means clustering, were used. As input, pre-processed datasets of the field Function, of the Uniprot/Swiss-Prot files for all single-pass transmembrane proteins were utilized. Our goal was the creation/discovery of novel functional clusters/families for all single-pass transmembrane protein types. Acknowledgments: This work was funded by the SYNERGASIA 2009 PROGRAMME, co-funded by the European Regional Development Fund and National resources (Project Code 09SYN-13-999), General Secretariat for Research and Technology of the Greek Ministry of Education and Religious Affairs, Culture and Sports.

ΣΤΡΑΓΓΙΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ: ΜΙΑ ΔΙΑΡΚΗΣ ΑΠΕΙΛΗ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ ΚΑΙ ΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Ειρήνη Τουφεξή[1], Βασιλική Τσαρπαλή[1], Ιωάννα Ευθυμίου[2], Μαρία-Σοφία Βιδάλη[2], Δημήτρης Βλαστός[2], Στέφανος Νταϊλιάνης[1]

1/ Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα- 2/ Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδας, 30100 Αγρίνιο

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην εκτίμηση του κινδύνου των στραγγισμάτων που δημιουργούνται σε χώρους υγειονομικής ταφής απορριμμάτων (ΧΥΤΑ) τόσο για τους οργανισμούς του υδάτινου περιβάλλοντος όσο και τη Δημόσια Υγεία. Συγκεκριμένα, διερευνάται η ικανότητα του στραγγίσματος να προκαλεί κυτταροτοξικά, οξειδωτικά και γενοτοξικά φαινόμενα σε αιμοκύτταρα μυδιών του είδους Mytilus galloprovincialis, το οποίο χρησιμοποιείται ευρύτατα ως βιολογικό μοντέλο σε μελέτες τοξικότητας, καθώς και η ικανότητά του να επάγει γενοτοξικές και κυτταροτοξικές επιδράσεις σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων. Συγκεκριμένα, μικρής διάρκειας (1 ώρα) έκθεση των αιμοκυττάρων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις στραγγίσματος (0, 0.01, 0.1, 1, 10, 20, 40 και 80% v/v), οδήγησε σε σημαντική αύξηση της θνησιμότητας των κυττάρων, με ταυτόχρονη επαγωγή οξειδωτικών και γενοτοξικών επιπτώσεων, όπως προκύπτει από τον προσδιορισμό των επαγόμενων σουπεροξειδικών ανιόντων και υπεροξειδιωμένων λιπιδίων, καθώς και των επιπέδων βλάβης του DNA στα εκτιθέμενα αιμοκύτταρα. Παρομοίως, έκθεση λεμφοκυττάρων σε 0.1, 0.2 και 1% v/v στραγγίσματος οδήγησε σε σημαντική αύξηση των γενοτοξικών και κυτταροτοξικών επιπτώσεων, όπως προκύπτει από τις αυξημένες συχνότητες μικροπυρήνων και την πτώση του δείκτη πολλαπλασιασμού των κυττάρων που παρατηρήθηκαν μετά την εφαρμογή της τεχνικής των μικροπυρήνων με χρήση κυτταροχαλασίνης-Β (Cytokinesis Block Micronucleus assay, CBMN assay). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η μη-σωστή διαχείριση των στραγγισμάτων, μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση των υδάτινων οικοσυστημάτων, θέτοντας σε κίνδυνο τόσο τους υδρόβιους οργανισμούς όσο και τη Δημόσια Υγεία.

ENVIRONMENT RISK OF LANDFILL LEACHATE: A POTENT THREAT FOR AQUATIC ORGANISMS AND HUMAN HEALTH

Eirini Toufexi[1], Vasiliki Tsarpali[1], Ioanna Efthimiou[2], Maria-Sophia Vidali[2], Dimitris Vlastos[2], Stefanos Dailianis[1]

1/Section of Animal Biology, Department of Biology, University of Patras, GR 26500, Patras, Greece 2/Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Western Greece, GR 30100, Agrinio, Greece

The present study investigates leachate hazardous effects on marine biota and human cells, with the use of a battery of assays, under in vitro conditions. According to the results, increased levels of DNA damage (in terms of % DNA in tail and olive tail moment/OTM) were observed in hemocytes treated in vitro with different concentrations of leachate, followed by a significant enhancement of both superoxide anions (.O2-) and lipid peroxidation products (malondialdehyde/MDA). On the other hand, human lymphocyte cultures treated with such a low concentrations of leachate (0.1, 0.2 and 1% v/v), showed increased frequencies of MN formation and large MN size ratio, as well as decreased cell proliferation, as indicated by the use of the cytokinesis block micronucleus (CBMN) assay and cytokinesis block proliferation index (CBPI) respectively. These findings showed the clear-cut genotoxic and cytotoxic effect of leachate on both cellular types, as well as its potential aneugenic activity in human lymphocytes.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΠΛΑΓΚΤΙΚΩΝ ΕΤΕΡΟΤΡΟΦΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Τριανταφυλλίδης Αναστάσιος, Μεζίτη Αλεξάνδρα, Αφένδρα Αμαλία, Καραγιάννη Ήρα
Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα

Οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί της υδάτινης στήλης και πρωτίστως τα βακτήρια μεταβολίζουν μεγάλο μέρος της πρωτογενούς παραγωγής στα υδάτινα οικοσυστήματα. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε στο εργαστήριο ο μεταβολισμός μικροοργανισμικών κοινοτήτων στο φυσικό τους περιβάλλον (αυτοχθόνων) καθώς και σε περιβάλλον διαφορετικών φυσικοχημικών συνθηκών (μεταφερόμενων). Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν δυο σειρές πειραμάτων σε μικρόκοσμους και εξετάστηκε ο μεταβολισμός μέσω μέτρησης της αναπνοής. Συγκεκριμένα, θαλασσινό νερό (Κόλπος Ηγουμενίτσας, IGO) ή νερό λίμνης (Λίμνη Παμβώτιδα, PAM) εμβολιάστηκε σε διαφορετικά καλλιεργητικά μέσα αποτελούμενα από διηθημένο και αποστειρωμένο νερό από τις παραπάνω περιοχές (IGOW και PAMW αντίστοιχα) και προέκυψαν τέσσερις τύποι μικρόκοσμων (IGO/IGOW, IGO/PAMW, PAM/IGOW και PAM/PAMW). Οι μικρόκοσμοι επωάστηκαν στους 22˚C στο σκοτάδι για 11 ημέρες. Ο ρυθμός αναπνοής και στις δύο σειρές πειραμάτων ήταν υψηλότερος για τους αυτόχθονες πληθυσμούς (IGO/IGOW και PAM/PAMW). Συγκεκριμένα, ο μέγιστος ρυθμός αναπνοής παρατηρήθηκε στους μικρόκοσμους PAM/PAMW και ήταν κατά μέσο όρο 0.15 mgO2/L/day, ενώ ο χαμηλότερος ρυθμός παρατηρήθηκε στους μικρόκοσμους IGO/PAMW (0.05 mgO2/L/day). Συνολικά, οι χαμηλότεροι ρυθμοί αναπνοής στους μεταφερόμενους πληθυσμούς κατέδειξαν την επίδραση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών (π.χ. αλατότητα) στο μεταβολισμό των υδρόβιων μικροοργανισμών. Λέξεις κλειδιά: αναπνοή, μέθοδος winkler, ετερότροφοι μικροοργανισμοί, υδάτινα οικοσυστήματα

STUDYING THE METABOLISM OF HETEROTROPHIC PLANKTONIC MICROORGANISMS

Triantafyllidis Anastasios, Meziti Alexandra, Afendra Amalia, Karayanni Hera
Dept of Biological Applications & Technology, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece

Heterotrophic microorganisms in the water column, mainly bacteria, metabolize a significant part of primary production in aquatic ecosystems. In this study we examined in the laboratory the metabolism of autochthonous and translocated microbial communities. For this purpose, two microcosm experiments were conducted and metabolism was studied through microbial respiration. In particular, seawater from the Gulf of Igoumenitsa (IGO) and lake water from L. Pamvotis (PAM) was inoculated in different growth media consisted of particle free and autoclaved water from the above areas (IGOW and PAMW). Four types of microcosms were prepared: IGO/IGOW, IGO/PAMW, PAM/IGOW and PAM/PAMW. Incubation took place at 22°C, in the dark for 11 days. Respiration rate in both experimental series was higher for autochthonous communities (IGO/IGOW and PAM/PAMW). The highest respiration rate was observed in the PAM/PAMW microcosm (0.15 mgO2/L/day). The lowest respiration rate was observed in the microcosm IGO/PAMW (0.05 mgO2/L/day). Overall, lower respiration rates in translocated communities showed the effect of physicochemical parameters (e.g. salinity) on the metabolism of aquatic microorganisms. Keywords: respiration, Winkler method, heterotrophic microorganisms, aquatic ecosystems

ΜΗΝΙΑΙΑ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΤΡΟΦΙΚΟΥ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΤΗΣ ΦΡΙΣΣΑΣ (Sardinella aurita) ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

Ελένη Τσάλκου, Michele Torre, Αθανάσιος Τσίκληρας
Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

Η φρίσσα (Sardinella aurita) είναι ένα μικρό πελαγικό ψάρι με υποτροπική εξάπλωση, η οποία όμως έχει επεκταθεί προς το βορρά στη Μεσόγειο Θάλασσα ως αποτέλεσμα της κλιματικής αλλαγής. Αν και η φρίσσα έχει μελετηθεί εκτενώς στη Μεσόγειο, οι διατροφικές της συνήθειες έχουν μεγάλη οικολογική σημασία καθώς έχει αναφερθεί πιθανός ανταγωνισμός με τον γαύρο (Engraulis encrasicolus) και τη σαρδέλα (Sardina pilchardus) για τροφή και χώρο. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να διερευνηθούν οι τροφικές συνήθειες της φρίσσας και να υπολογιστεί το τροφικό της επίπεδο ανά μήνα. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε μηνιαία βάση από τον εμπορικό στόλο μέσης αλιείας (γρι-γρι) του βορείου Αιγαίου (Οκτώβριος 2000-Σεπτέμβριος 2001). Τριάντα άτομα τοποθετήθηκαν σε διάλυμα φορμόλης και στη συνέχεια μετρήθηκαν (ολικό μήκος, TL, cm) και ζυγίστηκαν (ολικό βάρος, TW, g). Το ολικό μήκος των ατόμων που μελετήθηκαν κυμάνθηκε από 11.0 έως 24.3 cm. Το στομαχικό περιεχόμενο των ατόμων κατηγοριοποιήθηκε στο χαμηλότερο ταξινομικό επίπεδο, μετρήθηκε και ζυγίστηκε στο πλησιέστερο 0.001 g. Το κλασματικό τροφικό επίπεδο (αριθμός από το 1 έως το 5 που εκφράζει τη σχετική θέση ενός οργανισμού στο θαλάσσιο τροφικό πλέγμα) υπολογίστηκε συνολικά και ανά μήνα με το πρόγραμμα TrophLab. Τα κωπήποδα αποτέλεσαν την κύρια λεία της φρίσσας καθώς, συνολικά, ξεπέρασαν το 75% του συνόλου σε βάρος. Οι υπόλοιπες λείες ήταν δεκάποδα (8%), φυτοπλαγκτό (5%), ιχθυονύμφες (3.6%), οστρακώδη (3.3%), και διάφορες άλλες λείες που αθροιστικά αποτέλεσαν το 5.1%. Περίπου το 8% του στομαχικού περιεχομένου δεν μπορούσε να προσδιοριστεί και εξαιρέθηκε από τον υπολογισμό του τροφικού επιπέδου. Σύμφωνα με το τροφικό της επίπεδο, το οποίο υπολογίστηκε σε 3.05±0.16, η φρίσσα είναι παμφάγο ψαρι με προτίμηση στους ζωικούς οργανισμούς. Ως μηνιαία ποσοστιαία συμμετοχή, τα κωπήποδα ήταν η κυριότερη λεία της φρίσσας καθ'όλη τη διάρκεια του έτους με σταθερή συμμετοχή πάνω από 70% με εξαίρεση τον Μάιο (κυριότερη λεία τα δεκάποδα) και τον Αύγουστο (κυριότερες λείες τα δεκάποδα και οι ιχθυονύμφες, τα κωπήποδα απουσίαζαν). Το μηνιαίο τροφικό επίπεδο της φρίσσσας κυμάνθηκε από 2.92 (Μάρτιος) έως 3.88 (Αύγουστος).

MONTHLY VARIATION IN THE DIET AND TROPHIC LEVEL OF ROUND SARDINELLA (Sardinella aurita) IN THE NORTHERN AEGEAN SEA

Eleni Tsalkou, MicheleTorre, Athanassios Tsikliras
Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

Round sardinella (Sardinella aurita) is a small pelagic fish with subtropical distribution, which has been expanded northwards in Mediterranean Sea, as a result of climatic change. Although the species is well studied in the Mediterranean, round sardinella has been reported to compete with anchovy (Engraulis encrasicolus) and sardine (Sardina pilchardus) for space and food; thus its diet is important. The objectives of the present work were to identify the prey preferences and estimate the trophic level of round sardinella on a monthly basis. Samples were collected monthly, onboard the commercial purse seine fleet of the northern Aegean Sea for a complete year cycle (October 2000-September 2001). Thirty specimens were fixed in 10% formaldehyde solution and then measured (total length, TL, cm) and weighed (total weight, TW, g). The total length of the fish examined ranged from 11 to 24.3 cm. Prey items were identified to the lowest possible taxonomic groups, counted and weighed to the nearest 0.01 g. The fractional trophic level (Troph), a number between 1 and 5, expressing the relative position of the marine organisms in the food webs, was calculated monthly and overall. Copepods were the main prey of round sardinella since, overall, they contributed to over 75% of its diet in terms of weight. The remaining prey items were decapods (8%), algae (5%), fish larvae (3.6%), ostracods (3.3%) and various other prey (5.1%, all combined). About 8% of stomach content by weight was unspecified and excluded from further analysis. Based on its trophic level that was calculated as 3.05±0.16, round sardinella is an omnivore with preference for animal prey. Within the year, copepods was the main prey throughout the year except in May (decapods were the main prey) and August (decapods and fish larvae were the main prey items; copepods were absent). Round sardinella's trophic level ranged between 2.92 (March) and 3.88 (August).

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΏΝ HOMER ΣΤΗ ΝΟΣΟ ΤΟΥ ALZHEIMER

Τσαμπούλα Ματίνα, Θωμαΐδου Σοφία, Παπαδογιαννάκη Γεωργία, Κυρατζή Έλλη, Ευθυμιόπουλος Σπύρος

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια

Ο νευροεκφυλισμός στη νόσο του Alzheimer έχει συνδεθεί με την εναπόθεση του πεπτιδίου του β- αμυλοειδούς, που προέρχεται από την πρωτεολυτική επεξεργασία της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP). Η εναπόθεση αυτή έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό πλακών β-αμυλοειδούς στον εγκέφαλο. Η APP είναι μια τύπου 1 διαμεμβρανική πρωτεΐνη που εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στον εγκέφαλο. Μεταλλαγές στην APP έχουν συσχετιστεί με την εκδήλωση οικογενούς νόσου του Alzheimer με προώρη εμφάνιση συμπτωμάτων. Έχουμε αποδείξει, προηγουμένως, ότι η APP αλληλεπιδρά με τις Homer 2 και Homer 3 και ότι αυτή η αλληλεπίδραση μειώνει την επεξεργασία της APP προς τον σχηματισμό του πεπτιδίου του β- αμυλοειδούς. Η αλληλεπίδραση γίνεται μέσω της EVH1 περιοχής των Homers. Επιπροσθέτως, οι Homers διαθέτουν μια Coiled coil περιοχή, η οποία θεωρείται ότι τους δίνει τη δυνατότητα να σχηματίζουν ομο- και ετεροδιμερή. Στη συγκεκριμένη μελέτη αποδείχτηκε ότι οι Homer 1,2 και 3 ομο- και ετεροδιμερίζονται. Επιπροσθέτως, βρέθηκε ότι οι Homer 1 και Homer 3, που τους έχει αφαιρεθεί η περιοχή Coiled coil, δεν έχουν τη δυνατότητα να σχηματίζουν ομο- και ετεροδιμερή. Στην παρούσα περίοδο, ερευνούμε αν η διαφοροποίηση στην ομοιόσταση του ασβεστίου επηρεάζει την δημιουργία ομοδιμερών κι ετεροδιμερών μεταξύ των Homer πρωτεϊνών. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΘΑΛΗΣ – ΕΚΠΑ Μελέτη μηχανισμών νευροεκφυλισμού στην νόσο Alzheimer.

ASSOCIATION OF HOMER PROTEINS POLYMERIZATION WITH ALZHEIMER'S DISEASE

Tsampoula Matina, Thomaidou Sofia, Papadogiannaki Georgia, Kyratzi Elli, Efthimiopoulos Spiros

Department of Biology, Division of Human and Animal Physiology, University of Athens, Panepistimiopolis, Ilisia

The neurodegeneration in Alzheimer's disease (AD) has been linked to deposition of amyloid β-peptide (Aβ), derived from the processing of the amyloid precursor protein (APP), in amyloid plaques in brain tissue. The APP is a type 1 transmembrane protein highly expressed in brain. Mutations in APP have been associated with early-onset familiar AD (FAD). We have previously shown that APP interacts with Homer 2 and Homer 3 and that this interaction reduces processing of APP towards the production of Aβ peptide. The interaction is mediated via the EVH1 domain. In addition Homer proteins possess a coiled coil domain that is considered to allow them to form in-trans homodimers and/or heterodimers. In this study we have shown that Homer 1, 2 and 3 form homodimers and heterodimers. We also found that Homer 1 and Homer 3, lacking the coil coiled domain, show no dimerization capacity. In addition, Homer 3 lacking the EVH1 domain is capable of interacting with the other members of the Homer family proteins. We are currently investigating if the alteration of calcium homeostasis influences the formation of Homers' homodimers and heterodimers. This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: THALIS – UOA-Study mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ CK2 ΚΑΙ ΤΗΣ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ P0 ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ CERATITIS CAPITATA ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ

Φωτεινή Τσεκέ, Σοφία Κουγιανού - Κουτσούκου
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15701

Η πρωτεϊνική κινάση CK2 είναι μία συντηρητική κινάση Ser/Thr που αποτελείται από ένα τετραμερές α2β2 από δύο καταλυτικές (α) και δύο ρυθμιστικές (β) υπομονάδες, δρα ως γενικός αναστολέας της απόπτωσης και συμμετέχει σε πολλές κυτταρικές διεργασίες στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, όπως η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και η κυτταρική διαφοροποίηση. Η CK2 φωσφορυλιώνει τις P- πρωτεΐνες του ριβοσωμικού μίσχου P0(P1/P2)2, ρυθμίζοντας έτσι τη ριβοσωμική ενεργότητα κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Μελέτες σε διάφορα ευκαρυωτικά είδη και στον άνθρωπο έχουν δείξει ότι η CK2 και η P0 υπερεκφράζονται σε συνθήκες καταπόνησης (στρες) και στον καρκίνο. Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται η ανάλυση της έκφρασης της CK2α κινάσης και της ριβοσωμικής πρωτεΐνης P0 του εντόμου C. capitata μετά από θερμικό σόκ. Αρχικά κατασκευάσθηκε το cDNA της ριβοσωμικής πρωτεΐνης P0 της C. capitata με PCR, κλωνοποιήθηκε σε ειδικό φορέα έκφρασης pRSET και η ανασυνδυασμένη CcP0 πρωτεΐνη απομονώθηκε μετά από έκφραση σε κύτταρα Escherichia coli και χρωματογραφία συγγένειας. Η recCcP0 πρωτεΐνη ταυτοποιήθηκε με ανάλυση κατά Western με ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα. Πραγματοποιήθηκε επίσης απομόνωση της ανασυνδυασμένης CK2α κινάσης της C.capitata μετά από έκφραση σε κύτταρα E.coli, ταυτοποίηση της με ανάλυση κατά Western με ειδικό πολυκλωνικό αντίσωμα και χρήση της για τη φωσφορυλίωση των ανασυνδυασμένων CcP0 και CcP1 πρωτεϊνών. Η φωσφορυλίωση έγινε με δοκιμασία κινάσης και χρήση 32-P ως δότη φωσφόρου, SDS-PAGE και αυτοραδιογραφία. Οι ανασυνδυασμένες CcP0 και CcP1 πρωτεΐνες χρησιμοποιήθηκαν επίσης ως υπόστρωμα για τη μελέτη της ενεργότητας της ενδογενούς CK2α κινάσης της C. capitata σε θερμικό σοκ με δοκιμασία κινάσης, σε δείγματα εντόμων που είχαν εκτεθεί στους 30, 37 και 40 oC για μία και τρείς ώρες. Η επίδραση του θερμικού σοκ στην έκφραση της ενδογενούς CcP0 πρωτεΐνης μελετήθηκε επίσης με ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα. Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ε. Λ. Κ. Ε. του Πανεπιστημίου Αθηνών (στην Σ.Κ).

ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF PROTEIN KINASE CK2α AND THE RIBOSOMAL P0 PROTEIN IN THE INSECT CERATITIS CAPITATA AT HEAT SHOCK

Photini Tseke, Sofia Kouyanou-Koutsoukou
University of Athens, Faculty of Biology, Department of Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 15701

Protein kinase CK2 is a highly conserved Ser/Thr kinase that is found in tetrameric complexes (α2β2), consisting of two catalytic (α) subunits and two regulatory (β) subunits. CK2 is an inhibitor of apoptosis participating in several cellular processes, including the regulation of cell cycle and the cellular differentiation of higher eukaryotes. The CK2 kinase phosphorylates the P-proteins of the ribosomal stalk P0(P1/P2)2, thus regulating the ribosomal activity during protein synthesis. Several studies on many eukaryotes and human have shown that CK2 and P0 are over expressed at stress conditions and in cancer. We present here the analysis of the expression of CK2α kinase and the ribosomal protein P0 in the medfly Ceratitis capitata after heat shock. The cDNA molecule of the ribosomal protein CcP0 was constructed by PCR, cloned in the specific expression vector pRSET, and the recombinant protein was isolated by affinity chromatography after expression in Escherichia coli. The recCcP0 protein was identified by Western blot analysis with a specific monoclonal antibody. The recombinant CK2α protein of C. capitata was also isolated after expression in E. coli, identified with Western blot analysis with a specific polyclonal antibody and was used for the phosphorylation of the recombinant CcP0 and CcP1 proteins, with kinase assay and 32P-ATP as phosphate donor, followed by SDS-PAGE και autoradiography. The recombinant CcP0 and CcP1 proteins were also used as substrates for the analysis of the endogenous CcCK2α activity at heat shock, in samples of insects that were exposed at 30, 37 and 40 oC for 1 and 3 hours. The impact of heat shock on the expression of the endogenous CcP0 protein was also studied by western blot analysis with a specific monoclonal antibody.

ΟΙ ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΥΠΟΥ TOLL ΒΕΛΤΙΩΝΟΥΝ ΤΙΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ: ΤΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΗΣ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α

Τσιτσιλώνη Ουρανία
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Οι αγωνιστές των υποδοχέων τύπου-Toll (TLR) ενεργοποιούν τα δενδριτικά κύτταρα (DC), προωθούν την παραγωγή Th1-τύπου κυτταροκινών και βελτιστοποιούν τις απαντήσεις των κυτταροτοξικών Τ κυττάρων. Μέχρι σήμερα, προκλινικές και κλινικές μελέτες υποδεικνύουν ότι οι αγωνιστές TLR μπορούν να βελτιώσουν τα εφαρμοζόμενα πρωτόκολλα αντικαρκινικού εμβολιασμού. Παρόλο που ο FDA έχει εγκρίνει για χρήση στον άνθρωπο τρεις αγωνιστές TLR (τα BCG, MPL και imiquimod), η ευρεία τους χρησιμοποίηση περιορίζεται κυρίως από την τοξικότητα που προκαλείται από τη συστηματική παραγωγή κυτταροκινών. Προς το παρόν, οι αγωνιστές TLR που έχουν χρησιμοποιηθεί στην αντικαρκινική θεραπεία ανήκουν στην κατηγορία των σχετιζόμενων με παθογόνα ή μικρόβια μοριακών μοτίβων (PAMPs ή MAMPs), προσπαθώντας να μιμηθούν μια μικροβιακή λοίμωξη και να «ξυπνήσουν» τους αντικαρκινικούς ανοσολογικούς μηχανισμούς. Όμως, η ιδανική in vivo ενορχήστρωση της αντικαρκινικής δραστικότητας δεν έχει επιτευχθεί. Πιο αποτελεσματική μπορεί να αποδειχθεί η χρήση ως ανοσοενισχυτικών, των σχετιζόμενων με την κυτταρική καταστροφή μοριακών μοτίβων (DAMPs), αντί των PAMPs. Τα DAMPs είναι κυτταρικά/εαυτά στοιχεία, που κατά τον κυτταρικό θάνατο εντοπίζονται σε διαφορετική θέση (πχ. εξωκυτταρικά) από αυτή στην οποία λειτουργούν φυσιολογικά (πχ. ενδοκυτταρικά). Στον καρκίνο, οι κλασικές θεραπείες (ακτινοθεραπεία ή χημειοθεραπεία με ανθρακυκλίνες ή αλκυλιωτικούς παράγοντες), οδηγούν σε ανοσογονικό θάνατο, επάγοντας τη χωροχρονική απελευθέρωση καρκινικών αντιγόνων και DAMPs, ενεργοποιώντας τα DC να επεξεργαστούν τα αντιγόνα και να τα παρουσιάσουν στα Τ κύτταρα. Παρόλο που δεν έχουν δοκιμαστεί κλινικά, μερικά DAMPs, όπως οι HSP, HMGB1 και προθυμοσίνη α (προΤα), ενεργοποιούν τις αντικαρκινικές ανοσοαπαντήσεις. Όπως έχει δειχθεί in vitro και σε μοντέλα ζώων, η χορήγηση προΤα ενισχύει την αποτελεσματικότητα των ογκοσχετιζόμενων δραστικών κυττάρων, προάγοντας, μέσω κυτταροκινών, τη δημιουργία ενός ανοσοδιεγερτικού περιβάλλοντος, χωρίς τοξικότητα ή παρενέργειες. Συνεπώς, ο σχεδιασμός κλινικών δοκιμών χρησιμοποιώντας την προΤα ή το ανοσοδραστικό της πεπτίδιο ως ανοσοενισχυτές, ίσως βελτιώσει τα εφαρμοζόμενα αντικαρκινικά πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας.

TOLL-LIKE RECEPTOR AGONISTS IMPROVE ANTI-CANCER VACCINATION STRATEGIES: THE EXAMPLE OF PROTHYMOCIN α

Tsitsiloni O.
Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA

Toll-like receptor (TLR) agonists possess remarkable properties, particularly in relevance to dendritic cell (DC) activation, promoting Th1-type cytokine production and optimizing cytotoxic T lymphocyte responses. Preclinical and clinical studies conducted to date show that TLR agonists can improve currently applied anti-cancer vaccination protocols. Although these have resulted to the FDA approval of 3 TLR agonists for use in humans (BCG, MPL and imiquimod), their ample application encounters limitations, due to dose-imitating toxicity evoking from systemic cytokine production. The TLR agonists used so far for treating cancer patients belong to the family of pathogen- or microbe-associated molecular patterns (PAMPs/MAMPs), aiming to mimic a microbial infection and "awaken" anti-tumor reactive immune mechanisms. However, the appropriate in vivo orchestration of the anti-tumor machinery has not yet been achieved. Using damage-associated molecular patterns (DAMPs) instead of PAMPs as vaccine adjuvants, may be more beneficial. DAMPs are cell/self components, relocalized at a site different (extracellularly) to the one they normally function (intracellularly). In cancer, standard treatments such as radiotherapy and chemotherapy with specific drugs (anthracyclins or alkylating agents) result in an immunogenic type of cell death, inducing the spatiotemporal release of tumor antigens and DAMPs, activating DCs to process tumor antigens and cross-presenting them to T cells. Although still not clinically tested, some DAMPs, like HSPs, HMGB1 and prothymosin α (proTα), reportedly activate the immune system against cancer. As shown in vitro and in animal models, administration of proTα enhances the efficacy of tumor-reactive effectors by creating a suitable stimulating-cytokine milieu. Moreover, its administration lacks toxicity and severe adverse effects. Considering the distinct properties of proTα and of its immunoactive fragment, the design of clinical studies integrating these molecules as adjuvants may improve currently applied anti-tumor immunotherapies.

ΤΑ MSCs ΚΑΙ ΟΙ ΕΚΚΡΙΝΟΜΕΝΟΙ ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΔΙΑΛΥΤΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΕΡΙΟΡΙΖΟΥΝ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΙΝΩΣΗΣ ΣΕ ΖΩΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ

Τσολάκη Ελευθερία[1,2], Γούναρη Ελένη[1,2], Αθανασίου Ευαγγελία[1], Ελεμηνιάδου Ευρυδίκη[1,2] Κοτζιαλάμπου Αναστασία[1,2], Αναγνωστόπουλος Αχιλλεύς[1], Γιάγκου Μηνάς[2], Γιαννάκη Ευαγγελία[1]

1/Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική-ΜΜΜΟ, Νοσοκομείο Γ.Παπανικολάου Θεσσαλονίκη - 2/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ, Θεσσαλονίκη

Τα Μεσεγχυματικά Στελεχιαία Κύτταρα (MSCs) χαρακτηρίζονται από ικανότητες αυτοανανέωσης, πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης. Επίσης, εκκρίνουν διαλυτούς παράγοντες που μπορούν να συμβάλλουν στην αποκατάσταση ιστικών βλαβών. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί ο ρόλος των MSCs και των εκκρινόμενων παραγόντων τους στη διαδικασία αποκατάστασης της χρόνιας ηπατικής βλάβης σε ζωϊκό πειραματικό μοντέλο. Σε θηλυκά C57 ποντίκια προκλήθηκε χρόνια ηπατική βλάβη με χορήγηση CCl4 (22 δόσεις, 2 ml/kg × 2η*μ*/εβδ.). Ακολούθως, εγχύθηκαν ενδοπεριτοναϊκά, στη μια ομάδα MSCs που απομονώθηκαν από το Μυελό των Οστών (ΜΟ) αρσενικών δοτών, στη δεύτερη συμπυκνωμένο υπερκείμενο καλλιέργειας MSCs, στην τρίτη συνδυασμός τους, ενώ υπήρχε και μια ομάδα αναφοράς. Τα MSCs ταυτοποιήθηκαν με κυτταρομετρία ροής (FCM) ως CD45-CD44+CD73+CD54+Sca-1+ και βάσει της ικανότητας διαφοροποίησής τους προς οστεοκύτταρα και λιποκύτταρα. Η ηπατική ίνωση εκτιμήθηκε *με* τις χρώσεις Masson και Gomori και *με* ανοσοϊστοχη*μ*εία (a-sma+ κύτταρα). Στα ζώα στα οποία χορηγήθηκαν MSCs επιχειρήθηκε ο εντοπισμός τους με PCR για το γονίδιο sry. Επιπλέον, προκειμένου να διερευνηθεί εάν αποκτούν χαρακτηριστικά ηπατοκυττάρων, συγκαλλιεργήθηκαν με ηπατικό ιστό σε transwell καλλιεργητικά συστήματα και ελέγχθηκε με RT-PCR η έκφραση αλβουμίνης (ηπατικός δείκτης) και με FCM η έκφραση των επιφανειακών κυτταρικών δεικτών CD45, CD29.Και στις τρεις πειραματικές ομάδες η έκταση της ίνωσης και ο αριθμός των a-sma+ κυττάρων ήταν στατιστικώς σημαντικά μειωμένα σε σύγκριση με τα ζώα της ομάδας αναφοράς, ενώ δεν ανιχνεύθηκαν sry+ κύτταρα.Τα MSCs σε συγκαλλιέργεια με ηπατικό ιστό φάνηκε ότι χάνουν την έκφραση των δεικτών που τα χαρακτηρίζουν και εκφράζουν δείκτες ηπατοκυττάρων. Συμπερασματικά προκύπτει ότι τα MSCs και οι εκκρινόμενοι από αυτά διαλυτοί παράγοντες μπορούν να συμβάλλουν στην ηπατική αναγέννηση, βελτιώνοντας την ιστολογική εικόνα του ήπατος και μειώνοντας τον αριθμό των ενεργοποιημένων μυοϊνοβλαστών, ενώ in vitro αποκτούν χαρακτηριστικά ηπατοκυττάρων. Χρηματοδοτούμενο Έργο:ΕΣΠΑ-Ηράκλειτος ΙΙ

MSCs AND MSCs-DERIVED MOLECULES ATTENUATE THE FIBROTIC PROCESS IN A CHRONIC LIVER INJURY MODEL

Tsolaki Eleftheria[1,2], Gounari Eleni[1,2], Athanasiou Evangelia[1], Eleminiadou Evridiki[1,2], Kotzialampou Anastasia[1,2], Anagnostopoulos Achilles[1], Yiangou Minas[2], Yannaki Evangelia[1]
1/Gene and Cell Therapy Center, Hematology-BMT Unit, G.Papanicolaou Hospital, Thessaloniki - 2/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

Mesenchymal Stem Stells (MSCs) are able to self-renew, proliferate and differentiate into various cell types. Furthermore, MSCs- derived molecules could promote repair of damaged tissues. We sought to investigate whether MSCs or MSCs-derived molecules contribute to liver regeneration of the chronically injured liver in a mouse model. Chronic liver damage was induced to C57 female mice by injecting CCl4 (2 ml/kg, twice a week). After 22 doses of CCl4, MSCs isolated from Bone Marrow (BM) of C57 male mice, or concentrated culture supernatant or a combination of them was infused intraperitoneally to the recipients. MSCs were characterised as CD45-CD44+CD73+CD54+Sca-1+ by flow cytometry (FCM) and according to their ability to differentiate into osteocytes and adipocytes. Hepatic fibrosis was estimated by Gomori and Masson histostains and by immunohistochemistry (a-sma+ cells). The presence of MSCs in female recipients was checked by PCR (sry gene). In order to investigate whether MSCs differentiate into hepatocytes in the presence of liver tissue, we cocultured MSCs (CD45-CD29+) with either normal or damaged liver tissue separated by a transwell membrane. By RT-PCR we examined albumin (liver marker) mRNA expression and by FCM for CD29 cell marker we evaluated whether MSCs retained a hematopoietic phenotype. Fibrosis and a-sma+ cells were significantly decreased in treated mice as compared to CCl4-only mice. We did not detect sry+ cells in none of the tissues we checked. CD45 as well as CD29 seemed to diminish in the cocultures while albumin was expressed from both BM and MSCs. MSCs and MSCs-derived molecules could contribute to liver regeneration and restrict liver fibrosis by ameliorating the fibrotic process and inhibiting the proliferation of myofibroblasts while MSCs have the ability to express hepatocyte markers in vitro.
Funding Program:NSRF-Heracleitus II

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΤΟΠΙΚΗΣ ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ S-(+) ΚΑΙ R-(-)-ΚΑΡΒΟΝΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΝΘΕΤΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΤΟΥ ΙΣΧΙΑΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ

Φαλιάγκας Λεωνίδας, Δέσποινα Βώκου, Γεώργιος Θεοφιλίδης
1-Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ,Θεσσαλονίκη,541 24/ 2-Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.,Θεσσαλονίκη, 541 24

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοπική αναισθητική δράση της S-(+)-καρβόνης και της R-(-)-καρβόνης που αποτελούν κύρια συστατικά των αιθέριων ελαιών των Carum carvi (αγριοκύμινο) και Mentha spicata (δυόσμος), αντίστοιχα. Για την αξιολόγηση της δράσης τους χρησιμοποιήθηκε μια ex vivo νευροφυσιολογική μέθοδος που βασίζεται στην καταγραφή του σύνθετου δυναμικού ενέργειας (ΣΔΕ) από το ισχιακό νεύρο του βατράχου Rana ridibunda. Η σύγκριση της δραστικότητας των δύο εναντιομερών μεταξύ τους και με αυτήν της λιδοκαϊνης, η οποία αποτελεί πρότυπο τοπικό αναισθητικό, έγινε με βάση τον χρόνο που απαιτείται ώστε να μειωθεί το ΣΔΕ στο μισό της αρχικής του τιμής (IT50) μετά από έκθεση του νεύρου σε ίδιες συγκεντρώσεις των ουσιών αυτών. Τα δύο εναντιομερή της καρβόνης προκάλεσαν αναστολή του ΣΔΕ, η οποία αποδείχθηκε αναστρέψιμη, ενώ διατηρήθηκε πλήρης βιωσιμότητα του νεύρου. Παρουσία του επινευρίου και για συγκέντρωση 10 mM, οι τιμές IT50 ήταν 3,64 min για την S-(+)-καρβόνη, 3,68 min για την R-(-)-καρβόνη και 2,76 min για την λιδοκαΐνη. Σε νεύρα από τα οποία είχε αφαιρεθεί το επινεύριο, οι τιμές IT50 ήταν 2,74, 2,8 και 0,76 min, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν τοπική αναισθητική δράση χωρίς ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των δύο ουσιών. Η δράση τους εκδηλώνεται μεν βραδύτερα, αλλά φαίνεται ότι οι δύο υπό μελέτη ουσίες διέρχονται ταχύτερα απ' ότι η λιδοκαϊνη από το επινεύριο του ισχιακού νεύρου.

USING THE COMPOUND ACTION POTENTIAL OF THE FROG'S SCIATIC NERVE TO ASSESS THE LOCAL ANAESTHETIC ACTIVITY OF THE TWO CARVONE ENANTIOMERS

Faliagkas Leonidas1, Despoina Vokou2, George Theophilidis1
1-Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology , School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki 541 24/ 2-Department of Ecology , School of Biology, A.U.Th., Thessaloniki 541 24

We assessed the local anaesthetic activity of S-(+)-carvone and R-(-)-carvone, which are constituents of the essential oils of Carum carvi (caraway) and Mentha spicata (spearmint), respectively. A local anaesthetic activity on the peripheral nervous system has been already reported for both compounds. To further assess this activity, we used an ex vivo neurophysiological method that is based on recordings of the nerve compound action potential (nCAP) from the isolated sciatic nerve of the frog Rana ridibunda. In order to compare the potency of the two carvones, we used IT50, which describes the time required for the nCAP amplitude of the exposed nerve to reach half of its initial value (the value before exposure). Results were compared to those of lidocaine, which is considered as a standard local anaesthetic. The IT50 was 2.76 min for S-(+)-carvone, 2.80 min for R-(-)-carvone and 0.76 min for lidocaine. In all three cases, after washout of the nerve preparation, there was a fast recovery of the nCAP to its initial levels, at which it remained for over 24 h. For nerves with intact sheath (perineurium), IT50 was 3.64, 3.68 and 2.73 min, for S-(+)-carvone, R-(-)-carvone and lidocaine, respectively. Our results show that both carvone enantiomers are able to inhibit the nCAP of frog's sciatic nerve with almost the same potency; they also suggest that the two compounds can penetrate the perineurium easier than lidocaine.

ΦΑΡΜΑΚΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ C3435T ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ABCB1 ΜΕ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΥΚΛΟΣΠΟΡΙΝΗ ΣΕ ΕΛΛΗΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΨΩΡΙΑΣΗ

Φάσσος Ι.[1], Γ. Βασιλόπουλος [1], Θ. Σαραφίδου [1], Κ. Σαρρή [1], Κ. Σταμάτης [1], Ε. Ζαφειρίου[2], Α. Πατσατσή[3], Δ. Σωτηριάδης[3], Α.Β. Ρουσσάκη-Σούλτσε[2], Ζ. Μαμούρης[1].

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.

Το ανοσοκατασταλτικό φάρμακο κυκλοσπορίνη αποτελεί τη συχνότερη θεραπευτική αγωγή για την ψωρίαση. Ωστόσο, οι ασθενείς εμφανίζουν ετερογένεια στην ανταπόκριση στη θεραπεία (~50-70%), η οποία πιθανώς οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες. Σκοπός της εργασίας είναι ο έλεγχος συσχέτισης του πολυμορφισμού C3435T στο γονίδιο ABCB1, το οποίο κωδικοποιεί την P-γλυκοπρωτεΐνη (P-gp) που δρα στην απορρόφηση και κατανομή του φαρμάκου στον οργανισμό, με την ανταπόκριση των ασθενών σε αυτήν τη θεραπεία. Μελετήθηκαν 58 ασθενείς από την Ελλάδα, οι οποίοι υπεβλήθησαν σε θεραπεία με κυκλοσπορίνη για τουλάχιστον 3 μήνες. Η γονοτύπηση πραγματοποιήθηκε με PCR-RFLP και η στατιστική ανάλυση με το πρόγραμμα SPSS 14 ($p \leq 0.05$). Η μέση ηλικία των ασθενών, εμφάνισης και διάρκειας της νόσου ήταν 43, 39 και 5,5 έτη αντίστοιχα. Το 52% των ασθενών ανταποκρίθηκε θετικά στην κυκλοσπορίνη. Η γονοτυπική ανάλυση έδειξε στατιστικώς σημαντική αύξηση της συχνότητας του αλληλομόρφου 3435T στους μη-ανταποκριθέντες (0,65) ($\Delta PASI \leq 50\%$) σε σχέση με τους ανταποκριθέντες (0,35) ($\Delta PASI > 75\%$) με τιμή $P=0.039$. Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη φαρμακογενετική συσχέτιση ανταπόκρισης σε κυκλοσπορίνη σε ασθενείς με ψωρίαση. Αυτό το αποτέλεσμα, σε συνδυασμό με τη σημαντικά μειωμένη δραστικότητα της P-gp στον ορό ατόμων ομόζυγων για τον πολυμορφισμό 3435T, όπως είχε δειχθεί σε παλαιότερη μελέτη, θα μπορούσε να αποτελέσει τη βάση για τη λειτουργική ανάλυση αυτής της συσχέτισης.

PHARMACOGENETIC ASSOCIATION STUDY OF ABCB1 C3435T POLYMORPHISM AND CYCLOSPORINE TREATMENT RESPONSE IN GREEK PATIENTS WITH PSORIASIS

Ioakim Fassos [1], Yiannis Vasilopoulos [1], Theologia Sarafidou [1], Konstantina Sarri [1], Costas Stamatis [1], Efterpi Zafiriou [1], Aikaterini Patsatsi [3], Dimitris Sotiriadis[3], Angeliki Roussaki-Schulze[2], Zissis Mamuris[1]

1Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Greece; 2Department of Dermatology, University General Hospital Larissa, University of Thessaly, Greece; 32nd Dermatology Department, Medical School, Aristotle University, Papageorgiou Hospital, Thessaloniki, Greece

Psoriasis is a chronic, inflammatory skin disease that affects 2-3% of the population worldwide, causing significant morbidity and high financial burden. The immunosuppressive drug cyclosporine is considered to be the first-line systemic therapy for moderate to severe forms of psoriasis. However, patients exhibit heterogeneity in their response to therapy, which could be due to genetic factors. The aim of the present study, which is based on a Greek multi-centre collaboration, was to assess the ABCB1 C3435T polymorphism as a candidate predictive marker of response to cyclosporine treatment in 58 psoriasis patients after 3 months of therapy. Thirty patients (52%) were defined as responders (ΔPASI >75%) and twenty eight (48%) as non-responders (ΔPASI ≤50%) to cyclosporine treatment. Statistical analysis showed significant difference in allele frequency between responders and non-responders. More specifically allele 3435T was significantly increased in non-responders (0.65) versus responders (0.35) (P=0.039). This report is the first in the field of the pharmacogenetics of cyclosporine in psoriasis. This result in combination with a previous finding that individuals homozygous for 3435T have significantly lower levels of P- glycoprotein in their serum thus possibly affecting the absorption and function of cyclosporine could possibly explains in the functional level the association of 3435T polymorphism with non-response to therapy.

ΕΠΟΧΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΑΝΤΙ-/ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΓΑΣΤΡΟΚΝΗΜΙΟ ΜΥ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ *Pelophylax ridibundus*

Κωνσταντίνος Φειδάντσης, Ανδρέας Ανέστης, Βασίλης Μιχαηλίδης
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Ο εγκλιματισμός των νεροβατράχων στις εποχικές μεταβολές του φυσικού τους περιβάλλοντος χαρακτηρίζεται από βιοχημικές και φυσιολογικές μεταβολές που οδηγούν σε μείωση της κατανάλωσης οξυγόνου και του μεταβολικού ρυθμού. Οι μεταβολές αυτές κατά την περίοδο του χειμώνα όπου επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες οδηγούν αυτά τα είδη στη διαχείμαση. Η αφύπνιση από τη διαχείμαση σχετίζεται με αυξημένη παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) οι οποίες επηρεάζουν την κυτταρική ομοιόσταση και διεγείρουν την ενεργοποίηση μηχανισμών της αντιοξειδωτικής άμυνας. Στη συγκεκριμένη εργασία, μελετήσαμε τις εποχικές μεταβολές των αποπτωτικών και αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών στην καρδιά και στο γαστροκνήμιο μυ του αμφιβίου Pelophylax ridibundus σε διαφορετικές περιόδους του έτους και συγκεκριμένα από το Νοέμβριο του 2009 μέχρι τον Ιούνιο του 2010. Ενήλικα άτομα P. ridibundus τοποθετήθηκαν σε πλαστικές δεξαμενές σε εξωτερικό χώρο ώστε τα πειραματόζωα να εκτίθενται σε φυσικές συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας. Οι διαδικασίες που διερευνήθηκαν περιλάμβαναν την εκτίμηση της υποξίας με τη μελέτη των επιπέδων του μεταγραφικού παράγοντα Hif-1α, της απόπτωσης με τη διερεύνηση των επιπέδων των Bcl-2, Bax και των συζεύξεων με ουβικουϊτίνη και της ενζυμικής αντιοξειδωτικής άμυνας μέσω των δραστικοτήτων της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, της καταλάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Λόγω μιας γενικής μεταβολικής κατάπτωσης κατά τη διάρκεια της διαχείμασης, τα επίπεδα των παραπάνω πρωτεϊνών και ενζύμων διατηρήθηκαν σε χαμηλά επίπεδα έκφρασης και δραστικότητας στους εξεταζόμενους ιστούς του P. ridibundus. Η αφύπνιση από τη διαχείμαση παρόλα αυτά επάγει οξειδωτικό στρες το οποίο αυξάνει τα επίπεδα των συγκεκριμένων πρωτεϊνών και ενζύμων. Μια πιο ήπια αύξηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων κατά τη διάρκεια της διαχείμασης, πιθανότατα προετοιμάζει το P. ridibundus για το οξειδωτικό στρες κατά τη διάρκεια της αφύπνισης. Η εποχική ενεργοποίηση των συγκεκριμένων μηχανισμών, φαίνεται να προστατεύει το συγκεκριμένο είδος σε αυτές τις αντίξοες συνθήκες.

SEASONAL VARIATIONS OF ANTI-/APOPTOTIC AND ANTIOXIDANT PROTEINS IN THE HEART AND GASTROCNEMIUS MUSCLE OF THE WATER FROG Pelophylax ridibundus

Konstantinos Feidantsis, Andreas Anestis, Basile Michaelidis
Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Exact Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, GR 54124, Thessaloniki, Greece

Acclimatization of water frog species to seasonal variations in their natural environment is characterized by specific biochemical and physiological changes resulting to marked decrease in oxygen consumption and metabolic rate. These variations lead water frogs to overwinter. Arousal from overwintering is related to oxidative stress provoked by increased reactive oxygen species (ROS) production which adversely affects cellular homeostasis and stimulates an elevation of effective organ antioxidant defense. In the present work we investigated the seasonal variations of apoptotic and antioxidant proteins in the heart and gastrocnemius muscle of the amphibian Pelophylax ridibundus at different periods starting from November (2009) until the first days of June (2010). Adults of R. ridibunda used in this study were put into plastic tanks simulating the ponds where the frogs were collected from and were placed outdoors so that frogs were exposed to natural conditions of light and temperature. Processes studied included the evaluation of hypoxia through the levels of transcriptional factor Hif-1α, of apoptosis through the determination of Bcl-2 and Bax, ubiquitin conjugates levels and the enzymatic antioxidant defense by determining activity levels of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidise. Due to a general metabolic depression during overwintering, levels of the above mentioned proteins and enzymes are generally retained at low levels of expression and activity in the examined tissues of P. ridibundus. On the other hand recovery from overwintering induces oxidative stress, followed by increased levels of the specific proteins and enzymes. A milder up-regulation of antioxidant enzymes during overwintering probably prepares P. ridibundus for oxidative stress during arousal. The seasonal activation of these mechanisms seems to protect this species from these unfavourable conditions.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΥΣΤΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΣΕ ΝΕΥΡΟΨΥΧΙΑΤΡΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

Μιχαέλα Δ. Φίλιου[1], Larysa Teplytska[1], Markus Nussbaumer[1], Rainer Landgraf[1], Andreas Zimmer[2], Giuseppina Maccarrone[1], Chris W. Turck[1]

1 Ινστιτούτο Μαξ Πλανκ Ψυχιατρικής, Μόναχο, Γερμανία 2 Ινστιτούτο Μοριακής Ψυχιατρικής, Βόννη, Γερμανία

Λόγω της πολυπαραγοντικής φύσης των νευροψυχιατρικών διαταραχών και της έλλειψης μοριακών βιοδεικτών για τις διαταραχές αυτές, προσεγγίσεις συστημικής βιολογίας είναι απαραίτητες για τη διαλεύκανση των μοριακών τους μηχανισμών. Χρησιμοποιώντας τεχνικές ποσοτικής πρωτεομικής, μεταβολομικής και βιοπληροφορικής αναπτύξαμε μία μεθοδολογία εύρεσης υποψηφίων βιοδεικτών σε ζωϊκά μοντέλα νευροψυχιατρικών διαταραχών. Αναλύσαμε το ζωϊκό μοντέλο υψηλού/χαμηλού άγχους (HAB/LAB, High/Low Anxiety-related Behavior mice) καθώς και ένα διαγονιδιακό μοντέλο σχετικής με τη σχιζοφρένεια συμπεριφοράς (G72 transgenic mice). Και στις δύο περιπτώσεις βρέθηκαν αλλαγές σε επίπεδα πρωτεϊνών και μεταβολιτών σε μιτοχονδριακά μονοπάτια όπως η οξειδωτική φωσφορυλίωση, το οξειδωτικό στρες και η μιτοχονδριακή μεταφορά, υποδηλώνοντας ένα κομβικό ρόλο των μιτοχονδρίων στην παθοφυσιολογία νευροψυχιατρικών διαταραχών. Φαρμακολογική στόχευση αυτών των μιτοχονδριακών μονοπατιών θα οδηγήσει σε συστημικές συσχετίσεις φαινοτύπου και μοριακών μηχανισμών υπεύθυνων για την παθογένεση των διαταραχών άγχους και της σχιζοφρένειας.

USING SYSTEMS BIOLOGY APPROACHES FOR BIOMARKER DISCOVERY IN NEUROPSYCHIATRIC DISORDERS

Michaela Filiou[1], Larysa Teplytska[1], Markus Nussbaumer[1], Rainer Landgraf[1], Andreas Zimmer[2], Giuseppina Maccarrone[1], Chris W. Turck[1]

1 Max Planc kInstitute of Psychiatry, Munich, Germany 2 Institute of Molecular Psychiatry, Bonn, Germany

As the nature of neuropsychiatric disorders is multifactorial and no molecular biomarkers exist for any of these conditions, systemic approaches are pivotal to elucidate their underlying molecular mechanisms. We therefore have established a hypothesis-free, biomarker discovery platform based on quantitative proteomics, metabolomics and bioinformatics and applied it to mouse models of neuropsychiatric disorders. We analyzed the HAB/LAB (High/Low Anxiety-related Behavior) mouse model of trait anxiety and the G72 transgenic mouse model of schizophrenia-like symptoms. In both cases we found protein and metabolite expression level differences in mitochondrial pathways including oxidative phosphorylation, oxidative stress and mitochondrial transport. These data indicate an important role of mitochondria in neuropsychiatric disorder pathophysiology. Pharmacological targeting of these mitochondrial pathways will lead to systemic phenotypic/ molecular correlations relevant to the pathogenesis of anxiety disorders and schizophrenia.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ 'DIATOM PROJECT SIMRIVER' ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΡΕΟΝΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Φραγκούλη Δήμητρα, Οικονόμου-Αμίλλη Αθηνά
Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη 157-84, Αθήνα.

Τα διάτομα είναι κοσμοπολιτικά είδη μονοκύτταρων φυκών που διαβιούν σε ποικίλα υδατικά οικοσυστήματα, θαλάσσια αλλά και εσωτερικών υδάτων (ποτάμια, λίμνες, κλπ). Το εύρος και η εγκυρότητα των οικολογικών τους απαιτήσεων έχει κάνει αποδεκτή τη χρήση των διατόμων ως βιοδεικτών στις Οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης για την παρακολούθηση της κατάστασης των υδάτων και την εκτίμηση της ποιότητας του νερού.Το Διεθνές Εκπαιδευτικό Πρόγραμμα 'Diatom Project Simriver' εφαρμόζεται σε μερικές χώρες παγκοσμίως από μαθητές και φοιτητές με σκοπό την κατανόηση της σχέσης που υπάρχει ανάμεσα στην ανθρώπινη δραστηριότητα, τα διάτομα και την ποιότητα του νερού. Οι χρήστες μπορούν να προσομοιώνουν περιβάλλοντα και να διαπιστώνουν τη διαφορετική ποικιλότητα των διατόμων βάσει οδηγού εικόνων, να υπολογίζουν τον δείκτη σαπροβιότητας και να εκτιμούν την ποιότητα των υδάτων. Οι χρήστες έχουν επίσης τη δυνατότητα να παρακολουθήσουν τρία βίντεο όπου παρουσιάζεται αναλυτικά ο τρόπος συλλογής των διατόμων στο φυσικό περιβάλλον, ο καθαρισμός τους, και η προετοιμασία του υλικού σε μόνιμα παρασκευάσματα για παρατήρηση στο μικροσκόπιο. Ενθαρρύνονται επομένως να παρατηρήσουν τη φυσική σύνθεση των διατόμων σε υδροβιοτόπους των γεωγραφικών περιοχών τους και να συγκρίνουν τα αποτελέσματά τους με άλλους διεθνείς χρήστες.Στόχος της συμμετοχής μας στο πρόγραμμα 'Diatom Project Simriver' είναι η ενίσχυση της περιβαλλοντικής συνείδησης των Ελλήνων μαθητών με την ευχάριστη εφαρμογή στην ελληνική γλώσσα επιστημονικών βιολογικών μεθόδων για την κατανόηση ενός ποτάμιου περιβάλλοντος και την παρακολούθηση των επιπτώσεων της ρύπανσης στην ποιότητα των υδάτων.

IMPLEMENTATION OF THE EDUCATIONAL PROGRAM 'DIATOM PROJECT SIMRIVER' FOR ASSESSING THE QUALITY STATUS OF RUNNING WATERS IN GREECE

Fragouli Demetra, Economou-Amilli Athena
Faculty of Biology, Department of Ecology and Systematics, UoA, Panepistimiopolis 157-84 Athens

Diatoms are cosmopolitan species of unicellular algae living in diverse aquatic ecosystems, both in marine and inland waters (rivers, lakes, etc.). Due to the range and validity of their ecological requirements diatoms have been accepted as bioindicators in the European Union Directives for monitoring the water status and assessment the running water quality.The International Educational Program 'Diatom Project Simriver' is being implement' in some countries worldwide by school and university students for understanding the relationships between human activity, diatoms, and water quality. Users can simulate various environments and discover the diversity of diatoms based on image guides; afterwards they can calculate the Sabrobic Index and estimate the water quality status. Users also have the possibility to watch three videos showing in detail the procedure of diatom collections in the field (natural environment), the cleaning of diatom frustules, and the permanent slide preparation for observation of diatoms under the light microscope. By this procedure, students are encouraged to observe the natural diatom composition in wetlands of their own geographical regions and compare their results with those of other international users. The aim of this presentation is to provide a Greek version to the program 'Diatom Project Simriver' in order to a) enhance the environmental awareness of the Greek students with the application of some scientific biological processes like the diatom diversity, and b) to make students understand the riverine environment and enable them monitor the pollution impacts on water quality in correlation with data from other countries.

ΑΛΛΕΡΓΙΟΓΟΝΟΙ ΓΥΡΕΟΚΟΚΚΟΙ ΣΤΗ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ: ΚΑΛΥΤΕΡΑ ΣΤΑ ΨΗΛΑ Ή ΣΤΑ ΧΑΜΗΛΑ;

Αθανάσιος Χαραλαμπόπουλος, Δέσποινα Βώκου
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΠΤΘ. 119, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

Από τις μέχρι σήμερα αεροβιολογικές καταγραφές στην περιοχή της Θεσσαλονίκης (>25 χρόνια) προκύπτει ότι 85% του συνόλου των γυρεοκόκκων που κυκλοφορούν στην ατμόσφαιρα προέρχονται από εκπροσώπους των Cupressaceae, Oleaceae, Platanus, Pinaceae, Poaceae, Quercus και Urticaceae. Τα ίδια taxa παρουσιάζουν παράλληλα μεγάλο αλλεργιολογικό ενδιαφέρον. Η παγίδευση των γυρεοκόκκων πραγματοποιείται με σταθερό συλλέκτη Hirst τοποθετημένο σε ύψος περίπου 30 m, ο οποίος λειτουργεί συνεχώς, σε 24ωρη βάση. Για να διερευνήσουμε κατά πόσο διαφέρουν οι συγκεντρώσεις των γυρεοκόκκων, στο ύψος του σταθερού συλλέκτη, από αυτές χαμηλά, εκεί όπου κυκλοφορούν και εισπνέουν οι άνθρωποι, επιλέξαμε δύο σταθμούς, ένα στην Πλατεία Χημείου ΑΠΘ, ακριβώς κάτω από το μόνιμο συλλέκτη, και έναν άλλο στην οδό Εθνικής Αμύνης, σε απόσταση περίπου 500 m. Σε αυτούς καταγράφαμε δυο φορές την εβδομάδα την κυκλοφορία γυρεοκόκκων των παραπάνω taxa. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι οι συγκεντρώσεις στους χαμηλούς σταθμούς ήταν πολύ μεγαλύτερες απ' ότι ψηλά, για τη μεγάλη πλειονότητα των taxa, ενώ δεν παρατηρήθηκαν αξιόλογες διαφοροποιήσεις ως προς την περίοδο κυκλοφορίας τους. Με βάση τα ως άνω θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι η ποιότητα του ατμοσφαιρικού περιβάλλοντος ως προς τα αεροαλλεργιογόνα φυτικής προέλευσης στη Θεσσαλονίκη είναι καλύτερη ψηλά απ' ότι χαμηλά. Ωστόσο, απουσιάζουν μελέτες για τον πληθυσμό της πόλης αλλά και συνολικά για τον Ελληνικό πληθυσμό που να συσχετίζουν συγκεντρώσεις γυρεοκόκκων με συμπτώματα αλλεργικών ασθενών, οπότε δεν μπορεί να προβλεφθεί σε ποιες περιπτώσεις οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις επιφέρουν συμπτώματα μεγαλύτερη έντασης. Οπότε δεν μπορεί να δοθεί ικανοποιητική απάντηση στο ερώτημα εάν η διαμονή στα ψηλά ενέχει πραγματικά μικρότερο κίνδυνο για τους αλλεργικούς ασθενείς που είναι ευαισθητοποιημένους στους αντίστοιχους γυρεόκοκκους.

ALLERGENIC POLLEN IN THESSALONIKI: WHERE TO LIVE?

Athanasios Charalampopoulos, Despoina Vokou
Department of Ecology, School of Biology, UPB 119, Aristotle University, GR-54124 Thessaloniki, Greece

Airborne pollen counts in the area of Thessaloniki over the last 25 years have shown that 85% of the total pollen in the air of the city belongs to representatives of the taxa Cupressaceae, Oleaceae, Platanus, Pinaceae, Poaceae, Quercus and Urticaceae. Pollen of these taxa is allergenic inducing symptoms of variable intensity to sensitive individuals. A Hirst-type sampler, located in the University Campus, 30 m above ground, collects pollen grains from the air operating constantly, on a 24-h basis. To examine whether there are considerable differences between pollen concentrations recorded at that height and at much lower levels, where people move and breathe, we selected two additional sampling stations, one at the Chemistry Square of the University Campus and another about 500 m away, on Ethnikis Aminis Street. Air samples at these stations were taken twice per week by use of a portable volumetric air sampler, at breast height. Data analysis showed that, for the majority of taxa, pollen concentration was higher at the low stations; there were no noticeable differences among the three stations regarding the pollen season. Taking these into consideration, we can argue that the quality of air in Thessaloniki, in terms of plant-derived aeroallergens, seems to be better at high levels than close to the ground. However, as there are no data to relate pollen concentration with symptom intensity for Thessaloniki or other Greek populations, we do not know if these higher concentrations that we recorded induce more severe symptoms. Given this, we cannot estimate if the risk is really higher at low levels and, hence, no satisfying answer can be given currently to the question if there is any difference in quality of life associated with height, for those suffering from pollen allergies

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΑΣΩΠΟΥ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Νικολίνα Χαραλάμπους [1],Βασιλική Τσαρπαλή [1],Αγγελική Κίντου [2], Δημήτρης Βλαστός [2], Στέφανος Νταϊλιάνης [1]

1/ Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα- 2/ Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδας, 30100 Αγρίνιο

Η παρούσα μελέτη διερευνά την ποιότητα των υδάτων του ποταμού Ασωπού με χρήση χημικών και βιολογικών αναλύσεων. Συγκεκριμένα, συλλέχθηκαν δείγματα νερού από 3 διαφορετικές περιοχές (S1, S2, S3) του ποταμού και προσδιορίστηκαν οι τιμές των φυσικοχημικών τους παραμέτρων (χημική ανάλυση) και η τοξικότητά τους (βιολογική ανάλυση) με τη χρήση οργανισμών του γλυκού νερού (καρκινοειδές Thamnocephalus platyurus, τροχόζωο Rotifer calyciflorus, καθώς και φυτοπλαγκτονικό είδος Chlorococcum sp.) Επιπλέον, μελετήθηκε η γενοτοξική δράση των δειγμάτων σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων με την εφαρμογή της τεχνικής των μικροπυρήνων (ΜΝ). Τα αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης έδειξαν σημαντικά υψηλές συγκεντρώσεις Cl, NO3-N, NH4-N, BOD5, Cr VI, Cd, Pb και Hg στα σημεία S1 και S3, οι οποίες ξεπερνούν τις οριακές τιμές (Οδηγία 2008/105/ΕΚ). Παράλληλα, παρατηρήθηκαν σημαντικά αυξημένες τιμές τοξικότητας των δειγμάτων του σημείου S1 (24h LC50 = 36,2 % v/v και 99,7 % v/v για το Thamnocephalus platyurus και Rotifer calyciflorus αντίστοιχα), ενώ σημαντική αναστολή της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτονικού οργανισμού Chlorococcum sp. παρατηρήθηκε μετά από καλλιέργειά του σε δείγματα νερού των σημείων S1 και S2 (24h IC50=61,6 και 55,33 % v/v αντίστοιχα). Ο προσδιορισμός της γενοτοξικής δράσης των δειγμάτων σε λεμφοκύτταρα ανθρώπου, έδειξε σημαντική αύξηση των ποσοστών εμφάνισης ΜΝ, μετά από επίδραση δειγμάτων που συλλέχθηκαν από όλα τα σημεία σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 2% v/v, με τις υψηλότερες τιμές να εμφανίζονται σε δείγματα του σημείου S1. Τα αποτελέσματα της μελέτης αποδεικνύουν την ύπαρξη σημειακών πηγών ρύπανσης κατά μήκος του ποταμού Ασωπού. Ειδικότερα, οι εκβολές του ποταμού (σημείο S1) παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη επιβάρυνση, λόγω της συσσώρευση φερτής ύλης με υψηλό ρυπογόνο φορτίο, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει σημαντικές διαταραχές στους οργανισμούς παράκτιων περιοχών, καθώς και στον άνθρωπο.

ESTIMATION OF ASOPOS RIVER WATER QUALITY WITH THE USE OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL PARAMETERS

Nikolina Charalampous [1], Vasiliki Tsarpali [1], Aggeliki Kindou[2], Dimitris Vlastos[2], Stefanos Dailianis[1]

1/Section of Animal Biology, Department of Biology, University of Patras, GR 26500, Patras, Greece-2/Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Western Greece, GR 30100, Agrinio, Greece

The present study investigates the water quality of Asopos river (South Greece) with the use of both chemical and biological assays. Specifically, water samples collected from 3 different river sites (S1, S2 and S3) were characterized chemically and further used for investigating their toxic effects on both aquatic species (e.g. Thamnocephalus platyurus, Rotifer calyciflorus and the green algae Chlorococcum sp.) and human lymphocyte cultures, with the use of toxicity tests and the cytokinesis block micronucleus assay, respectively. The results obtained by the chemical analysis showed significantly increased levels of Cl, NO3-N, NH4-N, BOD5, Cr VI, Cd, Pb και Hg, at least in S1 and S3, which are higher than those established by the European Union, concerning the target values of pollutants being present into the freshwater media (2008/105/EC). On the other hand, regarding data obtained by the toxicity tests, samples from S1 and S2 showed increased levels of toxicity in both invertebrates tested (24h LC50 = 36.2 % v/v and 99.7 % v/v for Thamnocephalus platyurus and Rotifer calyciflorus respectively), compared to those observed in S2 samples, while there was a significant inhibition of Chlorococcum sp. growth rate, after exposure to S1 and S2 samples (24h IC50 = 61.6 and 55.33 % v/v respectively). Furthermore, human lymphocyte cultures exposed to concentrations of samples higher than 2% v/v, showed increased MN frequencies, with the higher MN values to be observed in samples collected from site S1. According to the results of the present study, the Asopos river is heavily-contaminated by human-derived point sources of pollution (e.g. agricultural and industrial disposals), which could lead to the reduction of water quality and the enhancement of adverse effects on aquatic biota and humans.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΝΕΟΕΙΣΑΓΩΜΕΝΟΥ ΕΙΔΟΥΣ ΣΤΗΝ ΙΧΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ Argyrosomus regius (ΚΡΑΝΙΟΣ)

Χατζηγιαννίδου Ιωάννα[1], Φειδάντσης Κωσταντίνος[1], Χατζηφώτης Σταύρος[2], Αντωνοπούλου Ευθυμία[1]

1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα 2/2Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Ιχθυοκαλλιέργειας. Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, 71003 Ηράκλειο, Ελλάδα

Τα ψάρια έχουν αναπτύξει ένα σύνολο μηχανισμών και αποκρίσεων προκειμένου να προσαρμόζονται σε διαφορετικές θερμοκρασίες νερού. Ο κρανιός αποτελεί ένα νεοεισαγόμενο είδος στις υδατοκαλλιέργειες, ενώ ελάχιστη πληροφορία υπάρχει σχετικά με την επίδραση των θερμοκρασιακών μεταβολών στο μεταβολισμό του και πιο συγκεκριμένα στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση τεσσάρων διαφορετικών θερμοκρασιών (17oC, 20oC, 23oC και 26oC) στη δραστικότητα τριών κύριων αντιοξειδωτικών ενζύμων [δισμουτάση υπεροξείου (SOD), υπεροξειδάσης γλουταθειόνης (GPx), καταλάση (CAT)] σε τέσσερα όργανα (καρδιά, μυς, έντερο, ήπαρ). Η ενζυμική δραστικότητα υπολογίστηκε φασματοφωτομετρικά. Όσον αναφορά στην καρδιά, στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στην GPx μεταξύ των ατόμων σε 20oC και 23oC, καθώς και μεταξύ αυτών σε 23oC και 26oC. Στο μυ, σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην CAT μεταξύ των ψαριών σε 20oC και 23oC. Στο ήπαρ δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά. Τέλος στο έντερο παρατηρήθηκαν οι περισσότερες σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, βρέθηκαν διαφορές στη SOD μεταξύ των ατόμων σε 20oC και 23oC, στην GPx σε άτομα των 17oC σε σχέση με αυτά των 23oC και 26oC, καθώς και σε αυτά των 20oC σε σχέση τόσο με τα άτομα σε 23oC όσο και με εκείνα σε 26oC. Τέλος για την CAT διαφορά βρέθηκε στα άτομα σε17oC σε σχέση με αυτά των 23oC και 26oC. Στην SOD παρατηρείται παρόμοιο πρότυπο έκφρασης στο σύνολο των ιστών, με μια αύξηση στα άτομα σε 20oC και στη συνέχεια μια πτώση. Αντίθετα στην GPx και στην CAT δεν παρατηρείται κάποιο συγκεκριμένο πρότυπο έκφρασης σε όλους τους ιστούς, εκτός από το έντερο όπου φαίνεται η ενζυμική δραστικότητα να αυξάνεται ταυτόχρονα με την αύξηση της θερμοκρασίας. Συμπερασματικά, η ενζυμική δραστικότητα εμφανίζει έντονη ιστοειδικότητα με το έντερο να αποτελεί τον ιστό που ανταποκρίνεται πιο έντονα στις θερμοκρασιακές μεταβολές.

THE EFFECT OF TEMPERATURE ON THE ANTIOXIDANT ENZYMATIC DEFENSE OF THE NEW TO AQUACULTURE FISH MEAGRE (Argyrosomous regius)

Chatzigiannidou Ioanna[1], Feidantsis Konstantinos[1], Chatzifotis Stauros[2], Antonopoulou Efthymia[1]

1/Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,54124, Thessaloniki, Greece 2/Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Hellenic Center of Marine Research, 71003 Heraklion, Greece

Fishes, as ectotherms, have developed mechanisms and responses for acclimatization in different water temperatures. Meagre consists a new to aquaculture fish species and little is known regarding the effect of temperature variation in its metabolism and specifically in its antioxidant enzymatic defense. In the present study, we investigate the effect of four different temperatures (17oC, 20oC, 23oC and 26oC) in the activity of three major antioxidant enzymes: Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GPx) and Catalase (CAT). Heart, muscle, liver and intestine of meager were used in this study. The enzymatic activity was determined spectrophotometrically. In heart, significant differences have been observed in GPx between fish grown in 20oC and 23oC and between those in 23oC and 26oC. In muscle, significant difference has been observed in catalase between fish in 20oC and 23oC. In liver, no significant difference was observed. The intestine is the tissue where the most significant differences have been observed. More specifically, differences were recorded in SOD between fish grown in 20oC and 23oC, in GPx between fish grown in 17oC in comparison to those in 23oC and 26oC as well as in those of 20oC in respect to those of 23oC and 26oC; additionally in catalase there was a difference in fish of 17oC in comparison to those of 23oC and 26oC. In SOD there was a common expression pattern in all organs examined, in which the enzyme activity increases in 20oC and then it decreases until 26oC. Concerning GPx and CAT no specific pattern was observed for all organs examined, except in the intestine where an increase along with temperature was found. In conclusion, the results of this study indicated intense organ-specificity in which the intestine was the tissue that responded more obviously in the temperature variation.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΟΝΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ (SNPs) ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ, ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟΥΣ ΜΕ G-ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ (GPCRs) ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Χονδρού Βασιλική *, Καλαβρυτινού Αναστασία*, Σερδάρη Θεοδώρα*, Θεοδωροπούλου Μαργαρίτα, Χαμόδρακας Σταύρος

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

Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) είναι η μεγαλύτερη οικογένεια διαμεμβρανικών πρωτεϊνών στο ανθρώπινο πρωτέομα. Οι GPCRs ελέγχουν άμεσα ή έμμεσα ένα ευρύ φάσμα φυσιολογικών λειτουργιών. Εξωκυτταρικά σήματα, όπως ορμόνες, νευροδιαβιβαστές και περιβαλλοντικά ερεθίσματα, ενεργοποιούν τους GPCRs, οι οποίοι μετάγουν με τη σειρά τους το σήμα στο εσωτερικό του κυττάρου, μέσω των G-πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα συγκεκριμένες κυτταρικές αποκρίσεις. Όλοι οι GPCRs έχουν κοινή τοπολογία: επτά διαμεμβρανικές α-έλικες κι ένα εξωκυτταρικό αμινοτελικό άκρο. Υπάρχουν πολλά συστήματα ταξινόμησης τους που βασίζονται σε φυλογενετικά κριτήρια, στη λειτουργία τους ή στη φύση των υποκαταστατών τους. Ο σημαντικός ρόλος τους στις μεταβολικές διεργασίες του κυττάρου, τους καθιστά στόχο για περισσότερο από το 40% των συνταγογραφούμενων φαρμάκων. Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν την πιθανή συσχέτιση των πολυμορφισμών στην ακολουθία των GPCRs με παθογένειες και την απόκριση σε φάρμακα. Ως μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) ορίζονται οι κληρονομήσιμες αντικαταστάσεις ενός νουκλεοτιδίου στα άτομα ενός πληθυσμού, όταν εμφανίζονται με συχνότητα μεγαλύτερη του 1%. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι SNPs στις κωδικοποιούσες περιοχές, που έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή της αμινοξικής ακολουθίας μιας πρωτεϊνης, γνωστοί και ως μη-συνώνυμοι SNPs (nsSNPs). Στην παρούσα μελέτη, συλλέχθηκαν οι πολυμορφισμοί των ανθρωπίνων GPCRs από τη βάση δεδομένων Uniprot/Swissprot. Σαν αποτέλεσμα, προέκυψε ένας κατάλογος των GPCRs με nsSNPs, που σε συνδυασμό με πληροφορίες από τις βάσεις δεδομένων: dbSNP, OMIM (Online Mendelian Inheritance In Man), οδήγησε στη συσχέτισή τους με ασθένειες και παθογένειες. Οι μελλοντικοί μας στόχοι περιλαμβάνουν τον εμπλουτισμό του καταλόγου/βάσης με πληροφορίες από άλλες βάσεις δεδομένων και από τη σχετική βιβλιογραφία, ώστε να ανοιχθούν νέες κατευθύνσεις/δρόμοι σε μελέτες συσχέτισης πολυμορφισμών και φαινότυπου. *Ισότιμη συμμετοχή

STUDIES OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (SNPs) IN HUMAN G-PROTEIN COUPLED RECEPTORS (GPCRs) AND THEIR CORRELATION WITH DISEASES

Chondrou Vasiliki*, Kalavritinou Anastasia*, Serdari Theodora*, Theodoropoulou Margarita, Hamodrakas Stavros

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

G-protein coupled receptors (GPCRs) belong to a superfamily of cell surface signalling proteins. GPCRs control, directly and indirectly, an extraordinary variety of physiological functions, responding to various ligands such as hormones, neurotransmitters and sensory stimuli. The activation of GPCRs leads, through their interactions with G-proteins, in intracellular signaling cascades, which result to certain cellular responses. All GPCRs share common topology: seven transmembrane α-helices and an extracellular N terminus. There are many classification systems of GPCRs based on phylogenetic analyses, their native ligands or their function. Given the important roles of GPCRs in many physiological processes and their pharmacological interest as drug targets, understanding the role of sequence variations in GPCRs has potential implications for elucidating disease pathogenesis mechanisms and drug efficacy issues. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are inherited single nucleotide substitutions among individuals of a species and are defined as such when they occur at a rate greater than 1% in a population. SNPs in the coding region that change the amino acid sequence of a protein are called non-synonymous SNPs (nsSNPs). In this work, human GPCRs and their natural variants were retrieved from the Uniprot/Swissprot database. As a result, a list/database of GPCRs and related nsSNPs was compiled. The association of this list with data from the dbSNP and OMIM (Online Mendelian Inheritance In Man) databases leads to correlation with diseases and pathogenic phenotypes. Our future goals include the enrichment of this list from other databases and the relevant bibliography in order to reveal novel directions/routes in SNP/phenotype correlation studies. Acknowledgments: The present work was funded by the SYNERGASIA 2009 PROGRAMME, co-funded by the European Regional Development Fund and National resources (Project Code 09SYN-13-999), General Secretariat for Research and Technology of the Greek Ministry of Education and Religious Affairs, Culture and Sports. *Equal contribution

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ

Χούρι Νικόλας, Σκούρτη Ελένη, Κρητικός Ανδρέας, Λογοθέτη Στυλιανή, Χριστοδούλου Ιωάννης, Ζουμπουρλής Βασίλειος

Μονάδα Βιοϊατρικών Εφαρμογών, Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασιλέως Κωνσταντίνου 48, 11635, Αθήνα, Ελλάδα

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στη διαλεύκανση του ρόλου του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (Glucocorticoid Receptor, GR) στα διαδοχικά στάδια της χημικά επαγόμενης καρκινογένεσης του δέρματος του ποντικού. Παρατηρήσαμε αυξημένη έκφραση και αυξημένη ενεργότητα δέσμευσης του GR στο DNA σε κακοήθεις κυτταρικές σειρές, και συγκεκριμένα σε κύτταρα με επιθετικό φαινότυπο. Παρατηρήσαμε επίσης πυρηνική εντόπιση του GR σε επιθετικά καρκινώματα, σε αντίθεση με τα θηλώματα και τα πλακώδη καρκινώματα, τα οποία εμφάνισαν μία κυτταροπλασματική εντόπιση του GR. Επιπλέον, παρατηρήσαμε αντίσταση των μετασχηματισμένων κερατινοκυττάρων σε ανάπτυξη επαγόμενη από δεξαμεθαζόνη. Από όλα τα ευρήματα που περιγράφονται παραπάνω συμπεραίνουμε ότι ο GR έχει ένα σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της καρκινογένεσης του δέρματος ποντικού.

THE IMPLICATION OF GLUCOCORTICOID RECEPTOR IN THE PROGRESSION OF MOUSE SKIN CARCINOGENESIS.

Khoury Nikolas, Skourti Eleni, Kritikos Andreas, Logotheti Styliani, Christodoulou Ioannis, Zoumpourlis Vassilios

Unit of Biomedical Applications Institute of Biology Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, Vassileos Konstantinou 48, 11635, Athens, Greece

The current study aims at the elucidation of the role of Glucocorticoid Receptor (GR) in the distinct stages of chemically-induced mouse skin carcinogenesis. We observed increased expression and increased DNA-binding activity of GR in malignant cell lines, and specifically in biologically aggressive phenotypes. We also observed nuclear localization of GR in aggressive carcinomas, in contrast to papillomas and squamous carcinomas, which exhibited a cytoplasmic GR localization. Additionally, we noted resistance of transformed keratinocytes to dexamethasone-induced growth. From all the above described findings we conclude that GR has an important role in the process of mouse skin carcinogenesis.

ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΙΘΑΝΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Χρηστίδου Ακριβή [1], Γερακόπουλος Βασίλειος[1], Σαλιακούρα Μαρία [1], Ντούσκου Εσμεράλντα-Μαρία [1], Κοτζαμανίδης Χαράλαμπος[1], Τουράκη Μαρία[1], Λιτοπούλου-Τζανετάκη Ευανθία[2], Γιάγκου Μηνάς[1]

1Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ
2Εργαστήριο Μικροβιολογίας & Υγιεινής Τροφίμων, Τμήμα Γεωπονίας, ΑΠΘ

Ως προβιοτικοί χαρακτηρίζονται οι μικροοργανισμοί (βακτήρια και ζύμες) που ασκούν ευεργετική δράση στην υγεία του ξενιστή τους. Ως προβιοτικοί χαρακτηρίζονται μικροοργανισμοί που διαθέτουν συγκεκριμένες in vitro και in vivo ιδιότητες. Τα προβιοτικά χρησιμοποιούνται τόσο για ενίσχυση της ομοιόστασης του εντέρου όσο και σε εντεροπάθειες όπως η νόσος του Crohn. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν 23 πιθανά προβιοτικά στελέχη που είχαν απομονωθεί από τυρί Φέτα (5 Saccharomyces και 3 Lactobacillus), από τυρί Μελίχλωρο (6 Lactobacillus) και κόπρανα βρεφών (9 Lactobacillus). Στόχος ήταν ο περαιτέρω προσδιορισμός διαφόρων in vitro και in vivo ιδιοτήτων τους με τελικό σκοπό την επιλογή συγκεκριμένων στελεχών που διαθέτουν κατάλληλη ανοσοτροποποιητική δράση ικανή να περιορίσει την αυτοάνοση εντεροπάθεια που επάγεται από τη γλουτένη σε ποντίκια. Προσδιορίστηκαν (α) in vitro οι προβιοτικές ιδιότητες της κυτταρικής επιφάνειας των παραπάνω στελεχών: ικανότητα προσκόλλησης, αυτοσυσσωμάτωσης, υδροφοβικότητα και παραγωγή εξωπολυσακχαριτών, (β) η δυνατότητά τους να αποδομούν τοξικά κλάσματα της γλοιαδίνης και (γ) το πρότυπο των κυτοκινών που επάγουν in vivo στο έντερο. Τα στελέχη που παρουσίασαν in vitro προβιοτικές ιδιότητες, έχουν ανοσοτροποποιητική δράση στο έντερο και παράλληλα αποδομούν τη γλοιαδίνη, χορηγήθηκαν στο ζωικό πειραματικό μοντέλο εντεροπάθειας από γλουτένη. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η χορήγηση των πιθανών προβιοτικών στελεχών σε ευαίσθητα στη γλουτένη ποντίκια, που ακολούθησαν διατροφή τόσο χωρίς γλουτένη (G-) όσο και με γλουτένη (G+), μειώνει την παραγωγή TNFα στο έντερο και ασκεί ανοσοτροποποιητική δράση, καθώς αλλάζει το πρότυπο παραγωγής κυτοκινών (IFNγ, IL-10, IL-15) και IgA αντισωμάτων στον εντερικό βλεννογόνο. Στα G+ ποντίκια παρατηρήθηκε επιπλέον βελτίωση των ιστοπαθολογικών συμπτωμάτων της εντεροπάθειας. Από τα παραπάνω κρίνεται σκόπιμη η περαιτέρω διερεύνηση της προβιοτικής δράσης των στελεχών του γένους Saccharomyces και Lactobacillus.

IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF PRESUMPTIVE PROBIOTIC MICROORGANISMS

Christidou Akrivi[1], Gerakopoulos Vasilios[1], Saliakoura Maria, Douskou Esmeralda-Maria[1], Kotzamanidis Charalambos[1], Touraki Maria[1], Litopoulou-Tzanetaki Evanthia[2], Yiangou Minas[1]

1Dept. Genet.,Dev. & Mol. Biol., Sch. Biol., Aristotle Univ. Thes/niki 2Lab. Of Microbiology & Food Hygiene, Sch. Agric., Aristotle Univ. Thes/niki

Probiotics are living microorganisms which upon ingestion in adequate amounts confer health benefits to the host. Probiotic properties of strains include several specific in vitro as well as in vivo criteria. Probiotics are used for enhancing intestinal homeostasis and in cases of enteropathy such as Chron's disease. In this study, we used several Lactobacillus and Saccharomyces strains isolated from newborn infants' gastrointestinal tract (9 Lactobacillus), Feta cheese (5 Saccharomyces and 3 Lactobacillus) and Melichloro cheese (6 Lactobacillus). The goal was to further identify various in vitro and in vivo properties in order to select specific strains with appropriate immunomodulatory activity that might be able to limit the autoimmune enteropathy induced by gluten in mice. We examined a) in vitro cell surface traits of the above strains: adhesion, autoaggregation, hydrophobicity and exo-polysaccharides production, b) their ability to degrade toxic gliadin fractions and c) the pattern of cytokines produced in vivo in the intestine. The strains exhibiting in vitro probiotic properties in association with immunomodulatory activity in the intestine as well as degradation of gliadin fractions were administered in a mouse animal model of gluten enteropathy. The results showed that administration of potential probiotic strains in sensitive to gluten mice that were both on a gluten–free diet (G-) and on a gluten-containing diet (G+), decreased the production of TNFα in the intestine and exerted immunomodulatory activity by changing the cytokine (IFNγ, IL-10, IL-15) and IgA production pattern in the intestinal mucosal. In G+ mice we also observed an improvement of the enteropathy's histology. Judging from the above mentioned, it seems fit to further investigate the action of probiotic strains of Saccharomyces and Lactobacillus genera.

ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΜΕ ΣΤΟΧΟ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΞΕΝΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Χρονοπούλου Ευαγγελία, Λάμπρου Νικόλαος
Εργαστήριο Ενζυμικής Τεχνολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118-55, Αθήνα

Οι μεταφοράσες της γλουταθειόνης (GSTs, EC 2.5.1.18) είναι ένζυμα του σημαντικότερου μηχανισμού αποικοδόμησης και απομάκρυνσης τοξικών ουσιών από το κύτταρο. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη βιοαισθητήρα ανίχνευσης και προσδιορισμού φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε περιβαλλοντικά δείγματα, βασισμένου στο ένζυμο GST. Για τη δημιουργία ενός ενζύμου υψηλότερης εκλεκτικότητας σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα χρησιμοποιήθηκε πρωτεϊνική μηχανική. Για το σκοπό αυτό δημιουργήθηκε cDNA βιβλιοθήκη από καταπονημένα φυτά Phaseolus vulgaris και Glycine max χρησιμοποιώντας κατάλληλους εκφυλισμένους εκκινητές και αντίστροφη μεταγραφή-PCR. Τα GST γονίδια υποβλήθηκαν σε in vitro κατευθυνόμενη εξέλιξη (DNA shuffling). Η βιβλιοθήκη χιμαιρικών GST γονιδίων που προέκυψε κλωνοποιήθηκε σε φορέα κατάλληλο για έκφραση σε E. coli. Σάρωση της βιβλιοθήκης οδήγησε στην επιλογή μιας νέας μορφής GST ενζύμου το οποίο καθαρίστηκε με χρωματογραφία συγγένειας και μελετήθηκε κινητικά η εκλεκτικότητά του ως προς 20 υποστρώματα και 63 φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Η μορφή αυτή εμφανίζει ιδιαίτερα υψηλή δράση μεταφοράσης και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Μελετώντας τα διαφορετικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα βρέθηκαν κυρίως τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα και οι στρομπιλουρίνες (μυκητοκτόνα) να είναι ισχυροί αναστολείς του ενζύμου. Η ευαισθησία του ενζύμου ως προς τα φυτοπροστατευτικά βελτιώθηκε περαιτέρω εφαρμόζοντας κατευθυνόμενη μεταλλαξογένεση κορεσμού στη θέση Phe117 της αμινοξικής αλληλουχίας. Η μορφή Phe117Ile εμφανίζει 5-φορές υψηλότερη καταλυτική αποτελεσματικότητα και ευαισθησία έναντι της ομάδας των οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων. Συνεπώς η μορφή GSTPhe117Ile χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη κατασκευής οπτικού βιοαισθητήρα. Το ένζυμο ακινητοποιήθηκε σε σύστημα sol-gel αλκοξυσιλανίων (TEOS/PTMOS) παρουσία των δεικτών pH bromocresol purple (όξινος) και phenol red (βασικός). Το σύστημα εμφανίζει γραμμικότητα στην περιοχή pH=4-7 στα 562 nm και χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού του ισομερές α-endosulfan σε περιβαλλοντικά δείγματα.

PROTEIN ENGINEERING OF THE ENZYME GLUTATHIONE S-TRANSFERASE FOR THE DEVELOPMENT OF OPTICAL BIOSENSOR TO DETECT XENOBIOTICS

Chronopoulou Evangelia, Labrou Nikolaos
Laboratory of Enzyme Technology, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118-55 Athens

Glutathione transferases (GSTs, EC. 2.5.1.18) are inducible enzymes that play essential role in detoxification and degradation of toxic compounds, including pesticides. The purpose of the present study is the development of an optical biosensor based on GST, for the detection and determination of pesticides in environmental samples. Protein engineering was used for the creation of a GST variant with higher selectivity towards pesticides. cDNA libraries were created from Phaseolus vulgaris and Glycine max stressed plants using degenerated primers and reverse transcription-PCR. Large diversity in GST genes was accomplished employing directed evolution through DNA shuffling. The shuffled library of chimaeric GST genes was cloned in E. coli expression plasmid. Screening of the library led to the isolation of a novel GST enzyme that displays both glutathione transferase and glutathione peroxidase activities. The enzyme was purified by affinity chromatography and characterized by kinetic analysis towards 20 different substrates and 63 different pesticides. The results showed that the organocloride insecticides and strobilurins (fungicides) are strong inhibitors of the enzyme. The specificity of the enzyme towards pesticides was further improved using site-saturation mutagenesis of position Phe117. The mutant Phe117Ile displays 5-fold higher catalytic efficiency and selectivity towards organochloride insecticides. Therefore, the mutant GSTPhe117Ile was used for the research development of an optical biosensor. The enzyme was immobilized in alkosixylane (TEOS/PTMOS) sol-gel system in the presence of the pH indicators bromocresol purple (acidic) and phenol red (basic). The bioactive material exhibits linear regression in the range pH=4-7 at 562 nm and was used for the development of an analytical method for the determination of isomer α-endosulfan in environmental samples.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ

Derhovanessian E. *118*
Debattisti V. *98*
del Vescovo V. *326*
Denti M.A. *326*
Derhovanessian E. *118*
Dunford Carolyn *2*
Fabbri E. *164*
Franzellitti S. *164*
Kalbacher H. *118*
Kaufmann *14, 16*
Kroll D. *20*
Kube T. *14*
Landgraf R. *374*
Leprieur F. *260*
Lhubert M. *4*
Maccarrone G. *374*
Mäntyniemi *6*
Moezipour M. *288*
Nussbaumer M. *374*
Oemler W. *238*
Otaegi Enara *4*
Pawelec G. *118*
Pieters *4*
Reczko M. *306*
Schiller K. *14*
Sesti F. *62*
Teplytska L. *374*
Thornton *4*
Trayler Amy *2*
Torre M. *6, 108, 358*
Tsichlis P. *238*
Turck C. *374*
Waring G, *346*
Whitlock R.
Voelter W. *118*
Vojtesek B. *58*
Zimmer A. *374*
Αγγελετοπούλου Ι. *8*
Αγγελή Ι.Κ. *10, 24*
Αγγέλου Α. *190*
Αδαμάκης Ι.-Δ. *104*
Αδαμόπουλος Π. *12*
Αδάμου Β. *232*
Αθανασίου Ε. *366*
Αλατάκη Α. *14, 16*
Αλεξάκος Π. *338*
Αλέξης Σ. *16a,210*
Αλεπόρου Β. *26,194*
Αμίλλης Σ. *50 , 100*
Αμούτζιας Γ. *152, 292*
Αμπατζόγλου Ι. *224*
Αναγνωστόπουλος Α. *96, 318, 366*
Αναγνώστου Β. *2*
Αναστασιάδου Χ. *158*
Αναστοπούλου Ι. *18,110*
Ανδριόπουλος Π. *290*
Ανέστης Α. *372*
Ανεστόπουλος Ι. *20*
Αντύπας Α. *68*
Αντωνέλου Μ. *60,348*
Αντωνίου Π. *24, 90, 128*
Αντωνοπούλου Ε. *22,328,382*
Αντωνοπούλου Μ. *324*
Αποστολάκος Π. *192*
Αποστολίδη Μ. *150*
Αποστολίδης Α.Π. *66, 74, 148*
Αποστολίδης Χ. *6*
Αποστόλου Π. *106*
Αποστολοπούλου Δ. *26*
Αραβαντινού Α. *28*
Αραμπατζιόγλου Α. *238*
Αργυρίου Α.Α. *316*
Αργυροπούλου Β. *30*
Αρδαβάνης Α. *12*
Αριανούτσου Μ *32, 290*
Αρσενάκης Μ. *114, 258*
Αυγερινού Α. *246*
Αυγουστίνος Α. *288*
Αφένδρα Α. *356*
Βαλάκος Ε. *198,218*
Βαλαουρούτσου Ε. *34*
Βαλασάκη Χ. *36*
Βάννα Β. *38*
Βαρασσάς Σ. *40*
Βασιλόπουλος Γ. *134, 370*
Βαφειάδου Α. *140*
Βαφείδης Δ. *112, 154*
Βελέντζας Α. *60 , 332, 346*
Βελέντζας Π. *346*
Βερίλλης Π. *34*
Βιδάλη Μ.-Σ. *354*
Βλασίου Α. *42*
Βλαστός Δ. *264, 324, 354, 380*
Βλαχονάσιος Κ. *254*
Βράτιμος Α. *106*
Βογιατζάκη Χ. *338*
Βότση Νεύτα-Ε. *44*
Βουδαντά Ε. *34*
Βουλγαρίδου Γ. *46*
Βουλτσιάδου Ε *64*
Βουτσινάς Γ.Ε. *94*
Βρεττάκος Γ. *78*
Βώκου Δ. *200*
Γαβριηλίδης Μ. *264, 368, 378*

Γαβριηλίδου Α. *64*
Γαλάνης Α. *248*
Γαϊτανάκη Αικ. *10, 24, 192*
Γαλανοπούλου Α. *48, 178*
Γαλανοπούλου Κ. *50*
Γαλάρα Ι. *52*
Γαλάτης Β. *192*
Γαλάτου Ε. *54*
Γαλτσίδης Σ. *58*
Γαλέου Α. *56*
Γαληνού Μ. *50*
Γάλλιος Γ.Π. *266*
Γερακόπουλος Β. *388*
Γεροβασιλείου Β. *64*
Γερούση Μ. *336*
Γεωργακόπουλος Τ. *8*
Γεωργανά Η. *248*
Γεωργατζάκου Χ. *60, 348*
Γεωργέλου Κ. *62*
Γεωργιάδης Α. *66*
Γεωργατζάκου Χ. *60*
Γεωργούτσου- Μ. *68*
Γιαγκλήση Ι. *70,234*
Γιάγκου Μ. *96, 174, 308, 318, 344 , 300, 366*
Γιαλελής Β. *100*
Γιαννάκη Ε. *96, 318, 366*
Γιαννακούρας Θ.Ε. *72*
Γιανναράκης Ι. *304*
Γιαννάτος Γ. *2*
Γιαννίτση Π.Ε. *316*
Γιαννουκάκος Δ. *106*
Γιαννούλης Θ. *292*
Γιάντσης Ι.Α. *74, 148, 342*
Γιώβος Ι. *134*
Γιώσα Ε. *76*
Γιώτη Α. *78*
Γκέλης Σ. *114, 142, 258, 276*
Γκόνου-Ζάγκου Ζ. *228*
Γκουτζέλας Γ. *134*
Γκρίντζαλης Κ. *80*
Γοργούλης Β. *314*
Γούναρη Ε. *366*
Γουργουλιάνης Κ. *326*
Γουίλλιαμς Ε.Δ. *82, 132*
Γουλής Δ. *232*
Γούναρη Ε. *318*
Γουργούλη Δ. *84*
Γραμματικόπουλος Α. *86*
Γρηγορίου Μ. *288*
Γρίβας Ι. *62*
Γριμανέλλη Β.Π. *88*
Κακοσαίου Α. *112*
Δασκαλάκη Σ. *190*
Δεμερτζής Ν. *190*
Δεσπότη Σ. *22*
Δημητρέλλου Δ. *350*
Δημητριάδου Σ. *90, 128*
Δημογέροντα Τ.Κ. *92*
Διακάτου Μ.Ι. *94*
Διαλλινάς Γ. *50, 100*
Δόση Α. *186*
Δούναβης Α. *252*
Δροσοπούλου Ε. *264, 280, 298*
Ελεμηνιάδου Ε. *96, 366*
Εξαδάκτυλος Μ. *112*
Ευαγγελάκου Ζ. *98*
Ευαγγελάκος Ι. *24*
Ευαγγελινός Μ. *100*
Ευθυμιόπουλος Σ. *268, 360*
Ευθυμίου Ι. *354*
Ζαρείφη Δ. *102*
Ζαφειράκογλου Α. *104*
Ζαφειρίου Ε. *370*
Ζαχαρή Μ. *224*
Ζαχαρίας Τ. *10*
Ζαχαροπούλου Ν. *106*
Ζήκος Τσίρος Β. *108*
Ζησάκης Α. *78*
Ζιώγα Π. *46*
Ζορμπά Ε. *18, 110, 138*
Ζουμπουρλής Β. *58,386*
Ζώης Χ. *224*
Ζώτος Σ. *76*
Ηλιάδου Π, *232*
Ηλιάκη Σ. *350*
Θεοδωροπούλου Μ.Κ. *116, 144, 384*
Θεοφιλίδης Γ. *368*
Θυφρονίτης Γ. *202*
Θωμαΐδου Σ. *360*
Ισσαρη Α. *112*
Ιωακείμ Σ. *114*
Ιωαννίδου Ζ.Σ. *116*
Ιωάννου Κ. *82, 118, 132*
Καβροχωριανού Α. *62, 200*
Κάγκαλου Ι. *274*
Καθαρόπουλος Ε. *120*
Καλαβρυτινού Α.Π. *384*
Καλλιμάνης Α. *184, 186*
Καλκάνη Ε. *60*
Καλαμάρα Π. *264*
Καλαμίδα Ε. *294*
Καλογιάννη Μ. *164, 266*
Καλότυχου Β. *194*
Κουγιανού Σ. *232,362*

Καλπαξής Δ. *160, 176*
Καμπουρίδης Μ. *178*
Κανδύλης Π. *124*
Κανελλής Ά. *126*
Κάντα-Χαντζή Β. *90, 128*
Καξίρα Ο. *26*
Καπετανάκης Γ. *130, 162, 240*
Καππά Ν. *82, 132*
Καραβία Ο. *134*
Καραγιάννη Η. *356*
Καραγιώτα Α. *136*
Καραγκούνη Α. *130, 162, 178, 240*
Καρακωστής Φ.Α. *138, 196*
Καραμέτα Ε, *42*
Καραπαναγιωτίδης Ι. *156*
Καραπέτσας Α. *66*
Καραχάλιου Μ. *50*
Κάρτα Ε. *140*
Καρούτσου Μ. *350*
Κασαπίδης Π. *100,188*
Κατή Δ. *142*
Καστρίτση- Καθάριου Ι. *92*
Κατσάμπαλη Α. *114*
Κατσαντώνη Μ.Γ. *144*
Κατσίφας ε. *48,130,162,240*
Καψάλη Α. *146*
Κεντεποζίδου Ε. *22*
Κεφαλάς Α. *328*
Κεχαγιά Σ. *148*
Κιζιρίδου Μ. *14*
Κίντζιος Σ. *214*
Κίντου Α. *380*
Κλεισιάρη Ε. *344*
Κοΐνης Ά. *146*
Κόκκορη Σ.
Κόκοτος Α. *100*
Κόκκαλης Α. *60*
Κόλλια Β. *86*
Κόλλια Π. *26,194*
Κολοβός Μ. *52*
Κοντός Χ. *12*
Κορκολοπούλου Π. *78*
Κοσκινιώτη Π. *152*
Κοτζαμανίδης Χ. *388*
Κοτσακιόζη Π. *320*
Κοτσίνας Α. *314*
Κοτζιαλάμπου Α. *96,366*
Κοτσίρη Ζ. *154*
Κουβάτση Α. *246,322,336*
Κουβέλης Β. *40*
Κουγιαγκά Ε. *156*

Λουτράδης Δ. *282,302*
Κουθούρης Α. *232*
Κουκουνιά Μ. *48*
Κουκουράκης Ι. *224,294*
Κουμελης Ι. *252*
Κουμουνδούρος Γ. *146*
Κουρέτα Μ. *16*
Κουρκουτάς Ι. *124,248,350*
Κουρνούτου Γ. *160*
Κουρμουλή Ε.-Χ. *158*
Κουταλιανού Μ. *130,162,240*
Κουτσογιαννάκη Σ. *164,266*
Κρεμυζάς Κ.Ε. *166*
Κρητικός Α. *386*
Κριεμπάρδης Α. *60,348*
Κυπραίος Κ. *168*
Κυρατζή Ε. *360*
Κυριακούλη Κ. *170*
Κυριάκου Κ. *344*
Κυριαζή Μ. *190*
Κυριτσης Α. *326*
Κωνσταντοπούλου Ε. *106*
Κωνσταντά Ε. *106*
Κωνσταντινίδης Δ. *174*
Κωνσταντινοπούλου Ε. *172*
Κωνσταντίνου Δ. *64*
Κωνσταντίνου Ι. *324*
Κωνσταντόπουλος Κ. *194*
Κωστομητσόπουλος Ν. *222,338*
Κωστοπούλου Ο. *176*
Κώτσα Κ. *134*
Κωτσαρίδης Κ. *178*
Λάγγα Η. *180*
Λάζαρη Δ. *254*
Λαζαρίδου Μ. *182*
Λαζαρίνα Μ. *184,186*
Λάζου Α. *54,220*
Λαΐδου Σ. *336*
Λιάκος Σ. *190*
Λαμπρινού Β. *286*
Λάμπρου Ν. *390*
Λεγάκη Α. *188*
Λεονάρδος Ι.Δ.
Λεοτσινίδης Μ. *160,260*
Λιάσκο Ρ. *158*
Λιβανός Π. *158,192*
Λιόκαρη Μ. *194*
Λιτοπούλου Ε. *388*
Λίτου Ζ.Ι. *166,352*
Λίτση Μιζαν Β. *196*
Λογοθέτη Σ. *58,386*
Λουκά Β. *198*
Λούρος Ν.Ν. *94*
Μουσχουντή Θ. *230*

Λυκάκη Μ. *200*
Λυμπεράτος Γ. *252*
Λυμπέρη Σ. *232*
Μαγουλάς Γ. *176*
Μαζάρης Α. *44,200*
Μαλακτάρη Ε. *202*
Μαλέα Π. *104*
Ματθιόπουλος Κ. *236,286,306*
Μαμμίδης Χ. *76*
Μαμούρης Ζ. *52,134,208,212,292, 342, 370*
Μαναριώτης Ι. *28*
Μαντά Α.Κ. *204,206,316*
Μάντσο Θ. *46*
Μανώλη Μ.Τ. *24*
Μανώλης Σ.Κ. *38, 84, 226, 240*
Μαραγοζίδης Π.. *326*
Μαργαρίτης Λ.Χ. *204, 206, 222 , 304, 316, 328, 346*
Μαργαριτοπούλου Β. *208*
Μαρινάκη Ε. *16a,210*
Μαρκαντώνη Μ. *212*
Μάρκου Θ. *220*
Μαρουλάκου Ι. *238*
Μαστέλλος Δ.
Ματθιόπουλος Κ. *152*
Ματσιώρη Α. *112*
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π. *232,264,280*
Μαυρίκου Σ, *214*
Μαυροειδή Μ. *216*
Μαυροειδή Π. *268*
Μαυροθαλασσίτη Η. *218*
Μαυροφρύδη Ο. *70*
Μεγαλοφώνου Π. *180*
Μελλίδης Κ. *220*
Μεζίτη Α. *356*
Μεντέ Ε. *34*
Μεντώνης Β. *238*
Μήλιου Α. *2, 4*
Μηνά Δ. *222*
Μηντζιώρη Γ. *232*
Μητράκας Α. *224,294*
Μινοπέτρου Μ. *36*
Μιντζας Α. *262*
Μιχαήλ Δ. *226*
Μιχαηλίδης Β. *372*
Μιχαηλίδης Θ. *270*
Μιχαηλίδης Μ. *174*
Μιχαλόπουλος Ι. *124*
Μίχου Α. *228*
Μουζάκη Α. *8*
Μουρατίδου Ε. *194*
Πανάς Π. *124*
Πανέτας Ι. *266*
Μουτόπουλος Δ. *6*
Μούτου Κ. *212,292*
Μπαζιώτη Γ. *232*
Μπάκα Α. *212*
Μπακανδρίτσος Α. *308*
Μπάκου Β. *346*
Μπαλατσός Ν *326*
Μπαλάφας Ε. *338*
Μπαλτατζής Γ. *302*
Μπάμπαλη Σ. *234*
Μπαρλάκα Ε. *220*
Μπάτζιου Κ. *264*
Μπένης Ι. *10, 24*
Μπελαβίλας - Τροβάς Α. *236*
Μπεΐλέρη Ο.Μ. *352*
Μπιλλίνης Χ. *208,292*
Μπίρτσας Π. *292*
Μπόμπορη Δ. *140*
Μπορμπόλης Φ. *50*
Μπουρουλίτη Ά. *238*
Μωραΐτης Κ. *18,38,84,110, 138,198,242*
Μουστάκας Μ. *104,340*
Μωυσή Κ. *130,162,240*
Νάνου Χ. *60*
Νασοπούλου Μ. *242*
Νάστου Α.Χ. *244*
Νιαούρης Α. *246*
Νικολαΐδου Α. *92,188*
Νικολάου *248*
Νταβίντοβα Έ. *250*
Ντάικου Ι. *252*
Νταϊλιάνης Σ. *28, 80, 354, 380*
Ντάνα Φ. *254*
Ντάφου Δ. *256*
Ντι Λορεντσο Τ. *256*
Ντίνος Γ. *150*
Ντούσκου Ε.Μ. *388*
Ντυνοπούλου Β. *282*
Ξαγοράρη Α. *16*
Ξυπολιτά Μ.-Ε. *58*
Οικονομίδου Β.Α. *72, 94, 302*
Οικονόμου Α. *260*
Οικονόμου-Αμίλλη Α. *286,376*
Οικονόμου Κ. *262*
Παναγάκη Δ. *264*
Παναγιωτίδης Μ. *20*
Παναγιωτίδου Ε. *46*
Παναγιωτοπούλου Μ. *200*
Παναγόπουλος Κ. *26*
Παναγούλιας Ι. *8*
Πυρρή Ι. *228*
Ραγκούσης Γ. *306*

Πανοπούλου Μ. *268*
Πανταζίδου Α. *286*
Παντελίδου Χ. *264*
Παντζαρτζή Χ. *298*
Παντής Γ. *44*
Παππά Α. *20, 46, 212*
Παπά Αικ. *250*
Παππά Ε. *268*
Παπαβασιλείου Σ. *226*
Παπαγεωργοπούλου Χ. *272*
Παπαγεωργίου Κ. *270*
Παπαδάκη Μ. *324*
Παπαδημητρίου Θ. *274*
Παπαδημητρίου Σ. *276*
Παπαδόπουλος Ι. *12*
Παπαδογιαννάκη Γ. *322,360*
Παπαζαφείρη Π. *70*
Παπάζογλου Η. *298*
Παπαθεοδώρου Γ. *278,280*
Παπαϊωάννου Δ. *176,190*
Παπακωνσταντίνου Μ. *278*
Παπανδρέου Ν.Χ. *72,116*
Παπαπαύλου Γ. *10*
Παπασιδέρη Ι. *60, 62, 78, 98, 204, 346, 348*
Παπαστεργιάδου Ε. *278*
Παπαστεργίου Α. *238*
Παππά Ε.
Παρμακέλης Α. *228,290,320*
Πασχαλίδου Α. *280,298*
Πατέρας Ι. *314*
Πάττα Τ. *282*
Πατσατσή Α. *370*
Πατσιά Α.
Πατσούρης Ε. *78,302*
Παυλοπούλου Α. *58*
Παφίλης Π. *42,196*
Περβανίδου Δ. *212*
Περιβολιώτη Ε.
Πετανίδου Θ. *284*
Πετροπούλου Χ. *288*
Πετρουλάκη Β. *286*
Πιτσιλή Ε. *290*
Πλαγεράς Δ. *292*
Πολυσίδη Α. *90,128,338*
Πουλιλιού Σ. *224,294*
Πούλιος Σ. *254*
Πουρνάρας Σ. *150*
Πρατσίνης Χ. *68*
Προμπονά Α. *56*
Πυθαροπούλου Σ. *160*
Σουμαλεύρης Α. *328*
Σοφοτασιου Μ. *330*
Ράλλης Μ. *190*
Ρεντζή Μ. *296*
Ρήγα Α. *298*
Ροδάκης Γ. *190*
Ρόδη Μ. *16a,210*
Ρόμπος Ι. *194*
Ροσμαράκη Ε. *16a,210*
Ροσμαράκη Φ. *300*
Ρούσκας Κ. *336*
Ρουσσάκη-Σούλτσε Α.Β. *370*
Ρούσσης Α. *36*
Ρούσσης Β. *130*
Ρούσσος Σ. *248*
Ρούσσου Α. *302*
Ρουφίδου *22*
Σαββίδης Α. *178,240*
Σαγιόγλου Ν.Ε. *206,304,346*
Σαγρή Ε. *306*
Σαγώνας Κ *218*
Σαέττα Α. *78*
Σάκουλα Δ. *174,308*
Σαλιακούρα Μ. *388*
Σαλπέα Κ. *306*
Σαμαράς Β. *78*
Σαμαρά Π. *82,118,132*
Σαμσούρης Χ. *310*
Σανδαλτζόπουλος Ρ. *66*
Σανταρμάκη Β. *124,350*
Σαράντη Ε. *312*
Σαραφίδου Θ. *52,134,208,342,370*
Σαρρή Κ. *52,212,342,370*
Σγαρδέλης Σ. *184,186*
Σγουραμάλη Ε. *96,318*
Σελεμενάκης Π. *314*
Σελίμου Ρ.Π. *316*
Σερδάρη Θ.Γ. *384*
Σιαμέτης Α. *96,318*
Σίμογλου-Καραλή Χ. *350*
Σιμόπουλος Κ. *16,350*
Σιταρά Κ. *320*
Σκαλιόρα Ε. *90,128*
Σκεντέρης Ν. *322*
Σκιαδόπουλος Β. *190*
Σκορίλας Α. *12,106*
Σκούρας Ζ. *280,298,308*
Σκουρολιάκου Αικ. *222,304,332*
Σκούρτη Ε. *386*
Σκουτέλης Χ. *324*
Σκουτνικ Δ. *326*
Σολδάτος Ι. *78*
Τσατσαρούνος Σ. *190*
Τσεκέ Φ. *362*

Σπερδούλη Η. *104,340*
Σπηλιοπούλου Χ. *242*
Σταθόπουλος Κ. *150*
Στάικου Α. *296*
Σταματάκης Α. *222*
Σταμάτης Κ. *62,134,208,292,342, 300*
Στάμου Γ. *280*
Σταμούλης Κ. *348*
Στασινοπούλου Μ. *338*
Στεργίου Κ. *6*
Στεφανίδης Κ. *282*
Στέφη Λ. *332*
Στιβαρού Ν. *314*
Στραβοπόδης Δ.Ι. *94,204,346*
Στρατουδάκης Α. *26*
Στρουμπούλης Ι. *328*
Στυλιανοπούλου Φ. *222*
Συμεών Ε. *338*
Σφακιανός Α. *20*
Σφενδουράκης Σ *42,196*
Σφυρόερα Γ. *336*
Σωτηριάδης Δ. *370*
Σωφρονά Ε. *190*
Τάκου Μ. *340*
Ταουφίκ Ε. *62*
Ταρλατζής Β. *232*
Ταστσόγλου Σ. *342*
Τεκερλεκοπούλου Α. *174*
Τέστα Θ. *344*
Τζάφα Μ. *346*
Τζιμογιάννη Α. *60*
Τζούνακας Β. *60,348*
Τίκα Ε. *308*
Τιπτιρή-Κουρπέτη α. *14, 16, 350*
Τούντας Κ.Σ. *352*
Τουράκη Μ. *120,134,388*
Τουφεξή Ε. *354*
Τριανταφυλλίδης Α. *356*
Τρουγκάκος Ι. *62, 98, 118*
Τσάκας Σ. *16a,172,210*
Τσακίρη Ε. *98,118*
Τσακρής Α. *212*
Τσάλκου Ε. *358*
Τσαμέτης Χ. *232*
Τσαμπούλα Μ. *360*
Τσαούσης Γ.Ν. *166,230,244,352*
Τσαρπαλή Β. *28,354,380*
Χούρι Ν. *386*
Χρηστίδου Α. *388*
Χρήστου Μ. *146*
Τσεκμεκίδου Ξ. *134*
Τσερκεζίδου Ε. *140*
Τσίκληρας Α. *108,358*
Τσιμαράτου Κ. *314*
Τσιόκα Μ. *346*
Τσιολάκη Π.Λ. *302*
Τσίρος Β.-Ζ.
Τσιτσιλώνη Ο. *82, 118, 132, 314, 364*
Τσολάκη Ε. *366*
Τσολού Ε. *348*
Τσουμάνη Κ. *236*
Τσουμπελή Μ. *348*
Τσώλης Α.Χ. *86*
Υψηλάντης Π. *16,350*
Φαλιάγκας Λ. *368*
Φάσσος Ι. *370*
Φατούρος Δ. *308*
Φειδάντσης Κ. *22,328,372,382*
Φίλιου Μ. *374*
Φλαμπούρη Ε. *214*
Φουντζουλας Θ. *48*
Φλυτζάνης Κ. *146*
Φραγκούλη Δ. *376*
Φραγκοπούλου Α. *222*
Φωκά Κ. *238*
Φωστήρα Φ. *106*
Φωτοπούλου Αικ. *190*
Χαμόδρακας Σ.Ι. *72, 86, 94, 116, 144, 166, 170, 230, 244, 302, 352, 384*
Χαραλαμπίδης Κ. *36*
Χαραλαμπόπουλος Α. *378*
Χαραλάμπους Ν. *380*
Χαραλάμπους Σ. *62,202*
Χαροκόπος Β. *306*
Χαρτοματσίδου Τ. *264*
Χασιώτης Χ. *254*
Χατζάκη Α. *26*
Χατζηανδρέου Ρ. *78*
Χατζηγιαννίδου Ι. *382*
Χατζηιωάννου Δ. *112*
Χατζηιωάννου Μ. *154,156*
Χατζηλεοντιάδου Δ. *326*
Χατζηνικολάου Δ. *48, 92, 178, 240*
Χατζηφώτης Σ. *22,328,382*
Χατζηχριστοδούλου Χ. *212*
Χατζιάρα Σ. *68*
Χλίχλια Κ. *14, 16, 350*
Χονδρού Β. *224,384*
Χριστοδούλου Ι. *386*
Χρονοπούλου Ε. *390*
Χρυσικοπούλου Ε. *96,318*
Ψαθά Ν. *318*

Η σελίδα αυτή δεν τυπώνεται



INTEREXPO Ltd
engineering wizards

diophar AE
DIOPHAR A.E., Λ.ΚΗΦΙΣΙΑΣ 368, 152 33 ΧΑΛΑΝΔΡΙ, ΑΘΗΝΑ

ALMI TANKERS S.A.
Committed to operational integrity

Επιμέλεια: Ε. Δ. Βαλάκος, Σ. Παπαβασιλείου
Δημιουργικό: MATZENTA (www.magenta.gr)
© Ε.Ε.Β.Ε.