



Ελληνική Εταιρεία
Βιολογικών Επιστημών

360

Επιστημονικό Συνέδριο

36th ANNUAL CONFERENCE

ΠΡΑΚΤΙΚΑ • PROCEEDINGS

Το Συνέδριο αφιερώνεται
στη μνήμη του Καθηγητή
Νίκου Μάργαρη

Ιωάννινα, 8-10 Μαΐου 2014 Ioannina, May 8-10 2014

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



Η σελίδα αυτή δεν τυπώνεται

*Πρακτικά 36ου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών
Ιωάννινα 8-10 Μαΐου 2014*

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

**36^ο ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
36th ANNUAL CONFERENCE**

ΠΡΑΚΤΙΚΑ PROCEEDINGS

8-10 Μαΐου 2014

May 8-10, 2014

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ
IOANNINA**

Το συνέδριο είναι αφιερωμένο στη μνήμη του Καθηγητή Ν. Μάργαρη

ΕΚΔΟΤΗΣ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Πρόεδρος: Σπυρίδων Ευθυμιόπουλος
Γραμματεία: Επίκουρος Καθηγής Παναγιώτης Παφίλης
Διεύθυνση: Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15784 Πανπισιμιόπολη
Ιλσια, Αθήνα. Τηλ. 2107274544 ,FAX: 2107274622

E-mail

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. Νταϊλιάνης (sdailianis@upatras.gr)
Ταμίας: Σ.Κ. Μανώλης (smanol@biol.uoa.gr)
Μέλη: Α. Μαργαρίτης (lmargar@biol.uoa.gr)
Ι. Λεονάρδος (ileonard@cc.uoi.gr)

Πληροφορίες: info@eebe.gr

Ιστοσελίδα: <http://www.eebe.gr/>

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2014

XΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

**DIOPHAR A.E.
ALMI TANKERS S.A.
ΕΚΔΟΣΕΙΣ UTOPIA**

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

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

Οργανωτική Επιτροπή (Organizing Committee)

Πρόεδρος: Ισίδωρος Μπέης

Μέλη :

Παναγιώτης Παφίλης

Αντιγόνη Λάζου

Σωτήρης Μανώλης

Σύλβια Παπαβασιλείου

Ευστράτιος Βαλάκος

Δημήτρης Τσαπάρη

Πέτρος Μαργαγκός

Κωνσταντίνος Σωτηρόπουλος

ΑΦΙΕΡΩΜΑ ΣΤΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗ ΝΙΚΟ Σ. ΜΑΡΓΑΡΗ



Ο Νίκος Σ. Μάργαρης γεννήθηκε στο Βόλο το 1943 και έκανε τις προπτυχιακές σπουδές του στο Πανεπιστήμιο Αθηνών. Εκεί ολοκλήρωσε την Διδακτορική Διατριβή του και την Υφηγεσία του. Στο ίδιο πανεπιστήμιο υπηρέτησε και ως ακαδημαϊκός δάσκαλος για να μεταπηδήσει στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης όπου εξελέγη Διευθυντής Τομέα Οικολογίας στα 35 χρόνια του. Το

ανήσυχο πνεύμα του και οι οικολογικές αναζητήσεις του των οδήγησαν, στη συνέχεια, στο Πανεπιστήμιο Αιγαίου όπου και ίδρυσε, στην ουσία, το Τμήμα Περιβάλλοντος.

Ήταν στα μέσα της δεκαετίας του '70 που ο Νίκος τέλειωσε με τις στρατιωτικές του υποχρεώσεις και επανήλθε στο Εργαστήριο Βοτανικής, υπό τη διεύθυνση του αείμνηστου Καθηγητή Κ. Μητράκου. Τον βρήκα, κάποια μέρα, να φτιάχνει τον καφέ του σ' ένα μικρό καμαράκι, στο διάδρομο. Ίσα που χώραγε. Πιάσαμε την κουβέντα και δεν χρειάστηκαν πάνω από 5 λεπτά για να "κολλήσουμε". Με τον Νίκο μείναμε κολλημένοι μέχρι που μας άφησε. Κι είναι αυτό για μένα ένα από τα διαμάντια που κρύβω στο σεντούκι της ζωής μου.

Υπήρξε πρωτοπόρος, μαζί με τον Καθηγητή Μητράκο, της Οικολογίας των Μεσογειακών Φυτών, στην οποία ενέπλεξε και τους περισσότερους από εμάς. Σάρωνε τα πάντα στο διάβα του κι άφηνε πίσω του απίστευτο υλικό για επεξεργασία. Όλοι ακολουθούσαμε.

Η πληθωρική παρουσία του, ο εντυπωσιακός λόγος του, η ταχύτητα στη σκέψη του και η οξύνοιά του γοήτευαν καθέναν που ερχόταν σε επαφή μαζί του. Ο Νίκος δεν άφηνε κουβέντα να πέσει κάτω. Μιλούσες μαζί του και έπρεπε να προσέχεις. Σ' έβγαζε από το δρόμο της αφέλειας και της ανοησίας κι έδινε στην κουβέντα μια απίστευτη γοητεία. Επεδίωκες την παρέα του. Διασκεδάσαμε

πολύ. Παίρναμε ζωή από το χιούμορ του. Τσουγκρίζαμε το ποτήρι το κρασί μαζί του πάντα μετά ... παρρησίας. Ήταν άνθρωπος αληθινός. Γι' αυτό έφτασε κάποια στιγμή, να κάνει "μότο" της ζωής του τους στίχους του Οδυσσέα Ελύτη: **«Όπου ανθεί ο μέσος όρος παύω να υπάρχω. Μου είναι αδύνατον να ευδοκιμήσω μέσα στη μάζα της εκάστοτε πλειοψηφίας. Οι ωραίες μειοψηφίες είναι το κάτι άλλο»**. Κι έτσι συνέχιζε την αναζήτησή του κάνοντας φίλους αλλά και εχθρούς. Εισπράττοντας αγάπη αλλά και απογοήτευση. Τι θα μπορούσε άλλωστε να προσφέρει στον Νίκο κάποιος άδειος, νωθρός, πονηρός, καιροσκοπός ή ζηλόφθων.

Ίσως γι' αυτό αποφάσισε να παρεκκλίνει από την ακαδημαϊκή καριέρα. Μεταπήδησε στο χώρο της δημοσιογραφίας, ως παραγωγός τηλεοπτικών εκπομπών και ντοκιμαντέρ. Έγραψε άρθρα και βιβλία. Απέσπασε διεθνή βραβεία. Μετέφερε, μέσα από τις εκπομπές και τα άρθρα του, την απλή λογική της Οικολογίας σε κάθε ελληνικό σπίτι.

Έλεγε και γελούσε: *«Καλεί ένας ραδιοφωνικός σταθμός τους πολίτες για αναδάσωση με πεύκα στην Αμυγδαλέζα. Σκέφτομαι, λοιπόν, γιατί τη λένε “Αμυγδαλέζα” και όχι “Πευκέζα”; Προφανώς επειδή έχει πολλές αμυγδαλιές... Εκείνο που θέλω να πω είναι ότι δεν ταιριάζουν όλα τα δέντρα σε όλους τους χώρους»*. Με τέτοιες σκέψεις και με απίστευτη νηφαλιότητα αλλά και πάθος, "έπλασε" ο Νίκος την πρώτη γενιά οικολόγων – μαθητών του στην Ελλάδα. Την πρώτη μαγιά ανθρώπων που είχαν στ' αλήθεια κάτι να προτείνουν για το περιβάλλον και όχι απλά να προστατεύουν την υστερία τους.

Για πολλά χρόνια διετέλεσε διευθυντής της ελληνικής έκδοσης του National Geographic στην οποία όχι μόνο έδωσε ελληνικό χρώμα αλλά απογείωσε και την κυκλοφορία της.

Στα τέλη του 2012 διαγνώστηκε με καρκίνο. Ελάχιστοι φίλοι του το έμαθαν και κανείς από τους άλλους δεν το κατάλαβε αφού ο Νίκος δεν σταμάτησε ποτέ να δουλεύει. Λίγες ώρες πριν το θάνατό του έστειλε τα τελευταία του κείμενα στο National Geographic.

Νίκο, ποτέ δεν θα φύγεις απ' το μυαλό μας.

Δρ Ν.Σ. Χριστοδουλάκης
Αναπληρωτής Καθηγητής
Τομέας Βοτανικής
Τμήμα Βιολογίας - ΕΚΠΑ

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

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Το 36^ο ετήσιο επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών διοργανώνεται φέτος στα Ιωάννινα, από 8 μέχρι 10 Μαΐου 2013. Η πόλη των Ιωαννίνων επιλέχθηκε ως τόπος διεξαγωγής του Συνεδρίου, γιατί αφενός μεν διαθέτει την απαιτούμενη υποδομή και αφετέρου έχει πολλές ομορφιές που κάνουν την διαμονή ελκυστική. Ένας επιπλέον λόγος ήταν και η ύπαρξη του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών στο Πανεπιστήμιο των Ιωαννίνων που αποτελεί έναν σημαντικό άξονα στην εκπαίδευση των βιοεπιστημόνων στην χώρα μας. 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 197. Σε αυτό 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 36 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.

Από το μακρινό 1979, όταν διοργανώθηκε το 1^ο Συνέδριο (Τμήμα Βιολογίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης) μέχρι σήμερα η εξέλιξη της έρευνας στη βιολογία έχει πάρει εκρηκτικές διαστάσεις. Μια ματιά στα Πρακτικά της ΕΕΒΕ θα σας δώσει ενδιαφέρουσες και σημαντικές πληροφορίες

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.

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 36^{ου} Συνεδρίου.

Επιπλέον 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.

Η τρέχουσα μορφή του Συνεδρίου με 10-12 κεντρικές ομιλίες και η προφορική (5λεπτη) παρουσίαση των αναρτημένων ανακοινώσεων, αποδεικνύεται πλήρως επιτυχημένη. Η τελευταία καινοτομία αφορά στη θέσπιση θεματικών ενοτήτων, όπου οι συνέδριοι 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 36ο Συνέδριο της ΕΕΒΕ είναι αφιερωμένο στην μνήμη του Καθηγητή Νίκου Μάργαρη.

Το Συνέδριο αρχίζει την Πέμπτη 8 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 10 Μαΐου στις 20:30. Το συνέδριο θα πραγματοποιηθεί στο Πνευματικό Κέντρο του Δήμου Ιωαννιτών.

Εκ μέρους της Οργανωτικής Επιτροπής θα ήθελα να ευχαριστήσω το Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, το Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, το Πανεπιστήμιο Πατρών, το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων και το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, υπό την αιγίδα των οποίων διεξάγεται το συνέδριο, καθώς επίσης τον Δήμο Ιωαννιτών και τους Χορηγούς που στήριξαν οικονομικά αυτή την προσπάθεια. Τέλος θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στο μέλος της Ο.Ε. Δρ. Σύλβια Παπαβασιλείου, η οποία με ιδιαίτερη αφοσίωση έφερε σε πέρας έναν τεράστιο φόρτο εργασίας.

Σας ευχόμαστε καλή διαμονή στην πρωτεύουσα της Ηπείρου και καλή επιτυχία σε όλους όσους θα παρουσιάσουν τη δουλειά τους.

Ιωάννινα Μάιος 2014

Ισίδωρος Δ. Μπέης
Ομότιμος Καθηγητής

***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

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΒΟΛΦΡΑΜΙΟΥ ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΣΤΗ ΡΙΖΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Arabidopsis thaliana* L. ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ CLASP1

Αδαμάκης Ιωάννης-Δημοσθένης*, Παντελής Εμμανουήλ, Ελευθερίου Π. Ελευθέριος
*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη*

Τα πρωτοδερμικά κύτταρα της ρίζας του φυτού *Arabidopsis thaliana*, στην περιοχή του επάκριου μεριστώματος της ρίζας, κάτω από τα εξωτερικά περικλινή τοιχώματα φέρουν περιφερειακούς μικροσωληνίσκους με ποικίλο προσανατολισμό. Στη μεταβατική ζώνη οι μικροσωληνίσκοι αυτοί εμφανίζονται εγκάρσιοι στον κατά μήκος άξονα της ρίζας, παραμένοντας έτσι και στη ζώνη επιμήκυνσης, ενώ αλλάζει στη ζώνη διαφοροποίησης και οι μικροσωληνίσκοι εμφανίζονται ξανά με ποικίλο προσανατολισμό. Το βαρύ μέταλλο βολφράμιο (W), χορηγούμενο ως βολφραμικό νάτριο (Na_2WO_4) σε συγκέντρωση 100 mg/L, επηρεάζει τον προσανατολισμό των μικροσωληνίσκων στα κύτταρα της ρίζας του *A. thaliana*. Συγκεκριμένα, αρτίβλαστα τα οποία είχαν προφυτρώσει σε υπόστρωμα χωρίς W για 4 ημέρες και στη συνέχεια μεταφυτεύτηκαν σε υπόστρωμα με W, εμφάνισαν μικροσωληνίσκους οι οποίοι διαταράσσονταν κατά ένα χρονο-εξαρτώμενο τρόπο. Σε κύτταρα της μεταβατικής ζώνης ριζών που δέχθηκαν επίδραση W για 6 ώρες παρατηρήθηκαν μικροσωληνίσκοι με τυχαίο προσανατολισμό, ενώ τα κύτταρα της ζώνης επιμήκυνσης εμφάνιζαν εγκάρσια προσανατολισμένους μικροσωληνίσκους. Κύτταρα με άτυπο προσανατολισμό μικροσωληνίσκων στη μεταβατική ζώνη και στη ζώνη επιμήκυνσης παρατηρήθηκαν μετά από επίδραση W για 12, 24 και 48 ώρες. Σε παρατεταμένες επιδράσεις W και σε αρτίβλαστα τα οποία αναπτύχθηκαν απευθείας παρουσία W, η επίδραση ήταν πιο έντονη, ενώ τριχοβλάστες με τυχαίο προσανατολισμό μικροσωληνίσκων παρατηρούνταν ακριβώς πάνω από τα κύτταρα της μεταβατικής ζώνης. Η συγκεκριμένη αλλαγή στον προσανατολισμό των μικροσωληνίσκων ίσως σχετίζεται με την ελάττωση της έκφρασης της πρωτεΐνης CLASP1 από το W, όπως υποδεικνύουν πειράματα επίδρασης W σε φυτά τα οποία εκφράζουν την CLASP1:GFP πρωτεΐνη. *Η παρούσα έρευνα έχει χρηματοδοτηθεί μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ)-Ηράκλειτος II

THE EFFECT OF TUNGSTEN ON THE ORIENTATION OF MICROTUBULES IN THE ROOT OF THE PLANT *Arabidopsis thaliana* L. IS RELATED WITH THE EXPRESSION OF CLASP1 PROTEIN

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

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

Protodermal cells in the root apical meristem of the plant *Arabidopsis thaliana* exhibit variously oriented cortical microtubules at the external periclinal cell face. In the transition zone the orientation of microtubules appears transverse to the longitudinal root axis and is maintained in the elongation zone, becoming again random in the differentiation zone. The heavy metal tungsten (W), supplied as sodium tungstate (Na_2WO_4) at a concentration of 100 mg/L, affects microtubule orientation in the roots of *A. thaliana*. In particular, seedlings grown in a W-free substrate for 4 days and then transplanted into a W-containing substrate, showed that W disrupted microtubule orientation in a time-dependent manner. In the cells of the transition zone microtubules with random orientation were observed after a 6-hour W treatment, while cells of the elongation zone exhibited transversely oriented microtubules. Atypical microtubule alignment in the transition and elongation zones was observed in roots after a W treatment for 12, 24 and 48 hours. In prolonged W administrations and in seedlings grown directly in the presence of W, the effect was intensified, while trichoblasts with randomly oriented microtubules could be observed just above the cells of the transition zone. This change in microtubule orientation may be associated with the reduction of CLASP1 protein expression induced by W, as evidenced in experiments with plants expressing the CLASP1:GFP protein. *This research has been funded by the Operational Programme Education and Lifelong Learning of the National Strategic Reference Framework (NSRF) Heracleitus II

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ - ΝΕΥΡΟΡΟΜΠΟΤΙΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΣΕ ΚΙΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ.

Αδαμοπούλου Μ.
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

Το κείμενο αυτό, είναι ένα άρθρο που στόχο έχει να δημιουργήσει μια γέφυρα ανάμεσα στην κατανόηση της επίδρασης που έχει η αποκατάσταση και η πλαστικότητα του εγκεφάλου στην πορεία της αποκατάστασης μετά από ένα εγκεφαλικό επεισόδιο. Συγκεκριμένα, παρουσιάζει τις τεχνικές και θεραπείες που χρησιμοποιούνται στην διαδικασία της αποκατάστασης. Ειδικά ασχολείται με τις ευαίσθητες τεχνολογικές δυνατότητες στην αποκατάσταση μετά από ένα εγκεφαλικό επεισόδιο. Αυτό ακολουθείται από μια επισκόπηση της σύγχρονης γνώσης μας, βασισμένη στην χαρτογράφηση του ανθρώπινου εγκεφάλου πάνω σε τεχνολογίες που επιδεικνύουν την πλαστικότητα του εγκεφάλου στην διαδικασία αποκατάστασης μετά από ένα ημipαρετικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Οι συζητήσεις μας οδηγούν σε μια περιγραφή αξιολόγησης των διαφόρων μελετών χαρτογράφησης του εγκεφάλου, που έχουν αρχίσει να μας παρέχουν την κατανόηση της νευρωνικής λειτουργίας, στην αποκατάσταση καθώς επίσης βελτιώνει την κινητική λειτουργία μετά το επεισόδιο. Οι μέθοδοι αξιολόγησης περιλαμβάνουν κλασικές τεχνικές αποκατάστασης της βάδισης (Νευροφυσιολογική και Κινητήρια προσέγγιση μάθησης, Λειτουργική Ηλεκτρική διέγερση [FES], Ρομποτικά συστήματα και Διεπαφές Εγκεφάλου-Υπολογιστή [BCI]). Τέλος εξετάζει τα πιθανά οφέλη των υποστηρικτικών ρομποτικών συσκευών και διεπαφών εγκεφάλου – υπολογιστή, με μια προσέγγιση στην πλαστικότητα των νευρώνων του εγκεφάλου, στην διαδικασία της αποκατάστασης.

STROKE - NEUROROBOTIC TRAINING IN MOTOR DISABILITY.

Adamopoulou M.
UNIVERSITY OF PATRAS

This document is a review that intends to build a bridge between our understanding of the effect of motor rehabilitation and brain plasticity on recovery after stroke. Actually, it presents the techniques and therapies used in gait rehabilitation after stroke. Especially, it discusses the impact of intensive post-stroke motor rehabilitation on motor recovery. This is followed by an overview of our current understanding, based on human brain mapping technologies, of brain plasticity underlying spontaneous recovery after hemiparetic stroke. These discussions lead to a descriptive review of human brain mapping studies that have begun to provide an understanding of the neural basis of rehabilitation-induced gains in motor function after stroke. The methods reviewed comprise classical gait rehabilitation techniques (neurophysiological and motor learning approaches), functional electrical stimulation (FES), robotic devices, and brain-computer interfaces (BCI). It also examines the possible benefits of including assistive robotic devices and brain-computer interfaces in this field, according to a top-down approach, in which rehabilitation is driven by neural plasticity.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *crhb* ΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΖΩΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Αλιφέρη Αναστασία-Παρασκευή, Μπέης Δημήτρης

*Τμήμα Αναπτυξιακής Βιολογίας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών,
Σωρανού Εφεσίου 4, 115 27 Αθήνα*

Το σύστημα της εκλυτικής ορμόνης της κορτικοτροπίνης (CRH) λειτουργεί διατηρώντας την ομοιόσταση μετά από κατάσταση στρες, εν μέρει ρυθμίζοντας την παραγωγή της κορτιζόλης μέσω του άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Επινεφριδιακός Φλοιός (HPA-axis). Καθώς οι μελέτες του συστήματος αυτού έχουν εστιάσει κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στην παρούσα μελέτη ασχοληθήκαμε με τις επιδράσεις του στο καρδιαγγειακό σύστημα. Η μελέτη μας πραγματοποιήθηκε στο ζωικό μοντέλο zebrafish καθώς προσφέρει πολλαπλά πλεονεκτήματα: α) μεγάλη ομολογία (80%) του γονιδιώματός του με εκείνο του ανθρώπου, β) την γρήγορη ανάπτυξη, γ) τον μεγάλο αριθμό απογόνων, δ) την διαφάνεια των εμβρύων και ε) την ύπαρξη διαγονιδιακών σειρών για το καρδιαγγειακό σύστημα. Αρχικά χρησιμοποιήσαμε τη μέθοδο μικροένεσης συμπληρωματικών ολιγονουκλεοτιδίων (morpholinos) προς το mRNA του γονιδίου *crhb*, με σκοπό την παροδική αναστολή της μετάφρασής του (knock down). Παρατηρήσαμε έναν πλειοτροπικό φαινότυπο που περιελάμβανε: α) εγκεφαλικό οίδημα, β) αδυναμία κατανάλωσης του λεκιθικού σάκου, γ) δυσμορφία της ουράς, δ) καθυστέρηση στην ανάπτυξη των αγγείων, και ε) μειωμένο καρδιακό ρυθμό. Στη συνέχεια, για την περαιτέρω κατανόηση του φαινοτύπου αυτού και τη μελέτη της δράσης του γονιδίου σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, πραγματοποιήθηκε επώαση προνυμφών zebrafish με ανταγωνιστές για τους υποδοχείς της ορμόνης CRH, CRH-R1 και CRH-R2. Παρατηρήσαμε αύξηση του καρδιακού ρυθμού σε έμβρυα 120 ωρών μετά από 48 ώρες επώασης με τον ανταγωνιστή του υποδοχέα CRH-R1, ανταλαρμίνη. Σε πειράματα, που βρίσκονται εν εξελίξει, επιχειρείται η στοχευμένη μετάλλαξη του γονιδίου *crhb* μέσω των ενδοκονκλεασών, TALENs και CRISPRs. Αυτές σχεδιάζονται να αναγνωρίζουν συγκεκριμένη ακολουθία του γονιδιώματος, με σκοπό την δημιουργία σειράς στην οποία το *crhb* γονίδιο θα είναι ανενεργό. Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη εισάγουμε έναν νέο ρόλο για τον υποδοχέα R1 της ορμόνης CRH στην λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος χρησιμοποιώντας ένα νέο in vivo μοντέλο, το zebrafish.

STUDY OF THE *crhb* GENE FUNCTION DURING THE DEVELOPMENT OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN THE MODEL ORGANISM ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Aliferi A-P., Beis D.

Developmental Biology Department, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou, 115 27 Athens

The corticotropin-releasing hormone (CRH) system functions to maintain homeostasis during stress, in part by regulating cortisol production via the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis. Since studies of this system are focused mainly in the central nervous system, in the present study we decided to investigate its role in the cardiovascular development. Our study has been carried out using the zebrafish model organism as it provides us with many advantages: a) approximately 80% homology with the human genome, b) rapid embryonic development, c) large number of embryos per birth, d) transparent embryos, and e) availability of several transgenic lines in specific cells of the cardiovascular system. Firstly, we microinjected embryos with oligonucleotides (morpholinos) complementary to the mRNA of the *crhb* gene, in order to achieve gene knock down. We observed a pleiotropic phenotype involving: a) brain edema, b) unconsumed yolk, c) truncated tail, d) delay in the development of the vasculature system, and e) decreased heart rate. For better understanding of this phenotype and the investigation of the gene's function in later developmental stages, we treated zebrafish embryos with inhibitors for the CRH hormone receptors, CRH-R1 and CRH-R2. We observed an increase in the heart rate of 120 hours post fertilization embryos after 48 hours of treatment with the CRH-R1 receptor's inhibitor, antalarmin. In our ongoing experiments we're attempting the targeted mutagenesis of the *crhb* gene, using the endonucleases TALEN and CRISPR. These endonucleases are designed to bind to a specific sequence of the genome, in order to create a *crhb* knock out line. In conclusion, in the present study we identify a novel role for the CRH-R1 receptor in the cardiovascular system using zebrafish as new in vivo model.

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΩΝ ΣΤΗΝ *A. FRANCISCANA*: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΜΕ *VIBRIO ANGUILLARUM*

Αμανετίδου Ελένη, Γιαρμά Ελένη, Τουφεξή Αλεξία, Τουράκη Μαρία
*Εργαστήριο Γεν. Βιολογίας, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ, 54124 Θεσσαλονίκη*

Το καρκινοειδές *Artemia*, ζωντανή τροφή υδρόβιων οργανισμών, χρησιμοποιείται εκτεταμένα στις υδατοκαλλιέργειες ως φορέας ουσιών όπως θρεπτικά, αντιμικροβιακοί παράγοντες και προβιοτικά στους θηρευτές της τα ψάρια. Μια από τις σημαντικότερες ασθένειες στις ιχθυοκαλλιέργειες είναι η βιμπρίωση που οφείλεται στο βακτήριο *Vibrio anguillarum*. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν κύστες *Artemia franciscana* και μελετήθηκαν ένζυμα του αντιοξειδωτικού-αμυντικού συστήματος (SOD, GRed και GST's), το σύστημα της φαινολοξειδάσης (ProPO-PO) και η υπεροξειδωση των λιπών (MDA) σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια (24h, 48h, 96h, 144h). Παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων κατά τη διάρκεια των αναπτυξιακών σταδίων. Η φαινολοξειδάση παρουσίασε ιδιαίτερη αύξηση δραστηριότητας μεταξύ 48 και 96h. Οι μεταβολές αυτές συμπίπτουν με την ανάπτυξη του εντερικού σωλήνα και την έκθεση του οργανισμού σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, με σημαντικότερους το οξυγόνο και την τροφή. Η υπεροξειδωση λιπών εμφάνισε μέγιστο ($57,37 \pm 3,44$ mg MDA/g ιστού) στις 48h, που πιθανώς οφείλεται σε κινητοποίηση λιπαρών οξέων προς σχηματισμό βιολογικών μεμβρανών στα πρώτα αναπτυξιακά στάδια του οργανισμού. Στο δεύτερο μέρος, πραγματοποιήθηκαν οι ίδιοι προσδιορισμοί ύστερα από μόλυνση της *Artemia* με *V. anguillarum* με χορήγηση δύο δόσεων, μία ημερησίως, στις 96 και 120h καλλιέργειας. Οι μετρήσεις έγιναν στις 144h και συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες χωρίς το παθογόνο. Παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα για τη δραστηριότητα όλων των ενζύμων που εξετάστηκαν, πιθανώς λόγω αύξησης του οξειδωτικού στρες. Η κατακόρυφη αύξηση της υπεροξειδωσης λιπών ($94,7 \pm 37 \pm 2,75$ mg MDA/g ιστού) μετά από επίδραση του παθογόνου είναι ενδεικτική ύπαρξης οξειδωτικής βλάβης.

ANTIOXIDANT DEFENSE STATUS AND LIPID PEROXIDATION IN *A. FRANCISCANA*: EFFECT OF DEVELOPMENT AND A *VIBRIO ANGUILLARUM* CHALLENGE

Amanetidou Eleni, Giarma Eleni, Toufexi Alexia, Touraki Maria

*Laboratory of Gen. Biology, Division of Genetics, Development and Molecular Biology,
Department of Biology, School of Sciences, A.U.TH. , 54124 Thessaloniki*

The crustacean *Artemia*, live feed of aquatic organisms, is extensively used in aquaculture as a carrier of substances such as nutrients, antimicrobials and probiotics to its predators, namely fish. One of the most important diseases in fish culture is vibriosis which is caused by the bacterium *Vibrio anguillarum*. In the present paper *Artemia franciscana* cysts were used and antioxidant defense enzymes were studied (SOD, GR and GST's), the phenoloxidase system (ProPO-PO) and lipid peroxidation (MDA) in various developmental stages (24h, 48h, 96h, 144h). An increase in the activity of antioxidant enzymes was observed during the developmental stages. Phenoloxidase presented a significant increase from 48 to 96h. These alterations coincide with the development of the gastrointestinal tube and the exposure of the organism to environmental factors, mainly oxygen and feed. Lipid peroxidation showed a peak (57.37 ± 3.44 mg MDA/g tissue) at 48h, which is possibly due to the lipid mobilization for the formation of biomembranes in the primary developmental stages of the organism. In the second part the same determinations were conducted following a challenge of *Artemia* with two doses of *V. anguillarum*, one daily, at 96 and 120h of culture. The determinations were performed at 144h and they were compared with the corresponding values in the absence of pathogen. Reduced levels in the activity of all examined enzymes were observed, possibly due to the oxidative stress increase. The large increase in lipid peroxidation ($94.7 \pm 37 \pm 2.75$ mg MDA/g tissue) following challenge with the pathogen is indicative of oxidative damage.

**ΤΡΙΑ ΝΕΑ ΕΙΔΗ ΑΜΦΙΠΟΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ NIPHARGUS (CRUSTACEA:
AMPHIRODA: NIPHARGIDAE) ΑΠΟ ΤΑ ΥΠΟΓΕΙΑ ΕΣΩΤΕΡΙΚΑ ΥΔΑΤΑ ΤΗΣ
ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΣΧΟΛΙΑ ΕΠΙ ΤΩΝ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΓΕΩΓΡΑΦΙΚΩΝ
ΣΧΕΣΕΩΝ ΤΟΥΣ**

Αναστασιάδου Χρύσα¹, Ντάκης Αλέξανδρος¹, Zakšek Valerija², Fišer Cene²

*1/Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα, Ελλάδα 2/
Department of Biology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia*

Το γένος *Niphargus* είναι το πολυπληθέστερο των αμφιπόδων των εσωτερικών υδάτων, και απαντάται σε όλους τους τύπους των υπόγειων υδάτων της Δυτικής Παλαιαρκτικής. Νέα είδη περιγράφονται συνεχώς, πολλές περιοχές μέσα στο εύρος της γεωγραφικής διανομής του γένους παραμένουν ανεξερεύνητες και η αναθεώρησή του είναι ελλιπής. Επιπρόσθετα, οι μελέτες φυλογενετικών αναλύσεων αποκαλύπτουν για το γένος περιορισμένη γεωγραφική διανομή, σημειώνοντας ότι η φτωχή ικανότητα διασποράς του οδηγεί σε διακριτές βιογεωγραφικές ιστορίες σε διαφορετικές βιογεωγραφικές περιοχές. Η παρούσα μελέτη αποτελεί ένα από τα βήματα που απαιτούνται για την ανασυγκρότηση της ποικιλότητας των ειδών αυτού του σημαντικού γένους και τη διερεύνηση της εξελικτικής ιστορίας του. Ο Ελλαδικός χώρος παρουσιάζει ιδιαιτερότητα λόγω της υψηλής αφθονίας επίγειων ειδών, της ποικιλομορφίας των οικοτόπων του και της απουσίας μαζικών εξαφανίσεων κατά το Πλειστόκαινο. Επιπλέον, οι μαζικώς καρστικοποιημένες περιοχές προσφέρουν στα υπόγεια είδη τη δυνατότητα μιας τοπικής μικρο-διασποράς και τη δημιουργία υπό-καταφυγίων μέσα στα ήδη υπάρχοντα. Η ελληνική πανίδα των υπόγειων εσωτερικών υδάτων παραμένει μερικώς ανεξερεύνητη· μόνο επτά είδη του γένους *Niphargus* έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα. Επιπλέον, η φυλογενετική θέση και η καταγωγή των ειδών αυτών είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστη. Στην παρούσα έρευνα, τρία νέα είδη του γένους *Niphargus* από την Ελλάδα περιγράφονται λεπτομερώς και οι φυλογενετικές τους σχέσεις συζητούνται. Το *Niphargus aitolosi* sp. n. περιγράφεται από τη λίμνη Λυσιμαχία (Αργίριο), το *Niphargus karkabounasi* sp. n. περιγράφεται από την Κόρινθο (Πελοπόννησος) και το *Niphargus koukourasi* sp. n. περιγράφεται από τον Ποταμό Λούρο (Ήπειρος). Η προκαταρκτική γενετική ανάλυση δείχνει ότι η ελληνική πανίδα του γένους *Niphargus* είναι φυλογενετικά ποικιλόμορφη και αποτελείται από τρεις ευρείς κλάδους και έναν ενδημικό με τα μέλη τους να διανέμονται στις νότιες περιοχές της Βαλκανικής Χερσονήσου.

THREE NEW SPECIES OF THE SUBTERRANEAN FRESHWATER NIPHARGUS (CRUSTACEA: AMPHIPODA: NIPHARGIDAE) WITH COMMENTS ON THEIR PHYLOGENETIC AND BIOGEOGRAPHIC RELATIONSHIPS

Anastasiadou Chryssa¹, Ntakos Alexandros¹, Zakšek Valerija², Fišer Cene²

*1/Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technology, University of
Ioannina, University Campus, 45110, Ioannina 2/Department of Biology, Biotechnical Faculty,
University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia*

Niphargus is the largest genus among freshwater amphipods distributed in all types of subterranean waters of Western Palearctic. New species are still being described, many areas within the genus range have not been sufficiently explored, while the genus' revision is incomplete. Phylogenies till now revealed that the small distributional ranges of Niphargus are rather the rule than an exception, highlighting that the poor dispersal ability of the genus is leading to distinct biogeographic histories in different biogeographical regions. The present study is one of the steps needed to complete the reconstruction of species diversity and explore the evolutionary history of this important genus. Greece is a European freshwater hotspot, well known by high epigean species richness, reflecting its peculiar habitat diversity but also the absence of massive Pleistocene extinctions. Additionally, massively karstified areas offer an ecological opportunity for local radiations of subterranean species confirming the refugia within refugia pattern. Greek freshwater subterranean fauna has been partially explored; only seven Niphargus species have been reported from Greece so far. Moreover, phylogenetic position and origin of these species is largely unknown. In the present contribution, three new Niphargus species from Greece are described in detail and their phylogenetic relationships are discussed. Niphargus aitolosi sp. n. is described from Lake Lysimachia (Agrinio), Niphargus karkabounasi sp. n. is described from Korinthos (Peloponnese) and Niphargus koukourasi sp. n. is described from Louros River (Hpeiros). The preliminary genetic analysis suggests that Greek Niphargus fauna is phylogenetically diverse, comprising of three broadly distributed clades and one more endemic clade with members distributed in southern parts of Balkan Peninsula.

ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΗ ΒΕΝΘΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΠΟΤΑΜΟ ΕΠΗ (ΜΕΣΣΗΝΙΑ)

**Αναστασοπούλου Ευαγγελία, Γεωργιόπουλος Νίκος, Κατσόγιαννου Ιωάννα, Καραούζας
Ιωάννης, Γκριτζαλής Κωνσταντίνος**

*Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών Ινστιτούτο Θαλασσιών Βιολογικών Πόρων και
Εσωτερικών Υδάτων 46,7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, 19013 Ανάβυσσος*

Ο ποταμός Έπη βρίσκεται στην νοτιοδυτική Πελοπόννησο, ΝΑ της Μεσσηνιακής χερσονήσου, η έκταση της λεκάνη απορροής του είναι 61,6 km² και η διεύθυνσή της είναι ανοικτή ανατολικά προς τον Μεσσηνιακό κόλπο ενώ βασικό της χαρακτηριστικό είναι ο αγροτικός χαρακτήρας. Τη συντριπτική πλειοψηφία των βιομηχανικών μονάδων στο νομό Μεσσηνίας κατέχουν τα ελαιοτριβεία (76%) τα περισσότερα από τα οποία λειτουργούν σε τρεις φάσεις παράγοντας μεγάλες ποσότητες υγρών αποβλήτων οι οποίες απορρίπτονται στο υδάτινο περιβάλλον. Η μέση παραγωγή ελαιολάδου στο νομό είναι 50.000tn ετησίως ενώ το μεγαλύτερο μέρος λαμβάνει χώρα στο δυτικό τμήμα του νομού όπου ανήκει και η υπό μελέτη λεκάνη απορροής. Πραγματοποιήθηκε ταξινόμηση του ποταμού λίγο πριν την εκβολή του με βάση βιολογικούς δείκτες σε κατηγορίες ποιότητας και συγκεκριμένα σύμφωνα με τον δείκτη STAR ICMi, καθώς και με τους δείκτες BMWP, IBMWP (Spanish Version) και ASPT, χρησιμοποιώντας την μεθοδολογία RIVPACS η οποία βασίζεται στα πολύ-ενδιαιτήματα και λαμβάνει υπ' όψη την υδρογεωμορφολογία, την παρόχθια κατάσταση κ.α. Η ποιότητα των υδάτων της λεκάνη απορροής του ποταμού Έπη παρουσιάστηκε διαταραγμένη και απέχει σημαντικά από την “Καλή” κατάσταση η οποία πρέπει να επιτευχθεί έως το 2015 όπως απαιτεί η Κοινοτική Οδηγία 2000/60/ΕΕ. Ο σταθμός ταξινομήθηκε στην “Φτωχή” κατάσταση την υγρή περίοδο του 2013 και στην “Μέτρια” την ξηρή περίοδο με βάση όλους τους δείκτες με μοναδική εξαίρεση τον δείκτη ASPT με βάση τον οποίο η κατάσταση του σταθμού ήταν “Κακή” την υγρή περίοδο. Η χρήση των βενθικών μακροασπονδύλων, η οποία αποτελεί την επικρατέστερη μέθοδο για την εκτίμηση της ποιότητας των εσωτερικών υδάτων στον Ευρωπαϊκό χώρο εδώ και δεκαετίες, υπέδειξε τη σοβαρότητα της κατάστασης ενώ ταυτόχρονα αποδείχθηκε ότι τα υγρά απόβλητα των ελαιουργείων μπορούν να επιφέρουν δραματικές επιπτώσεις στην υδρόβια πανίδα.

OLIVE OIL WASTE WATERS AND THEIR IMPACT ON THE BENTHIC DIVERSITY OF RIVER EPIS IN MESSINIA, GREECE.

**Anastasopoulou Evangelia, Georgiopoulos Nikos, Katsogiannou Ioanna, Karaouzas Ioannis,
Gritzalis Konstantinos**

*Hellenic Centre for Marine Research Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters
46.7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos Attica, Greece.*

River Epis is located in southwestern Peloponnese, SE of the Messinian peninsula, its basin covers an area of 61.6 km² and its direction is open from the east to the Messinian bay while its main feature is its rural character. The vast majority of the industrial units in the area is held by olive mills (76%), most of which operate at three phases producing large quantities of wastewaters which are discharged into the aquatic environment. The average annual olive oil production in the prefecture is 50.000tn, the majority of which takes place in the western part of the prefecture where the studied river basin belongs. Classification of the river, shortly before its estuaries, into quality classes took place based on biological indicators, specifically according to STAR ICMi index, as well as according to the indexes BMWP, IBMWP (Spanish Version) and ASPT, using the RIVPACS methodology which is based on multi-habitats and takes into consideration the hydrogeomorphology, the riparian conditions etc. The water quality of river Epis was found to be significantly disturbed and far beyond the “Good” status that all river sites should attain by 2015 as the EU Directive 2000/60/EC requires. The station was classified as “Poor” during the wet period of 2013 and as “Moderate” during the dry period based on all the indicators except ASPT according to which its status was classified as “Bad” during the wet period. The use of benthic macroinvertebrates, which constitutes the most prevalent method for estimating the quality of inland waters in Europe for decades, pointed out the severity of the situation and at the same time it was also proven that olive mill wastewaters may cause dramatic effects on aquatic fauna.

ΜΟΝΟΕΤΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΟΝ Π. ΛΥΓΔΟΥ (ΜΕΣΣΗΝΙΑ)

**Αναστασοπούλου Ευαγγελία, Γκρίτζαλης Κωνσταντίνος, Κατσόγιαννου Ιωάννα,
Γεωργιόπουλος Νίκος, Σκουλικίδης Νίκος**
*Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών Ινστιτούτο Θαλασσίων Βιολογικών Πόρων και
Εσωτερικών Υδάτων 46,7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, 19013 Ανάβυσσος*

Ο ποταμός Λυγδού βρίσκεται στη νοτιοδυτική Πελοπόννησο, η λεκάνη απορροής του, έχει έκταση 18,7km² και η διεύθυνσή του είναι βόρεια-νότια ενώ είναι ανοικτή νότια προς τον Μεσσηνιακό κόλπο. Το μορφολογικό ανάγλυφο με βάση την κατάταξη κατά Dikau, χαρακτηρίζεται ως πεδινό και το μέσο υψόμετρο είναι 9.5m. Στην συγκεκριμένη υδρολογική λεκάνη επικρατούν οι γεωργικές δραστηριότητες και η πλειοψηφία των καλλιεργειών είναι μονοετείς. Οι ορυζώνες συναντώνται σε ποσοστό 27,4%, η μόνιμα αρδευόμενη γη σε ποσοστό 24,8% ενώ οι ελαιώνες και τα σύνθετα συστήματα καλλιέργειας ακολουθούν με μικρότερα ποσοστά. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία τόσο της βιομηχανικής ζώνης, η οποία καταλαμβάνει το 4,8%, όσο και η ύπαρξη ενός τμήματος βιότοπου CORINE εντός της υδρολογικής λεκάνης του ποταμού Λυγδού. Το συγκεκριμένο υδάτινο σύστημα επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από τις γύρω καλλιεργήσιμες εκτάσεις, όπως αποδείχθηκε από την καταγραφή και την μελέτη των φυσικοχημικών παραμέτρων και κυρίως της βενθικής πανίδας. Οι υδρόβιοι μακροασπόνδυλοι οργανισμοί συλλέχθηκαν με τη μέθοδο RIVPACS η οποία βασίζεται στα πολύ-ενδιαίτηματα. Τα δεδομένα αυτά καταχωρήθηκαν στη βάση δεδομένων AQEMdip 2.6, η οποία δημιουργήθηκε μέσα από τα Ευρωπαϊκά Προγράμματα AQEM και STAR και στη συνέχεια τα δεδομένα εισήχθησαν στο πρόγραμμα ASTERICS για να υπολογιστούν οι βιοτικοί δείκτες STAR iCMI, BMWP, IBMWP (Spanish Version), ASPT καθώς και οι οικολογικές προτιμήσεις. Με βάση τα βιολογικά αποτελέσματα φαίνεται ότι δεν καταγράφηκε σημαντική βελτίωση την ξηρή περίοδο του 2013 σε σύγκριση με την υγρή, κάτι το οποίο παρατηρείται με βάση τα φυσικά και φυσικοχημικά αποτελέσματα και η βιολογική κατάσταση του σταθμού βρέθηκε ότι ανήκει στην κατηγορία “Φτωχή” με βάση τους περισσότερους από τους παραπάνω δείκτες.

ANNUAL CROPS AND WATER QUALITY IN LIGDOU RIVER (MESSINIA, GREECE)

**Anastasopoulou Evangelia, Gritzalis Konstantinos, Katsogiannou Ioanna, Georgiopoulos
Niikos, Skoulikidis Nikos**

*Hellenic Centre for Marine Research Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters
46.7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos Attica, Greece.*

River Lygdou is located in southwestern Peloponnese, its river basin covers an area of 18,7 km² and its address is north-south and open to the Messinian Bay from the south. The morphological relief is characterized as flat based on Dikau's grading and the average altitude is 9.5m. The specific water catchment area is dominated by agricultural activities and the majority of crops are annuals. The rice fields are met at 27.4%, the permanently irrigated land at a rate of 24.8% while olive groves and complex culture systems follow with smaller percentages. Two distinctive features of the basin are the presence of an industrial area, which occupies the 4.8%, and the existence of a CORINE biotope section within the Lygdou river catchment area. The particular water system is strongly influenced by the surrounding agricultural areas, as it was demonstrated from the record and the study of the physicochemical parameters and particularly from the study of the benthic fauna. The aquatic macroinvertebrate organisms were collected using the RIVPACS method which is based on multi-habitats. This data was inserted in the AQEMdip 2.6 database, which was created through the European projects of AQEM and STAR and subsequently was transferred in the ASTERICS program in order to calculate the biotic indices STAR, BMWP, IBMWP (Spanish Version) and ASPT as well as the ecological preferences. On the basis of the biological results no improvement was recorded during the dry period of 2013, in comparison to the wet, something that was observed regarding the chemical and physicochemical results and the biological status of the station was classified as 'Poor' based on most of the above indices.

ΧΗΜΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΒΕΝΘΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ Π. ΚΑΡΥΑ (ΜΕΣΣΗΝΙΑ, ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ)

**Αναστασοπούλου Ευαγγελία, Γκρίτζαλης Κωνσταντίνος, Κατσόγιαννου Ιωάννα,
Γεωργιόπουλος Νίκος, Μαρκογιάννη Βασιλική**
*Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών Ινστιτούτο Θαλασσίων Βιολογικών Πόρων και
Εσωτερικών Υδάτων 46.7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, 19013 Ανάβυσσος*

Ο ποταμός Καρυάς βρίσκεται στο Νομό Μεσσηνίας (ΝΔ Πελοπόννησος), η λεκάνη απορροής του έχει έκταση 65.3 km² και στην περιοχή κυριαρχούν σημαντικές εκτάσεις με σύνθετα συστήματα καλλιέργειας (20.4%) και ελαιώνες (13.1%). Το μέσο υψόμετρο στην λεκάνη απορροής του είναι 331.5m και η μέση κλίση του εδάφους 8.0ο. Οι πιέσεις που δέχεται το ποτάμιο σύστημα είναι κυρίως η διάθεση των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων και η επιβάρυνση από λιπάσματα και φυτοφάρμακα από τις γύρω καλλιεργήσιμες εκτάσεις. Η χημική και φυσικοχημική ταξινόμηση του σταθμού πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το Ελληνικό Σύστημα Ταξινόμησης που βασίζεται στα θρεπτικά άλατα σύμφωνα με το οποίο κάθε ποιοτικό στοιχείο λαμβάνει μια τιμή ανάλογα με την συγκέντρωσή του και ο μέσος όρος των τιμών αυτών καθορίζει την τάξη στην οποία ανήκει ο σταθμός. Παράλληλα πραγματοποιήθηκε ταξινόμηση του σταθμού με βάση βιολογικούς δείκτες (STAR ICMi, BMW, IBMWP-Spanish Version και ASPT) εφαρμόζοντας το τροποποιημένο Πρωτόκολλο AQEM κατά την δειγματοληψία των βενθικών μακροασπονδύλων. Τα βιολογικά αποτελέσματα, τα οποία αποτυπώνουν σε μεγαλύτερο βάθος και με μεγαλύτερη ακρίβεια την εικόνα που επικρατεί σε ένα σταθμό σε σχέση με τις χημικές παραμέτρους, ανέδειξαν την υποβάθμιση που υπάρχει ταξινομώντας τον είτε στην “Φτωχή” είτε στην “Κακή” κατάσταση την χειμερινή και την εαρινή περίοδο του 2013 σύμφωνα με τους περισσότερους από τους παραπάνω δείκτες. Οι ελάχιστες οικογένειες μακροασπονδύλων που βρέθηκαν ήταν σε μικρή αφθονία ενώ τα είδη που καταγράφηκαν θεωρούνται ανθεκτικά στη ρύπανση. Από την φυσικοχημική ταξινόμηση προέκυψε ότι υπάρχει υποβάθμιση της ποιότητας των υδάτων την υγρή περίοδο ενώ την ξηρή καταγράφηκε μικρή βελτίωση υποδεικνύοντας ότι η ρύπανση έχει εποχιακό χαρακτήρα. Αντίθετα, τα βιολογικά αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν παρατηρείται βελτίωση της κατάστασης κατά την δειγματοληψία της ξηρής περιόδου.

CHEMICAL QUALITY AND BENTHIC DIVERSITY. THE CASE OF KARYA R. (MESSINIA, PELOPONNESE - GREECE)

Anastasopoulou Evangelia, Gritzalis Konstantinos, Katsogiannou Ioanna, Georgiopoulos Nikos, Markogianni Vasiliki

*Hellenic Centre for Marine Research Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters
46.7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos Attica, Greece.*

Karyas River is located in the prefecture of Messinia (SW Peloponnese), its catchment covers an area of 65.3 km² and the surrounding region is dominated by complex farming systems (20.4%) and olive groves (13.1%). The average altitude in the catchment is 331.5m and the mean slope of the terrain is 8.0o. The related pressures are primarily the olive mill wastewater disposals and the burden from fertilizers and pesticides that comes from the surrounding croplands. The chemical and physicochemical classification of the station was carried out according to the Greek River Nutrient Classification System under which each quality element takes a value depending on its concentration and the average of these values defines the class in which the station belongs. Alongside, a classification of the station was held on the basis of several biological indicators (STAR ICMi, BMWP, IBMWP-Spanish Version and ASPT) by implementing the modified AQEM protocol during the sampling of benthic macroinvertebrates. The biological results, which capture in a greater depth and with higher accuracy the image that prevails in a station compared to the chemical parameters, highlighted the degradation that is present by classifying the station either as “Poor” or “Bad”, during winter and spring of 2013 according to most of the above indicators. The few macroinvertebrate families found were in low abundance and the species recorded are considered to be resistant towards pollution. The physicochemical classification showed that the water quality is downgraded during the wet period and the slight improvement recorded during the dry period indicates that pollution could be seasonal. Contrary, the biological results indicated that no improvement takes place in the river’s status during the dry period.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΝΕΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΤΟΧΩΝ ΒΑΣΙΣΜΕΝΩΝ ΣΤΟΥΣ
ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΚΑΡΔΙΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ (ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ
ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ, ΜΕΤΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ, ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΗ
ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ)**

Ανδρεάδου Ιωάννα

*Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη-
Ζωγράφου, 157 71 Αθήνα*

Η στεφανιαία νόσος παραμένει η πρώτη αιτία θανάτου στον κόσμο με πολύ υψηλά επίπεδα θνησιμότητας και νοσηρότητας. Κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες, γίνεται αξιοσημείωτη επιστημονική προσπάθεια για τον περιορισμό της έκτασης του εμφράγματος του μυοκαρδίου, με τις πειραματικές μελέτες να συμβάλουν προς αυτή την κατεύθυνση. Ωστόσο, κλινικές και προκλινικές παρεμβάσεις, που χρησιμοποιούν διάφορες στρατηγικές καρδιοπροστασίας προκειμένου να μειώσουν την βλάβη από την επαναιμάτωση, δεν φαίνεται να έχουν πάντα τα επιθυμητά αποτελέσματα στην καθημερινή κλινική πρακτική. Η Ισχαιμική προετοιμασία (IPC), η μετισχαιμική προστασία (PostC) και η απομακρυσμένη ισχαιμική προστασία αποτελούν τους πιο ισχυρούς ενδογενείς μηχανισμούς που οδηγούν στη μείωση της ισχαιμικής βλάβης στο μυοκάρδιο. Ωστόσο, η μηχανική εφαρμογή του PostC και της απομακρυσμένης ισχαιμικής προστασίας μπορεί να μην γίνουν ευρέως εφαρμόσιμες στην καθημερινή κλινική πρακτική, προκειμένου να επαχθεί καρδιοπροστασία. Οι μηχανισμοί του PC και PostC είναι κοινοί και η όλη διαδικασία στοχεύει στη θανατηφόρο βλάβη της επαναιμάτωσης μειώνοντας το οξειδωτικό στρες, την ενδοκυττάρια υπερφόρτωση με Ca^{2+} , καθώς επίσης φαίνεται να καθυστερεί την αποκατάσταση του ουδέτερου pH, να μειώνει τη συσσώρευση ουδετερόφιλων, ως εκ τούτου, να εξασθενεί την απόπτωση των καρδιομυοκυττάρων βελτιώνοντας παράλληλα τη λειτουργία του ενδοθηλίου. Όλες αυτές οι επιδράσεις επιτυγχάνονται με την ενεργοποίηση των κινάσων διάσωσης (RISK), που περιλαμβάνουν την PI3, την Akt και τις ERKs, οι οποίες εμποδίζουν την διάνοιξη των μιτοχονδριακών πόρων διαπερατότητας (mPTP) που θεωρείται ο τελικός στόχος της καρδιοπροστασίας. Η αναγνώριση της δυναμικής των ενδογενών μηχανισμών καρδιοπροστασίας και η καλύτερη κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών σηματοδότησης, μπορούν να παρέχουν ένα σημαντικό παράδειγμα για την επαγωγή καρδιοπροστασίας και τη μετάφρασή της στη κλινική πράξη με τη χρήση φαρμακολογικών παρεμβάσεων. Σκοπός είναι να συνοψίσουμε τις πρόσφατες μελέτες για τις νέες στρατηγικές θεραπείας και για το σχεδιασμό νέων ενώσεων με βάση τη γνώση των προσδεμάτων, των υποδοχέων και των ενδοκυττάρων μονοπατιών σηματοδότησης της ισχαιμικής προετοιμασίας, της μετισχαιμικής προστασίας και της απομακρυσμένης ισχαιμικής προστασίας.

INVESTIGATION OF NOVEL TARGETS BASED ON THE ENDOGENOUS CARDIOPROTECTIVE MECHANISMS (PRECONDITIONING, POSTCONDITIONING AND REMOTE CONDIDTIONING)

Andreadou Ioanna

*Faculty of Pharmacy, School of Health Sciences, University of Athens, Panepistimiopolis-Zografou,
157 71 Athens*

Despite current optimal treatment, the morbidity and mortality of coronary heart disease remain significant worldwide. In the last two decades, a remarkable scientific effort has focused on the limitation of infarct size. Important input from experimental studies has led the way in this direction. However, clinical and preclinical results using various cardioprotective strategies to attenuate reperfusion injury have generally not been applicable for every day clinical practice. Ischemic preconditioning (IPC), postconditioning (PostC) and remote conditioning are the most powerful endogenous mechanisms that limit myocardial infarct size. However, the mechanical procedure of PostC and remote conditioning may indeed not become broadly applicable to offer protection in clinical routine. The mechanisms of PC and PostC are common and the whole procedure targets lethal reperfusion injury by reducing oxidative stress, decreasing intracellular Ca²⁺ overload, delaying the restoration of neutral pH, and reducing neutrophil accumulation, hence attenuating apoptotic cardiomyocyte death and improving endothelial function. All those effects are accomplished by the activation of specific RISK kinases, PI3, Akt and ERKs, which prevent the mitochondrial permeability transition pore (mPTP) opening, which is considered the end effector of cardioprotection. The recognition of the potential of endogenous cardioprotective mechanisms and a better understanding of their underlying signal transduction may provide an important paradigm for cardioprotection and its translation to clinical use of pharmacological interventions. We summarize the recent research efforts on novel therapeutic strategies and on the design of new compounds based on the knowledge of the ligands, receptors, and intracellular signaling pathways of PC, PostC and remote conditioning.

ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ 51 ΕΙΔΩΝ ΗΜΙΠΤΕΡΩΝ

Ανδρουτσοπούλου Βασιλική, Ανδρέου Αθηνά, Ηλιόπουλος Ηλίας
*Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Σχολή Τροφίμων, Βιοτεχνολογίας και
Ανάπτυξης, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα*

Τα πλήρη μιτοχονδριακά γονιδιώματα 51 ειδών της τάξης των Ημιπτέρων συγκεντρώθηκαν σε μία βάση δεδομένων. Παρατηρείται διαφοροποίηση ως προς το μέγεθος, την οργάνωση και τη σειρά των γονιδίων, με το μέγεθος τους να κυμαίνεται από 14.494 bp (*Orius niger*) έως 18.414 bp (*Trialeurodes vaporariorum*). Ακολούθως, έγινε ανάλυση των γονιδιακών και πρωτεϊνικών ακολουθιών, εκτιμήθηκαν οι γενετικές αποστάσεις τόσο από τις νουκλεοτιδικές όσο και από τις αμινοξικές αλληλουχίες και κατασκευάστηκαν δένδρογράμματα. Η πολλαπλή γονιδιακή ευθυγράμμιση χρησιμοποιήθηκε για τον σχεδιασμό καθολικών εκκινητών, με σκοπό την απομόνωση μιτοχονδριακών ακολουθιών. Η ακολουθία του γονιδίου COI μελετήθηκε για 80 είδη, -που αντιπροσωπεύουν όλα τα Ημίπτερα (Στερνόρρυγχα, Κολεόρρυγχα, Αυχενόρρυγχα, Ετερόπτερα) καθώς και πέντε είδη (ως εξωτερικά), που ανήκουν σε διαφορετικές τάξεις- και εντοπίστηκαν οι μεταβλητές περιοχές και οι περιοχές που συντηρούνται. Η ομολογία σε νουκλεοτιδικό επίπεδο κυμαίνεται από 62,17% έως 93,42%, παρουσιάζοντας υψηλό βαθμό ετερογένειας, ενώ οι θέσεις βάσεων που συντηρούνται είναι 483 επί συνόλου 1548. Οι αμινοξικές αλληλουχίες παρουσιάζουν ομολογία που κυμαίνεται από 54,99% έως 99,97%, ενώ οι θέσεις των αμινοξέων που συντηρούνται είναι 161 επί συνόλου 514. Η φυλογένεια που προκύπτει από αυτήν την εργασία υποστηρίζει τις σχέσεις της κλασικής ταξινόμησης των Ημιπτέρων. Η τοπολογία των δένδρων που κατασκευάστηκαν οδηγεί σε συμπεράσματα εξελικτικών σχέσεων εντός της τάξης των Ημιπτέρων, αφού τα υψηλά επίπεδα της φυλογενείας τους εξακολουθούν να αποτελούν μείζον θέμα της συστηματικής τους ταξινόμησης, ενώ καταδεικνύεται ότι τα δεδομένα mtDNA μπορούν να διαδραματίζουν κύριο ρόλο σε μελέτες μοριακής εξέλιξης, διασαφηνίζοντας εναλλακτικές υποθέσεις εξελικτικών σχέσεων.

EVOLUTIONARY STUDY OF THE MITOCHONDRIAL GENOME FOR 51 SPECIES OF THE ORDER HEMIPTERA

Androutsopoulou Vasiliki, Andreou Athina, Eliopoulos Elias

*Laboratory of Genetics, Department of Biotechnology, School of Food, Biotechnology and
Development, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118 55 Athens*

The full mitochondrial genomes of 51 species of Hemiptera have been compiled to a database. Differences in size, organisation and sequence of genes have been detected, with size ranging from 14.494 bp (*Orius niger*) to 18.414 bp (*Trialeurodes vaporarum*). The DNA and protein sequences have been analysed, genetic distances have been calculated and dendrograms constructed. The multiple gene sequence analysis has been used for the design of universal primers aiming the isolation on other species mitochondrial sequences. The COI gene sequence has been studied for 80 species representative for all Hemiptera (Sternorrhyncha Coleorrhyncha, Auchenorrhyncha, Heteroptera) as well as five species acting as outer groups. Variable and conserved regions have been defined. Homology at gene level varies from 62,17% to 93,42%, with high heterogeneity, with 483 bp out of 1548 being conserved. The aminoacid sequences show homology between 54,99% to 99,97%, with the conserved aminoacids being 161 out of total 514. The outcoming molecular phylogeny supports the classical Hemiptera taxonomy. Our results show that mtDNA data can play a crucial role in molecular evolution studies helping the refinement of evolutionary models. Since the higher level phylogeny of the order Hemiptera remains a contentious topic in insect systematics, the constructed tree topologies from expanded mtDNA data can clarify alternative evolutionary relationship hypotheses among major lineages within Hemiptera.

Η ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗ ΚΑΤΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΜΕΣΩ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ENHANCER OF ZESTE HOMOLOG 2 ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ

**Ανεστόπουλος Ιωάννης¹, Αριστείδης Σφακιανός¹, Μιχάλης Παναγιωτίδης², Παππά
Αγλαΐα¹**

*1Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100
Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα, 2Heriot Watt University, School of Life Sciences, Edinburgh, Scotland
UK*

Η σιλιμπινίνη, φλαβονολιγνάνιο που εξάγεται από το φυτό (*Silybum marianum* L.) κατέχει σημαντική αντι-νεοπλασματική δράση έναντι διαφόρων τύπων καρκίνου. Στον καρκίνο του προστάτη, η αντικαρκινική και χημειοπροληπτική της δράση έχει συσχετισθεί με την παρεμβολή της σε καθοριστικούς παράγοντες ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων όπως: εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, απόπτωση, εισβολή-μετάσταση, αγγειογένεση και κυτταρική σηματοδότηση. Πρόσφατα έχει χρησιμοποιηθεί σε κλινικές δοκιμές φάσης I σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Το φάσμα των πλειοτροπικών δράσεων της σιλιμπινίνης, μας οδήγησε να ερευνήσουμε εάν επηρεάζει κεντρικές διαδικασίες της χρωματινικής ρύθμισης που εμπλέκονται στον ανθρώπινο καρκίνο του προστάτη. Ο ελκυστικότερος στόχος ήταν η ιστονική μεθυλτρανσφεράση, enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), που υπερεκφράζεται στο καρκίνωμα του προστάτη. Η EZH2, μαζί με τις πρωτεΐνες embryonic ectoderm development (EED) και suppressor of zeste 12 (SUZ12), σχηματίζουν το σύμπλοκο PRC2, το οποίο ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση μέσω της δραστηριότητας ιστονικής μεθυλτρανσφεράσης και της ικανότητάς της να στρατολογεί μεθυλτρανσφεράσες του DNA (DNMTs). Επιπλέον, η δραστηριότητα της EZH2 και των υπόλοιπων μελών του PRC2 στην μεθυλίωση της λυσίνης (K)-27 της ιστόνης H3 (H3K27), συνδέεται με τη γονιδιακή καταστολή. Στην παρούσα εργασία, επώαση καρκινικών κυττάρων προστάτη DU145 και PC3 με κλινικά εφικτές συγκεντρώσεις (25-75μg/ml) σιλιμπινίνης, μείωσε την έκφραση των μελών του PRC2 συμπλόκου. Ειδικότερα, σε κύτταρα DU145 με ανάλυση ανοσοαποτυπώματος παρατηρήθηκε μειωμένη έκφραση της EZH2, συνοδευόμενη από απώλεια της φωσφορυλίωσης της EZH2 (Ser-21) και αυξημένα επίπεδα της τρι-μεθυλιωμένης ιστόνης H3. Μείωση της EZH2 με ταυτόχρονη αύξηση της τρι-μεθυλιωμένης ιστόνης H3 επιβεβαιώθηκε και σε κύτταρα PC3, μέσω ανάλυσης ανοσοφθορισμού. Οι τροποποιήσεις αυτές ενισχύθηκαν περαιτέρω με την καταστολή του γονιδίου στόχου της EZH2, HOXA9. Συνοψίζοντας, η σιλιμπινίνη φαίνεται να ρυθμίζει τη χρωματινική διαμόρφωση και έκφραση γονιδίων, μέσω καταστολής των επιπέδων EZH2, αντανακλώντας εν μέρει την αντικαρκινική της δράση στον καρκίνο του προστάτη.

SILIBININ INHIBITS CELL PROLIFERATION VIA AN ENHANCER OF ZESTE HOMOLOG 2-MEDIATED EPIGENETIC ALTERATION IN PROSTATE CANCER

Anestopoulos I.¹, Sfakianos A.¹, Panagiotidis M.², Pappa a.¹

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece, ²Heriot Watt University, School of Life Sciences, Edinburgh, Scotland UK

Silibinin, a flavonolignan extracted from milk thistle (*Silybum marianum* L.) possesses considerable anti-neoplastic activity against different types of cancer. In prostate cancer, the antitumor and chemopreventive activity of silibinin has been associated with its interference with diverse determinants of tumor cell growth including: cell cycle progression, apoptosis, invasion-metastasis, angiogenesis and cell signaling. Recently, silibinin has been employed for Phase I clinical trials in patients with prostate cancer. This spectrum of pleiotropic effects led us to investigate whether silibinin might influence central processes in chromatin regulation that are implicated in human prostate cancer. The most attractive target was the histone methyltransferase, enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) that is over-expressed in prostate carcinoma. EZH2, together with the embryonic ectoderm development (EED) protein and suppressor of zeste 12 (SUZ12), form the PRC2 complex. This complex regulates gene expression through its histone methyltransferase activity and ability to recruit DNA methyltransferases (DNMTs). Moreover, the activity of EZH2 and other PRC2 components in methylating lysine(K)-27 of histone H3 (H3K27) is associated with gene repression. In the current report, treatment of DU145 and PC3 prostate cancer cell lines with clinically-achievable concentrations (25-75µg/ml) of silibinin, reduced the expression of PRC2 complex members. Specifically, immunoblot analysis showed a decrease of EZH2 expression, accompanied by depletion of EZH2 phosphorylation (Ser-21) and increased levels of histone H3 trimethylation, in DU145 cells treated with silibinin. Reduction of EZH2 with concomitant increase of trimethylated histone H3 was also confirmed in PC3 cells, by immunofluorescence analysis. These modifications were further supported by suppression of the known EZH-target gene, HOXA9. Summarizing, silibinin appears to regulate chromatin conformation and gene expression via suppression of EZH2 levels, reflecting in part its anticancer activity in prostate cancer.

ΟΙ ΠΟΙΚΙΛΕΣ ΟΣΜΕΣ ΤΩΝ ΑΥΤΟΦΥΩΝ ΦΥΤΩΝ «ΜΕΝΤΑΣ» ΣΤΑ ΦΥΤΟΓΕΩΓΡΑΦΙΚΑ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

**Αραμπατζή Αναστασία¹, Καρούσου Ρεγγίνα², Κουκ Κατερίνα-Μαργαρίτα³,
Χανλίδου Έφη², Λαναράς Θωμάς², Κοκκίνη Στυλιανή²**

*1/Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Διατήρηση της Βιοποικιλότητας και Αειφορική
Εκμετάλλευση Αυτοφύων Φυτών», Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 2/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 3/Κέντρο
Γεωργικής Έρευνας Βόρειας Ελλάδας, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός-«ΔΗΜΗΤΡΑ»,
Τ.Θ. 60458, 57001 Θέρμη, Ελλάδα*

Αιθέρια έλαια πλούσια σε συστατικά με σκελετό π-μινθανίου παράγονται κυρίως από taxa των γενών *Acinos*, *Calamintha*, *Mentha* και *Clinopodium*, τα οποία συνήθως έχουν χαρακτηριστική οσμή «μέντας». Σύμφωνα με τους Dimopoulos et al. (2013), στα τέσσερα γένη ανήκουν 27 αυτοφυή taxa, πέντε από τα οποία είναι ενδημικά της Ελλάδας. Τα περισσότερα απαντούν στο φυτογεωγραφικό διαμέρισμα Βορειοανατολικής Ελλάδας (22 taxa) και τα λιγότερα στα Ιόνια νησιά (8 taxa). Η πλειονότητα είναι ημικρυπτόφυτα (83%). Η παρούσα εργασία μέσω κριτικής βιβλιογραφικής ανασκόπησης (Web-of-Science, Scopus και Google-Scholar) επιχειρεί να απαντήσει στα ακόλουθα ερωτήματα (α) για ποια αυτοφυή στην Ελλάδα taxa υπάρχουν δημοσιεύσεις σχετικές με τα αιθέρια έλαια, (β) σε ποια φυτογεωγραφικά διαμερίσματα απαντούν τα taxa που μελετήθηκαν και (γ) σχετίζεται η συνολική εξάπλωση των επιμέρους taxa με το σύνολο των δημοσιευμάτων για τα αιθέρια έλαιά τους. Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν περισσότερες από 1200 επιστημονικές εργασίες για τα αιθέρια έλαια των taxa της ομάδας, οι περισσότερες από τις οποίες (>1000) αναφέρονται σε taxa του γένους *Mentha*. Στην Ελλάδα έχουν μελετηθεί τα αιθέρια έλαια 11 taxa της ομάδας και ο κύριος όγκος των δημοσιευμάτων αφορά στα γένη *Mentha* (66%) και *Calamintha* (26%). Η περιεκτικότητα των φυτών σε αιθέριο έλαιο κυμαίνεται από 0,2 (*Clinopodium dalmaticum* στο διαμέρισμα Βορειοανατολικής Ελλάδας) έως 4,2 mL 100g-1 ξηρού βάρους (*Mentha spicata* στο διαμέρισμα Κρήτης- Καρπάθου). Η ύπαρξη διαφορετικών οσμών – χημειοτύπων σε άτομα ενός είδους έχει καταγραφεί στα μέλη των γενών *Mentha* και *Calamintha*. Τα περισσότερα δημοσιεύματα αφορούν στα αιθέρια έλαια φυτών από τα φυτογεωγραφικά διαμερίσματα της Βορειοανατολικής Ελλάδας και της Κρήτης-Καρπάθου (18%). Οι συγγραφείς ευχαριστούν για την οικονομική υποστήριξη το ΕΣΠΑ - Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο της Δράσης ΑΡΙΣΤΕΙΑ II (NATURAL AROMA- 4204).

SMELL VARIATION OF THE NATIVE “MINT” PLANTS IN THE FLORISTIC REGIONS OF GREECE

Arampatzi Anastasia¹, Karousou Regina², Cook Catherine-Margaret³, Chanlidou Efi², Lanaras Thomas², Kokkini Styliani²

1/Postgraduate Studies Programme “Conservation of Biodiversity and Sustainable Exploitation of Native Plants”, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece
- 2/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece - 3/Agricultural Research Centre of Northern Greece, Hellenic Agricultural Organization “DEMETER”, 57001 Thermi, Greece

Essential oils rich in p-menthane compounds are mainly produced by taxa of the genera *Acinos*, *Calamintha*, *Mentha* and *Clinopodium*, which often emit a characteristic “mint” odour. According to Dimopoulos et al. (2013), 27 native taxa belong to those genera, five of which are endemic in Greece. Most of them occur in the floristic region of NE Greece (22 taxa) and only a few in Ionian islands (8 taxa). The majority of them are Hemicryptophytes (83%). The present study, through critical literature review (Web-of-Science, Scopus και Google-Scholar), aims to answer the following queries: (a) for which native taxa there are publications for their essential oils (b) in which floristic regions are the studied taxa located and (c) is there any relationship between the distribution of the individual taxa and the number of publications concerning their oils. In the international literature there are more than 1200 publications about the essential oils of this group, most of which (>1000) refer to taxa of the genus *Mentha*. In Greece 11 taxa of the group have been studied and the bulk of the publications refer to taxa of the genera *Mentha* (66%) and *Calamintha* (26%). Their essential oil content ranges from 0.2 (*Clinopodium dalmaticum* in the floristic region of NE Greece) to 4.2 mL 100g⁻¹ of dry weight (*Mentha spicata* in the region of Kriti – Karpathos). The presence of different smells – chemotypes within the same species has been recorded for taxa of the genera *Mentha* and *Calamintha*. Most publications concern the regions of the NE Greece and Kriti – Karpathos (18%). The authors acknowledge the financial support of the National Strategic Reference Framework (NSRF), Research Funding Programme of the Action ARISTEIA II (NATURAL AROMA-4204)

SBPS, ΜΙΑ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ARABIDOPSIS THALIANA ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΛΛΑ ΜΕ ΚΟΙΝΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΔΜΙΟΥ ΚΑΙ ΣΕΛΗΝΙΟΥ.

Βαλασάκη Χρυσάνθη, Χαραλαμπίδης Κοσμάς και Ρούσσης Ανδρέας
*ΤΟΜΕΑΣ ΒΟΤΑΝΙΚΗΣ, ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ,
ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ*

ΟΙ SELENIUM BINDING PROTEIN (SBP) ΑΠΑΝΤΩΤΑΙ ΣΕ ΟΛΟΥΣ ΣΧΕΔΟΝ ΤΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ ΜΕ ΥΨΗΛΟ ΒΑΘΜΟ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ. Ο ΒΑΘΜΟΣ ΑΥΤΟΣ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΣΕ ΥΨΗΛΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΚΟΜΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΞΥ ΦΥΤΙΚΩΝ-ΖΩΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ. ΣΤΟ ARABIDOPSIS THALIANA ΕΝΤΟΠΙΖΟΝΤΑΙ ΤΡΙΑ SBP ΓΟΝΙΔΙΑ ΜΕ ΑΓΝΩΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΩΣ ΣΗΜΕΡΑ, ΜΕ ΤΟ SBP3 ΝΑ ΕΝΤΟΠΙΖΕΤΑΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ ΑΠΟ ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΔΥΟ. ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΝΑ ΑΠΟΣΑΦΗΝΙΣΤΕΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΑΥΤΩΝ ΤΟΣΟ ΚΑΤΑ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ARABIDOPSIS THALIANA ΟΣΟ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΒΙΟΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΔΜΙΟΥ ΚΑΙ ΣΕΛΗΝΙΟΥ (ΑΒΙΟΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ) ΜΕΛΕΤΗΘΗΚΑΝ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΗΜΙΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑΣΗΣ-ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (SEMIQUANTITATIVE RT-PCR) ΚΑΙ Η ΙΣΤΟΕΙΔΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΦΥΤΩΝ PSBPS::GUS. ΟΙ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΑΥΤΕΣ ΕΔΕΙΞΑΝ ΟΤΙ ΚΑΤΑ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΤΑ ΤΡΙΑ ΑΥΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΕΚΦΡΑΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΤΡΟΠΟ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ, ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΟΝΤΑΣ ΕΤΣΙ ΤΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟ ΤΟΥΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ. ΌΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΣΤΗΝ ΑΒΙΟΤΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΔΜΙΟΥ ΚΑΙ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΚΟΙΝΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ, ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΟΝΤΑΣ ΕΤΣΙ ΤΟΝ ΠΙΘΑΝΟ ΡΟΛΟ ΤΩΝ SBP ΣΤΙΣ ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ ΜΕΣΩ ΕΝΟΣ ΚΟΙΝΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΗΣ.

**SBPS, A GENE FAMILY OF THE PLANT ARABIDOPSIS THALIANA WITH
DIFFERENTIAL EXPRESSION DURING NORMAL DEVELOPMENT BUT COMMON
RESPONSES IN PRESENCE OF CADMIUM AND SELENIUM.**

*DEPARTMENT OF BOTANY, FACULTY OF BIOLOGY, NATIONAL AND KAPODISTRIAN
UNIVERSITY OF ATHENS, PANEPISTIMIOPOLLIS ILISIA 15701, ATHENS*

SBP GENES HAVE BEEN IDENTIFIED IN ALMOST ALL ORGANISMS WITH A HIGH DEGREE OF CONSERVATION IN AMINO ACID SEQUENCES. IN ARABIDOPSIS THALIANA THREE HOMOLOGOUS SBP GENES HAVE BEEN IDENTIFIED WITH UNKNOWN FUNCTION SO FAR. IN OUR ATTEMPT TO CLARIFY THE ROLE OF SBP GENES IN A.THALIANA IN ABIOTIC STRESS CONDITIONS AND NORMAL DEVELOPMENT, WE STUDIED THE EXPRESSION LEVELS OF THESE GENES BY SEMI-QUANTITATIVE RT-PCR AND IN PLANTA USING TRANSGENIC PSBPS::GUS REPORTER LINES. THESE ANALYSES SHOWED THAT DURING NORMAL DEVELOPMENT OF THE PLANT THE THREE GENES ARE DIFFERENTIALLY EXPRESSED, INDICATING THEIR DIFFERENT ROLES IN THE COURSE OF NORMAL DEVELOPMENT. AS FOR ABIOTIC STRESS (IN PRESENCE OF CADMIUM AND SELENIUM AS ABIOTIC FACTORS) SBPS EXHIBIT COMMON RESPONSES, SUGGESTING THE POSSIBLE ROLE OF SBPS IN ABIOTIC STRESSES THROUGH A COMMON MECHANISM OF ACTION.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΠΙΘΑΝΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΧΥΜΟΥ ΑΠΟ ΚΡΑΝΑ

Βασιλειάδης Σταύρος¹, Φίτσιου Ελένη¹, Σαξάμη Γεωργία¹, Τιπτιρή-Κουρπέτη Αγγελική¹, Σπυριδοπούλου Κατερίνα¹, Μητροπούλου Γρηγορία¹, Βεκιάρη Σταυρούλα Α.², Γαλάνης Αλέξης¹, Παππά Αγλαΐα¹, Χλίχλια Κατερίνα¹

1/Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, 68100 Αλεξανδρούπολη 2/ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Ινστιτούτο Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων, Λυκόβρυση, Αθήνα

Τα κράνα (*Cornus mas* L.) αποτελούν ένα είδος μούρου ενδημικό στην Ευρώπη και σε κάποια μέρη της Ασίας που έχει μελετηθεί κατά κύριο λόγο για την αντιμικροβιακή δράση του χυμού του. Στην παρούσα μελέτη, εξετάσαμε την αντιοξειδωτική δραστηριότητα του χυμού κράνα *in vitro*, καθώς και την αντικαρκινική *in vitro* και *in vivo*. Ο χυμός επέδειξε σημαντική αντιοξειδωτική δράση *in vitro* χρησιμοποιώντας την τεχνική DPPH. Η *in vitro* αντικαρκινική δραστηριότητα του χυμού ελέγχθηκε χρησιμοποιώντας τέσσερις ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές και μία από μύες: αδеноκαρκίνωμα μαστού MCF-7, ηπατικό αδеноκαρκίνωμα HepG2 και καρκινώματα του παχέος εντέρου Caco2, HT-29 και CT26. Παρά την ισχυρή αντιοξειδωτική του δράση, ο χυμός δεν επηρέασε σημαντικά την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, καθώς η βιωσιμότητα τους μειώθηκε σε ποσοστό 40-50% μόνο στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Η αντι-νεοπλασματική δράση του χυμού *in vivo* μελετήθηκε σε καρκινικό μοντέλο του παχέος εντέρου σε BALB/c μύες. Οι μύες λάμβαναν *per os* ημερησίως χυμό για διάστημα 10 ημερών, ενώ οι μύες-μάρτυρες λάμβαναν μόνον PBS. Η χορήγηση του χυμού δεν επηρέασε την ανάπτυξη των νεοπλασματικών κυττάρων *in vivo* μετά την υποδόρια χορήγηση καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου. Συμπερασματικά, ο χυμός κράνα (*Cornus mas* L.) παρουσίασε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση *in vitro*, ωστόσο δεν είχε σημαντική *in vitro* και *in vivo* βιολογική δράση ενάντια στη βιωσιμότητα καρκινικών κυττάρων. Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτήθηκε από την Πράξη «Διμερής E&T Συνεργασία Ελλάδας-Κίνας 2013-2015» (Κωδ. έργου 12CHN409)

EVALUATION OF POTENTIAL BIOLOGICAL EFFECTS OF CRANBERRY JUICE

**Vasileiadis Stavros¹, Fitsiou Eleni¹, Saxami Georgia¹, Tiptiri-Kourpeti Angeliki¹,
Spyridopoulou Katerina¹, Mitropoulou Grigoria¹, Vekiari Stavroula A.², Galanis Alexis¹,
Pappa Aglaia¹, Chlichlia Katerina¹**

*1/Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University
Campus-Dragana, 68100 Alexandroupolis, Greece 2/ELGO-DEMETER, Institute of Technology of
Agricultural Products, Lykovrisi, Athens, Greece*

Cornus mas L. is a flowering plant that is indigenous to Europe and parts of Asia and has been mostly studied for the antimicrobial activity of its juice. In this report, we studied the in vitro antioxidant capacity of cranberry juice from *Cornus mas* L. and its antiproliferative properties in vitro and in vivo. The juice showed significant antioxidant activity against the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Its anticancer potential was tested using four human cancer cells lines and one murine: mammary adenocarcinoma MCF-7, liver hepatocellular carcinoma HepG2 and colon adenocarcinomas CaCo2, HT-29 and CT26. Despite its antioxidant potency, the juice exhibited moderate antiproliferative capacity against all cell lines, reducing the viability of the cells to 40-50% in the highest concentrations. The in vivo anticancer activity was studied in a colon cancer model in BALB/c mice. Mice received daily juice per os for 10 days whereas control mice received only PBS. Administration of cranberry juice did not lead to a significant growth-inhibitory effect of tumour cells following subcutaneous administration of murine colon cancer cells. Thus, *Cornus mas* L. juice showed strong antioxidant capacity in vitro, but neither reduced significantly the viability of cancer cell lines nor induced a protective effect to mice with colon cancer. The present study was supported by a “Greece-China Bilateral R&D Cooperation 2013-2015” NSRF grant (Project Nr. 12CHN409)

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΗΣ ΚΟΠΕΠΤΙΝΗΣ ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΥΠΑΡΑΧΝΟΕΙΔΗ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ ΠΟΥ ΝΟΣΗΛΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΗ Μ.Ε.Θ.

**Βελισσαράτου Μαρία², Τσαρτσάρakis Αντώνιος¹, Φασουλή Ειρήνη-Σοφία², Μπάριμπα
Ευγενία-Μαρία², Μπαλόκα Λουκία², Βάτσιου Σοφία², Γιαμουστάρης Αθανάσιος¹,
Ζησιμόπουλος Αθανάσιος¹**

*1.Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής, Ιατρικής Σχολής Δημοκριτείου Πανεπιστημίου
Θράκης. 2. Σχολή Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής ΔΠΘ*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ. Η πρόωμη ανίχνευση της επικινδυνότητας της υπαραχνοειδούς αιμορραγίας έχει μεγάλη σημασία για την έκβαση της υγείας των ασθενών στις ΜΕΘ. Η κοπεπτίνη (το C-τελικό τμήμα της βασοπρεσίνης) του πλάσματος έχει χρησιμοποιηθεί σαν προγνωστικός δείκτης διαφόρων νοσημάτων, ωστόσο η προγνωστική αξία της στην ενδοκρανιακή αιμορραγία δεν έχει αξιολογηθεί. **ΣΚΟΠΟΣ.** Με την παρούσα μελέτη αξιολογούνται οι τιμές της κοπεπτίνης στο πλάσμα ασθενών με ενδοκρανιακή αιμορραγία που νοσηλεύονται στη ΜΕΘ, ως προγνωστικός δείκτης βαρύτητας της νόσου. **ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.** Μελετήσαμε 27 ασθενείς, 19 άνδρες και 8 γυναίκες, μέσης ηλικίας 58 ετών (57 ± 8 ετών), οι οποίοι νοσηλεύτηκαν στην μονάδα εντατικής θεραπείας του ΠΓΝΑ. Μετά από διαδοχικές αιμοληψίες, έγινε προσδιορισμός των τιμών της κοπεπτίνης στο πλάσμα του αίματος ασθενών, στο εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής του Δημοκριτείου Πανεπιστημίου Θράκης στο ΠΓΝΑ με τη ραδιοανοσομετρική μέθοδο RIA. **ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.** Η στατιστική ανάλυση των τιμών έγινε με χ^2 -test. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.** Οι φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται από 0,4-4,4 pmol/L. 15 ασθενείς που εμφάνιζαν προοδευτική αύξηση των τιμών της κοπεπτίνης 125-578 pmol/L είχαν επιδείνωση και κακή πρόγνωση της νόσου ($p < 0,005$). 4 εξ αυτών με πολύ υψηλές τιμές κοπεπτίνης απεβίωσαν. Προοδευτική μείωση των τιμών των υπολοίπων 11 ασθενών συσχετιζόνταν με βελτίωση της κλινικής τους εικόνας ($p < 0,005$). 10 ασθενείς εμφάνισαν υψηλές τιμές και μετά προοδευτική μείωση με εύρος 85-12 pmol/L είχαν καλή πρόγνωση της νόσου. 2 ασθενείς με φυσιολογικές τιμές παρουσίαζαν καλή κλινική εικόνα. **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.** Ασθενείς με προοδευτική αύξηση τιμών κοπεπτίνης παρουσίασαν επιδείνωση και κακή πρόγνωση ενώ με πολύ υψηλές τιμές κοπεπτίνης απεβίωσαν. Με προοδευτική μείωση τιμών κοπεπτίνης είχαν κλινική βελτίωση και καλή πρόγνωση. Οι τιμές της κοπεπτίνης είναι αξιόλογος προγνωστικός παράγοντας στην παρακολούθηση ασθενών με ενδοκρανιακή αιμορραγία.

THE EVALUATION OF COPEPTINE PLASMA VALUES AS A PROGNOSTIC FACTOR IN PATIENTS WITH INTRACRANIAL HAEMORRHAGE HOSPITALISED IN THE ICU

Velissaratou Maria², Tsartsarakis Antonios¹, Fasouli Eirini-Sofia², Barmpa Evgenia-Maria², Baloka Loukia², Vatsiou Sofia², Giamustaris Athanasios¹, Zissimopoulos Athanasios¹

1.NUCLEAR MEDICINE LABORATORY, MEDICAL SCHOOL OF DEMOCRITUS UNIVERSITY OF THRACE

Introduction. The early detection of severity of the subarachnoid haemorrhage plays an important role for the resulting health of the patients in the ICU. Copeptine (the C-end of vasopressin) in plasma has been used as a prognostic marker in a number of various illnesses, but its prognostic value in intracranial haemorrhage has not been valued. **Aim.** The evaluation of copeptine plasma values of patients with intracranial haemorrhage hospitalised in the ICU, as a prognostic factor for the severity of this illness. **Methods.** We studied 27 patients, 19 male, 8 female, (average age 57 ± 8), hospitalised in the ICU of PGNA. Plasma Copeptine values were measured in the Nuclear Medicine Laboratory, with the Radioimmunoassay) method. **Statistical Analysis.** The x2 student test used for statistical analysis. **Results.** The cut-off value of copeptine ranged between 0.4-4.4 pmol/L. 15 patients showing gradual increase of copeptine values, (125-578 pmol/L), with a bad prognosis of the illness ($p < 0.005$). 4 of them with extremely high copeptine values died. Decrease of copeptine values for the rest 11 patients were correlated with the improvement of their clinical condition ($p < 0.005$). 10 patients appeared to have high values, followed by the gradual decrease by a range of 85-12pmol/L, and had a good prognosis of the condition. 2 patients with normal values demonstrated to have a good clinical condition. **Conclusion** Patients with a gradual increase of copeptine values showed to have a deterioration and a bad prognosis of the condition, with extremely high copeptine values passed away, while patients showing a gradual decrease in copeptine values had a clinical amelioration and a good prognosis. It is supported that copeptine values are a reliable prognostic factor in monitoring patients with intracranial haemorrhage.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟΥ ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ 18S rRNA ΓΟΝΙΔΙΟΥ

Βεργής Γεώργιος, Γκέλης Σπύρος

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη*

Η Μεσόγειος θάλασσα είναι μία περιοχή στην οποία δεν έχουν γίνει αρκετές έρευνες στην ποικιλότητα του φυτοπλαγκτού παρόλο που αποτελεί ένα θερμό σημείο βιοποικιλότητας. Οι φυτοπλαγκτικοί μικροοργανισμοί είναι οι βασικοί πρωτογενείς παραγωγοί των θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Ωστόσο, μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα υπό ορισμένες συνθήκες, είτε μέσω της παραγωγής βιοτοξινών, είτε μέσω των ανθίσεων του φυτοπλαγκτού επηρεάζοντας τους υπόλοιπους οργανισμούς, τη λειτουργία του οικοσυστήματος καθώς επίσης και τις ανθρώπινες δραστηριότητες. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η ποικιλότητα ευκαρυωτικών φυτοπλαγκτικών οργανισμών στον Κόλπο Καλλονής της Μυτιλήνης και στο Αιγαίο Πέλαγος, νότια της Λέσβου. Από τα δείγματα νερού που συλλέχθηκαν, απομονώθηκε ολικό γενωμικό DNA, ενισχύθηκε η περιοχή του γονιδίου 18S rRNA με τη χρήση των εκκινητών EukA και EukB και τη μέθοδο Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) και κατασκευάστηκαν δύο 18S rDNA βιβλιοθήκες. Οι περισσότερες ταξινομηκές μονάδες (OTUs) που αναγνωρίστηκαν αντιστοιχούν σε ακαλλιέργητους φυτοπλαγκτικούς οργανισμούς, ενώ στον κόλπο της Καλλονής προσδιορίστηκαν και OTUs που αντιστοιχούν σε δινοφύκη των γενών *Protoceratium*, *Karlodinium* και *Gyrodinium*. Τα πρώτα αποτελέσματα της ανάλυσης της μοριακής ποικιλότητας δείχνουν ότι η ποικιλότητα του ευκαρυωτικών φυτοπλαγκτικών οργανισμών στο Αιγαίο είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστη.

THE INVESTIGATION OF PHYTOPLANKTON DIVERSITY IN AEGEAN SEA USING 18S rRNA GENE

Vergis Georgios, Gkelis Spyros

*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki,
GR-54124 Thessaloniki*

The Mediterranean area is a known biodiversity hot spot. However, diversity of microbes is substantially underestimated or unexplored. Phytoplankton is the main primary producers of the marine ecosystems. However, some phytoplankton species can be the cause of numerous problems under certain circumstances, either by the production of biotoxins or by forming blooms affecting the aquatic biota, ecosystem functions, and human activities. The present study focuses on the diversity of eukaryotic phytoplankton at Kalloni Gulf (Lesvos Island) and the Aegean Sea south of Lesvos. Total genomic DNA was extracted from the samples, fragments of the 18S rRNA genes were PCR amplified using the primers EukA and EukB, and two 18S rDNA libraries were constructed. Most of the Operational Taxonomic Units (OTUs) we identified correspond to yet-uncultured marine eukaryotes. In Kalloni Gulf we found OTUs belonging to the genera *Protoceratium*, *Karlodinium* and *Gyrodinium*. The first results of molecular diversity analysis indicate that the diversity of eukaryotic phytoplankton organisms is largely unknown in the Aegean Sea.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ ΣΕ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΚΑΙ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΤΟΥ ΘΥΜΟΥ ΑΔΕΝΑ

Βίτσος Παναγιώτης¹, Παπαϊωάννου Νίκος¹, Σαμαρά Πηνελόπη¹, Τσιτσιλώνη Ουρανία¹, Βουτσάς Ιωάννης²

*1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 2/Κέντρο
Ανοσολογίας και Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Π.Α.Ο.Ν.Α. «Ο Άγιος Σάββας», Αθήνα*

Το πολυπεπίδιο προθυμοσίνη α (προΤα) έχει διπλό ρόλο: ενδοκυτταρικά ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο, ενώ εξωκυτταρικά δρα ανοσορρυθμιστικά, κυρίως μέσω του καρβοξυτελικού του δεκαπεπτιδίου προΤα(100-109). Σκοπός μας ήταν να μελετήσουμε αν η εξωγενής χορήγηση προΤα ή προΤα(100-109) επηρεάζει τον κυτταρικό κύκλο ανθρώπινων φυσιολογικών και καρκινικών κυττάρων. Καρκινικά κύτταρα των σειρών HCT-116, SKBR3, FM3, THP1, HL-60 και K562, μονοπύρηνια και ουδετερόφιλα που απομονώθηκαν από το περιφερικό αίμα υγιών δοτών, επώαστηκαν με διάφορες συγκεντρώσεις προΤα (50-200 ng/mL) ή προΤα(100-109) (25-400 ng/mL) για χρονικά διαστήματα 1-72 ωρών. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν μονοπύρηνια που καλλιιεργήθηκαν με υψηλές συγκεντρώσεις (500-1000 IU/mL) ιντερλευκίνης (IL)-2. Τα κύτταρα σημάνθηκαν με τη φθορίζουσα χρωστική Vybrant-DyeCycle, η οποία διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη και δεσμεύεται εκλεκτικά στο DNA και αναλύθηκαν με κυτταρομετρία ροής. Καταγράψαμε την κατανομή των πληθυσμών στις φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Η αναλυτική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ModFit-LT. Παρατηρήσαμε ότι επώαση των καρκινικών κυττάρων και των λευκοκυτταρικών υποπληθυσμών ακόμα και με ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις προΤα ή προΤα(100-109) δεν προκάλεσε στάση σε συγκεκριμένη φάση του κυτταρικού κύκλου. Επίσης, δε φάνηκε να επηρεάζει την κατανομή των κυττάρων στις φάσεις του κύκλου, με το μεγαλύτερο ποσοστό τόσο των καρκινικών όσο και των λευκοκυττάρων να παραμένει στην G1. Αντίθετα, σε μονοπύρηνια που καλλιιεργήθηκαν με υψηλές συγκεντρώσεις IL-2, τα μεγαλύτερα ποσοστά κυττάρων καταγράφηκαν στις φάσεις S και G2/M, υποδηλώνοντας επαγωγή του πολλαπλασιασμού τους από την κυτταροκίνη. Συμπερασματικά, η προΤα και το δεκαπεπίδιό της προΤα(100-109) δεν ασκούν κυτταροστατική δράση σε καρκινικά κύτταρα και λευκοκύτταρα *in vitro*. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η εξωγενής χορήγηση των δύο πεπτιδίων δεν επάγει άμεσα τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, επιβεβαιώνοντας την ικανότητά τους να δρουν ανοσοενισχυτικά. Υποστηρίζουν, επίσης, την ασφαλή μελλοντική χρήση τους σε κλινικές δοκιμές ανοσοθεραπείας του καρκίνου. Χρηματοδότηση: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

CELL CYCLE PROFILING OF LEUKOCYTE SUBPOPULATIONS AND CANCER CELL LINES UPON STIMULATION WITH THYMIC PEPTIDES

Vitsos Panagiotis¹, Papaioannou Nikos¹, Samara Pinelopi¹, Tsitsilonis Ourania¹, Voutsas Ioannis²

1/Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, 2/Cancer Immunology and Immunotherapy Center, "Saint Savas" Anticancer Hospital, Athens

The polypeptide prothymosin α (proT α) has a dual role: intracellularly, it regulates the cell cycle, whereas extracellularly it exhibits immunomodulatory functions, mainly through its C-terminal decapeptide proT α (100-109). Our aim was to study whether exogenously administered proT α or proT α (100-109) affect the cell cycle of human normal and cancer cells. Cancer cells of the lines HCT-116, SKBR3, FM3, THP1, HL-60 and K562, mononuclear cells and neutrophils isolated from the peripheral blood of healthy donors, were incubated with various concentrations of proT α (50-200 ng/mL) or proT α (100-109) (25-400 ng/mL) for 1-72 hours. Monocytes cultured with high concentrations (500-1000 IU/mL) of interleukin (IL)-2 were used as a positive control. Cells were labeled with the fluorescent dye Vybrant-DyeCycle, which penetrates cell membranes and selectively binds to DNA, and were analyzed using flow cytometry. The distribution of populations in cell cycle phases was recorded. Detailed analysis of the data was performed with the program ModFit-LT. We observed that incubation of cancer cells and leukocyte subpopulations, even with high concentrations of proT α or proT α (100-109), did not induce cell cycle arrest in any of its phases. Additionally, it did not affect the distribution of cells in the cell cycle phases, since most leukocytes and cancer cells remained at G1 phase. On the contrary, the majority of mononuclear cells cultured with high concentrations of IL-2 were recorded in S and G2/M phases, indicating that the cytokine induced their proliferation. Conclusively, proT α and its decapeptide proT α (100-109) do not exert a cytostatic effect on cancer cells and leukocytes in vitro. Our results suggest that exogenous administration of both peptides does not directly induce cell proliferation, confirming their ability to act as adjuvants. They also support their safe future use in clinical trials of cancer immunotherapy. Funding: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ NR3C1 ΚΑΙ UBE3A ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΕΣ ΝΕΥΡΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ

**Βλάικου Αγγελική-Μαρία^{1,2}, Ξαγαρά Αναστασία^{2,3}, Δαρσινού Μαρούσα^{2,3}, Κωνσταντή
Μαρία⁴, Σύρρου Μαρία¹, Μιχαηλίδης Θεολόγος^{2,3}**

*1/Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110,
Ιωάννινα - 2/Τμήμα Βιοϊατρικών Ερευνών, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας &
Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, 45110, Ιωάννινα - 3/Τμήμα
Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα - 4/
Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα*

Η μητρική αποστέρηση (maternal-deprivation, MD) στην πρώιμη ηλικία αποτελεί σημαντικό στρεσογόνο παράγοντα, ο οποίος συνδέεται με μια ποικιλία νευροαναπτυξιακών διαταραχών στην ενήλικη ζωή. Μελέτες MD σε αρουραίους έδειξαν ότι αυτή η μορφή στρες μπορεί να οδηγήσει σε επιγενετικές μεταβολές. Ο άξονας «Υποθάλαμος-Υπόφυση-Επινεφρίδια» (HPA-axis) παίζει σημαντικό ρόλο στον συντονισμό της φυσιολογικής απόκρισης του οργανισμού στο στρες (fight-or-flight response). Αρνητικές εμπειρίες από τη μητρική συμπεριφορά στα πρώτα στάδια της ζωής επηρεάζουν σημαντικά την ανάπτυξη αυτού του άξονα, και κατά συνέπεια την αποτελεσματική προσαρμογή στο στρες. Κεντρικής σημασίας στη λειτουργία του HPA είναι η έκκριση γλυκοκορτικοειδών ορμονών από τα επινεφρίδια. Ο υποδοχέας GR (Glucocorticoid Receptor) κωδικοποιείται από το γονίδιο NR3C1 (nuclear-receptor-subfamily-3, group-C, member-1) που εδράζεται στο χρωμόσωμα 5 (5q31) και εκφράζεται με διάφορες ισομορφές. Η ισομορφή «GR-exon-17» εκφράζεται κυρίως στον εγκέφαλο, σε περιοχές που συνδέονται με την απόκριση στο στρες. Ένας βασικός ρυθμιστής της δράσης του GR είναι η πρωτεΐνη UBE3A που κωδικοποιείται από ένα «εντυπωμένο» γονίδιο, και στα νευρικά κύτταρα εκφράζεται μόνο το μητρικό αλληλόμορφο. Πρόσφατα δείχθηκε ότι διαταραχή της λειτουργίας του θα μπορούσε να οδηγήσει σε απορρύθμιση της λειτουργίας του GR και επομένως σε χρόνιο στρες. Σε νευρικά κύτταρα αρουραίων παρατηρήσαμε ότι το MD στρες επηρεάζει το πρότυπο μεθυλίωσης του υποκινητή του NR3C1. Στόχος μας είναι η εγκαθίδρυση ενός in vitro μοντέλου για τη μελέτη της επίδρασης στρεσογόνων παραγόντων στην έκφραση και λειτουργία του GR στα νευρικά κύτταρα. Χρησιμοποιούμε νευροβλαστωματικές σειρές οι οποίες έχουν την ιδιότητα να διαφοροποιούνται προς νευρικά κύτταρα. Διερευνήσαμε την απόκρισή τους σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις dexamethasone, ενός αγωνιστή του GR. Χαρακτηρίσαμε τις μεταβολές στη μορφολογία, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων και ξεκινήσαμε τον έλεγχο των προτύπων έκφρασης των γονιδίων NR3C1, NR3C2 και UBE3A σε διάφορες συνθήκες.

STUDY OF GLUCOCORTICOID IMPACT ON THE EXPRESSION AND EPIGENETIC REGULATION OF THE NR3C1 AND UBE3A GENES IN HUMAN NEUROBLASTOMA CELL LINES

**Vlaikou Angeliki-Maria^{1,2}, Xagara Anastasia^{2,3}, Darsinou Marousa^{2,3}, Konstandi Maria⁴,
Syrrou Maria¹, Michaelidis Theologos^{2,3}**

*1/Laboratory of General Biology, Medical School, University of Ioannina, 45110, Ioannina - 2/
Department of Biomedical Research, Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Foundation
for Research and Technology-Hellas (FORTH), 45110, Ioannina - 3/Department of Biological
Applications and Technology, University of Ioannina, 45110, Ioannina - 4/Laboratory of
Pharmacology, Medical School, University of Ioannina, 45110, Ioannina*

Maternal-deprivation (MD) in early life is an important stress factor that is linked with a variety of neurodevelopmental disorders in adulthood. MD studies in rats have shown that this form of stress can lead to epigenetic alterations. The HPA axis plays a crucial role in adjusting the organism's physiological response to stress (fight-or-flight response). Negative experiences of maternal behavior during early life, may strongly affect the development of the axis, and consequently, the effective adaptation to stress. The release of glucocorticoid hormones from the adrenal glands is of central importance for the HPA axis function. The glucocorticoid receptor (GR) is encoded by the NR3C1 (nuclear-receptor-subfamily-3, group-C, member-1) gene which is located on chromosome 5 (5q31) and produces different mRNA isoforms. The exon 17 isoform is expressed mainly in the brain, in regions that are associated with the stress response. A key regulator of GR function is the UBE3A protein, encoded by an imprinted gene, and only the maternal allele is expressed in neural cells. Recent evidence revealed that disruption of UBE3A function could directly affect GR activity, thereby leading to chronic stress. We have found that in rat neural cells MD stress influences the methylation pattern of the NR3C1 promoters. Our aim is to establish an in vitro model to study the effects of different stressful factors on GR expression and function in neural cells. We are using neuroblastoma cell lines which can be differentiated towards the neuronal fate. We have investigated their response to increasing concentrations of dexamethasone, a synthetic GR agonist. We are characterizing changes in morphology, proliferation and survival, and have started to monitor the expression profiles of the NR3C1, NR3C2 and UBE3A genes in various conditions.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΩΝ ADA2 ΣΤΟ ARABIDOPSIS ΚΑΙ ΤΗΝ DROSOPHILA

Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος Ε¹, Πούλιος Στυλιανός¹, Bodai Laszlo², Boros Imre²

*(1) Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα (2) Department of Biochemistry
and Molecular Biology, Faculty of Sciences, University of Szeged, Szeged, Hungary*

Τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα που δρουν ως ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (HAT) ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση καθώς η ακετυλίωση των αμινοτελικών άκρων των ιστονών προάγει και σε ορισμένες περιπτώσεις καταστέλλει τη μεταγραφή. Εκτός από την καταλυτική υπομονάδα, τα HAT-σύμπλοκα περιέχουν πρωτεΐνες που προσδιορίζουν την αλληλεπίδραση και εξειδίκευση των συμπλόκων. Οι μεταγραφικοί προσαρμοστές ADA2 (alteration/deficiency in activation 2) αποτελούν υπομονάδες διαφόρων συμπλόκων που περιέχουν την ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών GCN5. Οι πρωτεΐνες GCN5 και ADA2 είναι συντηρημένες στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και συμμετέχουν στο σχηματισμό διαφόρων HAT-συμπλόκων που συχνά περιέχουν τις ίδιες υπομονάδες ακόμη και σε πολύ διαφορετικούς οργανισμούς. Τα τελευταία χρόνια έχουν προσδιορισθεί οι πρωτεΐνες των μεταγραφικών προσαρμοστών ADA2a και ADA2b από το φυτό *Arabidopsis thaliana* και την *Drosophila melanogaster* αντίστοιχα. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι ομόλογες της ADA2 από τη ζύμη αλλά εξυπηρετούν διαφορετικές και μη-αλληλοκαλυπτόμενες λειτουργίες και στους δύο οργανισμούς. Παρουσιάζεται ο συγκριτικός χαρακτηρισμός της δομής και λειτουργίας των πρωτεϊνών ADA2a και ADA2b από το *Arabidopsis* και την *Drosophila* με στόχο την ανάδειξη κοινών μοριακών μηχανισμών που υιοθετήθηκαν για να ανταποκριθούν σε διαφορετικές ρυθμιστικές ανάγκες. Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τη ΓΓΕΤ στο πλαίσιο του κοινού ερευνητικού και τεχνολογικού προγράμματος μεταξύ Ελλάδας και Ουγγαρίας, 2009-2011, #84783.

COMPARATIVE STUDY OF THE STRUCTURE AND FUNCTION OF TRANSCRIPTIONAL ADAPTOR PROTEINS ADA2 IN ARABIDOPSIS AND DROSOPHILA

Vlachonasios Konstantinos E ¹, Poullos Stylianos ¹, Bodai Laszlo ², Boros Imre ²

*(1) Department of Botany, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of
Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece (2) Department of Biochemistry and Molecular Biology,
Faculty of Sciences, University of Szeged, Szeged, Hungary*

Protein complexes possessing histone acetyltransferase (HAT) activity are particularly important in transcriptional regulation as acetylation of the N-terminal tails of histone proteins is demonstrated to upregulate, and in some cases downregulate transcription. Beside the catalytic subunit the HAT complexes often contain several auxiliary proteins that define the interactions and specificity of the complex. The ADA2 (alteration/deficiency in activation 2) coactivator proteins are subunits of various GCN5 containing-HAT complexes. Both the ADA2 and GCN5 proteins are conserved in eukaryotes and participate in the formation of various HAT complexes with often similar subunit composition even in diverse organisms. During the last few years ADA2a and ADA2b adaptor proteins were identified in *Arabidopsis thaliana* and in *Drosophila melanogaster*. These proteins are homologues of the single yeast ADA2 protein but serve different, non-redundant functions in both organisms. Herein, we present the comparative characterization of the structure and function of *Arabidopsis* and *Drosophila* ADA2a and ADA2b proteins that can provide clues of the common molecular mechanisms adopted to serve diverse regulatory needs. This research was funded by GSRT in the context of the joint research and technological project between Greece and Hungary, 2009-2011, #84783.

ΕΠΟΧΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ *Pagrus pagrus* ΚΑΙ *Sparus aurata*

**Βλαχονικόλα Ελισάβετ¹, Ναθαναηλίδης Κοσμάς², Φειδάντσης Κωνσταντίνος¹, Πορλού
Δέσποινα¹, Μιχαηλίδης Βασίλειος¹**

*1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα, 2/
Τμήμα Τεχνολόγων Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα
Δυτικής Ελλάδας, 30200 Μεσολόγγι, Ελλάδα*

Τα λιπίδια αποτελούν κύριες πηγές ενέργειας για τις κυτταρικές λειτουργίες των ιχθύων και βρίσκονται αποθηκευμένα στο λιπώδη ιστό, στους μύες και στο ήπαρ. Η οξείδωση των λιπιδίων βρίσκεται κάτω από ορμονικό έλεγχο, ενώ εποχικές μεταβολές των περιβαλλοντικών συνθηκών και του κύκλου ζωής των ιχθύων φαίνεται να επηρεάζουν το ρυθμό οξείδωσής τους στους ιστούς δείχνοντας μια διαφορετική αναγκαιότητα για χρήση των λιπιδίων ως εναλλακτική πηγή ενέργειας. Η παρακολούθηση της εποχικής διακύμανσης των αποθεμάτων των λιπιδίων στους ιστούς και η διερεύνηση της ποσότητας της ενέργειας που διατίθεται από αυτά για μεταβολικό έργο, συμβάλλει στη διαλεύκανση των φυσιολογικών μηχανισμών που ρυθμίζουν τη διατήρηση του ενεργειακού ισοζυγίου. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε το εποχικό πρότυπο αλλαγών στα επίπεδα των λιπιδίων στο ήπαρ, στο λευκό και στον ερυθρό μυ των εκτρεφόμενων ιχθύων *Pagrus pagrus* (φαγκρί) και *Sparus aurata* (τσιπούρα). Η μέτρηση της περιεκτικότητας των λιπιδίων στους ιστούς και η αναγωγή τους σε ποσοστό βιολογικής ενέργειας, το οποίο διατίθεται για μεταβολικό έργο, έγινε σύμφωνα με γνωστές μεθόδους. Τα αποτελέσματα έδειξαν αφ' ενός ένα όμοιο εποχικό πρότυπο αλλαγών και αφ' ετέρου ιστοειδικότητα και στα δύο είδη που μελετήθηκαν. Συγκεκριμένα, οι τιμές του ενεργειακού περιεχομένου του ήπατος μειώθηκαν σταδιακά από το χειμώνα προς το καλοκαίρι, ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε στον ερυθρό μυ. Επιπροσθέτως, στο λευκό μυ παρατηρήθηκαν σχετικά υψηλά επίπεδα λιπιδίων ακόμα και μετά την έναρξη των χαμηλών θερμοκρασιών. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την ύπαρξη ενός πιθανού αντισταθμιστικού μηχανισμού στο ήπαρ με την ικανότητα δυναμικής ανακατανομής της ενέργειας προς τους μύες για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα λιπιδίων που καταγράφονται στο λευκό μυ στα δύο είδη υποδηλώνουν την ικανότητα του ιστού αυτού για αποθήκευση λιπιδίων και χρήση αυτών ως εναλλακτική πηγή ενέργειας.

SEASONAL CHANGES IN THE LIPID OXIDATION IN THE TISSUES OF FARMED FISH *Pagrus pagrus* AND *Sparus aurata*

**Vlachonikola Elisavet¹, Nathanailides Cosmas², Feidantsis Konstantinos¹, Porlou Despina¹,
Michaelidis Basile¹**

*1/Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Science,
Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece, 2/Department of Fisheries and
Aquaculture Technology, Technological Educational Institute of West Greece, 30200 Messolonghi,
Greece*

Lipids are the major energy source for the cellular functions of teleost fish and are stored in adipose tissue, muscles and liver. The lipid oxidation is under hormonal control while seasonal changes on environmental conditions and the stage of biological cycle of fish seem to affect in many ways the oxidation rate showing a different need to use these molecules as alternative energy sources. The monitoring of the seasonal fluctuation of lipid deposits in the tissues and the calculation of the energy amount which is allocated for metabolic functions, are needed to elucidate the physiological mechanism of the energy equilibrium maintenance. In this study we examined the seasonal changes of the lipid deposit pattern in the liver, white and red muscle in cultivated fish *Pagrus pagrus* and *Sparus aurata*. The measurement of total lipid content of the tissues and its expression as the biological energy which can be allocated to metabolic procedures were conducted according to common methods. The results showed a similar seasonal pattern of changes and also tissue specificity in both species. Specifically, the total energy content of the liver decreased gradually from winter to summer while the opposite pattern observed in red muscle. In addition, in the white muscle high energy levels were observed even in the beginning of the low temperature period. Thus, we can assume that liver disposes a compensatory mechanism with the ability of dynamic energy redistribution to the muscles, in order to supply the energy requirements. Moreover, the increased levels in white muscle may suggest the capacity of the particular tissue for lipid storage and their usage as alternative energy sources.

ΑΦΘΟΝΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΣΙΜΩΝ ΜΕΣΟΦΙΛΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΑΠΟ ΘΕΡΜΟΠΗΓΕΣ ΤΗΣ ΙΚΑΡΙΑΣ

Βουδαντά Ε, Κορμάς ΚΑ

*Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών
Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 38446 Βόλος*

Οι φυσικές γεωθερμικές πηγές είναι ευρέως διαδεδομένες στην επιφάνεια της γης. Τα συγκεκριμένα ενδιαειρήματα έχουν αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της μοναδικότητας των χαρακτηριστικών των θερμοφίλων οργανισμών και του όλο και αυξανόμενου αριθμού των νέων ειδών, τα οποία διαβιών στα συγκεκριμένα ενδιαειρήματα. Τα συγκεκριμένα βακτήρια είναι καλά προσαρμοσμένα στις ακραίες αυτές περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ παράλληλα αποτελούν χρήσιμο εργαλείο τόσο για το βιογεωχημικό κύκλο στα συγκεκριμένα ενδιαειρήματα όσο και για τη βιοτεχνολογία. Η χρήση των καλλιεργητικών και μοριακών τεχνικών έχει αποκαλύψει μια αξιοσημείωτη ποικιλομορφία όσον αφορά τα Bacteria και τα Archaea στις θερμές πηγές παγκοσμίως. Η ανάλυση της βακτηριακής ποικιλότητας αποκαλύπτει ένα μεγάλο μικροβιακό πλούτο. Η καταμέτρηση της αφθονίας των καλλιεργήσιμων μεσόφιλων βακτηρίων στις θερμές πηγές Σπήλαιο και Λευκάδα Ικαρίας μελετήθηκε στην παρούσα εργασία. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στην παράκτια περιοχή νότια ανατολικά της νήσου Ικαρίας στις θερμές πηγές Σπήλαιο Θερμών και Λευκάδα Θερμών. Δείγματα νερού συλλέχθηκαν ασηπτικά την περίοδο 2012 – 2013 στο σημείο ανάβλυσης (Σταθμός 1) και στο σημείο ανάμιξης με το θαλασσινό νερό (Σταθμός 2). Στο εργαστήριο χρησιμοποιήθηκε η καλλιεργητική τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης σε θρεπτικό μέσο TSA Agar στους 390C στο σκοτάδι, αφού πρώτα πραγματοποιήθηκε η διαδικασία των διαδοχικών αραιώσεων, μέχρις ότου παρατηρηθεί αύξηση αποικιών (μέγιστο 11 ημέρες). Η απαρίθμηση των αποικιών εκφράστηκε ως μονάδα σχηματιζόμενων αποικιών (cfu/ml), όλων των διακριτών τύπων αποικιών (μέγεθος, σχήμα, μορφολογία των αποικιών). Συνολικά, τα βακτήρια του Στ. 2 και στις δύο πηγές παρουσίασαν ταχύτερη αύξηση, λόγω της προσαρμογής τους στη θερμοκρασία επώασης, γεγονός που εκφράστηκε και με στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η παρούσα εργασία, έδειξε οι θερμοπηγές της Ικαρίας φιλοξενούν ένα σημαντικό αριθμό γηγενών ανώτερων-μεσόφιλων βακτηρίων που μπορούν να αυξηθούν μόνο σε συνθήκες παρόμοιες με αυτές των θερμοπηγών.

ABUNDANCE OF CULTURABLE MESOPHILIC MICROORGANISMS FROM IKARIA ISLAND THERMAL SPRINGS

Voudanta E., Kormas KA

*Department of Ichthyology and Aquatic Environment School of Agriculture Sciences, University of
Thessaly, 38446 Volos, Greece*

Natural geothermal springs are widespread on the Earth's surface. Among natural thermophilic environments, terrestrial hot springs are considered "windows" to the deep subsurface environment. These habitats have attracted broad scientific interest because of the unique thermophilic properties of the organisms thriving in these systems. These microorganisms, mostly Bacteria, are well adapted to these extreme environmental conditions, and they are the key players in biogeochemical cycling and also in several biotechnological applications. The use of culture-dependant and culture-independent methodologies has revealed a remarkable diversity of prokaryotes in the world's geothermal springs. In this study, the abundance of culturable mesophilic bacteria from the coastal thermal springs of Therma and Lefkada, Ikaria Island, Aegean Sea, were investigated. Water samples were aseptically collected in 2012-13 directly from the source (Station 1) and at the mixing point with the sea (Station 2) of each spring. These samples were inoculated on TSA agar plates after serial dilutions and incubated at 39°C in darkness until growth was observed (max 11 days). Counts were recorded as colony forming units (cfu/ml) for every distinct colony type based on size, shape and morphology. In total, bacterial growth was higher in St. 2 in both springs, also supported by statistically significant differences, possibly due to the adaptability of these microorganisms at the in situ temperature. This study showed that the two investigated thermal spring in Ikaria Island, harbor viable upper mesophilic bacteria which are able to grow only at the immediate proximity of the springs' source.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ HSP70 ΣΤΗΝ ΑΝΟΙΚΙΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΤΩΝ MCF-7 ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ Η ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΗΣ ΣΤΗΝ ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ, ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΩΝ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ DOXORUBICIN ΚΑΙ CISPLATIN

Βραζέλη Παρασκευή¹, Κασιούμη Παναγιώτα¹, Μπριασούλης Ευάγγελος², Αγγελίδης Χαράλαμπος¹

1/Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα 2/Εργαστήριο Μοριακής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα

Η Hsp70 αποτελεί βασικό μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών θερμικού σοκ (Heat Shock Proteins) και εμπλέκεται σε λειτουργίες που αφορούν τη διατήρηση της ποιότητας των μεγάλων βιομορίων (πρωτεΐνες και DNA). Μέσω των λειτουργιών αυτών συμμετέχει σε βασικά κυτταρικά μονοπάτια -όπως η βιωσιμότητα και η απόπτωση- και έχει ήδη αποδειχθεί η αντι-αποπτωτική της δράση. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε τη σταθερά διαμολυσμένη καρκινική κυτταρική σειρά MCF-7-siRNA-Hsp70 στην οποία η ενδογενής Hsp70 ήταν αποσιωπημένη (knockdown). Τα κύτταρα αυτά ήταν θερμοευαίσθητα, διέθεταν μεγάλη αποπτωτικότητα και η μεταναστευτικότητα (migration) τους ήταν αυξημένη συγκρινόμενη με αυτή των πατρικών MCF-7 κυττάρων. Μετά από τα παραπάνω δεδομένα εξετάσαμε περαιτέρω το εναρκτήριο στάδιο της «anoikis» απόπτωσης και της μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων, ελέγχοντας το πρώτο κοινό τους στάδιο, που είναι η αποκόλληση των κυττάρων από το υπόστρωμα. Αποδείχτηκε ότι η ενεργοποίηση της «anoikis» απόπτωσης με poly-HEMA έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της συσσώρευσης ενός ειδικού πληθυσμού φωσφορυλιωμένης p53 (πληθυσμού p53 που φωσφορυλιώνεται σε ser15). Ο πληθυσμός αυτός μειώνεται στα κύτταρα τα οποία εκφράζουν υψηλά επίπεδα Hsp70. Τα χημειοθεραπευτικά Doxorubicin και Cisplatin χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό να μελετηθεί η περαιτέρω επίδρασή τους στην ικανότητα των ίδιων κυττάρων για μεταναστευτικότητα απουσία ή παρουσία της Hsp70. Παρατηρήθηκε η ύπαρξη συνεργιστικού φαινομένου των χημειοθεραπευτικών με την Hsp70. Ανάγοντας τα αποτελέσματά μας σε επίπεδο ανθρώπου, θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι ο χειρισμός της Hsp70 ίσως να είναι χρήσιμος για την θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου. 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 II . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

THE ROLE OF HSP70 IN ANOIKIS APOPTOSIS OF MCF-7 CELLS AND ITS INVOLVEMENT IN MIGRATION, AFTER THE EFFECT OF CHEMOTHERAPEUTICS DOXORUBICIN AND CISPLATIN

Vrazeli Paraskevi¹, Kasioumi Panagiota¹, Briasoulis Evangelos², Angelidis Charalampos¹

1/Laboratory of General Biology, Medical School, University of Ioannina, 45 110 Ioannina, Greece

2/Molecular Oncology Lab, Medical School, University of Ioannina, 45 110 Ioannina, Greece

Hsp70 is an important member of Heat Shock Proteins and is involved in functions relating to the quality maintenance of large biomolecules (proteins and DNA). Through these functions, the Hsp70 participates in basic cellular pathways, such as the viability and apoptosis, and has already been accepted for its anti-apoptotic activity. Herein, we used the stable transfected cancer cell line MCF7-siRNA-Hsp70, in which endogenous Hsp70 has been silenced (knockdown). These cells were more thermosensitive, apoptotic and migrative comparing to MCF-7 cells. We next investigated the first common step between anoikis apoptosis and migration of cancer cells, in which cells are not allowed to attach to the substrate. We showed that anoikis apoptosis activation, by Poly-HEMA, results to an increased accumulation of specific p53(ser15) population. Cells that expressed high levels of Hsp70 showed reduced levels of phospho-p53(ser15). Additionally, we examined the cell migration effect by doxorubicin and cisplatin in MCF-7 and MCF7-siRNA-Hsp70 cells. It was proved a synergistic effect between chemotherapeutics and Hsp70. Overall, we can conclude that handling Hsp70 might play an important role in cancer treatment in vivo. 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.

ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΑ ΑΡΩΜΑΤΑ ΓΙΑ ΚΑΛΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΤΑ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΩΣ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΦΥΤΩΝ-ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ

Βώκου Δέσποινα

Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

Μοσχοβολάει το Μεσογειακό περιβάλλον. Εξαιτίας της έντονης παρουσίας αρωματικών φυτών. Σε μια ιστορική εποχή για την οικολογία στη χώρα, γύρω στα 1980, συναντήθηκα με τον Ν.Σ. Μάργαρη, στην πρωτοπορία τότε της έρευνας για τη ‘μεσογειακότητα’, σε παγκόσμιο επίπεδο. Με εισήγαγε σ’ αυτήν και μου εμπιστεύθηκε την αναζήτηση ρόλου για τις μυρωδιές της Μεσογείου. Τα αιθέρια έλαια είναι πολύ γνωστά για την αντιμικροβιακή τους δράση. Όμως, τα χαρακτηριστικά του Μεσογειακού περιβάλλοντος αποτελούν περιοριστικό παράγοντα για τους μικροοργανισμούς και την αποικοδόμηση. Έτσι, το πρώτο μεγάλο ερώτημα που έπρεπε να απαντηθεί ήταν γιατί να αφθονούν φυτά με αντιμικροβιακό χαρακτήρα εκεί όπου ήδη ασκείται, με πολλά συνεπακόλουθα προβλήματα, τέτοιος περιορισμός από φυσικούς παράγοντες. Οι εκπλήξεις των ‘καλών σχέσεων’ ακολούθησαν η μία την άλλη. Σειρά μελετών κατέδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια ενεργοποιούν τον εδαφικό μεταβολισμό, μετατοπίζουν την εδαφική μικροβιακή βιοκοινότητα προς όφελος ανθεκτικών μικροοργανισμών που μπορούν να τα χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα και ενέργειας και ότι η μετατόπιση αυτή είναι πλήρως αναστρέψιμη, όταν απομακρυνθούν. Ταχύτητα απόκρισης στα αιθέρια έλαια και ικανότητα αποδόμησής τους δεν εκφράζεται προνομιακά στο Μεσογειακό περιβάλλον αλλά αποτελεί ιδιότητα πολλών, αν όχι όλων, των χερσαίων συστημάτων. Η διερεύνηση πολλών επίφυτων μικροβιακών βιοκοινοτήτων έδειξε ότι στα αρωματικά φυτά δεν είναι λιγότερο άφθονες ή ποικίλες απ’ ότι σε άλλα είδη που συνυπάρχουν στα ίδια συστήματα. Επιπλέον, με εικόνες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο εντοπίστηκε έντονη βακτηριακή εποίκιση ακόμη και στην περιοχή των αδενωδών τριχωμάτων. Από τους γενότυπους που ανιχνεύθηκαν στη φυλλόσφαιρα των αρωματικών φυτών προέκυψε υψηλή συμμετοχή βακτηρίων του γαλακτικού οξέος. Συνεχίζουν να διερευνώνται οι συνθήκες κάτω από τις οποίες εκδηλώνεται θετική ή αρνητική επίδραση των αιθέριων ελαίων στους μικροοργανισμούς, όπως και νέες εφαρμογές τις οποίες μπορούν να υποστηρίξουν αυτά τα ευρήματα.

MEDITERRANEAN FRAGRANCES FOR GOOD RELATIONSHIPS ESSENTIAL OILS MEDIATING THE PLANT MICROBIAL COMMUNITY

Vokou Despoina

Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

The Mediterranean environment is fragrant. This is because aromatic plants are an important component of its vegetation. I met N.S. Margaritis at a very interesting time for ecology in the country, around 1980, when he was at the front of research on the ecosystems of the mediterranean-climate regions of the world. He entrusted me with the pursuit of a cause for the Mediterranean fragrance. Essential oils are renowned for their antimicrobial properties; it is also known that the Mediterranean environment limits the activity of decomposing microorganisms. The first question needing an answer was why should plants with antimicrobial capacities prevail in an environment, where microbes are already strongly limited. Surprises of 'good' relationships followed one after the other. With a series of publications, we showed that essential oils activate soil metabolism, shift the soil microbial community towards microbes tolerant to them and able to use them as a carbon and energy source, and that this situation is rapidly reversed if essential oils are removed. Responsiveness to essential oils and ability to use them as a resource are features not only of Mediterranean ecosystems but of many, if not all, terrestrial systems. Epiphytic microbial communities were also explored. It was found that those on aromatic plants are not less abundant or diverse than those on other plants of the same systems. Scanning electron microscopy photographs showed that even the area of glandular trichomes can be heavily colonized. Analysis of the genotype composition of the leaf bacterial community showed a pronounced participation of lactic acid bacteria. The conditions under which essential oils have promoting rather than inhibitory effects are under investigation and similarly are the potential applications of these new findings.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ HIF1-α ΚΑΙ NF-κΒ ΣΤΟΥΣ ΝΕΥΡΩΝΕΣ ΤΩΝ DRG ΕΠΙΜΥΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟ ΝΕΥΡΟΠΑΘΗΤΙΚΟ ΠΟΝΟ

Γαλάνης Χρήστος, Λαμπρακάκης Χαράλαμπος

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και
Τεχνολογιών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*

Ο νευροπαθητικός πόνος είναι μια χρόνια πάθηση με μεγάλο αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Εξαιτίας της πολύπλοκης φύσης του, είναι δύσκολο να αναπτυχθεί μια αποτελεσματική θεραπεία. Παρόλες τις προσπάθειες που έχουν γίνει για την κατανόηση της ασθένειας, οι ακριβείς μηχανισμοί που εμπλέκονται στη δημιουργία της νευροπάθειας δεν είναι πλήρως γνωστοί. Κύρια αιτία για την ανάπτυξη νευροπαθητικού πόνου είναι βλάβη των περιφερικών νεύρων. Βλάβη στα κύτταρα, προκαλεί την ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών, συμπεριλαμβανομένων παραγόντων κυτταρικού στρες και μεταγραφικών παραγόντων, που οδηγούν σε αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να προκαλούν την ευαισθητοποίηση των αισθητήριων νευρώνων η οποία οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία στον πόνο. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήσαμε ένα μοντέλο νευροπαθητικού πόνου σε επίμυες για να εξετάσουμε το χρονοδιάγραμμα της έκφρασης των Hypoxia Inducible Factor 1 alpha (HIF1-α) και Nuclear Factor kappa-B (NF-κB) στους νευρώνες των γαγγλίων της οπίσθιας ρίζας του νωτιαίου μυελού κατά την ανάπτυξη της νευροπάθειας. Τα αποτελέσματά μας είναι πιθανό να συμβάλουν στην αποκάλυψη των μηχανισμών που εμπλέκονται στη δημιουργία του νευροπαθητικού πόνου, καθώς και να συνεισφέρουν στην κατανόηση των χρόνιων νευροπαθειών

THE EXPRESSION OF HIF1- α AND NF- κ B IN DRG NEURONS DURING NEUROPATHIC PAIN

Galanis Christos, Labrakakis Charalampos

*Laboratory of Animal and Human Physiology, Dept. of Biological Applications and Technology,
Faculty of Health Sciences, University of Ioannina*

Neuropathic pain is a chronic pain disorder that has a serious impact on the quality of life. Because of its complex nature it is difficult to treat. Despite the efforts in understanding pain states, the exact mechanisms involved in the pathogenesis of neuropathic pain are not yet well understood. Damage or disease of peripheral nerves is a main cause for the development of neuropathic pain. Following the damage, cells respond by activating signaling cascades involving cell stress and transcription factors. The resulting changes in gene expression could underlie the sensitization of sensory neurons that leads to increased pain sensitivity. In this study we used a rat model of neuropathic pain to investigate the timeline of Hypoxia Inducible Factor-1 alpha (HIF1- α) and Nuclear Factor kappa-B (NF- κ B) expression in dorsal root ganglion neurons during the pathogenesis of neuropathic pain. Our results might contribute to our understanding of chronic pain syndromes.

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΗΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (REDOX SIGNALING): Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΣΙΔΗΡΟΥ

Γαλάρης Δημήτριος

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Τμήμα Ιατρικής*

Η αναγωγή του μοριακού οξυγόνου με τέσσερα ηλεκτρόνια σε νερό αποτελεί βασική παράμετρο για την εξέλιξη της ζωής στη σημερινή της μορφή. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από το τελευταίο ένζυμο της αναπνευστικής αλυσίδας των αερόβιων οργανισμών, την Κυτοχρωμική Οξειδάση. Η δημιουργία “ενδιάμεσων μορφών αναγωγής του οξυγόνου” (O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$) σε βιολογικά συστήματα, αν και αμφισβητήθηκε για μεγάλο χρονικό διάστημα, τελικά επιβεβαιώθηκε πειραματικά. Αρχικά, θεωρήθηκε ως αναγκαία παρενέργεια που - ως μη ρυθμιζόμενη διαδικασία - ήταν υπεύθυνη για την τοξική δράση του οξυγόνου (οξειδωτικό στρες) και ενοχοποιήθηκε για την πρόκληση πολλών και σοβαρών παθολογικών καταστάσεων, όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές και νευροεκφυλιστικές παθήσεις, αλλά και για τη φυσιολογική πορεία της γήρανσης. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, όμως, η θεώρηση αυτή ανατράπηκε και έγινε κατανοητό ότι η παραγωγή ‘ενδιάμεσων μορφών αναγωγής οξυγόνου’ στα κύτταρα αποτελεί μία αυστηρά ρυθμιζόμενη διαδικασία η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταγωγή του σήματος εντός των κυττάρων. Παρά τις έντονες προσπάθειες, όμως, οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί αυτής της διαδικασίας παραμένουν εν πολλοίς άγνωστοι. Στην εργασία αυτή, θα παρουσιασθούν νέα πειραματικά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η συγκέντρωση των οξειδο-αναγωγικά ενεργών ιόντων σιδήρου εντός των κυττάρων είναι αυτή που ρυθμίζει τα επίπεδα φωσφορυλίωσης και κατ’ επέκταση την ενεργοποίηση των βασικών MAP κινασών (JNK, p38 και ERK). Με βάση τα πειραματικά αυτά δεδομένα, προτείνεται για πρώτη φορά ότι τα διαθέσιμα ιόντα σιδήρου καθορίζουν και την τελική τύχη των κυττάρων σε συνθήκες οξειδωτικού στρες. Εάν δηλαδή θα προσαρμοστούν και θα επιβιώσουν ή θα ενεργοποιήσουν τη διαδικασία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.

REDOX SIGNALING: THE ROLE OF INTRACELLULAR ‘LABILE IRON’

Galaris Dimitrios

Laboratory of Biological Chemistry, University of Ioannina, School of Health Sciences, Department of Medicine

The reduction of molecular oxygen by four electrons to water represents a key process that enabled the evolution of life to its present form. This reaction is catalyzed in all aerobic organisms by the last enzyme of the respiratory chain, the ‘Cytochrome Oxidase’. This enzyme binds O₂ in its active site and releases the fully reduced product (H₂O). Although, the generation of ‘oxygen reduction intermediates’ (O₂·-, H₂O₂·OH) in biological systems remained a controversial issue for a long period of time, it was finally confirmed experimentally. Initially, it was considered as an unregulated side effect, responsible for oxygen toxicity (oxidative stress) and it was proposed to be implicated in many serious pathological conditions, such as cancer, cardiovascular and neurodegenerative diseases, but also for the normal aging process. Over the past two decades, however, this approach has been changed dramatically and it became clear that intracellular production of ‘oxygen reduction intermediates’ is a tightly regulated process that plays important roles in signal transduction. Especially, H₂O₂ represents a typical prototype of a second messenger. Despite intense efforts, however, the precise molecular mechanisms of this process remain largely unknown. In this lecture, new experimental data will be presented suggesting that the intracellular concentration of redox active iron (labile iron) determines the level of phosphorylation and consequently the activation of key MAP kinases (JNK, p38 and ERK). Based on these experimental data, it is proposed for the first time that the intracellular concentration of “labile iron” represents the main factor that determines the final fate of cells under conditions of oxidative stress. Namely, whether they will be adopted and survive or will trigger the process of programmed cell death (apoptosis). This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Research Funding Program ‘THALIS’.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ E167D ΚΑΙ T267I, ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ R202Q, ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΙΚΟΓΕΝΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΥΡΕΤΟ

**Γαλή Μαρία-Αλεξία¹, Παπαδοπούλου-Αλατάκη Ευθυμία², Τρακατέλλη Χριστίνα³,
Αλατάκη Αναστασία¹, Εμποριάδου Μαρία², Λαμπρόπουλος Αλέξανδρος¹**

*1/Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας Α' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής, Γενικό
Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη - 2/Δ' Παιδιατρική Κλινική Α.Π.Θ., Γενικό
Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη - 3/Γ' Παθολογική Κλινική Α.Π.Θ., Γενικό
Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη*

Ο Οικογενής Μεσογειακός Πυρετός (FMF) είναι μια συστημακή αυτοφλεγμονώδης διαταραχή που χαρακτηρίζεται από σποραδικά επεισόδια πυρετού και τοπικής φλεγμονής. Το υπεύθυνο γονίδιο για την εκδήλωση του FMF εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 16p, ονομάζεται MEFV και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 781 αμινοξέων ονομαζόμενη ως πυρίνη. Το νόσημα είναι ιδιαίτερα διαδεδομένο στη λεκάνη της Μεσογείου και μέχρι σήμερα επικρατεί διαμάχη σχετικά με το ρόλο του πολυμορφισμού R202Q που εντοπίζεται στο εξώνιο 2 του γονιδίου. Έχει προταθεί ότι ο πολυμορφισμός R202Q σε ομοζυγωτία μπορεί να σχετίζεται με την εμφάνιση του FMF, έστω και σε ορισμένους ασθενείς. Με την παρούσα μελέτη στοχεύουμε στη διερεύνηση της συσχέτισης αυτής. Αρχικά έγινε ταυτοποίηση των 12 συχνότερων μεταλλάξεων με την μέθοδο INNO LiPA. Στη συνέχεια, με την RFLP PCR, πραγματοποιήθηκε γονότυπηση των ασθενών για τον πολυμορφισμό R202Q και έλεγχος για την παρουσία των μεταλλάξεων E167D και T267I. Στην έρευνα συμπεριλήφθηκαν 122 υγιείς και 68 άτομα με μετάλλαξη, εκ των οποίων οι 42 ήταν ασθενείς και οι 26 ασυμπτωματικοί συγγενείς τους. Οι μεταλλάξεις που ανιχνεύθηκαν περιλαμβάνουν τις M694V (45.7%), M680I(G/C) (14.2%), A744S (11.4%), V726A (11.4%), K695R (8.6%), R761H (8.6%) και P369S (2,8%) ενώ δεν ανιχνεύθηκαν οι M680I(G/A), I692del, F479L, E167D και T267I. Η ομοζυγωτία για τον πολυμορφισμό R202Q βρέθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό στους ασθενείς απ' ότι στα υγιή άτομα ($p=0.002$; odds ratio=5.9 ; 95% CI=1.632, 21.33) ενώ η σύγκριση ασθενών και ασυμπτωματικών έδειξε $p=0.5617$, odds ratio=1.5333, 95% CI=0.3593-6.5444. Συμπερασματικά, φαίνεται πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της νόσου και του πολυμορφισμού R202Q αλλά απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός ασθενών και ασυμπτωματικών ατόμων προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα αναφορικά με τη διερεύνηση του ρόλου του πολυμορφισμού R202Q στην εμφάνιση του Οικογενούς Μεσογειακού Πυρετού.

IDENTIFICATION OF THE E167D KAI T267I MUTATIONS AND THE R202Q POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER

**Gali Maria-Alexia¹, Papadopoulou-Alataki Efi², Trakatelli Christina³, Alataki Anastasia¹,
Eboriadou Maria², Lambropoulos Alexandros¹**

1/Laboratory of Molecular Biology, First Department of Obstetrics and Gynecology, Papageorgiou General Regional Hospital, Thessaloniki - 2/Forth Department of Paediatrics AUTH, Papageorgiou General Regional Hospital, Thessaloniki - 3/Third Department of Pathology AUTH, Papageorgiou General Regional Hospital, Thessaloniki

Familial Mediterranean fever (FMF) is an autoinflammatory disease characterized by sporadic attacks of fever and localized inflammation. The FMF gene, MEFV, is located on chromosome 16p and encodes a 781 amino acid protein named pyrin. The disease is particularly prevalent in the Mediterranean region and controversy still exists regarding the role of the R202Q polymorphism, which is located in the exon 2 of the gene. It was demonstrated that homozygosity of R202Q polymorphism might be a disease-causing mutation, at least in some FMF patients. In this study we aim to find a potential association between the disease and the R202Q polymorphism. Firstly, the 12 most frequent mutations have been identified by INNO LiPA. Afterwards, genotyping for R202Q polymorphism was performed in patients and check for the presence of the mutations E167D and T267I. The research included 122 healthy individuals and 68 carriers of a mutation, 42 of whom are patients and 26 their asymptomatic relatives. The mutations detected were M694V (45.7%), M680I (G/C) (14.2%), A744S (11.4%), V726A (11.4%), K695R (8.6%), R761H (8.6%) and P369S (2,8%), while M680I(G/A), I692del, F479L, E167D and T267I were not. The homozygous genotype was significantly higher in FMF patients than healthy controls ($p=0.002$; odds ratio= 5.9; 95% CI=1.632 - 21.33) and the comparison of patients and their asymptomatic relatives showed $p = 0.5617$, odds ratio = 1.5333, 95% CI = 0.3593-6.5444. In conclusion, it appears that there is an association between the R202Q polymorphism and the disease but a larger number of patients and asymptomatic individuals is required in order to draw a firm conclusion regarding the role of the R202Q polymorphism and the Familial Mediterranean Fever.

ΠΡΩΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΑΤΡΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Cornu aspersum*

**Γαρεφαλάκη Μαρίνα Ελένη¹, Σωτηρόπουλος Αλέξανδρος Γεώργιος^{1,2}, Καραΐσκου
Νικολέττα², Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος², Στάικου Αλεξάνδρα¹**

*1/Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη - 2/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη*

Το είδος *Cornu aspersum* είναι ένα ταυτόχρονα ερμαφρόδιτο και υποχρεωτικά ετερογονιμοποιούμενο χερσαίο πνευμονοφόρο γαστερόποδο. Το σύστημα σύζευξης του περιλαμβάνει πολλαπλές συζεύξεις με τον ίδιο ή περισσότερους συντρόφους, κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου, πριν την απόθεση των αυγών, καθώς και δυνατότητα αποθήκευσης του σπέρματος που δέχονται. Αυτή η δυνατότητα οδηγεί σε διαφορετικές πιθανότητες πατρότητας του κάθε δότη σπέρματος, διαφοροποιώντας έτσι το γενετικό σύστημα σύζευξης. Επιπλέον, το γενετικό σύστημα σύζευξης αναμένεται να ποικίλει μεταξύ των πληθυσμών ως απόκριση στους περιβαλλοντικούς και δημογραφικούς παράγοντες που τους χαρακτηρίζουν. Ο στόχος της παρούσας έρευνας είναι να διερευνηθεί το γενετικό σύστημα σύζευξης δύο πληθυσμών, που ζουν σε περιοχές με μικροκλιματικές διαφορές, κυρίως όσον αφορά στη διάρκεια, την ένταση και την κατανομή των βροχοπτώσεων κατά την αναπαραγωγική περίοδο των σαλιγκαριών. Η μία περιοχή (Κρήτη) χαρακτηρίζεται από αστάθεια και ανομοιομορφία στην κατανομή των βροχοπτώσεων, ενώ η άλλη περιοχή (Κέρκυρα) από προβλεψιμότητα, συνέχεια και ομοιομορφία. Μέχρι στιγμής έχει γίνει γενετική ανάλυση δείγματος ώριμων ατόμων του ενός πληθυσμού (Κέρκυρα) και λήψη ωοαποθέσεων από άτομα που είχαν συζευχθεί ελεύθερα στο πεδίο. Οι ωοαποθέσεις μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο και στα νεοεκκολαφθέντα άτομα έγινε απομόνωση DNA. Στη συνέχεια, ενισχύθηκαν με PCR τέσσερις μικροδορυφορικοί τόποι. Η γενοτύπηση των δειγμάτων έγινε μετά από ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης σε μηχανήμα “LI-COR IR2 ANALYZER”, γνωρίζοντας κάθε φορά τη μητέρα. Επόμενος στόχος είναι η επεξεργασία των δεδομένων, με τη χρήση εξειδικευμένου λογισμικού (COLONY, GERUD 2.0) ώστε να αναλυθούν τα δεδομένα και να υπολογιστεί ο πιθανός αριθμός διαφορετικών πατέρων σε κάθε ωοαπόθεση και στη συνέχεια σε κάθε πληθυσμό, έτσι ώστε να γίνει εξαγωγή συμπεράσματος σχετικά με τις διαφοροποιήσεις του γενετικού συστήματος σύζευξης μεταξύ των δύο πληθυσμών.

FIRST RESULTS ON PATERNITY ANALYSIS OF LAND SNAIL (*Cornu aspersum*) POPULATIONS

**Garefalaki Marina Eleni¹, Sotiropoulos Alexandros Georgios^{1,2}, Karaiskou Nikoletta²,
Triantafyllidis Alexandros², Staikou Alexandra¹**

*1/Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124
Thessaloniki - 2/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki*

Cornu aspersum is a simultaneously hermaphroditic and obligatory outcrossing terrestrial gastropod. Its mating system includes multiple mating with one or more partners, during the reproductive period, before the egg-laying, as well as the ability of storage of any sperm received. This leads to different paternity probabilities of every sperm donor. Furthermore, the genetic mating system is expected to vary among populations in response to environmental and demographic factors. The purpose of this work is to investigate the genetic mating system of two populations, which live in regions with microclimatic differences, mainly concerning duration, intensity and distribution of precipitation during the reproductive period of the snails. One of the regions, Crete, displays instability and discontinuity in the distribution of precipitation, while the other one, Corfu, predictability and uniformity. Until now, genetic analysis has been performed on a sample of mature snails of the Corfu population. Furthermore, several ovipositions from individuals that had mated freely in the field were collected. The ovipositions were transferred to the laboratory and DNA was isolated from the newly hatched individuals. Subsequently, 4 microsatellite loci were amplified with PCR. The samples were genotyped via a polyacrylamide gel electrophoresis in the “LI-COR IR2 ANALYZER” device, knowing the mother. Our next goal is to work through the data with a specialized software (COLONY, GERUD 2.0), in order to analyze the dataset and calculate the most probable number of different fathers in every oviposition and then in every population, so that we could come to a conclusion in reference to the differentiation of the genetic mating system between the two populations.

Η ΕΙΣΟΔΟΣ Ca^{2+} ΜΕΣΩ ΤΩΝ L-ΤΥΠΟΥ ΤΑΣΕΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΩ ΚΑΝΑΛΙΩΝ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ CREB ΜΕΣΩ ΤΟΥ RAS/MAPK ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ.

**Γιαλελή Ανδριάννα, Χατζησταυράκη Μαρία, Παπαζαφείρη Παναγιώτα, Ευθυμιόπουλος
Σπύρος**

*Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84
Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια*

Η διαταραχή της ομοιόστασης του Ca^{2+} στους νευρώνες είναι ένας κρίσιμος παράγοντας στην παθοφυσιολογία της νόσου του Alzheimer (AD). Αλλαγές στην εξαρτώμενη από το Ca^{2+} σηματοδότηση επιταχύνει τον σχηματισμό των Αβ, ενώ τα Αβ πεπτιδία μπορούν να προκαλέσουν αλλαγές στην ομοιόσταση του Ca^{2+} . Η πύλη εισόδου του Ca^{2+} παίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό του μονοπατιού σηματοδότησης, που πρόκειται να ενεργοποιηθεί. Η εισροή Ca^{2+} μέσω των L-τύπου τασεο-εξαρτώμενων καναλιών (LTCC) είναι στενά συνδεδεμένη με την επαγωγή της γονιδιακής έκφρασης. Εκτός από την επίδραση των Αβ πεπτιδίων, έχει ακόμη δειχθεί ότι και η APP παίζει ρόλο στη δραστηριότητα των LTCC αυξάνοντας τα επίπεδα του Ca^{2+} . Η εισροή Ca^{2+} μέσω των LTCC προκαλεί φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα CREB μέσω του μονοπατιού Ras/MAPK και κατ' επέκταση επάγει την έκφραση των νευροπροστατευτικών γονιδίων και των γονιδίων επιβίωσης, όπως της Bcl-2 και του BDNF. Προκειμένου να μελετήσουμε την είσοδο Ca^{2+} μέσω LTCC και την εξαρτώμενη από αυτά φωσφορυλίωση του CREB και των ERKs χρησιμοποιήσαμε ένα σύστημα εμποτισμού σε φέτες φλοιού. Μελετήσαμε την εξάρτηση του ανοίγματος των LTCC από τη συγκέντρωση του KCl και το χρόνο της εκπόλωσης, ενώ η λειτουργία των LTCC διαπιστώνεται με τη χρήση της νιφεδιπίνης, ενός ειδικού αναστολέα των καναλιών. Βρήκαμε ότι η συγκέντρωση 45mM KCl προκαλεί τη μεγαλύτερη αύξηση στην φωσφορυλίωση του CREB σε σύγκριση με τις δύο άλλες συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν (25mM, 60mM). Επίσης, έχουμε βρει ότι στα 5 λεπτά εκπόλωσης παρατηρείται η μέγιστη αύξηση. Η ίδια χρονοεξάρτηση παρατηρείται και για την φωσφορυλίωση των ERKs. Μελλοντικός στόχος είναι η διερεύνηση του ρόλου της APP στη δραστηριότητα των LTCC. Έστι, θα εφαρμόσουμε την ίδια μεθοδολογία σε ποντίκια άγριου τύπου και APP^{-/-}. 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»

Ca²⁺ ENTRY THROUGH L-TYPE CALCIUM CHANNELS CAUSES THE ACTIVATION OF CREB THROUGH THE Ras/MAPK PATHWAY.

Gialeli Andriana, Chatzistavraki Maria, Papazafiri Panagiota, Efthimiopoulos Spiros
*Department of Biology, Division of Human and Animal Physiology, University of Athens,
Panepistimiopolis, Ilisia*

Neuronal Ca²⁺ dysregulation is one crucial factor in Alzheimer's disease (AD) pathophysiology. Changes in Ca²⁺ signaling pathways accelerate A β formation whereas A β peptides induce Ca²⁺ disruptions. The route of Ca²⁺ entering into a neuron plays an important role in defining which signaling pathway is going to be activated. Ca²⁺ influx through L-type voltage-gated Ca²⁺ channels (LTCC) is tightly linked to gene expression. Apart from the effect of A β peptides to Ca²⁺ homeostasis, it has also been shown that APP plays a role in the function of LTCC by increasing Ca²⁺ oscillations. Ca²⁺ influx through LTCC activates pathways which phosphorylate the transcription factor CREB [5], leads to phosphorylation and activation of the transcription factor CREB through the Ras/MAPK pathway and as a consequence to expression of pro-survival and neuroprotective genes such as Bcl-2 and BDNF. To study the role of Ca²⁺ entry through LTCC we used a system of perfusion of cortical slices and investigated the LTCC-dependent phosphorylation of ERKs and CREB. We studied the concentration-dependence and time-dependence of the opening of LTCC, the function of which is declared by the use of nifedipine, a specific LTCC inhibitor. We have found that 45 mM of KCl causes an increase in CREB phosphorylation compared to the two other concentrations tested (25 mM and 60 mM). Also, we have found that 5min of depolarization is the timepoint of maximum increase. The same time-dependence is found for the phosphorylation of ERKs. Our further directions are to investigate the role of APP in LTCC activity. To conduct this, we will apply this methodology in wt mice and APP^{-/-} mice. 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

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΙΟΝΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ ΤΡΙΤΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΚΑΙ ΤΗ
ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ *Chlamydomonas
reinhardtii***

Γιαννάκη Μ., Παπαδοπούλου Ε., Παπαδοπούλου Α., Σταμάτης Χ., Καταπόδης Π.

*Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*

Τα ιοντικά υγρά είναι νέα μη συμβατικά μέσα που παρουσιάζουν μεγάλη απήχηση στις μέρες μας. Πρόσφατα αναπτύχθηκε μια τρίτη γενιά ιοντικών υγρών με δομές που περιλαμβάνουν βιοαποδομήσιμα και ευρέως διαθέσιμα ιόντα, όπως φυσικές βάσεις, αμινοξέα, σάκχαρα και καρβοξυλικά οξέα. Αυτοί οι διαλύτες θεωρούνται φιλικοί προς το περιβάλλον, εξαιτίας των συστατικών τους, αλλά και λόγω του ότι χαρακτηρίζονται από αμελητέα τάση ατμών. Παρόλα αυτά η διαλυτότητα που παρουσιάζουν στο νερό σε συνδυασμό την τοξικότητα που εμφανίζουν τα ιοντικά υγρά πρώτης και δεύτερης γενιάς σε υδρόβιους οργανισμούς, καθιστούν αναγκαία τη μελέτη τοξικότητάς τους. Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η τοξικότητα νέων ιοντικών υγρών [2-hydroxy ethylammonium formate (2-HEAF), 2-hydroxy-N-methylethanaminium formate (ADME210), 2-hydroxy-N,N-dimethylethanaminium formate (ADME211) και bis(2-hydroxyethyl)ammonium formate (ADME212)] με χρήση του μικροφύκου *Chlamydomonas reinhardtii*. Η μελέτη βασίστηκε στην εκτίμηση των επιπτώσεων των ιοντικών υγρών στην αύξηση και τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα του μικροφύκου υπό αυτοτροφικές και φωτοετεροτροφικές συνθήκες. Τα ιοντικά υγρά που μελετήθηκαν εμφανίζουν σημαντικά μειωμένη τοξικότητα, σε σχέση με τα ιοντικά υγρά δεύτερης γενιάς, κατά την αυτοτροφική αύξηση του μικροφύκου *Chlamydomonas reinhardtii* ενώ το ADME212 δεν εμφανίζει τοξικότητα σε συγκέντρωση έως και 25 mM.

EFFECT OF THIRD GENERATION IONIC LIQUIDS IN GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF MICROALGA *Chlamydomonas reinhardtii*

Giannaki M., Papadopoulou E., Papadopoulou A., Stamatis X., Katapodis P.

Biotechnology laboratory Department of Biological Applications & Technologies University of Ioannina

Ionic liquids are new non-conventional media which have become very popular nowadays. Recently, a 3rd generation of ionic liquids is emerging with structures comprising from biodegradable and readily available with lower toxicity ions such as natural bases, amino acids, sugars and naturally occurring carboxylic acids. These solvents are considered to be environmental friendly not only due to their structure, but also due to their negligible vapor pressure. Nonetheless, the solubility of ionic liquids in water together with data from the literature dealing with 1st and 2nd generation ionic liquids toxicity to aquatic organisms renders necessary the conduction of toxicity assays. In this study, we evaluated the toxicity of four new ionic liquids [2-hydroxy ethylammonium formate (2-HEAF), 2-hydroxy-N-methylethanaminium formate (ADME210), 2-hydroxy-N,N-dimethylethanaminium formate (ADME211) and bis(2-hydroxyethyl)ammonium formate (ADME212)] by using the microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. The study was based on the observation of ionic liquids effects on the growth and the photosynthetic activity of microalgae, in autotrophic and photoheterotrophic conditions. During autotrophic growth of microalga *Chlamydomonas reinhardtii* the third generation ionic liquids exhibited significantly reduced toxicity compared to the second generation ionic liquids, while ADME212 shows no toxicity at concentrations up to 25 mM.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*S. aurata*) ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΟΥ DNA

Γκαγκαβούζης Κωνσταντίνος¹, Καραΐσκου Νικολέτα¹, Κατωπόδη Θεοδώρα², Λεονάρδος Ιωάννης³, Αμπατζόπουλος Θεόδωρος¹, Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος¹

1/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Πανεπιστημιούπολη, 54124, Θεσσαλονίκη - 2/Τομέας Βιολογικών Επιστημών και Προληπτικής Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής, Α.Π.Θ., Πανεπιστημιούπολη, 54124, Θεσσαλονίκη - 3/Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη, 45110, Ιωάννινα

Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί μεγάλη βαρύτητα, παγκοσμίως, στη μελέτη της αλληλεπίδρασης φυσικών και καλλιεργούμενων ψαριών. Μεγάλοι αριθμοί ατόμων διαφεύγουν από τις ιχθυοκαλλιέργειες με άγνωστες συνέπειες στα φυσικά ιχθυοαποθέματα. Τα ιχθύδια που διαφεύγουν αντιπροσωπεύουν διαφορετικούς πληθυσμούς, ίσως με διαφορετική γενετική σύσταση από τους φυσικούς πληθυσμούς τους οποίους δύναται να επηρεάσουν λόγω ανταγωνισμού και γενετικής διείσδυσης. Η τσιπούρα αποτελεί βασικό στόχο αλίευσης και αντικείμενο εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας στις ελληνικές θάλασσες. Δεδομένης της εμπορικής σημασίας του είδους, καθίσταται επιτακτικό να διερευνηθεί η γενετική αλληλεπίδραση των διαφορετικών ιχθυοπληθυσμών τσιπούρας και να εκτιμηθούν, κατά το δυνατόν, οι συνέπειες αυτής της αλληλεπίδρασης. Οι υδατοκαλλιεργητές χρησιμοποιούν μεταξύ άλλων και “άγριους” γεννήτορες για να βελτιώσουν την απόδοση των μονάδων τους. Συνεπώς, για να εκτιμηθεί η αλληλεπίδραση φυσικών και καλλιεργούμενων πληθυσμών πρέπει πρώτα να εκτιμηθεί η γενετική κατάσταση των φυσικών πληθυσμών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν 13 φυσικοί πληθυσμοί τσιπούρας από όλο το μήκος κατανομής του είδους στην Ελλάδα. Αναλύθηκαν 20 μικροδορυφορικοί τόποι DNA σε συνολικό αριθμό 672 δειγμάτων (~50 δείγματα/πληθυσμό). Τα αποτελέσματα από την ανάλυση για τη γενετική δομή των πληθυσμών δείχνουν απουσία γενετικής διαφοροποίησης ανάμεσα στους πληθυσμούς, ενώ δεν υπάρχουν ενδείξεις για πρόσφατο φαινόμενο στενωπού. Τα στοιχεία αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με την περιορισμένη σχετική βιβλιογραφία. Περαιτέρω μελέτη και εμβάθυνση με νέες τεχνικές ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος με χιλιάδες SNPs θα επιβεβαιώσει την πανμικτική σχέση των φυσικών ελληνικών πληθυσμών τσιπούρας ή θα βεβαιώσει την αδυναμία των υπαρχόντων γενετικών δεικτών στη γενετική διάκριση των επιμέρους πληθυσμών. Η εργασία χρηματοδοτήθηκε μερικώς από τα προγράμματα Ηράκλειτος και Aquatrace (EE). Ο κ. Γκαγκαβούζης Κ. είναι υπότροφος του Ιδρύματος Ωνάση.

GENETIC ANALYSIS OF WILD GREEK POPULATIONS OF GILTHEAD SEA BREAM (*S. aurata*) USING MICROSATELLITE DNA

**Gkagkavouzis Konstantinos¹, Karaïskou Nikoleta¹, Katopodi Theodora², Leonardos Ioannis³,
Abatzopoulos Theodoros¹, Triantafyllidis Alexandros¹**

*1/Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, AUTH,
University Campus, 54124, Thessaloniki - 2/Department of Biological Sciences and Preventive
Medicine, School of Medicine, AUTH, University Campus, 54124, Thessaloniki - 3/Department of
Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, University Campus, 45110,
Ioannina*

The study of the interaction between wild and farmed fish is of increasing importance in the worldwide research. Great numbers of fish escape from fish farms with unknown effects on the natural stocks. Escapees may exhibit different genetic composition compared with natural populations whom they could influence through competition and genetic introgression. Gilthead sea bream is a key target for fisheries and subject of intensive farming in Greek seas. Based on the high commercial value of the species in Greece, it is crucial to investigate the genetic interaction of different gilthead sea bream populations and estimate the potential consequences of this interaction. Aquaculture companies may use wild individuals to improve the productivity of their broodstock. Therefore, in order to assess the interaction of wild and cultured populations, we must first assess the genetic make-up of the wild populations. In the present study 13 wild populations, from across the species' expansion range in Greece, have been analysed. 20 microsatellite DNA loci were assessed in a total number of 672 samples (~50 samples/population). No significant genetic differentiation among populations was detected based on Structure analysis, while there is no evidence for a recent bottleneck effect. The data is in agreement with the limited relevant literature. A more targeted study using techniques which are based on whole genome analysis with thousands of SNPs may confirm the panmictic relationship of the Greek populations or will reveal the low effectiveness of the existing genetic markers for genetic discrimination of individual populations. This study was partially financed by Heraclitus and Aquatrace (EU) programs. Mr Gkagkavouzis K. is a scholar of Onassis foundation.

Η ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΡΕΤΡΟΪΩΝ (HERV)-K10 ΕΠΑΓΕΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΣΕ ΚΑΚΟΗΘΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΓΛΟΙΩΜΑΤΟΣ

**Γκάρτζιου Φωτεινή, Θρασυβούλου Σωτηρούλα, Μαρκούλα Σοφία, Γεωργίου Ιωάννης,
Βαρθολομάτος Γεώργιος, Κυρίτσης Αθανάσιος, Τζαβάρας Θεόδωρος**

*1. Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα
2. Τμήμα Νευρολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα, 3.
Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα,
Ελλάδα, 4. Αιματολογικό Εργαστήριο, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας, Πανεπιστημιακό
Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ Οι ανθρωπίνοι ενδογενείς ρετροϊοί θεωρούνται LTR-ρετροτρανσποζόνια ικανά να εισάγουν νέα τους αντίγραφα μέσω ενός μηχανισμού « αντιγραφής & ενσωμάτωσης». Αποτελούν το ~8% του ανθρωπίνου γενώματος και δύνανται να επηρεάσουν την χρωμοσωμική ακεραιότητα όπως και την γονιδιακή έκφραση μετά την ρετρομετάθεσή των. Το γλοιώμα, προερχόμενο από αστροκύτταρα ή αστρογλοιακά προγονικά κύτταρα, είναι ο πιο κοινός και επιθετικός ανθρωπίνος τύπος καρκίνου, αποτελώντας το 60% όλων των περιπτώσεων πρωτογενών εγκεφαλικών όγκων. Χαρακτηρίζεται από πολύ φτωχή πρόγνωση και οι τρέχουσες θεραπείες όπως η χειρουργική επέμβαση, η χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία, σπάνια επιμηκύνουν τον χρόνο ζωής του ασθενούς για περισσότερο του ενός έτους. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην θεραπεία διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων με κατάλληλους παράγοντες, των οποίων ο μηχανισμός δράσης δεν είναι απόλυτα κατανοητός. Στη παρούσα μελέτη, αρχικά αποδείξαμε ότι η διαμόλυνση ενός σημασμένου EGFP-HERV-K10 στοιχείου στα ανθρωπίνα γλοιωματικά κύτταρα U373-MG και U87-MG, παρήγαγε γεγονότα ρετρομετάθεσης που στοιχειοθετήθηκαν με FACS και επιβεβαιώθηκαν με μικροσκοπία UV σε μαζικούς και μονήρεις κλώνους. Η μορφολογική εξέταση των θετικών ρετρομετάθεσης κυττάρων αποκάλυψε την επαγωγή κυτταρικής διαφοροποίησης προς αστροκύτταρα και νευρώνες. Τα εν λόγω κύτταρα απώλεσαν την τυπική επίπεδη, πολυγωνική μορφολογία τους και απέκτησαν μικρότερο κυτταρικό σώμα με μακρές και λεπτές απολήξεις. Σε μοριακό επίπεδο, μέσω ανοσο-αποτύπωσης κατά Western και ανοσοφθορισμού, ευρέθη μια σημαντική αύξηση στα επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών GFAP και β3-Τουμπουλίνης που αποτελούν δείκτες διαφοροποίησης των αστροκυττάρων και νευρώνων, αντίστοιχα. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν ότι τα στοιχεία HERV-K10: α. έχουν το δυναμικό ρετρομετάθεσης, και β. το αποτέλεσμα της ρετρομετάθεσής των συσχετίζεται με επαγωγή διαφοροποίησης των κυττάρων γλοιώματος προς αστροκύτταρα και νευρώνες, γεγονός που θα μπορούσε να καταστήσει τα κακοήθη κύτταρα πιο ευαίσθητα στη θεραπεία.

RETROTRANSPOSITION OF HUMAN ENDOGENOUS RETROVIRUSES (HERV)-K10 INDUCES DIFFERENTIATION IN HUMAN MALIGNANT GLIOMA CELLS

**Gkartziou Foteini, Thrasyvoulou Soteroula, Markoula Sofia, Georgiou Ioannis,
Vartholomatos Georgios, Kyritsis Athanasios, Tzavaras Theodoros**

*1. Laboratory of General Biology, University of Ioannina, 45 110 Ioannina, Greece, 2. Department
of Neurology, University Hospital of Ioannina, Ioannina, Greece, 3. Laboratory of Medical
Genetics, University Hospital of Ioannina, Ioannina, Greece, 4. Hematology Laboratory, Unit of
Molecular Biology, University Hospital of Ioannina, Ioannina, Greece*

ABSTRACT HERVs are considered as LTR-retrotransposons able to produce extra copies in the genome using a ‘copy and paste’ mechanism. They comprise ~8% of the human genome and may influence chromosome integrity as well as gene expression upon their retrotransposition. Glioma, derived from astrocytes or astroglial precursors, is the most common malignant cancer, accounting for >60% of primary brain tumors. Current therapy with surgery, radiation and chemotherapy, rarely cures the disease and infrequently prolongs life for >1 year. Differentiation therapy, using agents that modify cancer cell differentiation, has shown promise in the spectrum of agents used against tumors. However, the mechanism of their action is still not fully understood. In this study, we investigated whether HERV-K10 retrotransposition occurs in two human glioma cell lines. Transfection of an EGFP-tagged HERV-K10 element into U373-MG and U87-MG cells elicited a high frequency of retrotransposition events measured by FACS, in massive and single clones isolated, and further confirmed by UV microscopy. Morphological examination revealed that retrotransposition-positive cells were phenotypically changed from flat polygonal to spindle shape with processes. Differentiated cells were similar to those of mature astrocytes and neurons characterized by small round cell bodies, and much longer, fine, tapering processes. Additionally, we showed molecular evidence of cell differentiation by Western-blotting and immunofluorescence analysis. This analysis confirmed a significant up-regulation of GFAP and 3 β -Tubulin protein expression, two well-established markers of mature astrocytes and neurons, respectively, in retrotransposition-positive clones compared with controls. These findings show that: a. HERV-K10 elements have the potential to retrotranspose, and b. the outcome of HERV-K10 retrotransposition is associated to induction of differentiation of glioma cells into astrocytes and neurons, being more susceptible to disease treatment.

IN VITRO ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΕΟΣΥΝΤΙΘΕΝΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ ΣΕ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ

Γκιούλη Μαρία¹, Δήμα Ίριδα¹, Γιαννακοπούλου Μαρία¹, Τσαλίκη Ελένη¹, Ρουμπάτης
Λεωνίδας¹, Βελτιστάς Παναγιώτης², Καρκαμπούνας Σπυρίδων¹

1.Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα

2.Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10,
Ιωάννινα

Η παρούσα εργασία περιλαμβάνει τη μελέτη της κυτταροτοξικής δράσης με τη μέθοδο του MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) πέντε συμπλόκων του βαναδίου με μοριακούς τύπους: $[(pyH)_6(V10O28) \cdot 2H_2O]$ (1), $(LH)_4\{V10O26(OH)_2\} \cdot 2L \cdot 2H_2O$ (2), $\{(L'H_2)(V03)_2\}_n$ (3), $(L'H_2)_3[VIV_9VV_6O36] \cdot 14H_2O$ (4) και $\{[VIV_{11}VV_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot 14H_2O\}_n$ (5). Μελετήθηκε η κυτταροτοξικότητα των συμπλόκων αυτών στις ακόλουθες κυτταρικές σειρές: λειομυοσαρκωματικά κύτταρα επίμυος Wistar (LMS), κύτταρα αδenoκαρκινώματος μαστού ανθρώπου (MCF-7), κύτταρα αδenoκαρκινώματος τραχήλου μήτρας ανθρώπου (HeLa), κύτταρα ηπατοκυτταρικού καρκίνου ανθρώπου (HepG2) και σε φυσιολογικές ινοβλάστες (MRC-5). Αναφορικά με τον τρόπο θανάτου (απόπτωση ή νέκρωση) των καρκινικών κυττάρων πραγματοποιήθηκε έλεγχος μέσω κυτταρομετρίας ροής. Τέλος, όλα τα σύμπλοκα ελέγχθηκαν ως προς τη δράση τους στην μεταβολική ικανότητα των κυττάρων μέσω της μελέτης της αντίδρασης οξειδωσης-αναγωγής που πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια των ζωντανών κυττάρων. Το σύμπλοκο 4 παρουσίασε την καλύτερη κυτταροτοξική δράση και στις τέσσερις καρκινικές κυτταρικές σειρές, ενώ παράλληλα εμφάνισε μειωμένη δράση στην φυσιολογική κυτταρική σειρά. Όλα τα σύμπλοκα βρέθηκε ότι προκαλούν αποπτωτικό θάνατο στα λειομυοσαρκωματικά κύτταρα (LMS) στις IC50 συγκεντρώσεις και επιφέρουν μη αναστρέψιμες βλάβες στα μιτοχόνδρια όλων των κυτταρικών σειρών. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής είναι ενθαρρυντικά για την χρήση τους ως πιθανούς κυτταροτοξικούς παράγοντες και για τη δημιουργία νέων συμπλόκων βαναδίου με αντικαρκινική δράση.

STUDY OF THE IN VITRO CYTOTOXICITY OF NEW VANADIUM COMPLEXES TO CANCER CELL LINES.

**Gkiouli Maria¹, Dhima Irida¹, Giannakopoulou Maria¹, Tsaliki Eleni¹, Roubatis Leonidas¹,
Veltsistas Panagiotis², Karkabounas Spyridon¹**

*1. Laboratoty of Physiology, Faculty of Medicine, University of Ioannina, 45110 Ioannina. 2.
Laboratory of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Ioannina, 45110 Ioannina.*

This work includes the study of cytotoxic activity of 5 novel vanadium complexes using the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. The molecular types of these complexes are: [(pyH)₆(V10O₂₈)•2H₂O] (1), (LH)₄{V10O₂₆(OH)₂}•2L•2H₂O] (2), {(L'H₂)(V03)₂}_n (3), (L''H₂)₃[VIV₉VV₆O₃₆]•14H₂O (4) και {[VIV₁₁VV₇ Na₁₀O₄₄(N₃)(H₂O)₃₂]•14H₂O}_n (5). Cell growth inhibition of the above complexes was analyzed using the MTT assay in the cell lines of leiomyosarcoma from Wistar rat (LMS), human breast cancer adenocarcinoma (MCF-7), human cervical cancer (HeLa), human hepatocellular adenocarcinoma and in normal human fibroblasts (MRC-5). For the determination of apoptosis the method of the flow cytometry (FACS) was used. Finally, the activity of all complexes to the metabolic capacity of cells through the measurement of oxidation-reduction reactions which principally occur in the mitochondria of live cells was analyzed. The biological evaluation showed that, among all complexes, complex 4 has the highest cytotoxic activity against LMS, MCF-7, HeLa and HepG2 cells and did not presented cytotoxicity on MRC-5 cells. Moreover, flow cytometry analysis revealed that all complexes cause apoptosis to LMS cells, at a dose-dependent manner and cause irreversible damage to the mitochondria of all cell lines. In conclusion, the experimental results are encouraging for the use of the above complexes as potent cytotoxic agents and for the development of new vanadium complexes with anticancer activity.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΕΛΤΙΣΤΟΥ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΤΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ Β-ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑΣ ΒΑΣΕΙ ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

**Γκουντής Αντώνιος-Μάριος^{1,2}, Ψαθά Νικολέττα^{1,2}, Ράντογλου Ειρήνη^{1,2}, Σιαμέτης
Αθανάσιος^{1,2}, Αναγνωστόπουλος Αχιλλέας¹, Γιάγκου Μηνάς², Γιαννάκη Ευαγγελία¹**

*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 συνιστά μία ρηξικέλευθη, ωστόσο υλοποιήσιμη πλέον θεραπευτική προσέγγιση της β-θαλασσαιμίας με όλο και περισσότερες μελέτες να υποδεικνύουν το κινητοποιημένο περιφερικό αίμα ως βέλτιστο μόσχευμα. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ταυτοποίηση της βέλτιστης στρατηγικής κινητοποίησης που θα αποδώσει υψηλό αριθμό αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων τα οποία θα χαρακτηρίζονται από υπερέχοντα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά που επενεργούν θετικά στην εγκατάσταση και εμφύτευσή τους μετά από μεταμόσχευση. Στο περιφερικό αίμα θαλασσαιμικών ζώων (Hbbth-3) μετρήθηκε με κυτταρομετρία ροής ο απόλυτος αριθμός αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (Lineage-/sca-1+/c-kit+, LSKs) μετά από κινητοποίηση με G-CSF, Plerixafor, ή G-CSF+Plerixafor. Επίσης, σε in vitro πειράματα σε συστήματα transwell, προσδιορίστηκε η ικανότητα μετανάστευσης των προγονικών κυττάρων προς το χημειοτακτικό παράγοντα SDF-1, που συσχετίζεται με αυξημένη ικανότητα εγκατάστασης. Επιπλέον, αναλύθηκε το ποσοστό έκφρασης του υποδοχέα επιφανείας CD26, μειωμένη έκφραση του οποίου έχει συσχετισθεί με αυξημένη ικανότητα εμφύτευσης. Τέλος, κύτταρα από κάθε στρατηγική κινητοποίησης διαμολύνθηκαν με λεντι-ϊκό φορέα αναφοράς eGFP και αναλύθηκαν τόσο ως προς την έκφραση του διαγονιδίου όσο και ως προς τα παραπάνω ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Παρατηρήθηκε ότι ο συνδυασμός G-CSF +Plerixafor αποδίδει σημαντικά υψηλότερο αριθμό LSKs συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες. Επιπλέον τα G-CSF+Plerixafor-κινητοποιημένα κύτταρα χαρακτηρίζονται από αυξημένη ικανότητα μετανάστευσης προς τον SDF-1 σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες και χαμηλότερη έκφραση του CD26 έναντι των Plerixafor-κινητοποιημένων κυττάρων. Η έκφραση του διαγονιδίου παρατηρήθηκε ιδιαίτερα υψηλή σε όλες τις ομάδες κινητοποίησης και ιδιαίτερα στα Plerixafor-κινητοποιημένα κύτταρα, γεγονός που συσχετίστηκε με αυξημένο ποσοστό των κυττάρων στη φάση S-G2/M του κυτταρικού κύκλου. Μετά τη διαδικασία της διαμόλυνσης οι διαφορές που συνιστούν υπεροχή του G-CSF+Plerixafor-μολυσθέντος διατηρούνται και ενδεχομένως εντείνονται. Συνοψίζοντας, το G-CSF+Plerixafor-κινητοποιημένο μόσχευμα υπερέχει έναντι των υπόλοιπων στρατηγικών κινητοποίησης τόσο αριθμητικά όσο και ποιοτικά, καθιστώντας το ως την προτιμώμενη πηγή κυττάρων προς γενετική τροποποίηση.

IDENTIFICATION OF THE OPTIMAL GRAFT FOR GENE THERAPY OF B-THALASSEMIA BASED ON IMMUNOPHENOTYPIC FEATURES

**Gkountis Antonios-Marios^{1,2}, Psatha Nikoletta^{1,2}, Rantoglou Eirini^{1,2}, Siametis Athanasios^{1,2},
Anagnostopoulos Achilles¹, Yiangou Minas², Yannaki Evangelia¹**

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, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

Gene therapy represents a novel, yet a potential technique for β -thalassemia, with latest researches indicating mobilized peripheral blood as the optimal graft. Aim of the present study is the identification of the optimal mobilization strategy that yields sufficient number of hematopoietic stem cells, characterized by superior immunophenotypic features that contribute in post-transplantation homing and engraftment. The absolute number of progenitor stem cells following mobilization with G-CSF, Plerixafor or G-CSF + Plerixafor combination, was counted by flow cytometry in the peripheral blood of thalassemic mice. Furthermore, the cell migration ability towards the chemotactic agent SDF-1, which is commonly correlated to increased homing ability, was determined through in vitro assays in transwell systems. In addition, the expression rate of the surface receptor CD26 was analyzed, as low expression of CD26 suggests high engraftment capability. Finally, cells from each mobilization strategy were submitted to transduction with lentiviral vector eGFP and analyzed for the transgene expression and all the immunophenotypic features mentioned above. The combination of G-CSF+Plerixafor yielded significantly higher number of LSKs compared to the other groups. In addition, G-CSF+Plerixafor mobilized cells were characterized by increased homing ability towards SDF-1 compared to the other mobilization strategies, and also by lower CD26 expression versus Plerixafor-mobilized cells. Transgene expression was high in all of the mobilization groups and especially in Plerixafor-mobilized cells, which had been related to the higher cell rate found in S-G2/M phase of the cell cycle. After the transduction procedure, differences suggesting G-CSF+Plerixafor graft superiority were preserved in a similar or even higher level. Overall, G-CSF+Plerixafor mobilized graft exceeds compared to the other mobilization strategies quantitatively and qualitatively, representing the preferable cell source destined for genetic modification.

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΩΑΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΤΟΥ ΘΥΜΟΥ ΑΔΕΝΑ

Γκραίκου Θέμις¹, Φόρτης Σωτήρης¹, Τούκλη Δαυίδ¹, Σαμαρά Πηνελόπη¹, Βουτσάς
Ιωάννης², Τσιτσιλώνη Ουρανία¹

*1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 2/Κέντρο
Ανοσολογίας και Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Π.Α.Ο.Ν.Α. «Ο Άγιος Σάββας», Αθήνα*

Είναι γνωστό ότι το πολυπεπτίδιο προθυμοσίνη α (προΤα) και το καρβοξυτελικό της δεκαπεπτίδιο προΤα(100-109) παρουσιάζουν ανοσοενισχυτική δράση, επάγοντας τις λειτουργίες και την αντικαρκινική δραστηριότητα των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Το αμινοτελικό θραύσμα της προΤα θυμοσίνη α1 (Τα1), έχει επίσης αναφερθεί ότι λειτουργεί ανοσορυθμιστικά. Προηγούμενα δεδομένα του εργαστηρίου μας έδειξαν ότι τα πεπτίδια δε λύουν άμεσα τα καρκινικά κύτταρα. Σκοπός μας ήταν η αναλυτικότερη μελέτη της άμεσης κυτταροτοξικής δράσης της προΤα, του προΤα(100-109) και της Τα1 σε λευκοκυτταρικούς υποπληθυσμούς. Χρησιμοποιήσαμε μονοπύρηνα, μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα τα οποία απομονώθηκαν από ανθρώπινο περιφερικό αίμα με φυγοκέντρηση σε κλίση Ficoll-Histopaque, και καλλιεργήθηκαν για χρονικά διαστήματα 24-48 ωρών με προΤα (200 ng/mL), προΤα(100-109) (25 ng/mL) και Τα1 (400 ng/mL). Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η δοξορουβικίνη (25 μg/mL). Με κυτταρομετρία ροής και χρησιμοποιώντας τους φθορίζοντες δείκτες Αννεξίνη V (που προσδένεται σε κύτταρα που εκφράζουν φωσφατιδυλοσερίνη, άρα ταυτοποιεί και ποσοτικοποιεί τα αποπτωτικά κύτταρα) και ιωδιούχο προπίδιο (που προσδένεται στο DNA των νεκρωτικών κυττάρων), καταγράφηκαν οι μεταβολές της κατανομής των κυττάρων και τα ποσοστά εμφάνισης πρώιμων και όψιμων αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων, αντίστοιχα. Η καλλιέργεια μονοπύρηνων, μονοκυττάρων, και ουδετερόφιλων με προΤα, προΤα(100-109) ή Τα1 για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα και με ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις των πεπτιδίων, δε φάνηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά τα ποσοστά των κυτταρικών πληθυσμών που προωθούνται προς τα στάδια της πρώιμης και όψιμης απόπτωσης ή νέκρωσης. Αντίθετα, οι υψηλές συγκεντρώσεις δοξορουβικίνης φάνηκαν να οδηγούν σε μαζική κυτταρική νέκρωση. Συμπερασματικά, η προΤα, το ανοσοδραστικό της δεκαπεπτίδιο προΤα(100-109) και η Τα1 δεν επάγουν την απόπτωση ή νέκρωση κανενός λευκοκυτταρικού υποπληθυσμού από αυτούς που ελέγχθηκαν. Το γεγονός αυτό αποτελεί μια πρώτη ένδειξη για την ασφαλή χρήση των παραπάνω πεπτιδίων ως ανοσοενισχυτικών, σε κλινικά πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας του καρκίνου. Χρηματοδότηση: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

PHENOTYPIC CHANGES DURING APOPTOSIS OF LEUKOCYTE SUBPOPULATIONS AFTER INCUBATION WITH THYMIC PEPTIDES

**Gkraikou Themis ¹, Fortis Sotiris ¹, Toukli David ¹, Samara Pinelopi ¹, Voutsas Ioannis ²,
Tsitsilonis Ourania ¹**

*1/Department of Animal and Human Physiology, NKUA, 2/Cancer Immunology and
Immunotherapy Center, "Saint Savas" Anticancer Hospital, Athens*

It is known that the polypeptide prothymosin α (proT α) and its C-terminal decapeptide proT α (100-109) enhance immune responses, inducing the functions and the antitumor activities of immune cells. The N-terminal fragment of proT α , thymosin α 1 (T α 1), has also been reported to possess immunomodulatory functions. Previous data from our laboratory showed that these peptides do not directly lyse tumor cells. Our aim was a more detailed study of the direct cytotoxic effect of proT α , proT α (100-109) and T α 1 on leukocyte subpopulations. We used mononuclear cells, monocytes and neutrophils isolated from human peripheral blood by centrifugation over Ficoll-Histopaque gradient, and we cultured them for 24-48 hours with proT α (200 ng/mL), proT α (100-109) (25 ng/mL) and T α 1 (400 ng/mL). Doxorubicin (25 μ g/mL) was used as a positive control. Using flow cytometry and the fluorescent markers Annexin V (which binds on cells expressing phosphatidylserine, and thus identifies and quantifies the proportion of apoptotic cells) and propidium iodide (which binds to the DNA of necrotic cells), we recorded changes in the distribution of cells and in the percentages of early and late apoptotic and necrotic cells, respectively. Incubation of mononuclear cells, monocytes and neutrophils with proT α , proT α (100-109) or T α 1 for prolonged intervals even with very high concentrations of the peptides, did not statistically significantly affect the percentages of cell populations driven to early and late apoptosis or necrosis. In contrast, high concentrations of doxorubicin lead to massive cellular necrosis. In conclusion, proT α , its immunoactive fragment proT α (100-109) and T α 1 do not induce apoptosis or necrosis in any of the leukocyte subpopulations examined. This study may be considered as a first indication for the safe use of these peptides as adjuvants in clinical cancer immunotherapeutic protocols. Funding: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ ΚΑΙ ΚΑΣΣΙΤΕΡΟΥ, ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΑ ΣΕ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ.

**Γλάβα Μαρία¹, Παπαθανασίου Πάυλος¹, Γεωργίου Έλενα¹, Μπούλακα Αθηνά¹,
Βελτσίστας Παναγιώτης², Χατζηκακού Σώτηριος², Καρκαμπούνας Σπυρίδων¹**

*1/Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή Ιωαννίνων - 2/Εργαστήριο Ανόργανης και
Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*

Σκοπός: Εξετάστηκε *in vitro* πώς αλληλεπιδρούν η βιταμίνη C, το γαλλικό οξύ και το β-καροτένιο στις κυτταροτοξικές ιδιότητες των συμπλόκων ψευδαργύρου $Zn(C_{15}H_{12}N_3O_4S)_2$ και κασσιτέρου [το $SnMNA(2\text{-mercapto-nicotinic acid})$ και το $Bu_2Sn(naproxen)_2$]. Οι εν γένει επιδράσεις όλων των επιλεγμένων ουσιών μελετήθηκαν στην φυσιολογική κυτταρική σειρά ινοβλαστών (MRC-5), σε μια νεοπλασματική κυτταρική σειρά λειομυοσαρκώματος (LMS) του επίμυος Wistar και στη σειρά ενός αδενοκαρκινώματος του μαστού (MCF-7). Για τη μέτρηση της κυτταροτοξικότητας χρησιμοποιήθηκε η χρωματομετρική μέθοδος MTT και προσδιορίστηκαν οι τιμές IC₅₀ των συμπλόκων, των αντιοξειδωτικών, καθώς και του μείγματος αυτών (1 σύμπλοκο μετάλλου + 1 αντιοξειδωτικό). Αποτελέσματα: Οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν είτε στην περίπτωση αντιοξειδωτικών και συμπλόκων χορηγούμενων μόνων τους, είτε στην περίπτωση του κοκτέιλ αυτών, εμφανίζουν μεγαλύτερη τοξικότητα στις καρκινικές σειρές, απ' ό,τι στην φυσιολογική κυτταρική σειρά των ινοβλαστών. Δηλαδή θανατώνουν τα νεοπλασματικά κύτταρα τιθέμενες σε συγκεντρώσεις μικρότερες, απ' τις αντίστοιχες των φυσιολογικών κυττάρων. Τα σύμπλοκα μετάλλων φαίνεται να λειτουργούν πυροδοτώντας τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών οξυγόνου με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα επίπεδα του οξειδωτικού stress. Εν αντιθέσει οι αντιοξειδωτικές ουσίες χρησιμοποιούνται φαρμακολογικά ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών. Από το πλήθος των πειραμάτων αποδεικνύεται ότι στην συγχορήγηση αντιοξειδωτικού – συμπλόκου σε κυτταρικές σειρές, τα αντιοξειδωτικά συμπίεζουν την κυτταροτοξική δράση των συμπλόκων. Στην πλειοψηφία τους τα αντιοξειδωτικά «προφυλάσσουν» από τις θανατηφόρες δράσεις των συμπλόκων. Αξιοσημείωτες είναι κάποιες περιπτώσεις που οι μικρές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών δρουν συνεργικά με τα σύμπλοκα μετάλλου και αυξάνουν την κυτταροτοξική δράση τους.

EFFECT OF ANTIOXIDANT REAGENTS IN THE CYTOTOXIC PROPERTIES OF ZN AND SN COMPLEXES, WHEN ADMINISTRATED IN CANCER AND CONTROL CELL LINES

Glava Maria¹, Papathanasiou Paulos¹, Gewrgiou Elena¹, Boulaka Athina¹, Veltsistas Panagiwtis², Xatzikakou Swtirios², Karkabounas Spuridon¹

1/laboratory of physiology, medical school of the university of Ioannina- 2/laboratory of inorganic and analytical chemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina

Purpose: We examine in vitro how vitamin C, galic acid and β -caroten interact with the cytotoxic properties of the complex Zn [Zn(C₁₅H₁₂N₃O₄S)₂] and Sn complexes [SnMNA(2-mercaptotnicotinic acid) and Bu₂Sn(naproxen)₂]. The effects of the chosen substrates were examined in a natural cell line of fibroblasts (MRC-5), in a cancer cell line of LMS of a Wistar rat and in a breast cell line (MCF-7). For the measurement of the cytotoxicity, we used MTT method and we defined the IC₅₀ values of the complexes, of the antioxidants and their mixtures (1 metal complex and one antioxidant). **Results:** The reagents that we used either in case of antioxidants and their complexes alone, or in case of a cocteil mixture, had increased toxicity in cancer lines compared to the control fibroblast cell line. In other words they kill the cancer cells when used in concentrations smaller than those of the control cells. The metal complexes proved to act by firing the creation of oxygen reactive species, leading to an increase in the levels of oxidative stress. On the contrary, the antioxidants are used as cleaners of the reactive species. From our experiments, we prove that when we used both antioxidant and complex in cell lines, the antioxidants reduced the cytotoxic effect of the complexes. In their majority, antioxidants “protect” from the lethal actions of the complexes. It’s worth mentioning some cases where the small amounts of antioxidants work together with the metal complexes and increase their cytotoxic effect.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΑ ΑΠΟΔΕΚΤΗΣ
ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΕΓΑΛΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΔΕΝΔΡΙΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ
ΙΚΑΝΩΝ ΝΑ ΠΡΟΑΓΟΥΝ ΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΙΔΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΩΝ Τ-
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ**

**Γούναρη Ελένη^{1,2}, Παπαδοπούλου Αναστασία^{1,2}, Παπαγιάννη Πηνελόπη^{1,2}, Παρασκευάς
Βασίλειος^{1,2}, Ζώγας Νικόλαος^{1,2}, Αναγνωστόπουλος Αχιλλέας¹, Γιάγκου Μηνάς²,
Γιαννάκη Ευαγγελία¹, Καλογιαννίδης Παναγιώτης¹**

*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 κλινική εφαρμογή της κυτταρικής ανοσοθεραπείας του καρκίνου περιορίζεται λόγω των εξαιρετικά πολύπλοκων και δαπανηρών μεθόδων παραγωγής μεγάλου αριθμού δενδριτικών κυττάρων (ΔΚ), ικανών να προάγουν τη δημιουργία ειδικών κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων έναντι καρκινικών αντιγόνων. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να χρησιμοποιηθούν αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα από μη αξιοποιήσιμες προς μεταμόσχευση μονάδες ομφάλιου αίματος για την παραγωγή μεγάλου αριθμού ΔΚ. Απομονωμένα με ανοσομαγνητικό διαχωρισμό CD34+ κύτταρα καλλιιεργήθηκαν για 4 εβδομάδες παρουσία GM-CSF και SCF και για 1 επιπλέον εβδομάδα παρουσία GM-CSF και IL-4. Για την έκπτυξη μεγάλου αριθμού ΔΚ δοκιμάστηκαν για πρώτη φορά βιοαντιδραστήρες G-Rex10 (Wilson Wolf Corporation), η χρήση των οποίων, είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή περίπου 100 φορές περισσότερων ΔΚ από ότι οι συμβατικές καλλιέργειες ($1,5 \times 10^9$ έναντι 10^7). Η αποτελεσματικότητά τους να ενεργοποιούν Τ-λεμφοκύτταρα, διερευνήθηκε έπειτα από διέγερσή τους για 24 και 48 ώρες με ευρέως χρησιμοποιούμενα και χαμηλού κόστους εμβόλια (Act-HIV, Influvac, Vaxigrip, Typhim Vi, BCG, HBV) αποτελούμενα από προσδέτες των υποδοχέων τύπου Toll (TLR-Ls) ως ανοσοενισχυτικά. Η παραπάνω μέθοδος ήταν εξίσου αποτελεσματική με τη συμβατική διέγερση με ειδικούς TLR3 και TLR7 αγωνιστές (Poly I:C και R848 αντίστοιχα). Ο ανοσοφαινότυπος ωριμότητας (CD40+, CD83+, CD86+, HLA-DR+) των ΔΚ και η αυξημένη φαγοκυτταρική ικανότητα FITC-σημασμένων ζυμών προσδιορίστηκαν με κυτταρομετρία ροής. Η αυξημένη ικανότητά τους να προάγουν την παραγωγή κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων έπειτα από διέγερσή τους με όλους τους παραπάνω διεγέρτες επιβεβαιώθηκε με ELISA από τα υψηλά επίπεδα έκκρισης IL-12p70, IL-6 και TNF-α και τα σχεδόν μη ανιχνεύσιμα επίπεδα IL-10. Συμπερασματικά παρουσιάζεται μία ιδιαίτερα αποτελεσματική και οικονομικά ωφέλιμη προσέγγιση παραγωγής υψηλού αριθμού ΔΚ ικανών να επάγουν ειδικές κυτταρικές ανοσοαποκρίσεις. Η νέα αυτή μέθοδος θα μπορούσε να συνεισφέρει ουσιαστικά στην ευρεία κλινική εφαρμογή της αντικαρκινικής θεραπείας με ειδικά κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα. Για τη διάθεση των βιοαντιδραστήρων ευχαριστούμε θερμά: Center for Cell and Gene Therapy, Baylor College of Medicine, The Methodist Hospital and Texas Children's Hospital, Houston, TX, USA

DEVELOPMENT OF AN EFFICIENT AND COST EFFECTIVE METHOD FOR LARGE SCALE GENERATION OF DENDRITIC CELLS CAPABLE OF PROMOTING SPECIFIC CYTOTOXIC T-LYMPHOCYTES AGAINST TUMOR ANTIGENS

**Gounari Eleni^{1,2}, Papadopoulou Anastasia^{1,2}, Papagianni Pinelopi^{1,2}, Paraskevas Vassilis^{1,2},
Zogas Nikolaos^{1,2}, Anagnostopoulos Achilles¹, Yiangou Minas², Yannaki Evangelia¹,
Kaloyannidis Panagiotis¹**

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, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

The clinical application of cellular immunotherapy of cancer is hampered by the extremely complex and costly methods required to produce large numbers of dendritic cells (DCs), capable of inducing antitumor specific cytotoxic T-lymphocytes generation. We investigated the potential to generate adequate numbers of DCs from hematopoietic stem cells derived from non-transplantable cord blood units. After immunomagnetic separation, CD34+ cells were cultured for 4 weeks in the presence of GM-CSF and SCF and for 1 additional week in the presence of GM-CSF and IL-4. For the large scale DCs expansion, bioreactors G-Rex10 (Wilson Wolf Corporation) are tested for the first time while their use resulted in the production of about 100 fold more DCs than conventional cultures (1.5×10^9 vs 10^7). Their effectiveness to activate T-lymphocytes was investigated after 24 and 48 hours stimulation with widely used and low-cost vaccines (Act-HIV, Influvac, Vaxigrip, Typhim Vi, BCG, HBV) consisting of Toll-Like Receptor ligands (TLR-Ls) as adjuvants. The above stimulation method proved to be similar effective compared to the stimulation with TLR3 and TLR7/8 ligands (R848 and PolyI:C). The mature immunophenotype (CD40 +, CD83 +, CD86 +, HLA-DR +) of DCs and the increased capacity of phagocytosis of FITC-labeled yeasts determined by flow cytometry. The increased ability to promote the production of cytotoxic T-lymphocytes after stimulation with all the above activators was confirmed by ELISA as detected by high secretion levels of IL-12p70, IL-6 and TNF- α , and the almost undetectable IL-10. In conclusion, this study presents a highly effective and cost beneficial approach of producing large numbers of DCs, able to induce specific cellular immune responses. This new method could greatly contribute to widespread clinical application of cancer therapy with specific cytotoxic T-lymphocytes. For bioreactors disposing we thank: Center for Cell and Gene Therapy, Baylor College of Medicine, The Methodist Hospital and Texas Children's Hospital, Houston, TX, USA

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΓΝΩΣΙΑΚΩΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΔΥΟ ΕΙΔΗ ΣΑΥΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ LACERTIDAE

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

Η ύπαρξη νόησης και ευφυΐας στα ζώα έχει αποτελέσει το επίκεντρο του ενδιαφέροντος της γνωσιακής νευροεπιστήμης. Σε πληθώρα ερευνών που έχουν πραγματοποιηθεί, έχει διαπιστωθεί ότι η ανάπτυξη του εγκεφάλου και η συμπεριφορά του ζώου διαμορφώνονται με τέτοιο τρόπο ώστε να συναντούν τις απαιτήσεις του περιβάλλοντος στο οποίο εκτίθεται. Τι γίνεται ωστόσο με τα ερπετά; Μέχρι πρόσφατα θεωρούταν ότι η πλειοψηφία των ερπετών εμφανίζει κυρίως στερεοτυπική συμπεριφορά. Τελευταίες μελέτες, όμως, αποκαλύπτουν ότι μπορούν να επιδεικνύουν γνωσιακές ικανότητες και συμπεριφορική ευελιξία στην επίλυση προβλημάτων. Συνεπώς τα ερπετά έχουν την ικανότητα τροποποίησης της συμπεριφοράς τους ως απόκριση σε νέα ερεθίσματα είτε την ικανότητα μεταβολής μίας ήδη υπάρχουσας συμπεριφοράς σε οικεία ερεθίσματα. Προκειμένου να εξετάσουμε την υπόθεση αυτή, μελετήσαμε τις γνωσιακές ικανότητες του είδους *Podarcis erhardii* (Sauria, Lacertidae) μέσω μιας σειράς δοκιμασιών. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα αντίστοιχων δοκιμασιών στη σαύρα *Lacerta trilineata*. Στην πρώτη δοκιμασία, οι σαύρες έπρεπε να αφαιρέσουν ένα κίτρινο καπάκι που κάλυπτε ένα από τα δύο πηγάδια της πειραματικής συσκευής μέσα στο οποίο υπήρχε τροφική ανταμοιβή. Στη δεύτερη δοκιμασία τα άτομα έπρεπε να διακρίνουν το κίτρινο καπάκι κάτω από το οποίο υπήρχε τροφή από ένα καπάκι άλλου χρώματος (μπλε) το οποίο κάλυπτε το πηγάδι χωρίς τροφή. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε αντιστροφή των καπακιών (τροφή κάτω από το μπλε καπάκι) προκειμένου να ελέγξουμε τη συμπεριφορική ευελιξία των δύο ειδών. Τέλος στην τέταρτη δοκιμασία επαναφέραμε τις συνθήκες της δεύτερης δοκιμασίας. Από τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα μας, υποδεικνύεται ότι η *P. erhardii* έχει την ικανότητα να ανταποκρίνεται στις νέες δοκιμασίες τροποποιώντας τη συμπεριφορά της όπως και η *Lacerta trilineata*. Το γεγονός αυτό, φαίνεται να επιβεβαιώνει την δυνατότητα απόκτησης συνειρμικής μάθησης στις σαύρες.

COMPARATIVE STUDY OF THE LEARNING ABILITIES OF TWO LACERTID LIZARDS

Dagkonaki A., Mavrothalassiti I., Sagonas K. 1, Valakos E.D.

Section of Animal and Human Physiology, Department of Biology, NKUA, Panepistimioupoli, Ilissia 157-84, Athens

Animal cognition and intelligence has been the center of interest in cognitive neuroscience. There are several studies which indicate that brain development and the animal's behavior are formed in accordance with the environmental pressure to which the animal is exposed to. Until recently it was believed that the majority of reptiles displays a stereotype behavior. However, recent studies reveal that reptiles possess high level of cognition and show behavioral flexibility in problem solving. Consequently, reptiles have the ability to modify their behavior as a response to novel stimuli or alter an existing response to familiar stimuli. We tested this hypothesis by studying the cognitive abilities of the species *Podarcis erhardii* (Sauria, Lacertidae) through consecutive tasks. Then we compared the results acquired to those of similar tasks where *Lacerta trilineata* was tested. In the first task the lizards had to dislodge a yellow disc, which was covering one of the two wells of the testing apparatus, where an insect larva was hidden. In the second task the individuals had to discriminate between the yellow disc, that was covering the well where the food reward had been placed, and a disc of a different color (blue) which was covering the well that didn't contain food. In the third task the blue disc became the rewarded one, thus reversing the conditions that were presented in the two previous tasks and test the behavioral flexibility of the two species. Finally, in the fourth task we restored the experimental conditions of the second task. The results obtained so far suggest that both species are capable of responding to novel tasks by modifying their behavior. This fact seems to confirm the ability of lizards to acquire associative learning.

ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ T-DNA ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΩΝ ADA3a ΚΑΙ ADA3b ΣΤΟ ARABIDOPSIS THALIANA

Δαδάρου Δ¹, Πούλιος Σ¹, Doonan J², Hark A³, Βλαχονάσιος ΚΕ¹

1. Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα. 2. Institute of Biological,
Environmental & Rural Sciences, Aberystwyth University, Gogerddan, Aberystwyth, Ceredigion,
SY23 3EE, UK 3. Biology Department, Muhlenberg College, Allentown, Pennsylvania 18104, USA

Η ακετυλίωση των ιστονών θεωρείται μία από τις πιο σημαντικές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις της χρωματίνης και συσχετίζεται άμεσα με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Στη ζύμη η πρωτεΐνη GCN5 δρα ως ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών H3 και H2B και συνδέεται φυσικά με την ADA2 και ADA3 σε μεγάλα σύμπλοκα μεταγραφικών προσαρμοστών, όπως το SAGA. Σε αντίθεση με τους άλλους ευκαρυωτικούς οργανισμούς στο γονιδίωμα του *Arabidopsis thaliana* πιστεύεται ότι υπάρχουν δύο γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες παρόμοιες με την ADA3 της ζύμης τα ADA3a (At2g19390) και ADA3b (At4g29790). Τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεγέθους 133kD και παρουσιάζουν ομοιότητες με την επικράτεια ADA3 άλλων οργανισμών. Στην εργασία αυτή χαρακτηρίστηκαν T-DNA μεταλλάγματα και στα δύο γονίδια, που εντοπίστηκαν στο 4ο και 9ο εξόνιο του ADA3a και στο 1ο και 8ο εξόνιο του ADA3b, και ονομάστηκαν ada3a-1, ada3a-2, ada3b-1 και ada3b-2 εν αντιστοιχία. Πειράματα για τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης αποκάλυψαν ότι σε κανένα από τα μεταλλάγματα δεν παράγεται ολοκληρωμένο μετάγραφο του γονιδίου ADA3a ή ADA3b. Συνεπώς, διαπιστώθηκε ότι όλα τα απλά μεταλλάγματα χαρακτηρίζονται ως "knock out". Οι ομοζύγωτες μεταλλάξεις όμως δεν εμφάνισαν κάποιο αναπτυξιακό φαινότυπο. Έτσι, δημιουργήθηκαν τα διπλά μεταλλάγματα ada3a-2ada3b-2. Παρατηρήθηκε ότι τα διπλά μεταλλάγματα δεν φαίνεται να φέρουν κάποιο ιδιαίτερο αναπτυξιακό φαινότυπο σε σχέση με τον άγριο τύπο και τα απλά μεταλλάγματα, υποδηλώνοντας ότι τα ADA3a και ADA3b δεν είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του *Arabidopsis thaliana*.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF T-DNA MUTANTS OF TRANSCRIPTIONAL ADAPTORS ADA3a AND ADA3b IN ARABIDOPSIS THALIANA

Dadarou D ¹, Poullos S ¹, Doonan J ², Hark A ³, Vlachonasios KE ¹

1. Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece 2. Institute of Biological, Environmental & Rural Sciences, Aberystwyth University, Gogerddan, Aberystwyth, Ceredigion, SY23 3EE, UK 3. Biology Department, Muhlenberg College, Allentown, Pennsylvania 18104, USA

Histone acetylation is one important modification of chromatin structure that is directly related to gene expression. In yeast, GCN5 protein is an acetyltransferase of histones H3 and H2B that associates with the transcriptional coactivators ADA2 and ADA3 in complexes such as SAGA. Contrary to other eukaryotes, in *Arabidopsis thaliana*, two genes encode proteins that resemble yeast ADA3 designated as ADA3a (At2g19390) and ADA3b (At4g29790). These proteins include a domain which resembles the ADA3 domain of other organisms. In this project homozygous T-DNA mutants of both ADA3 genes were characterized and named ada3a-1, ada3a-2, ada3b-1 and ada3b-2. The T-DNA is located in the 4th exon and 9th exon of ADA3a and in the 1st and 8th exon of ADA3b, respectively. Gene expression analysis revealed that none of the mutants produces a complete transcript product. Therefore, all single mutants are characterized as “knock out”. However, none of the homozygous mutants displayed any obvious developmental phenotype. In addition, the double mutant ada3a-2ada3b-2 was created. Similarly, double mutants were indistinguishable from single mutants and wild type plants, suggesting that ADA3a and ADA3b are not essential for the growth of *Arabidopsis thaliana*.

ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗ ΣΙΓΗΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ OSBP ΜΕΣΩ RNA ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ ΚΑΙ Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ HRV

Δογμαματζής Χρήστος¹, Pascal S. Roulin², Urs F. Greber²

*1/Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη,
Ελλάδα - 2/Ινστιτούτο Μοριακών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Ζυρίχης, CH-8057, Ζυρίχη,
Ελβετία*

Ο σχηματισμός ενός μεμβρανοσχετιζόμενου συμπλόκου αντιγραφής που αποτελείται από ιικές πρωτεΐνες, αντιγραφόμενο RNA και κυτταρικές μεμβράνες, είναι χαρακτηριστικό όλων των θετικών RNA ιών, συμπεριλαμβανομένων των picorna-ιών. Οι picorna-ιικές πρωτεΐνες έχουν φανεί να εμπλέκονται στην αναδιοργάνωση των ενδοκυτταρικών μεμβρανών, ωστόσο δεν είναι επαρκείς για το σχηματισμό και τον λειτουργικό επαναπρογραμματισμό αυτών των ικά-επαγόμενων ενδομεμβρανών. Οι ανθρώπινοι ρινοϊοί (HRVs) φαίνεται ότι καταλαμβάνουν και χρησιμοποιούν παράγοντες του ξενιστή που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπιδίων και την κυστιδιακή κυκλοφορία. Στόχευση και απενεργοποίηση της OSBP (oxysterol-binding protein) μέσω RNA παρεμβολής έχειδειχθεί ότι καταστέλλει ισχυρά την αντιγραφή του HRV. Κατά την RNA παρεμβολή μικρά μόρια δίκλωνων RNA (γνωστών ως small interfering ή silencing RNAs ή siRNAs) μήκους 20-25 βάσεων, παρεμβαίνουν στην έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων με συμπληρωματικές νουκλεοτιδικές αλληλουχίες. Ωστόσο, οι επιδράσεις εκτός στόχου (off-target effects, OTEs) που εμφανίζονται όταν χρησιμοποιούνται siRNAs για μετα-μεταγραφική σίγηση γονιδίων, είναι ένα σοβαρό πρόβλημα, και πρόσθετα πειράματα για την επαλήθευση των σχετικών αποτελεσμάτων είναι απαραίτητα. Επιχειρήσαμε να μετριάσουμε τις OTEs χρησιμοποιώντας ένα μείγμα διαφορετικών siRNAs, όπως και μεμονωμένα siRNAs, ώστε να επιβεβαιώσουμε την εγκυρότητα των ληφθέντων δεδομένων από πειράματα ανοσοφθορισμού και δοκιμασίες Western blot. Σε όλες τις περιπτώσεις, στόχευση της OSBP μέσω RNA παρεμβολής κατέστειλε την αντιγραφή του HRV, υποδεικνύοντας ότι η OSBP είναι αναγκαία για την αντιγραφή του HRV. Εκτός των παραπάνω, κατασκευάσαμε λεντικά σωμάτια που έφεραν μεταλλαγμένες μορφές του γονιδίου της OSBP, και ελέγξαμε την ικανότητά τους για διαμόλυνση. Απώτερος στόχος ήταν η εισαγωγή ενός ανθεκτικού στα siRNAs, μεταλλαγμένου γονιδίου της OSBP σε κύτταρα HeLa, στα οποία η έκφραση της OSBP είχε σταματήσει λόγω των siRNAs.

RNAi-MEDIATED KNOCK-DOWN OF THE OSBP AND ITS EFFECT ON HRV REPLICATION

Dogrammatzis Christos¹, Pascal S. Roulin², Urs F. Greber²

1/School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece - 2/Institute of Molecular Life Sciences, University of Zurich, CH-8057, Zurich, Switzerland

όγω των siRNAs. Formation of a membrane-associated replication complex composed of viral proteins, replicating RNA and cellular membranes is a hallmark of all positive-strand RNA viruses, including picornaviruses. Picornaviral proteins have been implicated to be involved in reorganizing intracellular membranes, but they are not sufficient to form and functionally reprogram these virus-induced endomembranes. Human rhinoviruses (HRVs) have been shown to hijack host factors that are involved in lipid metabolism and vesicular trafficking. RNAi-mediated knock-down of the oxysterol-binding protein (OSBP) has been shown to strongly inhibit RNA replication of the HRV. In the RNA interference pathway, small double-stranded RNA molecules (known as short interfering RNA or silencing RNA or siRNAs), 20-25bp in length, interfere with the expression of specific genes with complementary nucleotide sequence. However, the off-target effects (OTEs) generated when using siRNAs for gene silencing are a significant problem, and additional experiments for the validation of the relevant results should be performed. We tried to mitigate the OTEs using a pool of different siRNAs, as well as individual ones in order to confirm the validity of the obtained data using high-throughput immunofluorescence and western blotting assays. In all cases, RNAi-mediated knock-down of the OSBP strongly inhibited RNA replication of HRV, suggesting the requirement of the OSBP in HRV replication. Furthermore, we created lentiviral particles that carried mutants of OSBP and checked their transduction efficiency. The aim would be to use them when performing a rescue assay in which an exogenous resistant form of OSBP would be introduced in OSBP-knockdown HeLa cells.

Η MSK1 ΕΧΕΙ ΚΑΡΔΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟ ΡΟΛΟ ΚΑΤΑ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΑΥΤΟΦΑΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Δόκαλης Νικόλαος, Μελλίδης Κυριάκος, Λάζου Αντιγόνη

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης*

Το οξειδωτικό στρες αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που ενέχονται στην ανάπτυξη καρδιακών παθήσεων. Οι ενεργές ρίζες οξυγόνου που παράγονται κατά την ισχαιμία και επαναιμάτωση της καρδιάς οδηγούν σε υπερτροφικά καρδιομυοκύτταρα ή σε κυτταρικό θάνατο (νέκρωση, απόπτωση, αυτοφαγία). Η απόκριση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ποικίλων σηματοδοτικών μονοπατιών με τη συμμετοχή κινασών, όπως η ενεργοποιούμενη από μιτογόνα και στρες πρωτεϊνική κινάση 1 (MSK1). Η MSK1 ενεργοποιείται από τις ERK1/2 και p38 MAPK, ενώ ο φυσιολογικός της ρόλος στην καρδιά δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του πιθανού προστατευτικού ρόλου της MSK1 κατά το οξειδωτικό στρες στα καρδιομυοκύτταρα. Οξειδωτικό στρες προκλήθηκε σε απομονωμένα καρδιομυοκύτταρα ενήλικων επίμυων με τη χρήση διαλύματος προσομοίωσης ισχαιμίας. Διερευνήθηκαν η βιωσιμότητα των κυττάρων με τη μέθοδο MTT, τα επίπεδα απόπτωσης με κυτταρομετρία ροής και η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας με ανάλυση κατά Western και χρήση δεικτών αυτοφαγίας. Παρατηρήθηκε μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων και αύξηση των επιπέδων απόπτωσης, έπειτα από επώαση με το διάλυμα προσομοίωσης ισχαιμίας, ενώ η αναστολή της MSK1 με τον ειδικό αναστολέα SB 747651A οδήγησε σε περαιτέρω μείωση και αύξηση αντίστοιχα. Συγχρόνως, κατά το οξειδωτικό στρες τα επίπεδα της Beclin-1 αυξήθηκαν ενώ αυτά της p62/SQSTM1 μειώθηκαν υποδηλώνοντας ενεργοποίηση του αυτοφαγικού μηχανισμού. Αναστολής της MSK1 επανέφερε τα επίπεδα της Beclin-1 σε αυτά του μάρτυρα ενώ δεν είχε καμιά επίδραση στην p62/SQSTM1. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η MSK1 έχει καρδιοπροστατευτικό ρόλο κατά το οξειδωτικό στρες, εμπλεκόμενη σε μονοπάτια απόπτωσης και αυτοφαγίας.

MSK1 HAS CARDIOPROTECTIVE ROLE DURING OXIDATIVE STRESS BY MODULATING AUTOPHAGIC AND APOPTOTIC MECHANISMS

Dokalis Nikolaos, Mellidis Kyriakos, Lazou Antigone

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

Oxidative stress is one of the major factors involved in the development of heart diseases. The production of reactive oxygen species during cardiac ischemia and reperfusion leads to cardiomyocyte hypertrophy or death (necrosis, apoptosis, autophagy). This response results in the activation of various signaling kinases such as the mitogen and stress activated kinase 1 (MSK1). Activation of MSK1 is dependent on both ERK1/2 and p38 MAPK. The physiological role of MSK1 has not yet been fully elucidated. We sought to investigate the possible protective role of MSK1 during oxidative stress in cardiomyocytes. Oxidative stress was induced in isolated adult rat cardiomyocytes using simulated ischemia buffer. Cell viability (MTT), degree of apoptosis (flow cytometry) and the activation of autophagy were determined. We observed reduction in cell viability and increased apoptosis, after incubation with simulated ischemia buffer, while the inhibition of MSK1 by the specific inhibitor SB 747651A led to further reduction and increase respectively. At the same time, the levels of Beclin-1 increased while those of p62/SQSTM1 decreased during oxidative stress, indicating activation of autophagic mechanisms. Inhibition of MSK1 restored the levels of Beclin-1 to those of the control, while no alteration of p62/SQSTM1 levels was observed. Conclusively, MSK1 seems to have a cardioprotective role during oxidative stress by modulating apoptotic and autophagic pathways.

ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α: ΜΙΑ ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΑΠΕΙΛΗ

Ελευθερίου Π. Ελευθέριος*

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

Η δισφαινόλη Α (BPA, bisphenol A) είναι συνθετική οργανική ένωση, θεμελιώδες μονομερές στην παραγωγή εποξικών ρητινών και πολυκαρβονικών πλαστικών, που χρησιμοποιούνται σε πολυάριθμα αγαθά καθημερινής χρήσης, όπως μπιμπερό διατροφής νηπίων, παιδικά παιχνίδια, πλαστικά δοχεία, εσωτερικές επικαλύψεις μεταλλικών δοχείων τροφίμων και ποτών, οδοντιατρικά αμαλγάματα, θερμικό χαρτί, σωλήνες νερού, ηλεκτρονικά είδη. Η ευρεία χρήση της συνεπάγεται εκτεταμένη ρύπανση του εδάφους, νερού και αέρα, καθιστώντας την έναν αναδυόμενο οργανικό ρύπο. Πολυάριθμες μελέτες σε ζώα και ανθρώπινες κυτταρικές σειρές έχουν δείξει ότι η BPA εκδηλώνει ασθενείς οιστρογονικές ιδιότητες μιμούμενη την οιστραδιόλη, προκαλεί ανώμαλη σεξουαλική ανάπτυξη σε ερπετά και ψάρια, ιδιαίτερα στα αρσενικά, επηρεάζει την αναπαραγωγική υγεία και γονιμότητα των ανθρώπων, διαταράσσει τις κυτταρικές διαιρέσεις και είναι ύποπτη καρκινογένεσων. Στα φυτά η BPA έχει μελετηθεί πολύ λιγότερο. Γι' αυτό διερευνήθηκε περαιτέρω η φυτοτοξική της επίδραση σε μεριστωματικά κύτταρα ρίζας και φύλλων διαφόρων φυτών (μπιζέλι, σιτάρι, αραβόσιτος, κρεμμύδι, ελάτη, αραβίδοψη) με οπτική, ηλεκτρονική και συνεστιακή μικροσκοπία. Αναγνωρίστηκαν πληθώρα υποκυτταρικών επιδράσεων, όπως αποκόλληση της πλασματικής μεμβράνης, συρρίκνωση του πρωτοπλάστη, έντονος χυμοτοπασμός, διόγκωση ενδομεμβρανικών χώρων, αποδιοργάνωση μιτοχονδρίων, Golgi, ενδοπλασματικού δικτύου, πυρήνα και συμπύκνωση της χρωματίνης. Διαταράχθηκαν σοβαρά οι μικροσωληνίσκοι, προκλήθηκε *in vivo* σχηματισμός μακροσωληνίσκων, αποδιοργανώθηκαν τα μικρονημάτια ακτίνης στα οποία εμφανίστηκαν δεσμίδωση και δακτυλιοειδείς διαμορφώσεις. Οι μιτωτικές διαιρέσεις αναστάλθηκαν και παρατηρήθηκαν πολυάριθμες χρωματοσωματικές ανωμαλίες. Ενδεχομένως η BPA προκαλεί επίσης προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Συμπεραίνεται ότι η BPA αποτελεί τοξική ουσία η οποία εμφανίζει πολλούς επιπλέον και διαφορετικούς στόχους από τους ήδη γνωστούς σε ζώα και φυτά. Ως αποτέλεσμα, έχουν ήδη αρχίσει να ψηφίζονται νόμοι και διατάξεις απαγόρευσης χρήσης της BPA σε διάφορες χώρες του κόσμου. *Προσκεκλημένη ομλία. Στην εργασία αυτή συνέβαλαν: Σταυροπούλου Κωνσταντίνα†, Αδαμάκης Ιωάννης-Δημοσθένης, Παντελής Εμμανουήλ, Πωπέρ Μάρκος, Χερμανίδου Άννα, Αρσένη Ερμόνη ‡Η παρούσα εργασία αφιερώνεται στη μνήμη της προπτυχιακής φοιτήτριας του Τμήματος Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σταυροπούλου Κωνσταντίνας *Πρόγραμμα χρηματοδότησης: Επιτροπή Ερευνών Α.Π.Θ., κωδικός έργου 89342

BISPHENOL A: A LATENT THREAT

Eleftheriou P. Eleftherios*

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-541 24
Thessaloniki, Greece*

Bisphenol A (BPA) is a profusely synthesized organic chemical being a key monomer in the production of epoxy resins and polycarbonate plastics, which are eventually utilized for the manufacturing of many consumer commodities, including infant feeding bottles, baby and children toys, plastic containers, protective coatings and linings in metallic food and beverage cans, dental sealants, thermal paper, water pipes and household electronics. Consequent to its extensive use, BPA contaminates soil, water and air, thus becoming an emerging organic pollutant. Numerous studies in animals and human cell lines have shown that BPA displays weak oestrogenic activities by mimicking oestradiol, induces abnormal sexual development in reptiles and fish, particularly males, adversely affects reproductive health and fecundity of humans, disrupts cell division and is suspected for carcinogenesis. Since research on BPA phytotoxicity remains scarce, its effects in root and leaf meristematic cells of several plants (pea, wheat, maize, onion, fir, arabidopsis) were investigated by light, electron and confocal microscopy. Numerous subcellular effects were observed, such as plasma membrane detachment, protoplast shrinkage, extensive vacuolation, disorganization of mitochondria, Golgi and endoplasmic reticulum, nucleus, dilation of perinuclear space and chromatin condensation. BPA disrupted severely microtubules, induced the in vivo production of macrotubules and deranged actin microfilaments causing their bundling and formation of ring-like structures. Cell division was arrested and many chromosomal abnormalities were caused. BPA may also induce programmed cell death. It is concluded that BPA is toxic to living organisms affecting various targets additionally to those already known for animals and plants. Consequently, restricting directives and banning laws have already been legislated prohibiting BPA use in several countries worldwide. *Invited oral presentation. To this work contributed: Stavropoulou Konstantina†, Adamakis Ioannis-Dimosthenis, Panteris Emmanuel, Pauper Marc, Cherianidou Anna, Arseni Ermioni †The present study is dedicated to the memory of the undergraduate student of the School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Stavropoulou Konstantina *Research Funding Program: Research Committee, AUTH, project No 89342

ΤΟ ΜΕΤΑΘΕΤΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ MINOS ΩΣ ΕΝΑ ΚΑΙΝΟΤΟΜΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΓΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΓΕΝΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟΝ ASPERGILLUS NIDULANS.

Ευαγγελινός Μίνωας⁽¹⁾, Καρβελά-Καλογεράκη Ηλιάννα⁽¹⁾, Αναγνωστόπουλος Γεράσιμος⁽¹⁾, Σταθοπούλου Παναγιώτα⁽¹⁾, Claudio Scazzocchio⁽²⁾, Διαλλινός Γεώργιος⁽¹⁾

(1)Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784, Ελλάδα, 2.Department of Microbiology, Imperial College London, London SW7 2AZ, United Kingdom.

Τα μεταθετά στοιχεία αποτελούν ισχυρά εργαλεία για την απενεργοποίηση γονιδίων, την παγίδευση εξωνίων ή υποκινητών και των γενωμικών αναλύσεων γενικότερα. Το μεταθετό στοιχείο Minos από τη *Drosophila hydei*, που ανήκει στην οικογένεια μεταθετών TC1/mariner, έχει αποδειχθεί ως ένα πολύ αποτελεσματικό εργαλείο για την ετερόλογη μετάθεση σε πολλά έντομα και μετάζωα. Χαρακτηρίζεται από υψηλές συχνότητες μετάθεσης, χωρίς να δείχνει ιδιαίτερη προτίμηση στη θέση εισαγωγής με αποτέλεσμα πολλές ενθέσεις να οδηγούν στην απενεργοποίηση γονιδίων. Στους νηματοειδείς μύκητες, ελάχιστα μεταθετά στοιχεία έχουν αξιοποιηθεί ως γενετικά εργαλεία, με το Impala από το *Fusarium oxysporum* να χαρακτηρίζεται ως το πιο επιτυχημένο. Στην εργασία αυτή αναπτύξαμε ένα αποτελεσματικό ελεγχόμενο σύστημα βασισμένο στο Minos για τη λειτουργική ανάλυση του γονιδιώματος του νηματοειδή μύκητα *Aspergillus nidulans*. Μια κασέτα DNA που εμπεριέχει τις αντίστροφα επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες του Minos εκατέρωθεν των γονιδίων *yA* (πράσινα κονιδιοσπόρια) και *inoB* (καταβολισμός ινοσιτόλης), τα οποία αντικαθιστούν το γονίδιο της τρανσποζάσης, κατασκευάστηκε και ενσωματώθηκε, με ομόλογο ανασυνδυασμό, στον υποκινητή του γονιδίου *niaD* (αναγωγή των νιτρικών) σε στέλεχος *yAΔ inoBΔ*, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός στελέχους *niaD- yA+ inoB+*. Ένα επιλεγμένο μετασχηματισμένο στέλεχος διασταυρώθηκε με ένα στέλεχος που εκφράζει την τρανσποζάση του Minos, από τον υποκινητή *gpdAm*. Επιλέξαμε ένα τελικό στέλεχος από αυτή τη διασταύρωση που περιείχε την τρανσποζάση και το στοιχείο Minos στον υποκινητή του γονιδίου *niaD*. Χρησιμοποιώντας το στέλεχος αυτό παρατηρούμε 103 γεγονότα μετάθεσης ανά 107 εκβλαστώνοντα κονιδιοσπόρια (συχνότητα 10⁻⁴), τα οποία οδηγούν στον αναμενόμενο ανάστροφο φαινότυπο *niaD+*. Στην παρούσα φάση, εξετάζουμε ι) την τυχαιότητα στην μετάθεση του Minos, αλληλουχώντας τις περιοχές ένθεσης, ιι) πως οι φυσιολογικές συνθήκες ή το διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο επηρεάζουν την συχνότητα μετάθεσης, και ιιι) την χρήση του Minos για επιλογή μεταλλαγών με τροποποιημένη μορφολογία ή ρυθμό αύξησης, ή μεταλλαγών ανθεκτικότητας σε αζόλες και πουρινικά αντιμυκητιακά φάρμακα.

THE MINOS TRANSPOSON AS A NOVEL EFFICIENT TOOL FOR FUNCTIONAL GENOMIC ANALYSIS IN *ASPERGILLUS NIDULANS*

**Evaggelinos M.¹, Karvela-Kalogeraki H.¹, Anagnostopoulos G.¹, Stathopoulou P.¹, Claudio
Scazzocchio ², Dhalluin G.¹**

*1*Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis, Athens 15784, Greece *2*Department
of Microbiology, Imperial College London, London SW7 2AZ, United Kingdom.

Transposons constitute powerful genetic tools for gene inactivation, exon or promoter trapping and genome analyses in general. The Minos element from *Drosophila hydei*, related to the Tc1/mariner-like transposons, has proved as a very efficient tool for heterologous transposition in several insects and metazoa. It is characterized by high transposition rates, it does not show insertion site biases and most of its insertions disrupt gene function. Several Minos-based vectors which contain exogenous DNA between the inverted terminal repeats of the element have proved suitable for genome-wide screens for unraveling gene function and studying gene expression. In filamentous fungi, only a handful of fungal-specific transposable elements have been exploited as genetic tools, with the Impala element from *Fusarium oxysporum* being the most successful. Here, we have developed a system to manipulate Minos transposition through a two-component transposition system in *Aspergillus nidulans*. A Minos derivative, carrying the *yA+* and *inoB+* genes, not carrying the Minos transposase, was constructed and integrated, through homologous integration, in the promoter of the *niaD* gene (nitrate reductase), resulting in *niaD-* *yA+* *inoB+* transformants. A selected transformant was crossed with a strain expressing the Minos transposase from the *gpdAm* promoter and selected progeny was analysed for *niaD+* *yA+* *inoB+* revertants. On average, among 107 conidiospores plated, we have obtained up to ~103 transposition events leading to the expected revertant phenotype (transposition frequency: ~10⁻⁴). We are at present investigating the randomness of Minos transposition by sequencing integration sites, and how physiological conditions or different genetic backgrounds affect transposition frequencies. Minos will also be used in selected specific screens and for obtaining morphological mutants or recessive lethal in diploids. Our work will allow the evaluation of Minos as a tool for mutational genomic analysis in *A. nidulans* and fungi.

**ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΜΑΚΡΟΠΑΝΙΔΑΣ
ΜΑΛΑΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΑΝΩΤΕΡΗΣ ΥΠΟΠΑΡΑΛΙΑΚΗΣ ΣΤΗ
ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΕΝΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΥΔΡΟΔΥΝΑΜΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΣΤΗ ΒΔ. ΛΕΣΒΟ**

**Ευαγγελόπουλος Αθανάσιος, Παπαζήση Ελευθερία, Κατσιάρας Νικόλαος, Κουτσούμπας
Δρόσος**

Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας, 81100, Μυτιλήνη

Οι υδροδυναμικές συνθήκες επηρεάζουν τη δομή και την ποικιλότητα των συναθροίσεων της βενθικής μακροπανίδας μαλακού υποστρώματος, για παράδειγμα μέσω της επίδρασης τους στην κοκκομετρική σύσταση και στη συγκέντρωση της οργανικής ύλης του ιζήματος. Στην παρούσα εργασία μελετώνται τα πρότυπα της δομής και της ποικιλότητας της μακροπανίδας κινητού υποστρώματος της ανώτερης υποπαρالياκής ζώνης σε σχέση με χωρικές διαφοροποιήσεις της έντασης των υδροδυναμικών συνθηκών στην περιοχή του Σιγρίου. Τον Ιούνιο του 2013 συλλέχθηκαν με δειγματολήπτη αρπάγης τύπου van Veen (0,1 m²) 14 δείγματα ιζήματος από 7 σταθμούς, κατανεμημένους σε τρεις περιοχές: δυτικά της νήσου Νησιώπης, στο δυτικό και στο ανατολικό τμήμα του κόλπου του Σιγρίου. Πραγματοποιήθηκε κοκκομετρική ανάλυση των ιζημάτων και μέτρηση της συγκέντρωσης της οργανικής ύλης σε αυτά. Τα μακροπανιδικά ασπόνδυλα απομονώθηκαν από το ίζημα, ταξινομήθηκαν στο κατώτερο δυνατό επίπεδο και καταμετρήθηκαν. Οι αναλύσεις των δεδομένων πραγματοποιήθηκαν με την R. Η κοκκομετρική ανάλυση των ιζημάτων έδειξε πως οι περιοχές δυτικά της Νησιώπης, δυτικό και ανατολικό τμήμα του κόλπου του Σιγρίου αντιστοιχούν σε υψηλή, ενδιάμεση και χαμηλή ένταση των υδροδυναμικών συνθηκών. Επίσης, διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα επίπεδα συγκέντρωσης της οργανικής ύλης του ιζήματος μεταξύ των σταθμών δειγματοληψίας. Απομονώθηκαν 13.739 άτομα μαλακίων, πολυχαίτων, καρκινοειδών και εχινοδέρμων, τα οποία ταξινομήθηκαν σε 290 taxa. Η κυρίαρχη ταξινομική ομάδα, τόσο αριθμητικά, όσο και σε ότι αφορά στον αριθμό των ειδών, ήταν στους περισσότερους σταθμούς τα γαστερόποδα μαλάκια. Βρέθηκε σημαντική θετική συσχέτιση της αφθονίας και του πλούτου ειδών της μακροπανίδας με τη συγκέντρωση της οργανικής ύλης του ιζήματος και σημαντική αρνητική συσχέτιση του πλούτου ειδών με το μέσο μέγεθος των κόκκων του ιζήματος. Βρέθηκε επίσης ένα γενικό πρότυπο διαβάθμισης της δομής των συναθροίσεων της μακροπανίδας, που συσχετίζεται με το μέσο μέγεθος των κόκκων του ιζήματος.

RESPONSE OF THE STRUCTURE AND DIVERSITY OF THE SOFT-BOTTOM MACROFAUNA OF THE UPPER SUBLITTORAL TO THE HYDRODYNAMIC CONDITIONS INTENSITY GRADIENT AT NW. LESVOS

Evangelopoulos Athanasios, Papazisi Eleftheria, Katsiaras Nikolaos, Koutsoubas Drosos
University of the Aegean, Department of Marine Sciences, 81100, Mytilene

Hydrodynamic conditions constrain the structure and diversity of the soft-bottom macrofaunal assemblages, for example by means of controlling sediment grain size distribution and organic matter concentration. The patterns of structure and diversity of the soft-bottom macrofauna of the upper sublittoral were studied in relation to the spatial variability of the hydrodynamic regime at the area of Sigri. 14 sediment samples were collected in June 2013, from 7 stations, with a van Veen grab sampler (0.1 m²). The stations were distributed across three areas: along the western coast of Nisiopi Island, at the western and at the eastern part of Sigri Bay. The macrofaunal invertebrates were sorted, classified at the lowest possible taxonomic level and counted. Sediment granulometry and organic matter concentration measurement were also carried out. Data analysis and visualization was carried out with R. The results of sediment granulometry showed that the area along the western coast of Nisiopi, the western and the eastern part of Sigri Bay correspond to high, intermediate and low levels of hydrodynamics conditions intensity, respectively. We also found significant differences in sediment organic matter concentration between sampling stations. 13,739 individuals of molluscs, polychaetes, crustaceans and echinoderms were isolated and were classified into 290 taxa. The dominant taxonomic group, in terms of numerical abundance and species richness, at most of the sampling stations were the gastropod molluscs. We found a significant positive correlation between macrofaunal abundance and species richness with sediment organic matter concentration, while species richness was significantly negatively correlated with sediment mean grain size. We also found a general gradient pattern in the structure of macrofaunal assemblages, which was correlated with sediment mean grain size.

ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ, ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΣΤΙΧΕΛΑΙΟΥ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Ευθυμίου Ιωάννα ¹, Δροσοπούλου Ελένη ², Μαυραγάνη-Τσιπίδου Πηνελόπη ², Βλαστός Δημήτρης ¹

1 / Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Πατρών, 30100 Αγρίνιο - 2 / Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη

Η μαστίχα είναι μια ρητινώδης ρευστή ουσία που συλλέγεται από τον κορμό και τα κλαδιά του δέντρου σκίνος (*Pistacia lentiscus* var. *Chia* της οικογένειας *Anacardiaceae*). Η μαστίχα Χίου ήταν γνωστή από την Αρχαιότητα, τόσο για το μοναδικό της άρωμα, όσο και για τις θεραπευτικές ιδιότητές της. Το μαστιχέλαιο παράγεται μέσω απόσταξης της φυσικής μαστίχας με ατμό. Είναι 100% φυσικό προϊόν και περιέχει ποικίλα θεραπευτικά και αρωματικά συστατικά. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η εξέταση της πιθανής κυτταροτοξικής και γενotoξικής δράσης του μαστιχελαίου καθώς και της πιθανής αντιγενotoξικής του δράσης σε συνδυασμό με την παρουσία ενός ισχυρού γενotoξικού παράγοντα, της μιτομυκίνης-C (*mitomycin-C*, MMC). Για το σκοπό αυτό εφαρμόστηκε η τεχνική των μικροπυρήνων (*micronuclei*, MN) με τη χρήση της κυτταροχαλασίνης-B (*Cytokinesis Block Micronucleus assay*, CBMN assay) σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων *in vitro*. Οι συγκεντρώσεις του μαστιχελαίου που επιλέχθηκαν να μελετηθούν αντιστοιχούσαν στο 0.01, 0.05 και 0.1% του συνολικού όγκου της καλλιέργειας. Παρατηρήθηκε ότι το μαστιχέλαιο δεν εμφανίζει αυξημένη συχνότητα MN συγκριτικά με τον μάρτυρα, σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις. Οι ίδιες συγκεντρώσεις εξετάστηκαν σε συνδυασμό με την MMC (0.05 $\mu\text{g/ml}$) για να προσδιοριστεί αν και κατά πόσο το μαστιχέλαιο μειώνει τη γενotoξική της δράση. Ο συνδυασμός του μαστιχελαίου με την MMC δεν επάγει μειωμένες συχνότητες MN συγκριτικά με την συχνότητα των MN που επάγει η MMC. Το μαστιχέλαιο παρουσίασε κυτταροτοξική δράση σε όλες τις συγκεντρώσεις, με και χωρίς MMC, με εξαίρεση τη μικρότερη συγκέντρωση του μαστιχελαίου.

CYTOTOXIC, GENOTOXIC AND ANTIGENOTOXIC EFFECT OF MASTIC OIL ON HUMAN LYMPHOCYTE CULTURES

Efthimiou Ioanna¹, Drosopoulou Elena², Mavragani-Tsipidou Penelope², Vlastos Dimitris¹
*1 / Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Patras, 30100
Agrinio - 2 / Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School Of Biology,
Faculty of Sciences, Aristotle University, 54124, Thessaloniki*

Pistacia lentiscus var *Chia* is an evergreen tree of the Anacardiaceae family that produces mastic gum, a resinous, fluid substance which is collected from the trunk and branches. Chios mastic gum has been known since ancient times for both its distinctive scent and medicinal properties. Mastic oil is extracted from mastic gum through distillation process with steam. It is a pure natural product, containing a great variety of therapeutic and aromatic ingredients. The possible cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic effects of mastic oil were studied in cultured human lymphocytes applying 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 antigenotoxic effect of mastic oil was studied against the genotoxic damage induced by mitomycin C (MMC), an antitumor, antibiotic compound that has a range of genotoxic effects including the inhibition of DNA synthesis, mutagenesis and clastogenesis. Mastic oil was studied at three different doses i.e. 0.01, 0.05 and 0.1% of the total culture volume and was found to be non-genotoxic at all the tested concentrations. Mitomycin C at a concentration of 0.05 µg/ml was given along with the above referred doses of mastic oil. No decrease in MN frequency was observed, showing no antigenotoxic effect in the specific tested concentrations and experimental conditions. Mastic oil showed cytotoxicity in all the aforementioned concentrations with and without MMC, with the exception of the smallest concentration of mastic oil.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΣΕ «ΠΡΑΣΙΝΟΥΣ» ΙΟΝΤΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

**Ευσταθιάδου Ευδοξία, Παπαδοπούλου Αθηνά, Κατσούρα Μαρία, Αλίβεργης Δημήτρης,
Πολύδερα Αγγελική, Καταπόδης Πέτρος, Σταμάτης Χαράλαμπος**

*1/ Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα (hstamati@cc.uoi.gr) - 2/ Εργαστήριο
Οργανικής Χημείας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα*

Τα ιοντικά υγρά (ΙΥ), γνωστά επίσης με τον όρο τηγμένα άλατα, είναι μίγματα κατιόντων και ανιόντων με σημείο τήξης χαμηλότερο από 100°C. Τα τελευταία χρόνια έχουν προσελκύσει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον με σκοπό τη αξιοποίησή τους σε ένα μεγάλο αριθμό εφαρμογών. Εξ' αιτίας των ιδιαίτερων φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους, όπως την αμελητέα τάση ατμών, την ικανότητα να διαλυτοποιούν ένα μεγάλο εύρος υδρόφιλων και υδρόφοβων υποστρωμάτων και την υψηλή χημική και θερμική σταθερότητά τους έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως «πράσινα» μέσα σε βιοκαταλυόμενες διεργασίες έναντι των υψηλά τοξικών και πτητικών οργανικών διαλυτών. Από την δεκαετία του 1960, όταν ταυτοποιήθηκε αρχικά η 1η γενιά ΙΥ, τα χαρακτηριστικά τους έχουν βελτιωθεί οδηγώντας σε νέες γενιές ΙΥ με πιο εξειδικευμένες και φιλικές προς το περιβάλλον ιδιότητες. Πρόσφατα η 3η γενιά ΙΥ έχει εμφανιστεί, η οποία αποτελείται από βιοαποικοδομήσιμες, χαμηλής τοξικότητας και εύκολα διαθέσιμες δομές. Παράλληλα με την 3η γενιά ΙΥ, αναπτύχθηκαν και τα ευτηκτικά υγρά (DES), τα οποία αποτελούν επίσης μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική κατηγορία διαλυτών. Πρόκειται για φυσικά μίγματα αλάτων, όπως το χλωρίδιο της χολίνης, με μη φορτισμένους δότες δεσμών υδρογόνου, όπως η ουρία ή η γλυκερόλη. Η εύκολη παρασκευή τους, το χαμηλό κόστος τους και ο βιοαποικοδομήσιμος χαρακτήρας τους έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον εφαρμογής των DES ως μέσα για την πραγματοποίηση ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων. Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε η σύνθεση τεσσάρων υδροξυλ- αμμωνιακών ΙΥ 3ης γενιάς και διαφόρων ευτηκτικών υγρών με βάση το χλωριούχο άλας της χολίνης και του αιθυλ- αμμωνίου. Η επίδραση των ιοντικών και των ευτηκτικών υγρών στα δομικά και καταλυτικά χαρακτηριστικά οξειδοαναγωγικών μεταλλο-ενζύμων μελετήθηκε μέσω φασματοσκοπικών τεχνικών όπως η φασματοσκοπία UV-Vis και ATR-IR, καθώς επίσης και κινητικών μελετών της οξειδωτικής τους δράσης.

STRUCTURE-ACTIVITY STUDIES OF METALLOPROTEINS IN GREEN IONIC SOLVENTS

Evdoxia Efstathiadou 1, Papadopoulou Athena 1, Katsoura Maria 1, Alivertis Dimitris 2, Polydera Angeliki 1, Katapodis Petros 1, Stamatis Haralambos 1

1/ Laboratory of Biotechnology, Department of Biological Application and Technologies, University of Ioannina, Greece, (hstamati@cc.uoi.gr) - 2/ Laboratory of Organic Chemistry, Department of Biological Application and Technologies, University of Ioannina, Greece

Ionic liquids (ILs), also called molten salts are mixtures of cations and anions that melt below 100°C and have received a considerable attention over the last decade as an environmentally friendly alternative to organic solvents. Due to their interesting physical and chemical properties such as negligible vapor pressure, ability to dissolve various hydrophobic/hydrophilic compounds and excellent chemical and thermal stability they have been widely used as “green” media for biocatalytic processes. Since they were chemically characterized in the 1960s the types of ILs extended to include new generations with improved, more specific and environmental friendly properties. Recently a third generation of ILs is emerging with structures comprising biodegradable and readily available with lower toxicity ions. Another recently discovered and promising category of solvents constitute deep eutectic solvents (DES). DES are physical mixtures of salts such as choline chloride with uncharged hydrogen bond donors such as urea or glycerol. Due to their simplicity in preparation and their inexpensive and biodegradable components, DES represent an attractive alternative to organic solvents for enzyme-catalyzed reactions. In the present study, the synthesis of four hydroxyl ammonium based ILs has been developed together with various choline chloride and ethyl ammonium chloride based DES. In order to investigate the effect of various reaction parameters that affect the structure and the catalytic behavior of metalloenzymes in these environmental friendly reaction media, we chose cytochrome c (cyt c) as a model protein, since it is one of the most thoroughly physicochemically characterized metalloprotein. Through UV-Vis and ATR-FTIR spectroscopic studies and kinetic studies we investigated the structure-function relationship of protein molecule in various ILs and DES-based solvent systems.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΛΥΔΕΚΑΕΤΟΥΣ ΤΑΛΑΝΤΩΣΗΣ ΤΟΥ ΑΤΛΑΝΤΙΚΟΥ (ATLANTIC MULTIDECADAL OSCILLATION, AMO) ΣΤΑ ΠΕΛΑΓΙΚΑ ΨΑΡΙΑ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ

Ζηκίδου Χριστίνα, Τσίκληρας Αθανάσιος

Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη Email: atsik@bio.auth.gr

Το κλιματικό φαινόμενο της πολυδεκαετούς ταλάντωσης του Ατλαντικού (Atlantic Multidecadal Oscillation, AMO) ορίζεται ως η αποκλίνουσα τρέχουσα μέση τιμή των ανωμαλιών της επιφανειακής θερμοκρασίας στον Βόρειο Ατλαντικό (0°-60°N) και φαίνεται να επιδρά στους πληθυσμούς των μικρών και μεσαίων πελαγικών ψαριών του Ατλαντικού και της Μεσογείου. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να διερευνηθεί η επίδραση του κλιματικού φαινομένου της πολυδεκαετούς ταλάντωσης του Ατλαντικού (Atlantic Multidecadal Oscillation, AMO) στις συλλήψεις ανά μονάδα αλιευτικής προσπάθειας (catch per unit of effort, CPUE) τεσσάρων μικρών (σαρδέλα *Sardina pilchardus*, γάυρος *Engraulis encrasicolus*, φρίσσα *Sardinella aurita*, παπαλίνα *Sprattus sprattus*) και τεσσάρων μεσαίων (σκουμπρί *Scomber scombrus*, κολιός *Scomber japonicus*, γκριζοσαύριδο *Trachurus trachurus*, ασπροσαύριδο *Trachurus mediterraneus*) πελαγικών ψαριών του Αιγαίου Πελάγους. Τα δεδομένα της αλιευτικής παραγωγής καταγράφηκαν από τη Γενική Αλιευτική Επιτροπή για τη Μεσόγειο (General Fisheries Commission for the Mediterranean, GFCM) για την περίοδο 1970-2011 και ο δείκτης AMO από την Εθνική Διεύθυνση Ωκεανών και Ατμόσφαιρας των ΗΠΑ (National Oceanic & Atmospheric Administration, NOAA). Ως αλιευτική προσπάθεια χρησιμοποιήθηκε ο αριθμός των γρι-γρι. Οι τιμές CPUE συσχετίστηκαν με τον δείκτη AMO με απλή συσχέτιση και δοκιμή όλων των πιθανών μοντέλων και γραμμών τάσης. Βρέθηκε θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ του AMO και της CPUE του γαύρου *Engraulis encrasicolus* (συντελεστής συσχέτισης = 0.72, $r^2 = 0.53$, $P = 0.000$) και της φρίσσας *Sardinella aurita* (συντελεστής συσχέτισης = 0.73, $r^2 = 0.54$, $P = 0.000$) και αρνητική μεταξύ του AMO και της CPUE του ασπροσαύριδου *Trachurus mediterraneus* (συντελεστής συσχέτισης = - 0.64, $r^2 = 0.42$, $P = 0.000$). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της CPUE των υπόλοιπων ειδών με τον δείκτη AMO.

THE EFFECT OF ATLANTIC MULTIDECADAL OSCILLATION (AMO) ON THE PELAGIC FISHES OF THE AEGEAN SEA

Zikidou Christina, Tsikliras Athanassios

Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece Email: atsik@bio.auth.gr

Atlantic Multidecadal Oscillation (AMO) is defined as the de-trended, decadal running mean of sea surface temperature anomalies in North Atlantic (0°-60°N), and seems to affect the small and medium pelagic fish populations in the Atlantic and the Mediterranean Sea. The aim of the present work is to examine the effect the Atlantic Multidecadal Oscillation (AMO) on the catches per unit of effort (CPUE) of four small (european sardine *Sardina pilchardus*, european anchovy *Engraulis encrasicolus*, round sardinella *Sardinella aurita*, sprat *Sprattus sprattus*) and four medium (atlantic mackerel *Scomber scombrus*, chub mackerel *Scomber japonicus*, Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus*, Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus*) pelagic fishes of the Aegean Sea. The Aegean Sea catches were downloaded from the General Fisheries Commission for the Mediterranean (GFCM) for the period 1970-2011 and the AMO index from the National Oceanic & Atmospheric Administration of the US (NOAA). The number of purse seine vessels was used as a proxy of fishing effort. CPUE per species was correlated with AMO index after testing for all available models and functions. A positive linear correlation was observed between AMO index and the CPUE of anchovy *Engraulis encrasicolus* (correlation coefficient = 0.72, $r^2 = 0.53$, $P = 0.000$) and round sardinella *Sardinella aurita* and AMO index (correlation coefficient = 0.73, $r^2 = 0.54$, $P = 0.000$) and a negative linear correlation between AMO index and the CPUE of Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus* (correlation coefficient = - 0.64, $r^2 = 0.42$, $P = 0.000$). No correlations emerged between the CPUE of the remaining species and AMO index.

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΛΕΙΑΣ - ΘΗΡΕΥΤΗ: ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΟΥΝ ΟΙ ΣΑΥΡΕΣ ΤΑ ΦΙΔΙΑ;

Ζιώγα Μαριάνθη, Παφίλης Παναγιώτης

*Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας*

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ λείας και θηρευτή συνεξελήχθηκαν. Η ταχεία αναγνώριση του επίδοξου εχθρού σημαίνει διάσωση ενώ για τον θηρευτή επιτυχημένη επίθεση. Σε χαμηλή θηρευτική πίεση οι αρχικές συμπεριφορικές αποκρίσεις ατονούν. Εδώ εξετάσαμε πως αντιδρούν απέναντι σε φίδια δύο είδη σαυρών προερχόμενα από πέντε βιοτόπους. Εστιάσαμε σε τρεις πληθυσμούς της αιγαιόσαυρας (*P. erhardii*), έναν με παρουσία φιδιών (Νάξος) και δύο χωρίς φίδια (Ανάφη, νησίδα Αγ. Ανδρέας Νάξου) και σε δύο πληθυσμούς της σαύρας της Σκύρου με (Σκύρος) και χωρίς (Διαβάτες Σκύρου) φίδια. Οι σαύρες διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 30°C. Κάθε άτομο εκτέθηκε σε τέσσερις διαφορετικές συνθήκες για 15 λεπτά. Στην πρώτη περίπτωση (μάρτυρας) η σαύρα τοποθετήθηκε σε terrarium με καθαρή άμμο. Στην δεύτερη η σαύρα τοποθετήθηκε σε terrarium όπου προηγουμένως είχε παραμείνει επί τριώρο φίδι (χημικό ερεθίσμα). Στην τρίτη περίπτωση, η σαύρα τοποθετήθηκε σε terrarium με καθαρή άμμο και οπτική επαφή με φίδι (οπτικό ερεθίσμα). Τέλος, η τέταρτη περίπτωση αποτελεί συνδυασμό χημικών και οπτικών ερεθισμάτων (οπτική επαφή με φίδι το οποίο προηγουμένως είχε παραμείνει στο terrarium). Σε κάθε περίπτωση ύστερα από ανάλυση των μαγνητοσκοπημένων καταγραφών προέκυψε ηθόγραμμα. Οι αποκρίσεις των σαυρών διέφεραν ανάλογα με τον πληθυσμό προέλευσης. Οι αιγαιόσαυρες αντέδρασαν εντονότερα στα χημικά ερεθίσματα αντί στα οπτικά. Οι σαύρες από τη Νάξου αντέδρασαν επίσης απέναντι στα οπτικά ερεθίσματα ενώ οι πληθυσμοί της Ανάφης και του Αγ. Ανδρέα δεν επέδειξαν κάποια ιδιαίτερη συμπεριφορά. Στην περίπτωση της σκυριανής σαύρας, τα ζώα από το κυρίως νησί έδειξαν δραστηριότητα απέναντι στα οπτικά ερεθίσματα ενώ ο πληθυσμός των Διαβάτων παρέμεινε αδρανής. Φαίνεται ότι η εμπειρία του πληθυσμού της Νάξου αποτυπώνεται στις πιο ζωηρές αντιδράσεις των σαυρών. Αντίθετα η πλήρης απομόνωση από τα φίδια στους πληθυσμούς της Ανάφης και των Διαβάτων είναι υπεύθυνη για την απώλεια αμυντικών συμπεριφορών.

RECOGNITION AND RESPONSES BETWEEN PREY - PREDATOR: CAN LIZARDS RECOGNIZE SNAKES?

Zioga Marianthi, Pafilis Panayiotis

*Section of Zoology and Marine Biology, Dept. of Biology, National and Kapodistrian University of
Athens*

The predator-prey interactions coevolved. The fast recognition means rescue whereas for the predator means successful attack. In poor predation regimes the initial defense responses attenuate. Here we investigated how two lizard species, coming from five biotopes, respond to snakes. We focused on three populations of the Aegean wall lizard (*Podarcis erhardii*), one from an island hosting snakes (Naxos) and two from snake-free biotopes (Anafi, islet Aghios Andreas) and on two populations of the Skyros wall lizard (*P. gaigeae*) deriving from locations with (Skyros) and without snakes (islet Diavates). Lizards were housed in individual terraria under constant temperature (30°C). Each individual experienced four distinct stimuli: a “blind” trial (terrarium with clean sand), a chemical stimulus (lizard was inserted in a terrarium that previously hosted a snake for three hours), an optical stimulus (lizard had only visual access to snake) and a combined stimuli (visual contact with a snake that was previously housed in the lizard terrarium). All trials lasted 15 minutes and were recorded with a digital camera. The analyses of these recordings provided ethograms. Lizard responses varied among populations. All *P. erhardii* populations reacted more keenly towards chemical stimuli compared to the optical ones. The Naxos lizards demonstrated a vivid response against optical responses while the Anafi and Aghios Andreas lizards did not adopt any particular behavior. In the case of *P. gaigeae*, lizards from the main island were more active during their exposure to optical stimuli while the Diavates population remained behaviorally inert. The experience of Naxos lizards was reflected to the strong reactions in this population. Lizards from the snake-free Anafi and the islets Aghios Andreas and Diavates probably lost their antipredator behavioral responses.

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΚΥΝΟΔΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

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

Η εκτίμηση των βασικών βιολογικών γνωρισμάτων του ατόμου θεωρείται μείζονος σημασίας στην ιατροδικαστική διερεύνηση σκελετικού υλικού. Στη περίπτωση αυτή, ο καθορισμός του φύλου και της ηλικίας αποτελούν απαραίτητη προϋπόθεση κατά τη διαδικασία ταυτοποίησης του ατόμου. Τα δόντια αποτελούν αξιοποιήσιμο βιολογικό υλικό για τον καθορισμό του φύλου και της ηλικίας, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις κακής διατήρησης των ανευρεθέντων οστών. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να αξιολογήσει τη δυνατότητα εφαρμογής των κυνόδοντων στην ιατροδικαστική ταυτοποίηση σκελετικού υλικού. Συνολικά εξετάσθηκαν οι κυνόδοντες 73 ατόμων (43 αρρενα και 30 θήλεα άτομα) από τη σκελετική συλλογή του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ. Με τη βοήθεια ψηφιακού διαστημόμετρου ελήφθησαν η εγγύς-άπω και χειλική-γλωσσική διάμετρος της μύλης και του αυχένα του δοντιού, το μέγιστο μήκος της ρίζας εγγύς, άπω, χειλικά και γλωσσικά, καθώς επίσης η διαύγαση του ακρορριζίου και η ζώνη υφίξεσης των ούλων στον αυχένα του δοντιού. Για τον προσδιορισμό του φύλου εφαρμόστηκε η μέθοδος της διαχωριστικής ανάλυσης, ενώ για την εκτίμηση της ηλικίας η μέθοδος Lamendin. Όλες οι υπό εξέταση μετρήσεις παρουσίαζαν υψηλά ποσοστά φυλετικού διμορφισμού, κυμαινόμενα από 5,81% έως 13,83%. Παρατηρήθηκε ότι οι κυνόδοντες της άνω γνάθου ήταν τα πιο διμορφικά δόντια σε σύγκριση με αυτούς της κάτω γνάθου. Όσον αφορά στην εκτίμηση της ηλικίας, βρέθηκε ότι οι μετρήσεις της ζώνης υφίξεσης των ούλων και της διαύγασης του ακρορριζίου παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την ηλικία. Η εν λόγω μέθοδος διαπιστώθηκε ότι ήταν ιδιαίτερα ακριβής κυρίως στα μεσήλικα άτομα (30-59 ετών), όπου παρατηρήθηκε μια μικρή υποεκτίμηση της ηλικίας (μέσο σφάλμα -3,73 έως -1,48). Συμπερασματικά, οι κυνόδοντες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικό υλικό για την ταυτοποίηση σκελετικού υλικού, με τους κυνόδοντες της άνω γνάθου να παρουσιάζουν πιο ακριβή αποτελέσματα.

CONTRIBUTION OF CANINE TEETH IN FORENSIC IDENTIFICATION OF SKELETAL REMAINS

Zorba Eleni, Anastopoulou Ioanna, Moraitis Konstantinos

*Department of Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Medicine, University of Athens 75 M.
Asias Str., 11527 Athens, Greece*

Reconstructing the biological profile of an unknown individual is essential in forensic investigation of skeletal remains. The estimation of sex and age are among the most important and critical issues in the identification process. Teeth are considered a usable biological material for assessing sex and age, especially when skeletal remains are in poor condition. The purpose of the present study is to evaluate the applicability of canine teeth in the forensic identification of skeletal remains. The canines of 73 individuals (43 males and 30 females) from the Athens Collection were examined. Crown and cervical mesio-distal and bucco-lingual diameters, the mesial, distal, buccal and lingual root height, as well as transparency of the root and periodontosis were measured using a digital sliding caliper. Discriminant function analysis was used for determining sex and Lamendin's method for assessing age. All the tested measurements presented high degree of sexual dimorphism between males and females, ranged from 5.81% to 13.83%. Maxillary canines were more dimorphic than the mandibular canines. As regards age estimation, periodontosis and transparency presented significant positive correlation with age. This method was very accurate, especially for estimating the age of middle-aged individuals (30-59 years), where a small underestimation was observed (bias ranged from -3.73 to -1.48). In conclusion, canines can be used as an alternative material for the identification of skeletal remains, with maxillary canines to be more accurate than the mandibular ones.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ DICHLOROACETIC ACID ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ ΠΡΟΣΤΑΤΗ: ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ENZYMΩΝ ΠΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ WARBURG

Θεοφανίδου Α. Θεοδώρα, Κουκουράκης Ι. Μιχαήλ

*Μονάδα Ακτινοβιολογίας και Ακτινοπαθολογίας, Κλινική Ακτινοθεραπείας/ Ογκολογίας,
Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, 68100 Αλεξανδρούπολη*

Ένα από τα χαρακτηριστικά του μεταβολισμού των καρκινικών κυττάρων είναι η χρήση του μονοπατιού της γλυκόλυσης ως κύριας πηγής ενέργειας, ακόμη και σε επαρκείς συνθήκες οξυγόνωσης. Η κατάσταση είναι γνωστή ως «φαινόμενο Warburg». Ένα μιτοχονδριακό ένζυμο που εμπλέκεται άμεσα στο φαινόμενο, είναι η κινάση της πυρουβικής δεϋδρογενάσης (PDK), που φωσφορυλιώνει την πυρουβική δεϋδρογενάση (PDH) στην E1 υπομονάδα. Η PDH αποτελεί ουσιαστικά την πύλη εισόδου του πυροσταφυλικού στον αερόβιο μεταβολισμό μέσω της μετατροπής του σε ακετυλο-CoA. In vitro μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστώματος και καρκίνου του μαστού, έχουν δείξει ότι το Dichloroacetic Acid (DCA) αποτελεί μικρομοριακό αναστολέα της PDK, προκαλεί απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και μεταστροφή του μεταβολισμού τους προς την αερόβια πορεία. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί η ικανότητα του DCA να αναστέλλει την ενεργότητα της ισομορφής PDK1 στην κυτταρική σειρά DU145 καρκίνου του προστάτη και να προκαλεί αναστολή της ανάπτυξής τους (κυτταροτοξικότητα). Αρχικά, η επίδραση αυξανόμενων συγκεντρώσεων DCA σε κύτταρα DU145 για 24 και 48 ώρες οδήγησε σε δόσο-εξαρτώμενη αναστολή της βιωσιμότητάς τους, όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Alamar Blue. Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του Western blot έδειξαν καταστολή της δράσης της PDK1, το οποίο είναι εμφανές από την απουσία έκφρασης της p-PDH μετά από επίδραση των κυττάρων με τον αναστολέα για 24 και 48 ώρες. Συμπερασματικά, εφόσον το DCA καταστέλλει την PDK1 στην κυτταρική σειρά DU145 καρκίνου του προστάτη και είναι ικανό να προκαλεί απόπτωση, ένα επόμενο βήμα θα ήταν να μελετηθεί σε συνδυασμό με ακτινοθεραπεία προκειμένου να αυξηθεί η κυτταρική ευαισθησία στην κυτταροτοξική δράση της τελευταίας.

EFFECT OF DICHLOROACETIC ACID ON A PROSTATE CANCER CELL LINE: INHIBITION OF EXPRESSION OF MITOCHONDRIAL ENZYMES PARTICIPATING IN THE WARBURG EFFECT

Theophanidou A. Theodora, Koukourakis I. Michael

*Unit of Radiobiology and Radiopathology, Department of Radiotherapy /Oncology, Dept. of
Medicine, School of Health Sciences, Democritus University of Thrace, University Campus-
Dragana 68100, Alexandroupolis*

Cancer cell metabolism is characterized by multiple changes throughout its function. One of the most important aspects, called the “Warburg effect”, is that cancer cells prefer to exploit the anaerobic pathway of glycolysis in order to produce energy rather than the aerobic metabolism. A major mitochondrial enzyme involved in the above phenomenon is the kinase of pyruvate dehydrogenase (PDK) which phosphorylates the trimeric complex of pyruvate dehydrogenase (PDH) in the E1 subunit. PDH, is responsible for the conversion of pyruvate into acetyl-CoA. Data from in vitro studies of glioblastoma and breast cancer cell lines, indicate that a small micromolecular inhibitor of PDK called Dichloroacetic acid (DCA), results in apoptosis of cancer cells and metabolic switch from anaerobic to aerobic condition. Based on these concepts, the main goal of this study was to investigate if DCA has the ability to suppress the activity of PDK1 isoform in the DU145 prostate cell line, as well as inhibiting their growth (cytotoxicity effect). Initially, incubation with crescent concentration doses of DCA for 24 and 48 hours, indicated a dose-dependent inhibition of cell viability, as it was determined by the Alamar Blue assay. After that, Western Blot analysis, showed that PDK1 activity was suppressed as confirmed by the absence of p-PDH expression after the incubation with DCA for 24 and 48 hours. Considering the fact that DCA suppresses PDK1 activity in the DU145 prostate cancer cell line and also causes apoptosis, one future step could be the combination with radiotherapy in order to investigate the enhancement of the cytotoxic action of radiotherapy.

Η ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΣΗ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ SLUG, SNAIL, TWIST, TGF- β ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΗ-ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΗ ΜΕΤΑΠΤΩΣΗ (EMT) ΣΕ ΠΡΟΓΟΝΙΚΑ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΣΤΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ HC11

**Θρασυβούλου Σωτηρούλα¹, Γκάρτζιου Φωτεινή¹, Νουτσόπουλος Δημήτριος¹,
Βαρθολομάτος Γεώργιος², Κωνσταντίνου Ανδρέας³, Τζαβάρας Θεόδωρος¹**

*1/ Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα 2
Αιματολογικό Εργαστήριο, 2/Τμήμα Μοριακής Βιολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο
Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα 3/ Τμήμα Βιολογικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Κύπρου,
Κύπρος*

Τα ρετρομεταθετά στοιχεία αποτελούν ενδογενή συστατικά του γενώματος και είναι ικανά να μετατίθενται σε νέες θέσεις στο γένωμα, μέσω ενός ενδιάμεσου ρετροτρανσποζονιακού RNA. Η ρετρομετάθεση αποτελεί ένα σημαντικό μεταλλαξιγόνο παράγοντα, όμως η άμεση επίπτωση των γεγονότων ρετρομετάθεσης στην καρκινογένεση δεν είναι ακόμη γνωστή. Η EMT διαδραματίζει κύριο ρόλο στην εμβρυογένεση συμβάλλοντας στην διαφοροποίηση επιθηλιακών κυττάρων προς μεσεγχυματικά, ενώ η επαγωγή της στην ενήλικη ζωή εμπλέκεται σε παθολογικές καταστάσεις και στην καρκινογένεση. Η EMT μπορεί να επαχθεί στα επιθηλιακά κύτταρα μαστού μετά από έκθεσή των σε διάφορες κυτοκίνες, όπως ο TGF- β 1, ή από εξωγενή έκφραση μεταγραφικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των οικογενειών Twist και Snail. Αρχικά, αποδείξαμε ότι η διαμόλυνση ενός σημασμένου EGFP-VL30 ή -LINE-1 ρετρομεταθετού στοιχείου σε προγονικά κύτταρα μαστού ποντικού HC11, παρήγαγε γεγονότα ρετρομετάθεσης που στοιχειοθετήθηκαν με FACS και επιβεβαιώθηκαν με μικροσκοπία UV και PCR σε απομονωμένους μαζικούς και μονήρεις κλώνους. Η μορφολογική εξέταση των θετικών σε ρετρομετάθεση κλώνων αποκάλυψε την επαγωγή της διαδικασίας μετάπτωσης από επιθηλιακό προς μεσεγχυματικό φαινότυπο που τεκμηριώθηκε: από την αλλαγή της κυτταρικής μορφολογίας, πλήρη απώλεια έκφρασης της E-καντερίνης και σύγχρονη έκφραση των μεσεγχυματικών δεικτών της N-καντερίνης και φμπρονεκτίνης, όπως επιβεβαιώθηκε με έμμεσο ανοσοφθορισμό συνεστιακής μικροσκοπίας και ανοσοαποτύπωση κατά Western. Επιπρόσθετη ανάλυση με Real Time-PCR απέδειξε ότι τα επίπεδα έκφρασης mRNA των παραγόντων Slug, Snail, Twist και TGF- β 1, ήταν σημαντικά επαγμένα στους θετικούς ρετρομετάθεσης μαζικούς κλώνους, σε σύγκριση με τα κύτταρα-μάρτυρα HC11. Συνοπτικά, τα αποτελέσματά μας υποστηρίζουν ότι η ρετρομετάθεση των ρετροτρανσποζονίων VL30 ή LINE-1 συσχετίζεται με την αύξηση της έκφρασης των παραγόντων Slug, Snail, Twist, TGF- β 1 και την επαγωγή EMT σε προγονικά κύτταρα μαστού ποντικού HC11.

RETROTRANSPOSITION INDUCES SLUG, SNAIL, TWIST AND TGF- β EXPRESSION CORRELATED TO EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION (EMT) IN PROGENITOR MOUSE EPITHELIAL MAMMARY HC11 CELLS

**Thrasyvoulou Soteroula¹, Gkartziou Foteini¹, Noutsopoulos Demetrios¹, Vartholomatos
Georgios², Constantinou Andreas³, Tzavaras Theodoros¹**

*1/ Laboratory of General Biology, University of Ioannina, 45 110 Ioannina, Greece. 2/ Hematology
Laboratory, Unit of Molecular Biology, University Hospital of Ioannina, Ioannina, Greece. 3/
Department of Biological Sciences, Faculty of Pure and Applied Sciences, University of Cyprus,
Cyprus*

Retrotransposons are mobile genetic elements that replicate through an RNA intermediate, which is subsequently copied into genomic DNA by a reverse transcriptase enzyme. Retrotransposition is a mutation factor, but the direct effect of retrotransposition in carcinogenesis is not known. The epithelial-mesenchymal transition is a highly conserved cellular program that allows polarized, immotile epithelial cells to convert to motile mesenchymal cells. EMT occurs mainly during normal embryonic development and has recently been implicated in promoting carcinoma invasion and metastasis. EMT can be induced in mammary epithelial cells by exposure to certain cytokines, such as TGF- β 1, or by exogenous expression of various transcription factors, including those of the Twist or Snail families. Initially, we showed that the transfection of an EGFP-tagged VL30 or -LINE-1 retrotransposon element in HC11 cells produced a high frequency of retrotransposition events, measured by FACS, as early as 48 hours following transfection. Occurrence of retrotransposition events was further confirmed by UV microscopy and PCR analysis in isolated clones. Morphological examination of retrotransposition-positive massive or single clones revealed induction of EMT demonstrated by: changes in cellular morphology, complete absence of E-cadherin expression and acquisition of the mesenchymal markers N-cadherin and fibronectin. Additionally, Real Time-PCR analysis showed that the mRNA expression of EMT-associated factors Slug, Snail, Twist and TGF- β 1 was significantly induced in retrotransposition-positive massive clones in comparison with normal HC11 cells. Collectively, our results support that retrotransposition of VL30s or LINE-1 causes the EMT process in mouse mammary progenitor epithelial cells, through induction of transcription factors Slug, Snail, Twist and TGF- β .

**ΠΡΟΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ
MIR-195, MIR-155 ΚΑΙ MIR-21 ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΠΟΥ
ΕΧΟΥΝ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΜΑΣΤΕΚΤΟΜΗ.**

**Ιγγλέζου Μαρία¹, Βαρέλη Κατερίνα^{1,2}, Δρόλια Μαρίνα¹, Γεωργίου Γεωργίος³, Σαϊνης
Ιωάννης¹, Μπριασούλης Ευάγγελος^{1,4}**

*1/Διεπιστημονικό Εργαστήριο Μοριακής Ογκολογίας, Βιοτράπεζα Καρκίνου,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110, Ελλάδα- 2/Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και
Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110, Ελλάδα-3/ Τμήμα
Χειρουργικής, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45500, Ελλάδα - 4/
Τμήμα Αιματολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45500, Ελλάδα*

Τα τελευταία χρόνια η έρευνα στον τομέα της Ογκολογίας έχει επικεντρωθεί σε μεγάλο βαθμό στην αγγειογένεση του καρκίνου. Στην πορεία των ερευνών άρχισε να μελετάται το ενδεχόμενο πιθανής προαγωγής της μεταστατικής διασποράς της νόσου μετά την χειρουργική εξαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου μέσω ενεργοποίησης της αγγειογένεσης. Σημαντικός ρόλος στη διαδικασία της ογκογένεσης αποδίδεται τα τελευταία χρόνια στα microRNAs τα οποία είναι μικρά μη κωδικοποιητικά RNA μήκους περίπου 22 νουκλεοτιδίων. Εμπλέκονται σε ένα σημαντικό αριθμό βιολογικών διεργασιών και ρυθμίζουν αρνητικά την έκφραση γονιδίων κυρίως σε μεταφραστικό επίπεδο. Στο πλαίσιο ελέγχου της επίδρασης της χειρουργικής πράξης μαστεκτομής μελετήσαμε την κινητική τριών microRNAs (miR-195, miR-21, miR-155) που σχετίζονται με την ογκογένεση και την αγγειογένεση στο αίμα ασθενών με καρκίνο του μαστού προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά. Το πληθυσμιακό δείγμα ήταν ασθενείς με καρκίνο του μαστού ή καλοήγη όγκο μαστού (ομάδα ελέγχου) που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική του μαστού, σε 3 διαφορετικούς χρόνους• προεγχειρητικά, την 3η, 7η και την 30η μετεγχειρητική ημέρα. Πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA όπου μετατράπηκε σε cDNA για να γίνει η μελέτη με Real Time PCR. Αποτελέσματα : MiR-195: Τα επίπεδα έκφρασης ήταν υψηλότερα σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού σε σύγκριση με τις ασθενείς με καλοήθεις παθήσεις. Υπήρξαν ενδείξεις ότι παρατηνόμενα αυξημένα επίπεδα μετεγχειρητικά αποτελούν ενδεχόμενα ένα δυνητικό προγνωστικό δείκτη ταχείας υποτροπής. MiR-155: Τα επίπεδα έκφρασης των ασθενών προεγχειρητικά ήταν παρόμοια με την ομάδα ελέγχου. Υπήρχε διαφοροποίηση της έκφρασης ανάμεσα στους ασθενείς μετεγχειρητικά. MiR-21: Στην πλειονότητα των ασθενών ανιχνεύθηκε μείωση των επιπέδων έκφρασης 3 ημέρες μετά από τη χειρουργική επέμβαση. Συμπερασματικά, η χειρουργική του μαστού φαίνεται να επηρεάζει την κινητική microRNA που σχετίζονται με την αγγειογένεση. Η διερεύνηση και πιθανής τεκμηρίωσης της κλινικής σημασίας αυτού του φαινομένου χρειάζεται μελέτη σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών.

PRE-OPERATIVE AND POST-OPERATIVE EXPRESSION LEVELS OF MIR-195, MIR-155 AND MIR-21 IN BREAST CANCER PATIENTS SUBJECTED TO MASTECTOMY

**Igglezou Maria¹, Vareli Katerina^{1,2}, Drolia Marina¹, Georgiou Georgios³, Sainis Ioannis¹,
Briasoulis Evangelos^{1,4}**

1/Interscience Molecular Oncology Laboratory, Human Cancer Biobank Center, University of Ioannina, Ioannina 45110, Greece- 2/Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, Ioannina 45110, Greece- 3/ Surgical Department, University Hospital of Ioannina, Ioannina 45500, Greece- 4/Haematology Department, University Hospital of Ioannina, Ioannina 45500, Greece-

In recent years research the field of oncology has been focused largely on angiogenesis of cancer. During researches were investigated, a possible promotion of metastatic spread of the disease after surgical resection of the primary tumor through activation of angiogenesis. Important role in the process of tumorigenesis is attributed in recent years to microRNAs which are small noncoding RNA of approximately 22 nucleotides in length. They are involved in important biological processes and regulate negatively gene expression mainly at the translational level. Under control of the effect of the surgical mastectomy we studied the kinetics of three microRNAs (miR-195, miR-21, miR-155) related to tumorigenesis and angiogenesis in the blood of patients with breast cancer preoperatively and post-operatively. The sample population was patients with breast cancer or benign breast tumor (control group) who have undergone mastectomy, in 3 different times ; preoperatively , 3rd , 7th and 30th postoperative day. We isolated total RNA which was converted into cDNA due to be studied by Real Time PCR. Results: MiR-195: The expression levels were higher in patients with breast cancer compared with patients with benign disease. There were indications that persistent elevated levels postoperatively are possible a potential predictor of rapid relapse. MiR-155: The expression levels of the patients before surgery were similar to the control group . There was no difference of expression between patients. MiR-21: In the majority of patients detected decrease expression levels 3 post-operatively. In conclusion, breast surgery appears to influence the kinetics microRNA associated with angiogenesis. The investigation and documentation of potential clinical importance of this phenomenon need to be studied by a larger number of patients.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΑΒΙΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΣΕ ΣΑΥΡΕΣ

Καζίλα Ευαγγελία, Παφίλης Παναγιώτης

*Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια, 157-84, Αθήνα*

Ο αμυντικός μηχανισμός της αυτοτομίας στις σαύρες ακολουθείται από την αναγέννηση της ουράς. Η ουρά χρησιμεύει ως επικουρικό όργανο στην κίνηση, ως αποθήκη λίπους και ως δείκτης κοινωνικής θέσης. Συνεπώς, η αναγέννησή της θα πρέπει να είναι πλήρης και ταχεία προκειμένου να εξυπηρετούνται αυτές οι λειτουργίες. Η ταχύτητα και η αποδοτικότητα της ανάπλασης της ουράς εξαρτώνται από μία πληθώρα παραγόντων (τροφική διαθεσιμότητα, θερμοκρασία, πληθυσμιακή πυκνότητα, παρασιτισμός κ.ά.). Στην παρούσα εργασία επικεντρωθήκαμε στην επίδραση του τρόπου διαβίωσης τριών ειδών σαυρών του γένους *Podarcis* (πελοποννησιακή γουστέρα, *P. peloponnesiacus*, τοιχόσαυρα, *P. muralis* και βαλκανόσαυρα *P. tauricus*) στην αναγέννηση της ουράς. Οι σαύρες προέρχονται από τον ίδιο βιότοπο στην Πελοπόννησο (Λίμνη Δόξας, Φενεός Κορινθίας). Η συμπατρική κατανομή εξασφαλίζει ότι δέχονται ίδιο παρασιτικό φορτίο και θηρευτική πίεση. Επιπλέον πιθανές διαφορές λόγω φυλογένεσης περιορίζονται καθώς και τα τρία ανήκουν στο ίδιο γένος. Οι σαύρες μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου με προσομοίωση θήρευσης προκλήθηκε αυτοτομία της ουράς. Τα ζώα διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 25°C και τρέφονταν με προνύμφες κολεοπτέρων (*Tenebrio molitor*). Το μήκος της ουράς μετρούταν σε εβδομαδιαία βάση με ακρίβεια 0,1 mm έως τη συμπλήρωση έξι μηνών. Η βαλκανόσαυρα εμφάνισε τους υψηλότερους ρυθμούς και ποσοστά αναγέννησης, η πελοποννησιακή γουστέρα κατέλαβε ενδιάμεσες τιμές ενώ η τοιχόσαυρα σημείωσε τις χαμηλότερες επιδόσεις. Οι διαφορές αυτές μπορούν να αποδοθούν στη διαβίωση και το πρότυπο κίνησης των σαυρών. Η βαλκανόσαυρα είναι πολύ καλός δρομέας και προτιμά ανοιχτές εκτάσεις, η τοιχόσαυρα είναι άριστος αναρριχητής και απαντά σε υψηλούς βράχους, ενώ η πελοποννησιακή γουστέρα τρέχει και αναρριχάται εξίσου καλά. Καθώς η ουρά λειτουργεί ως αντίβαρο, επηρεάζει την ταχύτητα κατά το τρέξιμο, όχι όμως και στην αναρρίχηση, εξηγώντας την τάση για ταχύτερη και πληρέστερη αναγέννηση στη βαλκανόσαυρα και την πελοποννησιακή γουστέρα, σε αντίθεση με την τοιχόσαυρα.

THE IMPACT OF DWELLING AND MOTILITY PATTERNS ON TAIL REGENERATION IN LIZARDS

Kazila Evangelia, Pafilis Panagiotis

*Section of Zoology and Marine Biology, Dept. of Biology, National and Kapodistrian University of
Athens, Panepistimioupolis, Ilissia 157-84, Athens*

The defensive mechanism of tail autotomy in lizards is followed by caudal regeneration. Tail serves as an auxiliary limb in motion, in fat storage and as an index of social status. Thus, tail regeneration should be quick and full so as to restore these functions. The speed and efficiency of tail regeneration depends on numerous factors (food availability, temperature, population density, parasitism etc.). In this study we focused on the impact of the dwelling pattern of three *Podarcis* lizards (*P. peloponnesiacus*, *P. muralis* and *P. tauricus*) on tail regeneration. All three species derived from the same biotope in Peloponnese (Doxa lake, Feneos, Korinthia). Being sympatric, the three species experienced the same parasite load and predation pressure. Phylogenetic noise is eliminated since the three species belong to the same genus. Lizards were collected in the field before being transferred at laboratory facilities and held under the appropriate conditions (temperature 25°C, diet of mealworms). Tail length (accurate to 0.1 mm) was recorded every week for six months. *P. tauricus* showed the highest regeneration rates and efficiencies, *P. peloponnesiacus* achieved intermediate values whereas *P. muralis* had the lowest and slowest regeneration. We believe that the underlying reason for these results should be sought to the different dwelling and motility patterns of the three species. *P. muralis* is an excellent climber, preferring high rocks, *P. tauricus* lives in open areas where it runs in high speed while *P. peloponnesiacus* is capable of both running and climbing smoothly. Since tail serves as a counterbalance, it affects speed during running, but not while climbing, thus explaining the trend for higher regeneration values in *P. tauricus* and *P. peloponnesiacus*, as opposed to *P. muralis*.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΑΚΤΙΝΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΟΣ

**Κακουράτος Χρήστος, Καραπάντζου Ιωάννα, Ιλεμόσογλου Μαρία, Χόνδρου Παναγιώτα,
Γιατρομανωλάκη Αλεξάνδρα, Κουκουράκης Ι. Μιχαήλ**
Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

Το μικροπεριβάλλον του όγκου και ο κυτταρικός μεταβολισμός παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντοχή τους έναντι στην ιονίζουσα ακτινοβολία. Τα καρκινικά κύτταρα συχνά επιλέγουν το μονοπάτι του αναερόβιου μεταβολισμού της γλυκόζης, με «απενεργοποίηση» των μιτοχονδρίων και παραγωγή ενέργειας από την αναγωγή του πυροσταφυλικού προς γαλακτικό οξύ. Το γεγονός αυτό, τους προσδίδει σημαντικό προβάδισμα στην αντοχή τους έναντι στρεσογόνων συνθηκών (πχ. υποξία) αλλά και έναντι της ιονίζουσας ακτινοβολίας σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα. Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν χημικές ουσίες που παρεμβαίνουν στον κυτταρικό μεταβολισμό: 1. το χλωριούχο κοβάλτιο (CoCl_2), το οποίο μιμείται την υποξία, προστατεύοντας τον Hypoxia-Inducible Factor (HIF1a) από υδροξυλίωση. 2. η 2-δεοξυγλυκόζη (2DG), ένα δομικό ανάλογο της γλυκόζης, η οποία αναστέλλει το μονοπάτι της γλυκόλυσης στο στάδιο της ισομερείωσης και, 3. το διχλωροξικό οξύ (DCA), το οποίο επαναπροσδιορίζει την τύχη του πυροσταφυλικού προς ακετυλο-συνένζυμο A, αναστέλλοντας τη δράση της κινάσης της πυροσταφυλικής δεϋδρογενάσης (PDK). Με τη μέθοδο της Alamar Blue® Assay μελετήθηκε η επίδρασή των παραπάνω ουσιών στην βιωσιμότητα και στην ακτινευαισθησία των καρκινικών σειρών T98G και U87MG, που απομονώθηκαν από ασθενείς με γλοιοβλάστωμα. Ακόμα χρησιμοποιήθηκε η ανοσοαποτύπωση κατά western με σκοπό να μελετηθεί η έκφραση συγκεκριμένων πρωτεϊνών του κυτταρικού μεταβολισμού (HIF1a, PDH, phosphorylated PDH, PDK1, LDH5). Τα αποτελέσματά μας συγκλίνουν στο γεγονός σύνδεσης του αναερόβιου μεταβολισμού με την αντοχή των κυττάρων γλοιοβλαστώματος σε θεραπευτικές δόσεις ιονίζουσας ακτινοβολίας.

THE ROLE OF CELL METABOLISM IN RADIOSENSITIVITY OF GLIOBLASTOMA CELL LINES

**Kakoyratos X., Karapantzou I., Ilemosoglou M., Chondroy P., Giatromanvlaki A.,
Koukourakis M.**

Democritus University of Thrace

Tumour microenvironment and cell metabolism play an important role in radioresistance. Cancer cells often choose the anaerobic metabolism of glucose by “inactivating” mitochondria and by producing energy through the reduction of pyruvate to lactate. This fact may render them more resistant to ionizing radiation in comparison with normal cells. In the context of this study, we used the following molecules to interfere the cell metabolism: 1. CoCl₂, which imitates hypoxia by protecting HIF1 α from hydroxylation, 2. 2-deoxy-D-glucose (2DG), a structural analogue of glucose which inhibits the glycolysis pathway at the stage of isomerism. 3. Dichloroacetate DCA, which inhibits PDK's activity and redefines pyruvate's way towards acetyl-CoA. The effect of the compounds mentioned above on the viability and radiosensitivity of T98G and U87GM cell lines, isolated from patients with glioblastoma, was examined with the Alamar Blue® Assay. Additionally, the expression of the metabolic enzymes and proteins was examined with Western immunoblotting (HIF1 α , PDH, phosphorylated PDH, PDK1, LDH5). The results strongly support the hypothesis that anaerobic metabolism is a crucial component of glioblastoma cell radioresistance.

ΑΝΑΦΟΡΑ ΣΤΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΛΥΨΗΣ ΤΟΥ ΑΧΙΝΟΥ *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟ ΒΑΘΜΟ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΔΙΑΤΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ

**Καλαμποκίδη Άλκηστις, Κανελάκη Κατερίνα, Σαραφίδου Γεωργία, Χαριτωνίδου
Κατερίνα, Χιντήρογλου Χαρίτων - Σαράλ**

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη*

Η συμπεριφορά παραλλαγής, στην περίπτωση των αχινών, ορίζεται ως η ενεργητική κάλυψη των αχινών με αντικείμενα του περιβάλλοντός τους. Μια από τις υποθέσεις που ερμηνεύουν τη συμπεριφορά αυτή, αναφέρει ότι η συμπεριφορά σχετίζεται με την κυματική δράση - βαθμός έκθεσης των ακτών όπου αναπτύσσονται οι πληθυσμοί των αχινών. Ως προς αυτήν την παράμετρο μελετήθηκε το είδος *Paracentrotus lividus* από φωτογραφικό υλικό που τραβήχτηκε το καλοκαίρι του 2013, στις ακτές της Καβάλας (Τόσκα - προφυλαγμένη, Σαρακίνα - εκτεθειμένη). Από τις φωτογραφίες μετρήθηκαν τα άτομα που κάλυπταν το σώμα τους με διάφορα υλικά. Στη συνέχεια έγινε προσπάθεια προσδιορισμού των υλικών αυτών στη βάση της βιοτικής ή αβιοτικής προέλευσής τους και όπου ήταν δυνατό ταυτοποιήθηκαν μέχρι το επιτρεπτό επίπεδο ταξινόμησης. Από το σύνολο των αχινών της Τόσκας το 71% εμφάνιζε συμπεριφορά κάλυψης ενώ στη Σαρακίνα το 50%. Οι αχινοί στην περιοχή της Τόσκας προτίμησαν σε ποσοστό 38% ως υλικά κάλυψης τα δίθυρα, ενώ στη Σαρακίνα τα γαστερόποδα με 29% και τα φύκη με 26%. Από το σύνολο των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας προκύπτει πως η κάλυψη των αχινών για τις περιοχές μελέτης τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το βαθμό έκθεσης. Από την άλλη, τα υλικά κάλυψης που βρέθηκαν να καλύπτουν τους αχινούς μάλλον σχετίζονται με τη διαθεσιμότητά τους στο ενδιαίτημα (π.χ. το *Mytilus galloprovincialis* αφθονεί στην Τόσκα). Πέραν των όσων αναφέρθηκαν, σημειώνεται πως η συμπεριφορά παραλλαγής των αχινών παραμένει ως ένα πολύ ενδιαφέρον κεφάλαιο της συμπεριφοράς των ζώων, καθώς μέχρι σήμερα δεν έχουν απαντηθεί πολλές πτυχές της.

NOTES ON THE COVERING BEHAVIOR OF THE SEA URCHIN *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) ASSOCIATED WITH THEIR HABITAT EXPOSURE TO WAVES

**Kalabokidi Alkestis, Kanelaki Katerina, Sarafidou Georgia, Haritonidou Katerina,
Chintiroglou Chariton-Charles**

*Laboratory of Zoology, Department Zoology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle
University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki*

The covering behavior of sea urchins is the active covering of their body using material from the surrounding environment. One of the cases that interprets this behavior, indicates that it is associated with the coastal exposure to wave action. We examined the influence of this parameter using photographs taken in the summer of 2013 from two coasts of Kavala (N. Aegean), Toska (protected) and Sarakina (exposed). The individuals that were covered were counted and we defined the nature of the covering materials and the taxonomic level where possible. In the region of Toska 71% of the sea urchins were covered with the dominant material being bivalves (38%), while in Sarakina 50% were covered by mostly gastropods (29%) and algae (26%). Our results indicate that there is no significant influence between the sea urchins' covering behavior and the exposure of their habitat to wave action during that period. The covering materials are related to their availability at the environment (i.e. the mussel *Mytilus galloprovincialis* is abundant in Toska). The covering behavior of the sea urchins remains a very interesting chapter of the animal behavior as till today many of these issues have not been dealt with.

ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΒΙΟΑΕΡΙΟΥ ΑΠΟ ΕΝΖΥΜΙΚΑ ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΑΓΡΟΤΟ-ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Καλδής Φ., Ζαρκάδας Ι, Καταπόδης Π., Πηλίδης Γ.

*Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τμήμα βιολογικών εφαρμογών και τεχνολογιών ,
Πανεπιστημιούπολη Ιωαννίνων 45110*

Ο συνεχώς αυξανόμενος πληθυσμός του πλανήτη δημιουργεί δυο σημαντικά προβλήματα για την ανθρωπότητα. Αρχικά μαζί με τον πληθυσμό αυξάνονται και οι ενεργειακές του ανάγκες και δεύτερον αυξάνονται και τα απόβλητα που παράγονται από τις παραγωγικές διαδικασίες για την κάλυψη των καταναλωτικών αναγκών των κατοίκων. Η διαδικασία της αναερόβιας χώνευσης δύναται να δώσει λύσεις και στα δύο αυτά προβλήματα. Η στροφή προς τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας αποτελεί μονόδρομο για τη σύγχρονη κοινωνία καθώς τα ορυκτά καύσιμα δεν παρουσιάζουν ανεξάντλητα αποθέματα. Κατά την αναερόβια χώνευση διάφορα οργανικά απόβλητα ή/και υλικά ζυμώνονται μέσα σε κλειστές δεξαμενές απουσία οξυγόνου, με αποτέλεσμα την παραγωγή βιοαερίου το οποίο αποτελείται κυρίως από CH₄ (μεθάνιο) και CO₂ (διοξείδιο του άνθρακα). Το βιοαέριο μπορεί άμεσα να χρησιμοποιηθεί για την κάλυψη ενεργειακών αναγκών, το δε χωνεμένο υγρό που παράγεται μπορεί να καλύψει λιπαντικές ανάγκες στη γεωργία. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης της ενζυμικής προκατεργασίας διαφόρων αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων στην αναερόβια χώνευση με στόχο τη μέγιστη και ταχύτερη παραγωγή βιοαερίου. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκε η επίδραση ορθολογικά σχεδιασμένων ενζυμικών παρασκευασμάτων (λιπάσων, ξυλανάσων, πρωτεάσων και κυτταρινάσων) σε ζωικά λίπη, υγρά και στερεά απόβλητα ελαιοτριβείου, κρεατάλευρα, απόβλητα από κρασί και από τσίπουρο. Η ενζυμική προκατεργασία είχε ως αποτέλεσμα την ταχύτερη παραγωγή βιοαερίου κατά την αναερόβια χώνευση της πλειονότητας των αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων, ενώ η κατεργασία των κρεατάλευρων και των ζωικών λιπών οδήγησε στην αύξηση της συνολικής παραγωγής του. Αυτή η διαπίστωση παρουσιάζει αρκετά μεγάλο ενδιαφέρον καθώς μπορεί να επιτρέψει την αύξηση της παραγωγικότητας και αποδοτικότητας των συστημάτων αναερόβιας χώνευσης επιτρέποντας παράλληλα τη μείωση του μεγέθους των χωνευτών.

OPTIMIZING THE BIOGAS RECOVERY BY ENZYMATICALLY PRETREATED AGRO-INDUSTRIAL WASTES

Kaldis F., Zarkadas I., Katapodis P., Pilidis G.

*University of Ioannina, Department of Biological Applications & Technologies, Dourouti campus
45110*

The increasing number of humans on earth creates two significant problems. Firstly the energy requirements are increasing together with the volumes of wastes that are being generated. The anaerobic digestion process can provide a solution to these problems. The humanity soon or latter will be forced to switch to renewable energy sources as fossil fuel reserves are overexploited and depleted. During the anaerobic digestion process organic wastes and/or materials are digested into closed tanks under anaerobic conditions, resulting in the generation of biogas which mainly consists of CH₄ (methane) and CO₂ (carbon dioxide). Biogas can be used immediately for meeting different energy needs, while the digested liquid (digestate) produced can be used as an organic fertilizer, displacing in such way chemical fertilizers. The purpose of this work is to study the effects of enzymatic pretreatment in various agroindustrial-wastes under anaerobic digestion conditions in a way toward maximization of biogas recovery. Specifically, we investigated the effect of rationally enzyme addition (lipase, xylanase, protease and cellulase) in animal fats, liquid and solid olive mill wastes, slaughterhouse rendering and in wastes from the winery and distillery industry. The enzymatic pre-treatment resulted in improvements in biogas generation rate during the first days of the process for the majority of the assessed substrates, while in the case of slaughterhouse rendering waste and animal fats led to an increase in the cumulative biogas production. The findings of this work shows great interest as it can enable increased productivity and efficiency of anaerobic digestion systems and to allow the reduction of the size of the systems.

ΠΡΟΤΥΠΑ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ

Καλλιμάνης Αθανάσιος

Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος & Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Πατρών

Οι οικολόγοι έχουν ερευνήσει σε βάθος το χωρικό πρότυπο και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοποικιλότητα, με έμφαση στον πλούτο ειδών και άλλες πτυχές της ταξινομικής ποικιλότητας (ΤΠ). Ωστόσο, συχνά η απώλεια ή η προσθήκη ενός είδους σε ένα οικοσύστημα δε συνεπάγεται τη μεταβολή της λειτουργίας του οικοσυστήματος. Για αυτό, η έρευνα εστίασε σε άλλες πτυχές της βιοποικιλότητας, μεταξύ των οποίων εξέχουσα είναι η έννοια της λειτουργικής ποικιλότητας. Λειτουργική ποικιλότητα (ΛΠ) είναι η ποικιλότητα των χαρακτηριστικών των ειδών σε ένα οικοσύστημα, ή γενικότερα, είναι η έκφραση της βιοποικιλότητας που αντικατοπτρίζει το εύρος των λειτουργιών που επιτελούν οι οργανισμοί στα οικοσυστήματα. Η ΛΠ είναι μια μοντέρνα και σημαντική έννοια στην οικολογία γιατί καταγράφει πληροφορίες σχετικά με τα λειτουργικά χαρακτηριστικά της βιοκοινότητας που απουσιάζουν από δείκτες ποικιλότητας όπως ο πλούτος ειδών. Ακόμη και τώρα, οι γνώσεις μας για τις ιδιότητες της ΛΠ και τη σχέση μεταξύ ΛΠ και άλλων πτυχών της βιοποικιλότητας είναι περιορισμένες. Και, η κατανόηση των προτύπων της ΛΠ στη μεγάλη κλίμακα παραμένει αποσπασματική δεδομένου ότι οι περισσότερες μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε τοπικό επίπεδο, με λίγα δείγματα σε περιορισμένη γεωγραφική έκταση. Πολλές σχέσεις που είναι γνωστές για την ΤΠ (σχέση επιφάνειας αριθμού ειδών, εξάρτηση των χωρικών προτύπων της ΤΠ από την κλίμακα ανάλυσης) παραμένει αβέβαιο αν έχουν την ίδια ισχύ και γενικότητα για τη ΛΠ. Συνδυάσαμε πληροφορίες από βάσεις δεδομένων της βιοποικιλότητας με τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των ειδών για να εκτιμήσουμε μια σειρά από δείκτες ΛΠ. Εξερευνήσαμε τις ιδιότητες και τις σχέσεις μεταξύ των διαφόρων πτυχών της βιοποικιλότητας. Αναλύσαμε το χωρικό πρότυπο των δεικτών ΛΠ.

PATTERNS AND PROPERTIES OF FUNCTIONAL DIVERSITY

Kallimanis Athanasios

Department of Environmental & Natural Resources Management, University of Patras

Ecologists and conservation biologists have investigated in depth the spatial pattern and environmental drivers of biodiversity, focusing on species richness and other aspects of taxonomic diversity (TD). However, often losing or gaining species from an assemblage tells us very little about the loss or gain of ecosystem function. Therefore, research focused on other aspects of biodiversity, prominent among which is the concept of functional diversity. Functional diversity (FD) is the diversity of species traits in ecosystems, or more generally is the facet of biodiversity that reflects the range of things that organisms do in communities and ecosystems. FD is a novel and important concept in ecology because it captures information on functional traits absent in measures of species richness or other metrics of TD. Still we know few things about the properties of FD and the relationship between FD and other aspects of biodiversity. Furthermore, our understanding of large scale patterns of functional diversity and its drivers remain fragmentary since most of these studies were local with few samples over limited geographical extent. Many patterns that are well established for TD (e.g. species area relationship, scale dependence of spatial patterns) have received little to no attention in FD. The existence and properties of these patterns for FD remain unclear. We combined information from biodiversity datasets with the functional traits of species to estimate an array of FD indices. We explored the properties and associations between the different aspects of biodiversity. We analyzed the spatial pattern of FD indices.

Ο COUP-TF ΚΑΙ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΑΚΟ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΚΤΥΟ ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΝΕΥΡΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΑΧΙΝΟΥ

Καλογήρου Χ., Κατσάνος Δ., Φλυτζάνης Κ.
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

Ο στόχος της εργασίας αυτής είναι η διασαφήνιση του ρόλου του ορφανού πυρηνικού υποδοχέα PICoup-TF στην εμβρυική νευρογένεση και πιο συγκεκριμένα στον καθορισμό του εμπρόσθιου νευροεξώδερματος. Για το σκοπό αυτό κλωνοποιήσαμε μια ομάδα εμβρυικών cDNAs, τα οποία κωδικοποιούν ρυθμιστικές πρωτεΐνες που εκφράζονται ειδικά στο εμπρόσθιο νευροεξώδερμα και ετοιμάσαμε αντισηματοτικούς RNA ανιχνευτές για in situ υβριδοποίηση για τα ακόλουθα γονίδια: PICoup-TF, PIHbn, PIFoxG, PIZ81, PISip1, PIEts4, PIMox και PISfrp. Πραγματοποιήσαμε in situ υβριδοποίηση φθορισμού και αναλύσαμε το εμβρυικό πρότυπο κάθε γονιδίου σε συνδυασμό με αυτό του PICoup-TF σε εμβρυικά στάδια του *Paracentrotus lividus*. Το εμπρόσθιο νευροεξώδερμα, μια νευρογενής επικράτεια μέσα στο στοματικό εξώδερμα του εμβρύου σχηματίζεται ως αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης των προαναφερθέντων γονιδίων που μαζί συνιστούν ένα υποκύκλωμα μέσα στο εμβρυικό γονιδιακό ρυθμιστικό δίκτυο. Σκοπός μας είναι ο καθορισμός της θέσης του PICoup-TF μέσα στο ρυθμιστικό δίκτυο και συγκεκριμένα στο υποκύκλωμα του εμπρόσθιου νευροεξώδερματος. Γι αυτό, καταστείλαμε την έκφραση του PICoup-TF στην εμβρυογένεση κάνοντας ένεση με ειδικά αντισηματικά ολιγονουκλεοτίδια (morpholino) σε αυγά αχινού και καθορίσαμε το πρότυπο έκφρασης των γονιδίων του εμπρόσθιου νευροεξώδερματος με χρωμογόνο in situ υβριδοποίηση στα ενεμένα έμβρυα. Η αποτελεσματικότητα της καταστολής θα μετρηθεί με qPCR, όπου η ποσότητα των μεταγράφων του PICoup-TF θα συγκριθεί με αυτή των φυσιολογικών εμβρύων.

COUP-TF AND THE GENE REGULATORY NETWORK IN SEA URCHIN EMBRYONIC NEUROGENESIS

Kalogirou Ch., Katsanos D., Flytzanis K.
UNIVERSITY OF PATRAS

Our aim is to identify the role of the orphan nuclear receptor PICoup-TF in embryonic neurogenesis and especially in the determination of the anterior neuroectoderm (ANE). To this end, we cloned a set of embryonic cDNAs encoding regulatory proteins expressed specifically in the ANE and prepared antisense RNA probes for in situ hybridization for the following genes: PICoup-TF, PIHbn, PIFoxG, PIZ81, PISip1, PIEts4, PIMox and PISfrp. The embryonic expression pattern of each gene and in combination with PICoup-TF was analyzed in late embryonic stages of the sea urchin *Paracentrotus lividus* by double fluorescent in situ hybridization. ANE, a neurogenic territory specified within the oral ectoderm of the embryo, is formed as a result of the interplay of the aforementioned regulatory factors that together constitute a sub-circuit within the embryonic gene regulatory network (GRN). We want to determine PICoup-TF's place within the GRN and specifically the ANE sub-circuit. Therefore, we knockdown PICoup-TF expression during embryogenesis by injecting specific morpholino antisense oligonucleotides (MASO) into sea urchin eggs and determine the expression pattern of the ANE specific genes by chromogenic in situ hybridization to resulting morphant embryos. The efficiency of the knockdown is measured by qPCR, where the amount of PICoup-TF transcripts in the morphants is compared to control embryos.

ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ κ B ΣΕ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ

Καραγιάννη Μαρία^{1,2}, Βρέκα Μαλαματή¹, Σπέλλα Μάγδα¹, Σταθόπουλος Θ. Γεώργιος¹
1/Εργαστήριο Μοριακής Καρκινογένεσης Αναπνευστικού, Τομέας Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ασκληπιού 1, 26504 Ρίο, Πανεπιστημιούπολη, Ελλάδα - 2/Τομέας Γενετικής Βιολογίας Κυττάρου & Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη 26500 Ρίο, Ελλάδα

Έχει βρεθεί ότι τα συσχετιζόμενα με τους όγκους μακροφάγα διεισδύουν σε ανθρώπινους και πειραματικούς όγκους και εκδηλώνουν ένα πλήθος ογκο-επαγωγικών επιδράσεων. Έχουμε δείξει ότι τα αδενοκαρκινώματα ενεργοποιούν στα συσχετιζόμενα με τους όγκους μακροφάγα επιλεκτικά τον πυρηνικό παράγοντα NF- κ B, ο οποίος αποτελεί ένα σημαντικό προφλεγμονώδες σηματοδοτικό μονοπάτι. Εδώ ερευνήσαμε τη διαφορική επίδραση διαφόρων καρκινικών κυττάρων στα μακροφάγα *in vitro*. Διαμολύναμε σταθερά τα προερχόμενα από ποντικούς μακροφάγα RAW264.7 με βιοφθορίζον πλασμίδιο μάρτυρα για τον NF- κ B (pNGL) και χαρακτηρίσαμε την ενεργοποίηση του NF- κ B σε απόκριση σε καρκινικά κύτταρα και σε μεσολαβητές αυτών. Επιπρόσθετα, εκθέσαμε πρωτογενή μακροφάγα προερχόμενα από μυελό των οστών (BMDM) σε καρκινικά κύτταρα και μελετήσαμε την έκκριση κυτοκινών καθώς και τον φαινότυπο M1/M2. Τέλος, συγκρίναμε τη συνολική γονιδιακή έκφραση διαφορετικών καρκινικών κυτταρικών σειρών, ώστε να ταυτοποιήσουμε υποψήφιους προσδέτες του NF- κ B στα μυελοκύτταρα. Βρήκαμε ότι, σε αντίθεση με τα B16F10 κύτταρα μελανώματος, τα LLC και MC38 κύτταρα αδενοκαρκινώματος πνεύμονα και εντέρου αντίστοιχα ενεργοποιούν τον NF- κ B στα RAW264.7 μακροφάγα. Αυτό το φαινόμενο δεν απαιτούσε επαφή κυττάρου με κύτταρο, αλλά επαγόταν από υπερκείμενα των καρκινικών κυττάρων. Η ενεργοποίηση του NF- κ B στα μακροφάγα από τα αδενοκαρκινώματα συνδέθηκε με φαινοτυπικές αλλαγές συμπεριλαμβανομένης της M2 πόλωσης, η οποία εκτιμήθηκε με κυτταρομετρία ροής, και με αύξηση της έκκρισης της Ιντερλευκίνης-1 β η οποία παρατηρήθηκε με ELISA. Με ανάλυση μικροσυστοιχιών πιστοποιήθηκε ότι τα αδενοκαρκινώματα υπερεκφράζουν αρκετούς πιθανούς συνδέτες του NF- κ B σε σχέση με τα B16F10 κύτταρα μελανώματος. Χρησιμοποιώντας τα pNGL RAW264.7 κύτταρα δείχτηκε ότι, εκτός από τον παράγοντα νέκρωσης όγκων, ο αγωνιστής των toll-like υποδοχέων 2/4, Biglycan, είναι πιθανός συνδέτης του NF- κ B και μμείται τις δράσεις του λιποπολυσακχαρίτη. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την Biglycan ως υποψήφιο ανοσορρυθμιστή και την τοποθετούν ως στόχο της ανοσοθεραπείας ενάντια του καρκίνου.

A MYELOID NUCLEAR FACTOR- κ B RESPONSE TO TUMOR EXPOSURE

Karagianni Maria^{1,2}, Vreka Malamati¹, Spella Magda¹, Stathopoulos T. Georgios¹

1/Laboratory for Molecular Respiratory Carcinogenesis, Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Patras, 1 Asklepiou Str., University Campus (Panepistimioupolis) 26504 Rio, Greece - 2/Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of Patras, Panepistimioupoli 26500 Rio, Greece

Tumor-associated macrophages have been found to infiltrate human and experimental tumors and to exert a multitude of tumor-promoting effects. We have previously determined that adenocarcinomas selectively cause activation of nuclear factor (NF)- κ B, a key proinflammatory signalling pathway, in tumor-associated macrophages. Here we investigated the differential impact of various tumor cells on macrophages in vitro. To this end, we stably transfected murine RAW264.7 macrophages with a bioluminescent NF- κ B reporter plasmid (pNGL) and characterised NF- κ B activation in response to tumor cells and tumor-elaborated mediators. In addition, we exposed bone marrow-derived macrophages (BMDM) to tumor cells and studied cytokine secretion and M1/M2 phenotype. Finally, we compared different tumour cell lines for global gene expression hoping to identify candidate myeloid NF- κ B ligands. We found that, in contrast to B16F10 melanoma cells, LLC lung and MC38 colon adenocarcinomas could activate NF- κ B in RAW264.7 macrophages. This phenomenon did not require cell-to-cell contact, but could be induced by tumor-conditioned media. Adenocarcinoma-triggered macrophage NF- κ B activation was linked with pro-tumor phenotypic changes, including enhanced M2 polarization assessed by flow cytometric determination of CD206 expression and increased interleukin-1 β secretion as determined by ELISA. By microarray, adenocarcinomas were found to overexpress several candidate NF- κ B ligands, as compared B16F10 melanoma cells. A screen using pNGL RAW264.7 cells revealed that, in addition to tumor necrosis factor, the toll-like receptor 2/4 agonist biglycan was a potent NF- κ B-inducing ligand, mimicking the effects of lipopolysaccharide. These results identify biglycan as a candidate tumor-elaborated immunomodulator and position it as conditional target for anti-tumor immunotherapy.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΥΛΟΓΕΝΕΣΗ ΤΩΝ IURIDAE (SCORPIONES: IURIDA: IUROIDEA) ΣΤΗΝ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ

Καραμπάτσου Α.¹, Yağmur E.A.², Fet V.³, Κοτσακιοζή Π.^{1,4}, Soleglad M.E.⁵, Τερζοπούλου Σ.¹, Μπαλανίκα Κ.¹, Βασιλοπούλου-Καμπίτση Μ.¹, Βουτσελά Α.^{1,4}, Παρμακέλης Α.¹
1/Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα 2/Alasehir Vocational School, Celal Bayar University, Manisa, Turkey 3/Department of Biological Sciencies, Marshall University, Huntington, West Virginia, USA 4/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα 5/Winchester, California, USA

Πρόσφατα πέντε εκτενής συστηματικές μελέτες της οικογένειας Iuridae δημοσιεύτηκαν (Scorpiones: Iurida: Iuroidea) (Soleglad et al., 2009, 2012; Fet et al., 2009; Kovařík et al., 2010; Yağmur et al., 2013). Αυτή η οικογένεια θεωρείται υπολειματική και μια από τις πιο παλιές οικογένειες των Iurida. Κατανέμεται στην ανατολική Μεσόγειο (ΝΑ Ελλάδα, Τουρκία), ενώ η πιο συγγενική της οικογένεια είναι τα Caraboctonidae που απαντώνται στην νότια και βόρεια Αμερική. Οι πρόσφατες συστηματικές μελέτες χρησιμοποιώντας μορφολογικούς χαρακτήρες κατέδειξαν ότι τα Iuridae της ανατολικής Μεσογείου ουσιαστικά αποτελούνται από τέσσερα γένη (Iurus, Calchas, Protoiurus και Neocalchas) και 13 είδη στο σύνολο. Οι φυλογενετικές σχέσεις αυτών των ειδών δεν είναι γνωστές και η γνώση της φυλογένεσης θεωρείται απαραίτητη για την κατανόηση του βιογεωγραφικού προτύπου της υπολειματικής αυτής οικογένειας εντός της ανατολικής Μεσογείου. Στη μελέτη των Parmakelis et al. (2006) χρησιμοποιήθηκαν μιτοχονδριακές αλληλουχίες (16S rRNA) προκειμένου να διερευνηθεί η εξελικτική ιστορία των πληθυσμών Iurus του Αιγαίου. Σε αυτή την μελέτη καταγράφηκε ουσιαστικά ένα πολύ βαθύ κλαδογενετικό συμβάν που διαχωρίζει τα δυτικά νησιά της μελέτης από τα ανατολικά. Μεταγενέστερα το βαθύ αυτό κλαδογενετικό συμβάν ερμηνεύτηκε ως το γεγονός του διαχωρισμού των γενών Iurus και Protoiurus. Στην παρούσα μελέτη, επιχειρούμε να ανακατασκευάσουμε τις φυλογενετικές σχέσεις όλων των αναγνωρισμένων ειδών της οικογένειας Iuridae που κατανέμονται στην ανατολική Μεσόγειο, χρησιμοποιώντας μιτοχονδριακές αλληλουχίες από δυο γονίδια (16S rRNA, COX I). Ο τελικός στόχος είναι η αναπαράσταση της εξελικτικής ιστορίας αυτής της πολύ παλιάς οικογένειας σκορπιών. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δικαιολογούν την διάκριση σε τέσσερα γένη και υποδεικνύουν ότι τα είδη Iurus kinzelbachi, Protoiurus kraepelini and Calchas nordmanni είναι τα πιο παλιά είδη των γενών τους (το γένος Neocalchas είναι μονοτυπικό).

THE MOLECULAR PHYLOGENY OF IURIDAE (SCORPIONES: IURIDA: IUROIDEA) IN THE EASTERN MEDITERRANEAN

**Karampatsou L.¹, Yağmur E.A.², Fet V.³, Kotsakiozi P.^{1,4}, Soleglad M.E.⁵, Terzopoulou S.¹,
Balanika K.¹, Vasilopoulou-Kampitsi M.¹, Voutsela A.^{1,4}, Parmakelis A.¹**

1/ Department of Ecology and Taxonomy, Faculty of Biology, University of Athens, Greece 2/ Alasehir Vocational School, Celal Bayar University, Manisa, Turkey 3/Department of Biological Sciences, Marshall University, Huntington, West Virginia, USA 4/Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Greece 5/Winchester, California, USA

Recently, five large systematic studies using morphological data were published on family Iuridae (Scorpiones: Iurida: Iuroidea) (Soleglad et al., 2009, 2012; Fet et al., 2009; Kovařík et al., 2010; Yağmur et al., 2013). Iurids are a relict family inhabiting the eastern Mediterranean region (SE Greece and Turkey); their closest relatives are Caraboctonidae from North and South America. Iuridae is one of the most basal scorpion families in parvorder Iurida, exhibiting unusual morphology. The recent morphological revisions outlined four genera (*Iurus*, *Protoiurus*, *Calchas*, and *Neocalchas*) and 13 species. Phylogenetic relationships of these taxa are not well understood, and are of primary importance for the understanding of the biogeographic pattern exhibited by this relict family in the eastern Mediterranean. Parmakelis et al. (2006) used 16S rDNA sequences to infer the phylogeographic pattern of iurid populations reported from the Aegean. A deep phylogenetic split was identified between the western and eastern Aegean populations (at that time all assigned to *Iurus dufourei*). Later, this split was reinterpreted as separating genera *Iurus* and *Protoiurus*. In this study, all the currently recognized genera and species of Iuridae of the Eastern Mediterranean are analyzed using sequence data from two mitochondrial genes (16S rRNA and COX I). Our aim is to reconstruct the phylogenetic relationships of the involved species and genera and infer the biogeographic history of this ancient scorpion family. Our results validate the existence of the four Iuridae genera, with *Iurus kinzelbachi*, *Protoiurus kraepelini*, and *Calchas nordmanni* appearing to be the most basal species of their genera (genus *Neocalchas* is monotypic).

Η ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ SMARCE1 ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΩΘΗΚΩΝ ΕΝΕΧΕΤΑΙ ΣΤΗ ΣΤΡΑΤΟΛΟΓΗΣΗ CD8+ T-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

**Καραπέτσας Αθανάσιος, Ευαγγέλου Χρίστος, Τοκαμάνη Μαρία, Σανδαλτζόπουλος
Ραφαήλ**

*Εργαστήριο Γονιδιακής Έκφρασης, Μοριακής Διάγνωσης και Σύγχρονων Θεραπευτικών
Μέσων, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δ.Π.Θ.
Πανεπιστημιούπολη, Δραγάνα, 68100, Αλεξανδρούπολη*

Ο καρκίνος των ωθηκών αποτελεί μια από τις πιο κοινές μορφές καρκίνου και την κυριότερη αιτία θανάτου από γυναικολογικές δυσπλασίες. Τα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας οφείλονται κυρίως στην απουσία σαφών συμπτωμάτων κατά τα πρώτα στάδια της νόσου, ενώ στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών η διάγνωση γίνεται σε στάδιο III ή IV. Έχει αποδειχθεί πως η διήθηση CD8+ T-λεμφοκυττάρων σε καρκινικούς όγκους ωθηκών συσχετίζεται άμεσα με μεγαλύτερη επιβίωση των ασθενών. Παρόλα αυτά, δεν είναι πλήρως κατανοητοί οι μοριακοί μηχανισμοί και τα γονίδια που ρυθμίζουν την στρατολόγηση των T- λεμφοκυττάρων. Προκειμένου να μελετήσουμε το πρότυπο γονιδιακής έκφρασης όγκων ωθηκών θετικών στη διήθηση CD8+ T-λεμφοκυττάρων, χρησιμοποιήσαμε Διαφορική Έκθεση με φθορισμό. Εστιάσαμε σε δείγματα ασθενών με στάδιο I-II καρκίνου ωθηκών ώστε να εντοπίσουμε γονίδια που εμπλέκονται στην πρωταρχική φάση της στρατολόγησης και διήθησης των λεμφοκυττάρων στους όγκους. Εφαρμόζοντας την παραπάνω μέθοδο ταυτοποιήσαμε 128 γονίδια που υπερεκφράζονται σε όγκους που διηθούν τα T- λεμφοκύτταρα. Μεταξύ αυτών των γονιδίων ήταν και ο παράγοντας αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης SMARCE1. Επαληθεύσαμε την έκφραση του SMARCE1 με qPCR σε δείγματα όγκων 38 ασθενών με στάδιο I-II καρκίνου ωθηκών. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα έκφρασης του SMARCE1 στο σύνολο των ασθενών συσχετίζονται σημαντικά με τα αντίστοιχα επίπεδα του CD8A, ενός δείκτη διήθησης T- λεμφοκυττάρων ($p < 0.0001$). Επιπλέον, η υπερέκφραση του SMARCE1 στην καρκινική σειρά ωθηκών SKOV3 ύστερα από διαμόλυνση προκαλεί την αυξημένη έκκριση των χημειοκινών IL8, MIP1β/CCL4 και RANTES/CCL5 και επάγει την μετανάστευση CD8+ T-λεμφοκυττάρων σε in vitro δοκιμές χημειοτακτισμού. Τέλος, τα επίπεδα mRNA των παραπάνω χημειοκινών συσχετίζονται με τα αντίστοιχα επίπεδα έκφρασης του SMARCE1 στους 38 ασθενείς σταδίου I-II καρκίνου ωθηκών. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν πως ο παράγοντας SMARCE1 εμπλέκεται στο μοριακό μηχανισμό στρατολόγησης των CD8+ T-λεμφοκυττάρων μέσω της ρύθμισης της έκφρασης διαφόρων χημειοκινών.

OVER-EXPRESSION OF THE CHROMATIN REMODELER SMARCE1 IN EARLY STAGE OVARIAN CANCER INDUCES CD8+ T-LYMPHOCYTE RECRUITMENT

Karapetsas Athanasios, Evaggelou Christos, Tokamani Maria, Sandaltzopoulos Raphael

Laboratory of Gene Expression, Molecular Diagnosis and Modern Therapeutics, Department of Molecular Biology and Genetics, School of Health Sciences, DUTH, University Campus, Dragana, 68100, Alexandroupolis

Ovarian cancer is one of the most common types of cancer and the leading cause of death due to gynaecological malignancies. Its high mortality rates are because of the lack of clear symptoms at the onset of the disease, while the majority of the patients are diagnosed at an advanced stage. It is well established that dense CD8+ T-lymphocyte infiltration within the ovarian tumor sites correlates with increased patient survival. Still, the genes and mechanisms regulating T-lymphocyte recruitment in ovarian cancer remain quite vague. In the present study, in order to study the gene expression profile of ovarian tumors enriched in CD8+ T – lymphocytes, we employed a fluorescent Differential Display approach. In an attempt to pinpoint genes involved in the early T-lymphocyte recruitment, we focused in stage I and II ovarian tumors. We identified 128 genes over-expressed in tumors with high numbers of CD8+ T-lymphocytes. Among the identified genes was SMARCE1 that encodes for a subunit of the chromatin remodelling SWI/SNF complex. We further evaluated SMARCE1 expression with qPCR in 38 early stage ovarian cancer patients. Interestingly, the mRNA levels of SMARCE1 correlated with the expression levels of CD8A, a marker of T-cell infiltration ($p < 0.0001$). More importantly, forced over-expression of SMARCE1 in SKOV3 ovarian cancer cells after transfection resulted in enhanced secretion of IL-8, MIP1 β /CCL4 and RANTES/CCL5 chemokines and triggered CD8+ T-lymphocyte recruitment in an in vitro chemotaxis assay. Finally the mRNA levels of the above chemokines correlated with SMARCE1 levels in the cohort of 38 patients. Our results imply that the chromatin remodeler SMARCE1 enhances CD8+ T-lymphocyte infiltration in early stage ovarian cancer through regulating the expression of certain chemokines by the cancer cells.

ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΩΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΤΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΞΑΝΘΙΝΗΣ XanQ ΤΗΣ *ESCHERICHIA COLI* ΜΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΙΟΝΤΩΝ ΚΑΔΜΙΟΥ ΚΑΙ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΗΣ ΣΥΝΔΕΣΗΣ

Καρενά Α., Φριλίγγος Ε.

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα*

Ως πρότυπο για τη μελέτη σχέσεων δομής-λειτουργίας στην οικογένεια μεμβρανικών μεταφορέων νουκλεοτιδικών βάσεων NCS2 χρησιμοποιούμε στο εργαστήριό μας τον μεταφορέα ξανθίνης XanQ της *Escherichia coli* τον οποίο έχουμε εξετάσει διεξοδικά με μεταλλαξιγένεση κυστεϊνικής σάρωσης. Για να εντοπίσουμε αλληλεπιδράσεις σημαντικές στον μηχανισμό λειτουργίας εφαρμόσαμε πειράματα επίδρασης δισθενών κατιόντων καδμίου και σταυρωτής σύνδεσης, έπειτα από εισαγωγή ζευγών κυστεϊνών σε θέσεις καταλοίπων του XanQ που δεν είναι απαραίτητα για τη λειτουργία και είναι προσβάσιμα από το περίπλασμα. Τα μεταλλάγματα αυτά εξετάστηκαν ως προς την ενεργότητα παρουσία ή όχι χλωριούχου καδμίου ώστε να ελεγχθεί εάν τα επιλεγμένα ζεύγη κυστεϊνών διαμορφώνουν κέντρο συντονισμού για το κάδμιο που εμποδίζει τον μηχανισμό μεταφοράς. Εξετάστηκε επίσης η επίδραση ευέλκτων διλειτουργικών αντιδραστηρίων MTS-MTS τόσο στην ενεργότητα των μεταλλαγμάτων όσο και στην δυνατότητα σχηματισμού ομοιοπολικής διασύνδεσης μεταξύ των δύο κυστεϊνών, σε συνδυασμό με πρωτεολυτική πέψη του XanQ με θρυψίνη σε μεμβρανικά κυστίδια. Βρέθηκε ότι οι θέσεις H257C (TM8, περιοχή «πυρήνα») και E429C (TM14, περιοχή «εισόδου») μπορούν να συνδεθούν σταυρωτά μεταξύ τους μέσω αντιδραστηρίων MTS-MTS μήκους 9-22Å τα οποία δεν επηρεάζουν δραματικά την ενεργότητα του H257C/E429C. Ωστόσο η ενεργότητα του διπλού μεταλλάγματος είναι ευαίσθητη σε αναστολή από ιόντα καδμίου, υποδηλώνοντας ότι μεταξύ των θέσεων 257 και 429 απαιτείται διαμορφωτική ευελιξία. Οι θέσεις I89C (TM3, περιοχή «πυρήνα») και I343C (TM11, περιοχή «πυρήνα») είναι δυνατόν να αλληλοσυνδεθούν χωρίς απώλεια ενεργότητας μέσω αντιδραστηρίου MTS-3-MTS (3-5Å), αλλά αντιδραστήρια MTS-MTS μεγαλύτερου μήκους απενεργοποιούν πλήρως το I89C/I343C, υποδηλώνοντας ότι οι δύο θέσεις παραμένουν κοντά μεταξύ τους κατά τον μηχανισμό ενεργού μεταφοράς. Αντίθετα, η ενεργότητα του I167C/T373C δεν επηρεάζεται από την παρουσία ιόντων καδμίου ή αντιδραστηρίων MTS-MTS, υποδεικνύοντας ότι η αλληλεπίδραση των θέσεων 167 (TM5, περιοχή «εισόδου») και 373 (TM12, περιοχή «εισόδου») δεν είναι σημαντική στον μηχανισμό. Ευχαριστίες Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση - Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους, μέσω του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ), ερευνητικό πρόγραμμα «Ηράκλειτος II»

CRUCIAL CONFORMATIONAL INTERACTIONS IN THE XANTHINE PERMEASE XANQ OF ESCHERICHIA COLI DETERMINED BY CADMIUM-SENSITIVITY AND CROSS-LINKING ASSAYS

Karena E., Frillingos S.

*Laboratory of Biological Chemistry, Department of Medicine, School of Health Sciences,
University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece*

To study structure-function relationships in the ubiquitous Nucleobase-Cation symporter-2 family (NCS2) we employed Cys-scanning analysis of the xanthine permease XanQ from *Escherichia coli*. To search for interactions that are crucial in the mechanism we used cadmium-sensitivity and cross-linking assays. As targets for double-Cys replacements we selected residues that are functionally replaceable and accessible from the periplasm. Active mutants were assayed in the presence of cadmium chloride to determine whether the selected Cys pairs form a coordination site for cadmium which would block turnover. We also assayed the effect of flexible homobifunctional MTS-MTS reagents on active transport and cross-linking of double-Cys mutants, exposed to trypsin digestion in right-side-out membrane vesicles. We found that H257C (TM8; core domain) and E429C (TM14; gate domain) can be cross-linked by reagents ranging in length from 9-22Å with retention of transport activity, implying a long-distance interaction between these positions, but H257C/E429C activity is sensitive to inhibition by cadmium, indicating the need for conformational flexibility at these positions. I89C (TM3; core domain) and I343C (TM11; core domain) can be cross-linked by MTS-3-MTS (linker 3-5Å) without loss of activity but I89C/I343C is highly sensitive to inactivation with cross-linkers longer than 5Å, suggesting that these positions remain close together during turnover. The activity of a double-Cys mutant with I167C (TM5; gate domain) and T373C (TM12; gate domain) is insensitive to inhibition by either cadmium or MTS-MTS reagents, implying that their potential interaction is not crucial for turnover. Our results reveal crucial physical interactions in the mechanism of active transport of XanQ which are long-distance, flexible conformationally (between residues of the core and the gate domains) or short-distance, sterically restricted (between residues in the core domain). Acknowledgment This research was co-funded by the European Union – European Social Fund (ESF) and National Sources, in the National Strategic Reference Framework (NSRF) program “Hrakilos II”

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΑΛΑΝΤΩΣΗΣ ΤΟΥ ΒΟΡΕΙΟΥ ΑΤΛΑΝΤΙΚΟΥ (NORTH ATLANTIC OSCILLATION, NAO) ΣΤΑ ΠΕΛΑΓΙΚΑ ΨΑΡΙΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ

Καριπίδου Σουζάνα, Τσίκληρας Αθανάσιος

Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη Email: atsik@bio.auth.gr

Τα μεγάλης κλίμακας κλιματικά φαινόμενα επηρεάζουν τα πληθυσμιακά χαρακτηριστικά (αναπαραγωγή, αύξηση, θνησιμότητα) των υδρόβιων οργανισμών με γρήγορη στρατηγική ζωής (μικρό μέγεθος, υψηλή γονιμότητα, μικρή διάρκεια ζωής, γρήγορη εναλλαγή γενεών), όπως τα μικρά και μεσαία πελαγικά ψάρια, καθορίζοντας έτσι την αφθονία και βιομάζα τους στο οικοσύστημα και τη σύσταση της αλιευτικής παραγωγής. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να διερευνηθεί η επίδραση του κλιματικού φαινομένου της ταλάντωσης του βόρειου Ατλαντικού (North Atlantic Oscillation, NAO) στην αλιευτική παραγωγή τεσσάρων μικρών (σαρδέλα *Sardina pilchardus*, γαύρος *Engraulis encrasicolus*, φρίσσα *Sardinella aurita*, παπαλίνα *Sprattus sprattus*) και τεσσάρων μεσαίων (σκουμπρί *Scomber scombrus*, κολιός *Scomber japonicus*, γκριζοσαύριδο *Trachurus trachurus*, ασπροσαύριδο *Trachurus mediterraneus*) πελαγικών ψαριών της Μεσογείου Θάλασσας. Τα δεδομένα της μεσογειακής αλιευτικής παραγωγής καταγράφηκαν από τη Γενική Αλιευτική Επιτροπή για τη Μεσόγειο (General Fisheries Commission for the Mediterranean, GFCM) για την περίοδο 1970-2011 και ο δείκτης NAO από την Εθνική Διεύθυνση Ωκεανών και Ατμόσφαιρας των ΗΠΑ (National Oceanic & Atmospheric Administration, NOAA). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, θετικός δείκτης NAO σημαίνει ξηροί χειμώνες και χαμηλές θερμοκρασίες στη Μεσόγειο (ευνοούνται τα ψυχρόφιλα είδη) και αρνητικός NAO σημαίνει υγροί χειμώνες με υψηλές θερμοκρασίες (ευνοούνται τα θερμόφιλα είδη). Οι τιμές συσχετίστηκαν μεταξύ τους με απλή συσχέτιση και δοκιμή όλων των πιθανών μοντέλων και γραμμών τάσης. Βρέθηκε θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ της παραγωγής της σαρδέλας *Sardina pilchardus* και του NAO (συντελεστής συσχέτισης = 0.37, $r^2 = 0.14$, $P = 0.017$) και αρνητική μεταξύ της παραγωγής της φρίσσας *Sardinella aurita* και του NAO (συντελεστής συσχέτισης = - 0.38, $r^2 = 0.15$, $P = 0.012$), ενώ δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της παραγωγής των υπόλοιπων έξι ειδών με τον δείκτη NAO ($P > 0.14$ σε όλες τις περιπτώσεις). Συνεπώς, το φαινόμενο NAO φαίνεται να επηρεάζει τα είδη εκείνα που εξαρτώνται περισσότερο από τη θερμοκρασία της θάλασσας, όπως η θερμόφιλη φρίσσα, που ευνοείται όταν ο δείκτης NAO είναι αρνητικός, και η ψυχρόφιλη σαρδέλα, που ευνοείται όταν ο δείκτης NAO είναι θετικός.

THE EFFECT OF NORTH ATLANTIC OSCILLATION (NAO) ON THE PELAGIC FISHES OF THE MEDITERRANEAN SEA

Karipidou Souzana, Tsikliras Athanassios

Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece Email: atsik@bio.auth.gr

Large-scale climatic phenomena may affect the population characteristics (reproduction, growth, mortality) of marine organisms with faster life-history strategy (small size, high fecundity, short life-span, quick generation time), such as the small and medium pelagic fishes, thereby determining their abundance and biomass and the fisheries catches and production. The aim of the present work is to examine the effect the North Atlantic Oscillation (NAO) on the fisheries production of four small (european sardine *Sardina pilchardus*, european anchovy *Engraulis encrasicolus*, round sardinella *Sardinella aurita*, sprat *Sprattus sprattus*) and four medium (atlantic mackerel *Scomber scombrus*, chub mackerel *Scomber japonicus*, Atlantic horse mackerel *Trachurus trachurus*, Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus*) pelagic fishes of the Mediterranean Sea. The Mediterranean fisheries production dataset was downloaded from the General Fisheries Commission for the Mediterranean (GFCM) for the period 1970-2011 and the NAO index from the National Oceanic & Atmospheric Administration of the US (NOAA). According to previous research, during positive phases of the NAO, the westerly winds are moving northward causing dry and cold conditions in the Mediterranean region (psychrophilous species are favoured) and during negative phases of the NAO, the westerly winds move southward causing increased precipitation and temperatures in the Mediterranean (thermophilous species are favoured). Fisheries production per species was correlated with NAO index after testing for all available models and functions. A positive linear correlation was observed between the production of sardine *Sardina pilchardus* and NAO index (correlation coefficient = 0.37, $r^2 = 0.14$, $P = 0.017$) and a negative one between the production of round sardinella *Sardinella aurita* and NAO index (correlation coefficient = - 0.38, $r^2 = 0.15$, $P = 0.012$). No correlations emerged between the production of the remaining species and NAO index ($P > 0.14$ in all cases). Consequently, the NAO seems to affect the fish species that are mostly dependent on sea temperature, such as the thermophilous round sardinella, which is favoured during negative NAO phases and the psychrophilous sardine, which in turn is favoured during positive phases.

ΦΥΛΟΓΕΩΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ *Lissotriton vulgaris* (ΟΥΡΟΔΗΛΑ, SALAMANDRIDAE) ΣΤΑ ΝΟΤΙΑ ΒΑΛΚΑΝΙΑ

Καρλή Χριστίνα-Ελευθερία, Σωτηρόπουλος Κωνσταντίνος

*Εργαστήριο Μοριακής Οικολογίας και Γενετικής της Διατήρησης, Τμήμα Βιολογικών
Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα*

Το είδος *L. vulgaris* (Linnaeus, 1758) αποτελεί το πλέον διαδεδομένο είδος τρίτων με ευρεία εξάπλωση στην Ευρώπη και τη δυτική Ασία. Στην Ελλάδα συναντώνται τα υποείδη *L. v. graecus* και *L. v. vulgaris*. Η πιο πρόσφατη φυλογεωγραφική ανάλυση ομαδοποιεί τους πληθυσμούς του είδους σε 12 κλάδους, χωρίς ωστόσο να συμπεριλαμβάνει πληθυσμούς από τις νοτιότερες περιοχές της εξάπλωσής του. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η συμπλήρωση της φυλογεωγραφίας του είδους με πληθυσμούς από το νοτιότερο άκρο της κατανομής του. Για το σκοπό αυτό, έγινε αλληλούχιση του μιτοχονδριακού γονιδίου ND4 σε 74 άτομα από 35 διαφορετικές τοποθεσίες της Ελλάδας και των νοτίων Βαλκανίων, ενώ χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον αλληλουχίες από τη GenBank που αντιστοιχούσαν σε όλους τους έως τώρα αναγνωρισμένους κλάδους. Η φυλογενετική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τις μεθόδους της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum Likelihood) και της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας (Bayesian Inference). Παράλληλα, οι κλάδοι με το μεγαλύτερο αριθμό διαθέσιμων αλληλουχιών αναλύθηκαν ως προς την ιστορική δημογραφία τους. Η ανάλυση ανέδειξε έναν επιπλέον διακριτό κλάδο που συμπεριλαμβάνει τους πληθυσμούς από την Πελοπόννησο (κλάδος M), ενώ οι υπόλοιποι ελληνικοί πληθυσμοί οργανώνονται σε τρεις γεωγραφικά διακριτούς κλάδους: C (δυτική Ελλάδα – Ιόνιο), K (Μακεδονία - Ήπειρος) και E (Θράκη). Η φυλογενετική θέση των κλάδων C και M καθώς και η παλαιά δημογραφική τους σταθερότητα, υποδεικνύουν την ύπαρξη ενός παλαιού καταφυγίου για το είδος στην ευρύτερη περιοχή της δυτικής Ελλάδας. Αντίθετα ο κλάδος K εμφανίζει πρόσφατη εξάπλωση από πιθανό καταφύγιο στα κεντρικά Βαλκάνια. Τέλος, καθένας από τους τέσσερις παραπάνω κλάδους αποτελεί διακριτή εξελικτικά σημαντική μονάδα διατήρησης (ESU) εντός του ελλαδικού χώρου.

PHYLOGEOGRAPHY OF *Lissotriton vulgaris* (AMPHIBIA, URODELA, SALAMANDRIDAE) IN THE SOUTHERN BALKANS

Karli Ch.-E., Sotiropoulos K.

Molecular Ecology and Conservation Genetics Lab, Department of Biological Applications & Technologies, University of Ioannina, 45110 Ioannina

Lissotriton vulgaris (Linnaeus, 1758) is the most widespread newt species with a distribution that encompasses most of Europe and parts of western Asia. Two subspecies are found in Greece: *L.v. graecus* and *L. v. vulgaris*. According to the most recent phylogeographic study, *L. vulgaris* populations are organized into 12 distinct clades. However, the southern populations of the species range have not been included in the above analysis. The main goal of this study was to provide a more accurate picture of species phylogeography by analyzing the populations in the southern limit of its distribution. To achieve this, we analyzed the mitochondrial ND4 gene of 74 individuals from 35 different localities in Greece and the southern Balkans. Additionally, sequences corresponding to all previously recognized *L. vulgaris* clades were obtained from the GenBank and were used in our analysis. Phylogenetic analysis was conducted using Maximum Likelihood and Bayesian Inference methods. The demographic history of clades with sufficient number of sequences available was assessed by a mismatch distribution analysis. Our results highlight the presence of an additional distinct clade that comprises all populations from Peloponnisos (M clade). The remaining Greek populations define three separate clades: C (western Greece – Ionian islands), K (Macedonia – parts of Epirus) and E (Thrace). The phylogenetic position of clades C and M along with their long – term demographic stability suggests that western Greece could have been a refugium for the species. On the other hand, K populations show a recent demographic expansion and probably originate from a refugium in the central Balkans. Finally, all four clades found in Greece consist distinct evolutionary significant units (ESUs).

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ HSP70 ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΑΠΟΣΙΩΠΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΟΙΚΙΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΤΗ ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ HELA

**Κασιούμη Παναγιώτα, Βραζέλη Παρασκευή, Κατσούρας Χρήστος, Αγγελίδης
Χαράλαμπος**

1 Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, ΤΚ 45110 2

Καρδιολογική Κλινική, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, ΤΚ.45110

Η πρωτεΐνη Heat shock protein 70 (Hsp70) αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους μοριακούς συνοδούς (chaperones) ενώ ταυτόχρονα ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών θερμικού σοκ (Heat shock proteins). Εντοπίζεται σε χαμηλά, βασικά επίπεδα κάτω από φυσιολογικές συνθήκες και επάγεται σε συνθήκες στρες. Εμπλέκεται σε πλήθος λειτουργιών που σχετίζονται με την διατήρηση του πρωτεώματος και την επιδιόρθωση του DNA. Η δράση της εντοπίζεται όχι μόνο στα φυσιολογικά κύτταρα αλλά και στα καρκινικά δίνοντας τους προβάδισμα στην επιβίωση μέσω κυρίως της αντι-αποπτωτικής δράσης της. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα κύτταρα HeLa και η σταθερά διαμολυσμένη κυτταρική σειρά HeLa-siRNA-Hsp70 από την οποία έχει αποσιωπηθεί η Hsp70 (knockdown). Αποδείχθηκε ο κυτταροπροστατευτικός ρόλος της Hsp70 κάτω από διάφορες συνθήκες στρες. Στην συνέχεια μελετήθηκε και συγκρίθηκε στις 2 κυτταρικές σειρές η «Ανοικis» απόπτωση με ανοσοαποτύπωση κατά Western, χρησιμοποιώντας τα επίπεδα της αδρανοποιημένης PARP-1 ως αποπτωτικό δείκτη και με κυτταρομετρία ροής, μετά από χρώση με ιωδιούχο προπίδιο και αννεξίνη, απουσία και παρουσία της Hsp70. Επιπλέον συσχετίστηκε η ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων ενάντια σε διάφορα χημειοθεραπευτικά φάρμακα με τον αντι-αποπτωτικό ρόλο της Hsp70 αποδεικνύοντας ότι απουσία της Hsp70 τα κύτταρα HeLa είναι λιγότερο ανθεκτικά ενάντια στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα σισπλατίνη και δοξορουβικίνη. Τέλος μελετήθηκε η μεταναστευτική ικανότητα των δύο κυτταρικών σειρών με την τεχνική επούλωσης τραύματος (wound healing). Αποδείχθηκε ότι τόσο η σισπλατίνη όσο και η δοξορουβικίνη σε χαμηλές συγκεντρώσεις (κάτω από το IC50) επηρεάζουν τη μεταναστευτική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων HeLa.

THE ROLE OF HSP70 GENE SILENCING IN ANOIKIS APOPTOSIS AND MIGRATION OF HELA CELLS

Kasioumi Panagiota.¹, Vrazeli Paraskevi .¹, Katsouras Christos.¹, Angelidis Charalampos.¹

¹ Laboratory of General Biology, Medicine School, University of Ioannina, 45110 ². Cardiology Clinic, Medicine School, University of Ioannina, 45110

Heat shock protein 70 (Hsp70) is one of the most important molecular chaperones and belongs to the major family of heat shock proteins. It is expressed in low (basic) levels under normal conditions and it is induced under several kinds of stress. It is involved in several cellular processes including the maintenance of proteome and DNA repair. Hsp70 acts in normal and in cancer cells, conferring survival through its anti-apoptotic role. In our studies, HeLa cells and the stable transfected HeLa-siRNA-Hsp70 cells, in which Hsp70 mRNA had been knocked down, were used. We demonstrated the antiapoptotic function of Hsp70 under different kinds of stress. In both cell lines we compared the levels of anoikis apoptosis, with western blotting by using the levels of the inactivated PARP-1 as an apoptotic marker and with flow cytometry after staining cells with PI and Annexin. We correlated the resistance of cancer cells against anticancer drugs with Hsp70, demonstrating that in the absence of Hsp70, HeLa cells are less resistant when treated with cisplatin and doxorubicin. At last, we studied the migratory ability of both cell lines, using the wound healing method. We proved that both cisplatin and doxorubicin affect the migration of HeLa cells when used in low concentrations (lower than IC₅₀).

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΟΝΟΠΑΤΙΟΥ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ NFκ-B ΣΤΑ ΠΡΩΙΜΑ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΕΜΒΡΥΩΝ ΠΟΝΤΙΚΩΝ

Κατράκη Παύλου Σταμάτινη
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Έπειτα από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε εμβρυικά βλαστικά κύτταρα, παρατηρήθηκε πως το σύμπλοκο IKK ανιχνεύεται στα διαφοροποιημένα βλαστικά κύτταρα, ενώ δεν ανιχνεύεται στα πρώιμα/μη διαφοροποιημένα βλαστικά κύτταρα. Οι παρατηρήσεις αυτές αποκαλύπτουν μια πιθανή δράση του συμπλόκου IKK ως παράγοντα διαφοροποίησης. Για επιβεβαιωθεί η παραπάνω υπόθεση είναι απαραίτητη η πραγματοποίηση πειραμάτων *in vivo* και η εξακρίβωση των παραπάνω αποτελεσμάτων. Σκοπός της συγκεκριμένης πειραματικής εργασίας είναι η ανίχνευση της IKK ή μορίων που σχετίζονται με την δράση αυτής (όπως η Rel, p52, p65) σε εμβρυικά κύτταρα ποντικών, σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια (από pns έως έμβρυα 7,5 ημερών). Μέχρι στιγμής οι μελέτες μας δείχνουν πως η πρωτεΐνη IKKα πιθανότατα να εμφανίζεται σε έμβρυα 7,5 ημερών στο διαφοροποιημένο τμήμα του τροφοεξωδέρματος.

THE EARLY DEVELOPMENTAL STAGES OF MICE EMBRYOS

Katraki Pavlou Stamatiki

University of Ioannina

Έπειτα από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε εμβρυικά βλαστικά κύτταρα, παρατηρήθηκε πως το σύμπλοκο IKK ανιχνεύεται στα διαφοροποιημένα βλαστικά κύτταρα, ενώ δεν ανιχνεύεται στα πρώιμα/μη διαφοροποιημένα βλαστικά κύτταρα. Οι παρατηρήσεις αυτές αποκαλύπτουν μια πιθανή δράση του συμπλόκου IKK ως παράγοντα διαφοροποίησης. Για επιβεβαιωθεί η παραπάνω υπόθεση είναι απαραίτητη η πραγματοποίηση πειραμάτων *in vivo* και η εξακρίβωση των παραπάνω αποτελεσμάτων. Σκοπός της συγκεκριμένης πειραματικής εργασίας είναι η ανίχνευση της IKK ή μορίων που σχετίζονται με την δράση αυτής (όπως η Rel, p52, p65) σε εμβρυικά κύτταρα ποντικών, σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια (από *pns* έως έμβρυα 7,5 ημερών). Μέχρι στιγμής οι μελέτες μας δείχνουν πως η πρωτεΐνη IKKα πιθανότατα να εμφανίζεται σε έμβρυα 7,5 ημερών στο διαφοροποιημένο τμήμα του τροφοεξωδέρματος.

ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ UBA1 ΑΠΟ ΤΟ *Arabidopsis thaliana* ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΕΙ ΜΙΑ UBA-ΟΜΟΙΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΚΑΙ ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΗ ΜΕΤΑΒΑΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΑΠΟ ΤΗΝ ΒΛΑΣΤΗΤΙΚΗ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΦΑΣΗ

**Κάτσαβου Ε. ⁽¹⁾, Μπερή Δ. ⁽¹⁾, Καπόλας Γ. ⁽¹⁾, Ρούσσης Α. ⁽¹⁾, Μηλιώνη Δ. ⁽²⁾,
Χαραλαμπίδης Κ. ⁽¹⁾**

*(1) Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, 15784 Αθήνα (2)
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, 11855 Αθήνα*

Η παρούσα μελέτη έχει σαν στόχο τον μοριακό, γενετικό και φαινοτυπικό χαρακτηρισμό του γονιδίου άγνωστης λειτουργίας UBA1. Το γονίδιο εντοπίζεται στο πέμπτο χρωμόσωμα του *Arabidopsis thaliana* και κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη 547 αμινοξέων με μοτίβα UBA-like (ubiquitin associated like), ορθόλογες της οποίας απαντώνται μόνο στους φυτικούς οργανισμούς. Προκειμένου να αποσαφηνιστεί η λειτουργία του γονιδίου, αποκτήθηκαν ολικής απώλειας λειτουργίας T-DNA διαγονιδιακές σειρές φυτών *Arabidopsis thaliana*. Η φαινοτυπική ανάλυση έδειξε ότι τα μεταλλάγματα εμφανίζουν πρόωρη άνθιση και μεγαλύτερο μήκος πλάγιων βλαστών σε σχέση με τα φυτά αγρίου τύπου. Ιστοειδική έκφραση του γονιδίου παρατηρείται στα υδατόδια των κοτυληδόνων και των αναπτυσσόμενων φύλλων, στον αγωγό ιστό του υπέργειου τμήματος του φυτού, καθώς και στην περιοχή του ακραίου μεριστώματος του βλαστού. Πειράματα υποκυτταρικού εντοπισμού της πρωτεΐνης in planta, αποκάλυψαν ότι η UBA1 εντοπίζεται σε κυστίδια του κυτταροπλάσματος. Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν μια πιθανή συσχέτιση του γονιδίου με έναν αυξίνο-εξαρτώμενο μηχανισμό μετάβασης του φυτού από τη βλαστητική στην αναπαραγωγική φάση.

THE PLANT SPECIFIC UBA1 GENE FROM *Arabidopsis thaliana* ENCODES A UBA-LIKE PROTEIN, INVOLVED IN THE VEGETATIVE TO REPRODUCTIVE PHASE TRANSITION DURING PLANT DEVELOPMENT

Katsavou E. ⁽¹⁾, Beri D. ⁽¹⁾, Kapolas G. ⁽¹⁾, Roussis A. ⁽¹⁾, Milioni D. ⁽²⁾, Haralampidis K. ⁽¹⁾

(1) University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, 15784 Athens (2) Agricultural

University of Athens, Department of Agricultural Biotechnology, 11855 Athens

The aim of the current work is the molecular, genetic and phenotypic characterization of UBA1 from *Arabidopsis thaliana*. The gene is located on chromosome 5 and encodes a 547 amino acid plant specific protein with characteristic UBA-like motifs. In order to investigate the functional importance of UBA1 during plant growth and development, we analyzed a number of total knock out T-DNA insertion lines. The loss-of-function mutants displayed an early flowering phenotype, accompanied by a significant elongation of the secondary shoot inflorescent branches, compared to with wild type plants. The tissue specific analysis of UBA1p::GUS transgenic lines, revealed that the gene is expressed predominantly in the hydathodes of both cotyledons and expanding leaves, the vascular tissue and the region of the shoot apical meristem. Subcellular localization experiments showed that UBA1 is exclusively localized in cytoplasmic vesicles involved in vesicular trafficking. Taken together, our results indicate that UBA1 may be involved in an auxin-dependent mechanism that influences the tempo-spatial vegetative-to-reproductive phase transition during plant development.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΕΝΟΣ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΜΕΣΩ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗΣ ΒΙΟΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ

**Κατσικούδη Α., Χατζηκωνσταντίνου Α., Χατζηαθανασιάδου Μ., Κοντογιάννη Β.,
Μπέκας Ν., Μπέλλου Σ., Σταμάτης Χ., Τζάκος Α.**

Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Οι φυτοχημικές ουσίες καλύπτουν ένα αρκετά ενδιαφέρον πεδίο έρευνας όσον αφορά την αναζήτηση βιοδραστικών ουσιών, εξ' αιτίας του γεγονότος ότι εξελίχθηκαν μέσω της φυσικής επιλογής με τρόπο κατάλληλο ούτως ώστε να αλληλεπιδρούν με τα διάφορα βιολογικά συστήματα. Συνεπώς, αφού τα πολύπλοκα φυτικά εκχυλίσματα αποτελούν εξέχουσα πηγή φυτοχημικών ουσιών, θα μπορούσαν να αξιολογηθούν ως συνδυαστικές βιβλιοθήκες ενώσεων που στοχεύουν στον ευρύτατο βιολογικό χώρο. Ωστόσο ένα σημαντικό μειονέκτημα των φυτοχημικών ενώσεων ως προς αυτή την κατεύθυνση είναι η περιορισμένη βιοδιαθεσιμότητά τους λόγω της αυξημένης πολικότητάς τους. Προκειμένου, αφ' ενός να αυξήσουμε τη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοχημικών ουσιών και αφ' ετέρου να εκμεταλλευτούμε την πληθώρα βιολογικών δράσεων που παρουσιάζουν, πραγματοποιήσαμε ενζυμικά καταλυόμενη τροποποίηση στα φυτικά εκχυλίσματα αλλά και στα απομονωμένα βιοενεργά συστατικά. Προκειμένου να αναλύσουμε τόσο τα ακατέργαστα φυτικά εκχυλίσματα όσο και αυτά έπειτα από τη βιομετατροπή, καταφύγαμε σε μια σειρά μοντέρνων τεχνικών ενόργανης ανάλυσης όπως είναι η μέθοδος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και η υγρή χρωματογραφία σε σύζευξη με φασματομετρία μάζας (LC-MS). Για να ξεπεράσουμε το εμπόδιο της μεταφοράς των ουσιών αυτών εντός των κυττάρων ελέγξαμε την ικανότητά τους να δεσμεύονται από την αλβουμίνη από ορό βοδιού ως πρωτεΐνης-μεταφορέα. Τα αποτελέσματα πρόσδεσης αυτών των βιοενεργών συστατικών με την BSA αξιολογήθηκαν μέσω ισοθερμικής θερμοδομετρικής τιτλοδότησης (ITC) και η κυτταροτοξικότητα των συστατικών αυτών (των φυσικών και αυτών έπειτα από βιοκατάλυση) μελετήθηκε σε καρκινικά κύτταρα μαστού, MCF-7, μέσω του δοκιμίου MTT.

BIOLOGICAL ORIENTATION ENRICHMENT OF THE PHYTOCHEMICAL SPACE OF PLANT EXTRACTS VIA TARGETED BIOTRANSFORMATION

**Katsikoudi A., Chatzikonstantinou A., Chatziathanasiadou M., Kontogianni B., Mpeka N.,
Mpellou S., Stamatis X., Tsakos A.**

University of Ioannina

Phytochemicals cover a very interesting part of chemical space due to the fact that they have been evolved after natural selection to interact with biological systems. Therefore, since complex plant extracts consist a valuable source of phytochemicals, they can be considered as combinational libraries oriented in the biologically relevant space. However, an intrinsic obstacle that phytochemicals might suffer is their reduced bioavailability due to their enhanced polarity. In order to surmount this and enhance the bioavailability and in the same time take advantage of phytochemicals bioactivity, we utilized biocatalysis that we applied both to specific plant extracts as also to isolated compounds. In order to fully screen the authentic plant extract as also the biotransformed one, we used an array of biophysical techniques such as NMR and LC-MS. In order to evaluate their potential to be transported to distal cellular sites we assayed their binding to bovine serum albumin (BSA) as protein-carrier for these compounds. The effects of these compounds on BSA binding were assayed via isothermal titration calorimetry (ITC) and the cytotoxicity effect of the plant phytochemicals (authentic or biotransformed) was charted via MTT assay in MCF-7 breast cancer cell line.

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΙΧΘΥΟΠΑΝΙΔΑΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΚΟΙΛΙΑΡΗ (ΚΡΗΤΗ) ΚΑΤΑ ΤΗ ΘΕΡΙΝΗ ΠΕΡΙΟΔΟ

**Κατσόγιαννου Ιωάννα, Γεωργιόπουλος Νικόλαος, Αναστασοπούλου Ευαγγελία,
Σκουλικίδης Νικόλαος, Γκρίτζαλης Κωνσταντίνος**
*Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών Ινστιτούτο Θαλασσιών Βιολογικών Πόρων και
Εσωτερικών Υδάτων 46,7 χλμ. Αθηνών – Σουνίου, 19013 Ανάβυσσος*

Ο ποταμός Κοιλιάρης βρίσκεται στο νομό Χανίων, πηγάζει από τον οικισμό Στύλο και εκβάλλει στην παραλία Κυανή Ακτή των Καλυβών διανύοντας μήκος 5km, με έκταση υδρολογικής λεκάνης 130km², με ποικίλο τοπογραφικό ανάγλυφο μέσης κλίσης 12% και μέγιστο υψόμετρο 2.041m. Οι κύριοι γεωλογικοί σχηματισμοί είναι ανθρακικά πετρώματα και οι κύριες χρήσεις γης είναι βοσκότοποι, καλλιεργούμενες εκτάσεις και δασικές εκτάσεις. Ένας σημαντικός αριθμός ιχθυοπανίδας όπως τα είδη *Saliara fluviatilis*, *Cephalus* spp, *Anguila anguila*, αλλά και υδρόβιες χελώνες, βατράχια και *Potamon* sp, ενδιαιτώνται στα νερά του ποταμού και αναπαράγονται σε ποικίλα ενδιαιτήματα του ποταμού. Για την μελέτη της υδρομορφολογίας της περιοχής εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο River Habitat Survey (RHS), όπου με τη συλλογή και επεξεργασία ποιοτικών και ποσοτικών γεωμορφολογικών – υδρολογικών δεδομένων, η κατάσταση είναι αρκετά ικανοποιητική. Σε όλο το μήκος του ποταμού Κοιλιάρη, την άνοιξη παρατηρούνται από πλευράς ορνιθοπανίδας, αηδόνια, μαυροπούλια, τρυγόνια, κοτσύφια, τσαλαπετεινοί κ.α. Η συλλογή των μακροασπόνδυλων ταχά έγινε με τη μέθοδο RIVPACS, το οποίο είναι ένα στατιστικό μοντέλο που υπολογίζει τη σύνθεση της κοινότητας των μακροασπόνδυλων με βάση τα περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά του. Σύμφωνα με τα μακροασπόνδυλα που συλλέχθηκαν, από τα Ephemeroptera κυριαρχούν τα Baetidae, από τα Diptera τα Simuliidae (59,3%), τα Chironomidae (27,9%), τα Athericidae (9,3%) και τα Limoniidae (3,5%), από τα Odonata τα Calopterygidae, από τα Crustacea τα Gammariidae, από τα Mollusca τα Hydrobiidae (55,1%), τα Neritidae (23,2%), τα Sphaeridae (11,6%), τα Physidae και Planorbiidae (4,3%), από τα Trichoptera τα Hydropsychidae (61,1%), τα Glossosomatidae (31,5%) και τα Limnephilidae (7,4%), από τα Plecoptera συλλέχθηκαν μόνο τα Leuctridae, από τα Oligochaeta συλλέχθηκε μόνο ένα άτομο των Oligochaeta, από τα Coleoptera συλλέχθηκαν μόνο τα Scirtidae και τέλος από τα Arthropoda συλλέχθηκε ένα άτομο της Οικογένειας Hydrachnidae. Η χημική κατάταξη του ποταμού ορίζεται ως άριστη, ενώ οι πιέσεις που δέχεται το σύστημα είναι μόνο από πολυετείς και μονοετείς καλλιέργειες στην παρόχθια περιοχή.

DISTRIBUTION OF FISH AND MACROINVERTEBRATE FAUNA IN RIVER KOILIARIS (CRETE) DURING SUMMER SEASON

**Katsogiannou Ioanna, Georgiopoulos Nikolaos, Anastasopoulou Evangelia, Skoulikidis
Nikolaos, Gkritzalis Konstantinos**

*Hellenic Centre for Marine Research Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters
46,7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos Attica, Greece*

The river Koiliaris is located in the prefecture of Chania, stems from the village Stylo and flows into the beach Kiani Akti, its length is 5km and the basin covers an area of 130km² with varied topography, mean slope 12% and maximum altitude 2041m. The main geological formations are carbonate rocks and the main land use is pasture, cropland and woodland. A significant number of fish fauna as the species *Salaria fluviatilis*, *Cephalus* spp, *Anguila anguila*, aquatic turtles, frogs, and *Potamon* sp, live in the river and reproduce on various habitats of the river. For assess the hydromorphology of the stream the River Habitat Survey (RHS) protocol was applied, where qualitative and quantitative geomorphology - hydrological data was collected and processed and so, the condition of the river is quite “good”. In spring along the river Koiliaris are observed different species of birdlife such as nightingales, blackbirds, turtledoves, blackbirds, hoopoes, etc. The RIVPACS method was used for the collection of macroinvertebrate taxa, which is a statistical model that calculates the composition of the macroinvertebrates based on their environmental characteristics. According to the collected macroinvertebrates, Ephemeroptera are dominated by Baetidae, Diptera are dominated by Simuliidae (59,3%), Chironomidae (27,9%), Athericidae (9,3%) and Limoniidae (3,5 %), Odonata are dominated by Calopterygidae, Crustacea are dominated by Gammariidae, Mollusca by Hydrobiidae (55,1%), Neritidae (23,2%), Sphaeridae (11,6%), and both Physidae and Planorbiidae (4.3%), Trichoptera by Hydropsychidae (61,1%), Glossosomatidae (31,5%) and Limnephilidae (7,4%), and Plecoptera only by Leuctridae, from Oligochaeta only an individual was collected, from Coleoptera was collected only an individual of Scirtidae and of Arthropoda was collected only an individual of Hydrachnidae. The chemical classification of the stream is defined as “excellent”, while the pressures on the system are only by perennial and annual crops in the riparian area.

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΕΦΗΜΕΡΟΠΤΕΡΩΝ - ΠΛΕΚΟΠΤΕΡΩΝ - ΤΡΙΧΟΠΤΕΡΩΝ (EPT TAXA) ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΝΕΔΑ (ΜΕΣΣΗΝΙΑ)

**Κατσόγιαννου Ιωάννα, Γκρίτζαλης Κωνσταντίνος, Γεωργιόπουλος Νικόλαος,
Καραούζας Ιωάννης, Μαρογιάννη Βασιλική**

*Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών Ινστιτούτο Θαλασσίων Βιολογικών Πόρων και
Εσωτερικών Υδάτων 46,7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, 19013 Ανάβυσσος*

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη κατανομής των EPT taxa στη λεκάνη απορροής του ποταμού Νέδα και η συσχέτιση τους με τη φυσικοχημική του κατάσταση. Η λεκάνη απορροής του ποταμού Νέδα έχει έκταση 287,1km², με μέγιστο υψόμετρο 1.420m και μέση κλίση 17ο. Οι κύριες χρήσεις γης είναι η γεωργική γη με σημαντικές εκτάσεις φυσικής βλάστησης, η σκληροφυλλική βλάστηση, το μικτό δάσος και οι φυσικοί βοσκοτόποι. Ελήφθησαν δείγματα από δυο σταθμούς, κοντά στις πηγές (Κακαλέτρι) και κοντά στις εκβολές (Πρασιδάκι) την ξηρή και υγρή περίοδο. Αναγνωρίστηκαν και καταγράφηκαν τα EPT taxa, έγινε ανάλυση κύριων ιόντων, φυσικοχημικών παραμέτρων, θρεπτικών, καθώς και Ολικού P, Ολικού N, και SiO₂. Η χημική – φυσικοχημική κατάσταση του σταθμού Κακαλέτρι, για την υγρή περίοδο είναι σε γενικές γραμμές καλή με μέτριες τιμές για το DO και τα PO₄, ενώ την ξηρή είναι υψηλή με καλές τιμές για το NO₃, NO₂ και NH₄. Η χημική – φυσικοχημική κατάσταση του σταθμού Πρασιδάκι, για το χειμώνα είναι καλή με μέτρια τιμή μόνο για το PO₄, ενώ το καλοκαίρι είναι υψηλή με καλές τιμές για DO, NO₃, NO₂. Συνολικά και οι δυο σταθμοί κατατάσσονται σε “Καλή” κατάσταση με βάση τη χημική - φυσικοχημική τους κατάσταση. Όσον αφορά τα EPT taxa, στο σταθμό Κακαλέτρι την ξηρή περίοδο επικρατούν τα Ephemeroptera και οι Οικογένειες που απαντώνται είναι Baetidae, Ephemerellidae, Ephemeridae, και Heptageniidae, ακολουθούν τα Trichoptera και οι Οικογένειες που απαντώνται είναι Hydropsychidae, Leptoceridae, Philopotamidae, Polycentropodidae και Rhyacophilidae ενώ δεν έχουν συλλεχθεί είδη από τα Plecoptera. Κατά την υγρή περίοδο επικρατούν τα Ephemeroptera σε μικρότερο αριθμό από ότι την ξηρή περίοδο και οι Οικογένειες που καταγράφονται είναι Baetidae, Ephemeridae και Heptageniidae, ακολουθούν τα Trichoptera σε μεγαλύτερο αριθμό από ότι την ξηρή περίοδο, με τις Οικογένειες των Hydropsychidae, Lepidostomatidae, Philopotamidae, Polycentropodidae και Rhyacophilidae, ενώ από τα Plecoptera οι Οικογένειες που απαντώνται είναι Nemouridae και Perlidae. Στο σταθμό Πρασιδάκι την ξηρή περίοδο επικρατούν τα Trichoptera με τις Οικογένειες, Glossosomatidae, Hydropsychidae, Lepidostomatidae, Philopotamidae, Polycentropodidae και Rhyacophilidae, ακολουθούν Ephemeroptera με τις Οικογένειες, Baetidae, Caenidae, Ephemerellidae, Heptageniidae, Oligoneuriidae ενώ από τα Plecoptera απαντάται η Οικογένεια Leuctridae. Την υγρή περίοδο συλλέχθηκαν μόνο Ephemeroptera σε μεγαλύτερο αριθμό από ότι την ξηρή με είδη της Οικογένειας Baetidae.

DISTRIBUTION OF EPHEMEROPTERA - PLECOPTERA - TRICHOPTERA (EPT TAXA) IN RIVER NEDA (MESSINIA)

**Katsogiannou Ioanna, Gkritzalis Konstantinos, Georgiopoulos Nikolaos, Karaouzas Ioannis,
Markogianni Vassiliki**

*Hellenic Centre for Marine Research Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters
46,7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos Attica, Greece*

The aim of this paper is to study the distribution of the EPT taxa in the river basin of Neda and their correlation with the physico - chemical status. The basin area is 287.1km², with a maximum altitude of 1420m and an average slope 17o. The main land use is agricultural land with significant areas of natural vegetation, Sclerophyllous vegetation, mixed forest and natural pastures. Samples were taken from two sites, near the sources (Kakaletri) and near the estuaries (Prasidaki) in dry and wet season. The EPT taxa were recorded and the main ions, physicochemical parameters, nutrients, total P and N and SiO₂ were analyzed. The physico-chemical status of Kakaletri, for winter is generally good with moderate values for the DO and PO₄, while in summer is high with good values for NO₃, NH₄ and NO₂. The physico-chemical status of Prasidaki, for wet season was good with moderate value only for PO₄, while in dry season is high with good values for DO, NO₃, NO₂. Totally, both sites are classified in “Good Condition” by physico-chemical status. Concerning the EPT taxa, Kakaletri site the dry season is dominated by Ephemeroptera with Families Baetidae, Ephemerellidae, Ephemeridae, and Heptageniidae, following Trichoptera with Families Hydropsychidae, Leptoceridae, Philopotamidae, Polycentropodidae and Rhyacophilidae while species from Plecoptera are not collected. During the wet season Kakaletri site is dominated by Ephemeroptera in a smaller number than in the dry season with Families Baetidae, Ephemeridae and Heptageniidae, following Trichoptera in a higher number than in the dry season, with families of Hydropsychidae, Lepidostomatidae, Philopotamidae, Polycentropodidae and Rhyacophilidae while from Plecoptera the present families are Nemouridae and Perlidae. Prasidaki site the dry season is dominated by Trichoptera with Families, Glossosomatidae, Hydropsychidae, Lepidostomatidae, Philopotamidae, Polycentropodidae and Rhyacophilidae, following Ephemeroptera with Families, Baetidae, Caenidae, Ephemerellidae, Heptageniidae, Oligoneuriidae while from Plecoptera the Family Leuctridae. The wet season Family Baetidae from Ephemeroptera were collected on a larger number than the dry.

ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΤΑΧΑ ΣΕ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ “ΜΕΤΑΠΟΤΑΜΟΝ” ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΠΑΜΙΣΟΥ (ΜΕΣΣΗΝΙΑ)

**Κατσόγιαννου Ιωάννα, Γεωργιόπουλος Νίκος, Καραούζας Ιωάννης, Αναστασοπούλου
Ευαγγελία, Γκρίτζαλης Κωνσταντίνος**

*Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών Ινστιτούτο Θαλασσίων Βιολογικών Πόρων και
Εσωτερικών Υδάτων 46,7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, 19013 Ανάβυσσος*

Ο ποταμός Πάμισος (ΝΔ) Πελοπόννησος (Ν. Μεσσηνίας), έχει λεκάνη απορροής έκτασης 618,8km² και το μήκος του είναι περίπου 55km. Οι κύριες χρήσεις γης της λεκάνης απορροής είναι καλλιεργούμενες εκτάσεις και δασικές εκτάσεις ενώ γεωλογικά αποτελείται κυρίως από ασβεστολιθικά πετρώματα διαφόρων ηλικιών. Ελήφθησαν δείγματα την υγρή και ξηρή περίοδο από το “Μεταπόταμον” τμήμα του ποταμού, έγινε καταγραφή της υδρομορφολογίας του με χρήση του πρωτοκόλλου RHS (River Habitat Survey) και συλλογή των μακροασπόνδυλων taxa με τη μέθοδο RIVPACS. Το καλοκαίρι τα taxa που συλλέχθηκαν ήταν τα Crustacea, Diptera, Odonata, Gastropoda, Ephemeroptera και Coleoptera, με συνολικό αριθμό taxa 14. Το χειμώνα η ποικιλότητα ήταν πιο περιορισμένη και τα taxa που εντοπίστηκαν ήταν τα Crustacea, Gastropoda, Ephemeroptera και Odonata, με συνολικό αριθμό 6. Την υγρή περίοδο ο αριθμός των Gastropoda και Ephemeroptera ήταν σχεδόν δεκαπλάσιος από ότι την ξηρή περίοδο, ενώ αντιθέτως ο αριθμός των Crustacea ήταν σχεδόν στο ήμισυ. Με βάση τη φυσική – φυσικοχημική ταξινόμηση οι εκβολές του ποταμού, κατατάσσονται στην “Καλή” κατάσταση. Το πρωτόκολλο RHS συμπληρώθηκε και για τις δυο περιόδους και με βάση τη βαθμολογία (22), οι εκβολές κατατάσσονται ως “Σημαντικά Τροποποιημένο” οικοσύστημα. Οι τροποποιήσεις που έχουν γίνει στα τελευταία χιλιόμετρα πριν τις εκβολές είναι η ευθυγράμμιση της κοίτης του ποταμού, ο εγκιβωτισμός των όχθων με χώμα και η κατασκευή αναχωμάτων για αντιπλυμμηρικούς σκοπούς. Η περιορισμένη ποικιλότητα των taxa οφείλεται κυρίως στην παρουσία ελαιοτριβείων στην περιοχή, με έντονη δραστηριότητα την υγρή περίοδο και στις σημαντικές τροποποιήσεις που έχει υποστεί το οικοσύστημα στις εκβολές του ποταμού Πάμισου.

SEASONAL DISTRIBUTION OF MACROINVERTEBRATE TAXA IN A MODIFIED “METAPOTAMON” SECTION OF PAMISOS RIVER (MESSINIA)

**Katsogiannou Ioanna, Georgiopoulos Nikos, Karaouzas Ioannis, Anastasopoulou Evangelia,
Gkritzalis Konstantinos**

*Hellenic Centre for Marine Research Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters
46,7 km Athens-Sounion Ave., 19013 Anavyssos Attica, Greece.*

River Pamisos is located in SW Peloponnese (Messinia), its basin covers an area of 618.8km² and its length is about 55km. The main land uses of the basin are cultivated areas and woodland, while geologically is composed mainly of limestone rocks of various ages. Samples were taken during the wet and the dry period from the estuaries of the river, the hydromorphology of the river was recorded using the RHS protocol (River Habitat Survey) and the macroinvertebrate taxa were collected using the RIVPACS method. In summer the species Crustacea, Diptera, Odonata, Gastropoda, Ephemeroptera and Coleoptera were collected, with a total number of 14 taxa. In winter the diversity was more limited and the identified species were Crustacea, Gastropoda, Ephemeroptera and Odonata, with a total number of 6 taxa. During the wet period the number of Ephemeroptera and Gastropoda were almost ten times higher than during the dry season, whereas the number of Crustacea was almost the half. The estuaries of the river were classified as “Good”, based on the physical and the physico-chemical classification. The RHS protocol was supplemented at both periods and the estuaries of the river were classified as considerably modified based on the score (22). The modifications that exist during the last kilometers before its estuaries include the straightening of the stream, the boxing of the river’s bank using soil and the construction of embankments for anti-flooding purposes. The limited taxa diversity is mainly due to the presence of olive oil mills in the area, the activity of which is intense during the wet period and due to the major modifications at the estuaries of river Pamisos.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ PLEIOTROPHIN ΚΑΙ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Κατσώρης Παναγιώτης

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η Pleiotrophin (PTN) –γνωστή και ως Heparin affin regulatory peptide (HARP)- είναι ένας αυξητικός παράγοντας ο οποίος στους ιστούς ενήλικων ατόμων ανιχνεύεται σε χαμηλά επίπεδα, αλλά εμφανίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε διάφορους ανθρώπινους όγκους. Το γονίδιο της χαρακτηρίζεται ως πρωτο ογκογονίδιο, γιατί επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, εμφανίζει αντι αποπτωτική δράση και επάγει την καρκινική εξαλλαγή κυττάρων. Επιπρόσθετα, η PTN επάγει τη μετάπτωση κυττάρων από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό φαινότυπο (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT), επάγει τη αναδιαμόρφωση του μικροπεριβάλλοντος καρκινικών κυττάρων, τη μετάσταση και την καρκινική αγγειογένεση. Οι ποικίλες βιολογικές δράσεις του αυξητικού αυτού παράγοντα ρυθμίζονται κυρίως μέσω αυτοκρινούς ή και παρακρινούς ενεργοποίησης των υποδοχέων του. Η Receptor protein tyrosine phosphatase β/ζ (RPTPβ/ζ, PTPRZ1), η Syndecan-3 (N-syndecan, SDC3) και η Anaplastic lymphoma kinase (ALK) είναι τρεις από τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς της PTN. Η διαφορική έκφραση των υποδοχέων αυτών στις διάφορες κυτταρικές σειρές, τροποποιεί τις βιολογικές της δράσεις στα κύτταρα αυτά. Επιπλέον, οι βιολογικές δράσεις της PTN επηρεάζονται από τη δράση πρωτεϊνών του εξωκυττάρου μικροπεριβάλλοντος. Η πλασμίνη, η τρυψίνη η χυμοτρυψίνη και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) πέπτουν την PTN και τα προκύπτοντα πεπτίδια εμφανίζουν βιολογικές δράσεις διαφορετικές από αυτές του όλου μορίου. Η μελέτη των φυσικά δημιουργούμενων ή και των συνθετικών πεπτιδίων της PTN στοχεύει στη σχεδίαση πεπτιδίων με αντικαρκινική και αντιαγγειογενετική δράση με πιθανή θεραπευτική χρήση τους. Στη ομιλία θα παρουσιαστούν αποτελέσματα της μελέτης των μηχανισμών με τους οποίους η PTN ρυθμίζει τη μετάσταση σε καρκινικών κυττάρων ανθρώπινου προστάτη. Επίσης θα παρουσιαστούν αποτελέσματα αναφορικά με τις βιολογικές δράσεις συνθετικών πεπτιδίων της PTN και το ρόλο της στην αγγειογένεση.

IMPLICATION OF PLEIOTROPHIN AND ITS RECEPTORS IN HUMAN PROSTATE CANCER

Katsoris Panagiotis

Department of Biology, University of Patras

Pleiotrophin (PTN), also known as Heparin Affin Regulatory Peptide (HARP), is a developmentally regulated growth factor that shows limited expression in adult tissues, but is markedly up-regulated in various primary human tumours. Concomitantly, pleiotrophin is a proto-oncogene that functions as a mitogenic, anti-apoptotic, and tumour-transforming factor. Furthermore, pleiotrophin stimulates epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), extensive remodeling of the malignant cell microenvironment, tumour angiogenesis, and metastasis. The pleiotropic functions of this growth factor are regulated primarily through the autocrine/paracrine effects of receptor-activated signaling. Receptor protein tyrosine phosphatase β/ζ (RPTP β/ζ , PTPRZ1), Syndecan-3 (N-syndecan, SDC3) and Anaplastic lymphoma kinase (ALK) have been characterised as pleiotrophin transmembrane receptors. The differential expression of these receptors in different cell lines differentiates the biological effect of pleiotrophin. Pleiotrophin effect is also altered by proteases of the extracellular microenvironment. Plasmin, trypsin, chymotrypsin, and MMPs cleave pleiotrophin, leading to the production of biological active peptides that exert alter biological functions compared to the whole molecule. Unraveling the mechanism of action of the natural or synthetic pleiotrophin-derived peptides we aim to identify molecules with potential anti-cancer and anti-angiogenic activity that may be used as therapeutic agents. In this talk, the complex mechanism through which pleiotrophin regulates prostate cancer metastasis and angiogenesis, as well as the function of some pleiotrophin peptides will be presented.

ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΕΝΕΣ ΕΚΦΟΡΤΙΣΕΙΣ CA1 ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΑΜΠΟΥ IN VITRO ΣΕ ΝΕΑΡΟΥΣ ΕΠΙΜΥΕΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΣΤΗΝ ΑΙΘΑΝΟΛΗ

Κατάν Φαίδων-Γιασίν, Παπασιδέρη Ιωάννα, Ψαρροπούλου Αικατερίνη
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα

Κατανάλωση αιθανόλης κατά την εγκυμοσύνη προκαλεί δομικές και λειτουργικές ανωμαλίες στο ΚΝΣ των απογόνων (Fetal Alcohol Syndrome-FAS), που έχουν προσομοιωθεί επιτυχώς στα τρωκτικά. Στα συμπτώματα FAS περιλαμβάνεται και αυξημένη τάση για επιληπτικές κρίσεις, πιθανόν λόγω και παθητικής 'αλκοολικής στέρησης' μετά τη γέννηση. Στην παρούσα μελέτη, διερευνήσαμε το εάν μητρική κατανάλωση μέτριας ποσότητας αιθανόλης οδηγεί σε FAS-τύπου αλλοιώσεις στους απογόνους και εάν υπάρχει διαφορά στον έλεγχο των in vitro CA1 επιληπτοειδών εκφορτίσεων στον ιππόκαμπο FAS και φυσιολογικών (N) νεαρών επίμυων. Άτοκοι Sprague-Dawley επίμυες εθίστηκαν σε αιθανόλη (15%v/v σε πόσιμο νερό) πριν και κατά τη διάρκεια της κύησης και μέχρι 15 ημέρες μετά τη γέννα. Εξωκυττάρια CA1 καταγραφές πραγματοποιήθηκαν σε κροταφικές τομές ιππόκαμπου από FAS και N απογόνους 21-35 ημερών. Απόγονοι αλκοολικών μητέρων εμφάνισαν χαμηλότερο βάρος εγκεφάλου και σώματος και αυξημένη θνησιμότητα συγκριτικά με συνομήλικους φυσιολογικούς απογόνους, σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία. Δεν παρατηρήθηκε αυθόρμητη δραστηριότητα σε φυσιολογικό aCSF (όλες οι τομές). Σε Mg²⁺-free aSCF, η συχνότητα εκφορτίσεων μεσοκροτικού τύπου ήταν χαμηλότερη (FAS:n=40, N:n=32; p<0.0001) και η ανασταλτική επίδραση του AP5 (50μM) ήταν εντονότερη στις FAS τομές (FAS:-83.03%, n=5 vs N:-39.74%, n=10; p=0.02), ενώ του CNQX (10μM) ήταν παρόμοια και στις δυο ομάδες (FAS:-31.37%, n=4 vs N:-54.71%, n=5, p>0.05). Παρουσία bicuculline (BMI,20μM), οι ανταγωνιστές εμφάνισαν παρόμοια δραστηριότητα (CNQX: FAS-36.75% n=6 vs N-23.0% n=5; AP5: FAS-82.67% n=4 vs N-97.07% n=5). Σε φυσιολογικό aCSF, η BMI ενίσχυσε τις προκλητές CA1 απαντήσεις όμοια σε FAS (n=16) και N (n=13) τομές. Απουσία μαγνησίου, η BMI αύξησε την αυθόρμητη συχνότητα στα FAS (n=8, p=0.04) και τη μείωσε σε N τομές (n=6, p=0.02, με ταυτόχρονη αύξηση διάρκειας, p=0.04). Συμπερασματικά, τα ευρήματα υποδεικνύουν μεταβολή της NMDA-εξαρτώμενης διεγερτικής διαβίβασης αλλά και του ανασταλτικού της (GABAA) ελέγχου στον ιππόκαμπο FAS επίμυων.

HIPPOCAMPAL CA1 SYNCHRONOUS DISCHARGES IN VITRO IN YOUNG RATS PRENATALLY EXPOSED TO ALCOHOL.

Kattan Fedon-Giasin, Papasideri Ioanna, Psarropoulou Caterina

*Laboratory of Animal and Human Physiology, Dept. of Biological Applications and Technology,
Faculty of Health Sciences, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece*

Alcohol consumption during pregnancy causes structural and functional CNS abnormalities in the offspring, the Fetal Alcohol Syndrome (FAS), successfully modeled in rodents. FAS deficits include increased seizure susceptibility, possibly enhanced by passive “alcohol withdrawal” after birth. In this study, we investigated a) whether moderate alcohol consumption by the dam induces FAS-resembling abnormalities in the offspring and b) whether the control of hippocampal CA1 epileptiform in vitro discharges differ in FAS vs Naïve (N) young rats. Female nulliparous Sprague-Dawley rats were addicted to ethanol (15%v/v in drinking water) before and throughout gestation up to offspring postnatal (PND) day 15. CA1 extracellular EPSPs were recorded from temporal hippocampal slices of PND 21-35 FAS and N rats. Alcoholic dam offspring displayed lower brain and body weights compared to age-matched N-pups and an increased mortality rate, in accordance to previous reports for FAS offspring. In normal aCSF, spontaneous activity was absent (all slices). In Mg²⁺-free aCSF, interictal-like discharge frequency was lower (FAS: n=40, N: n=32; p<0.0001) and the depressant effects of AP5 (50μM) were more pronounced in FAS slices (FAS:-83.03%, n=5 vs N:-39.74%, n=10; p=0.02), while those of CNQX (10μM) were similar in both groups (FAS:-31.37%, n=4 vs N:-54.71%, n=5; p>0.05). Following bicuculline addition (BMI, 20μM), antagonists exhibited similar potency (CNQX: FAS-36.75% n=6 vs N-23.0% n=5; AP5: FAS-82.67% n=4 vs N-97.07% n=5). In normal aCSF, BMI enhanced CA1-evoked responses equally in FAS (n=16) and N (n=13) slices. In Mg²⁺-free aCSF, BMI increased spontaneous frequency in FAS (n=8, p=0.04) but reduced it in N (n=6, p=0.02; coupled with a reciprocal duration increase, p=0.04). In conclusion, these findings suggest that hippocampal NMDA-dependent excitatory transmission, as well as its inhibitory (GABAA) control are altered in FAS offspring.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ ADA2b ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΩΝ ΓΙΒΒΕΡΕΛΛΙΝΩΝ ΣΤΟ *ARABIDOPSIS THALIANA*

**Κετίκογλου Μαρία-Χριστίνα, Πούλιος Στυλιανός, Καλδής Αθανάσιος, Βλαχονάσιος
Κωνσταντίνος**

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα*

Οι γιββερελλίνες (GA) είναι ενδογενείς φυτοορμόνες, οι οποίες ρυθμίζουν την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών σε όλη την διάρκεια της ζωής τους. Οι DELLA πρωτεΐνες είναι μέλη της οικογένειας των GRAS ρυθμιστικών πρωτεϊνών, και δρουν καταστέλλοντας τις επαγόμενες από τις γιββερελλίνες αποκρίσεις των φυτών. Ως αρνητικοί ρυθμιστές στο μονοπάτι σηματοδότησης των γιββερελλινών, τα γονίδια RGA, GAI, RGL1 (RGA-Like 1), RGL2 (RGA-Like 2), RGL3 (RGA-Like 3) στο *Arabidopsis thaliana* έχουν κοινούς και διακριτούς ρόλους. Το γονίδιο ADA2b κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό συνενεργοποιητή που δρα με το GCN5 και οδηγεί στην ακετυλίωση των ιστονών, ρυθμίζοντας τη μεταγραφή γονιδίων. Στο *Arabidopsis* μη λειτουργικά μεταλλάγματα *ada2b* εμφανίζουν αναπτυξιακά προβλήματα όπως νανισμός, καθυστερημένη αύξηση ριζικού συστήματος, άνθη με κοντά πέταλα και στήμονες, αυξημένη στείριότητα και μειωμένη έκφραση γονιδίων βιοσύνθεσης των GA. Πολλά από τα παραπάνω σχετίζονται με τις αποκρίσεις των φυτών σε GA, υποδηλώνοντας πιθανά προβλήματα στη σηματοδότηση τους. Σκοπός της έρευνας ήταν ο χαρακτηρισμός διπλών και τριπλών μεταλλαγμάτων μεταξύ του *ada2b* και των *della* για την εύρεση της αλληλεπίδρασης τους στο μονοπάτι σηματοδότησης των GA. Έγινε μοριακός χαρακτηρισμός διπλών και τριπλών μεταλλαγμάτων μεταξύ των γονιδίων ADA2b, RGA και RGL2 στο *Arabidopsis thaliana*. Παρατηρήθηκε ότι τόσο τα διπλά, *ada2b-1rga-t2*, *ada2b-1rgl2-1*, όσο και τα τριπλά μεταλλάγματα *ada2b-1rga-t2rgl2-1* εμφάνισαν τον *ada2b-1* φαινότυπο, καταδεικνύοντας αδυναμία αντιστροφής του. Σε αντίθεση με την GCN5 φαίνεται ότι οι δύο DELLA πρωτεΐνες δεν επηρεάζουν τη δράση του ADA2b στην αύξηση και ανάπτυξη του *Arabidopsis*. Συνεπώς, τόσο το RGA όσο και το RGL2 είναι πιθανό να δρουν ανοδικά του ADA2b στο μονοπάτι σηματοδότησης των γιββερελλινών.

THE EFFECT OF TRANSCRIPTIONAL ADAPTOR PROTEIN ADA2b ON GIBBERELLIN SIGNALING IN *ARABIDOPSIS THALIANA*.

**Ketikoglou Maria- Christina, Poullos Stylianos, Kaldis Athanasios, Vlachonasios
Konstantinos**

*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki,
54124, Thessaloniki*

Gibberellins (GAs) are endogenous plant hormones, which regulate plant growth and development throughout their life. DELLA proteins are members of the GRAS family of regulatory proteins; they act as suppressors of gibberellin induced responses in plants. As negative regulators in the GA signaling pathway, RGA, GAI, RGL1 (RGA-Like 1), RGL2 (RGA-Like 2), RGL3 (RGA-Like 3) genes in *Arabidopsis thaliana* have common and distinct roles. ADA2b gene encodes for a transcriptional coactivator, which associates with GCN5 and leads to histone acetylation and consequently, regulates gene transcription. In *Arabidopsis*, non-functional *ada2b* mutants exhibit developmental problems such as dwarfism, delayed root growth, flowers with short petals and stamens, increased infertility and reduced expression of GA biosynthesis genes. Many of these phenotypes are related to plant responses to GA, suggesting potential problems in GA signaling. The aim of this study was the characterization of double and triple mutants of *ada2b* and *della* genes in order to find their interaction in the GA signaling pathway. Therefore we characterized at molecular level double and triple mutants between ADA2b, RGA and RGL2 genes in *Arabidopsis thaliana*. We observed that the double *ada2b-1rga-t2*, *ada2b-1rgl2-1*, and the triple *ada2b-1rga-t2rgl2-1* mutants showed similar phenotype to the *ada2b-1* mutant. In contrast to GCN5, this observation indicated incapability of reversing the phenotype and as a result both DELLA proteins did not affect the action of ADA2b in *Arabidopsis* growth and development. Therefore, both RGA and RGL2, is likely to act upstream of ADA2b in the GA signaling pathway.

ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΦΥΣΙΚΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΥ ΕΚΤΙΘΕΝΤΑΙ ΣΕ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

**Κιτσάτη Ναταλία, Γερογιάννη Παρασκευή, Χρυσούλη Μαρία, Σίμος Γιάννης, Γαλάρης
Δημήτριος**

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Τμήμα Ιατρικής*

Φυσικές φαινολικές ενώσεις ευρίσκονται σε αφθονία στο φυτικό βασίλειο και έχει προταθεί ότι η κατανάλωσή τους μέσω της διατροφής συνεισφέρει στη διατήρηση της υγείας στον άνθρωπο. Οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί, όμως, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για αυτές τις επιπτώσεις παραμένουν εντελώς άγνωστοί και χρειάζονται περαιτέρω διερεύνηση. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε ο μηχανισμός με τον οποίο το καφεϊκό οξύ και ορισμένα παράγωγά του (ροσμαρινικό οξύ, τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη) μπορούν να προστατεύσουν από την πρόκληση σχάσεων στις μονές αλυσίδες του DNA σε κύτταρα τα οποία εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες υπό τη μορφή του H_2O_2 . Παρατηρήθηκε ότι αποτελεσματική προστασία προϋποθέτει: (1) την ικανότητα της κάθε ένωσης να διαπερνά την πλασματική μεμβράνη και να εισέρχεται στο ενδοκυττάριο χώρο, και (2) να μπορεί να δεσμεύει εντός των κυττάρων «οξειδοαναγωγικά ενεργά» ιόντα σιδήρου. Αυτά τα αποτελέσματα στηρίζουν την άποψη ότι πολυάριθμες φαινολικές ενώσεις με τα παραπάνω χαρακτηριστικά που περιέχονται σε αφθονία στη Μεσογειακή δίαιτα, μπορούν να προστατεύσουν τα κύτταρα σε συνθήκες οξειδωτικού στρες και με αυτό τον τρόπο να συνεισφέρουν στη διατήρηση της υγείας.

PROTECTION OF NUCLEAR DNA IN CELLS EXPOSED TO H₂O₂-OXIDATIVE STRESS BY CAFFEIC ACID-RELATED COMPOUNDS

Kitsati N., Gerogianni P., Chrisouli M., Simos I., Galaris D.

Laboratory of Biological Chemistry, Medical School, Faculty of Health Sciences, University of Ioannina

Naturally occurring caffeic acid derivatives are abundantly distributed in the plant kingdom, and it has been proposed that their consumption contributes to the maintenance of human health. However, the molecular mechanisms underlying their health keeping effects remain unknown. In the present investigation, the capacity of caffeic acid related compounds (rosmarinic acid, tyrosol and hydroxy-tyrosol) to protect H₂O₂-induced DNA damage in cultured cells, was evaluated. It was observed that effective protection was based on the ability of each compound to: (i) penetrate cell membrane, reach the intracellular space, and (ii) chelate intracellular “labile iron”. These results supports the notion that numerous lipophilic iron-chelating compounds, present abundantly in the Mediterranean diet, may protect cells in conditions of oxidative stress and in this way contribute toward maintenance of human health.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ LINE-1, HERVK-10 ΚΑΙ VL30 ΤΟΥ ΜΥΟΣ ΣΤΗ ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΜΒΡΥΩΝ ΜΥΟΣ

**Κίτσου Χρυσούλα ¹, Λάζαρος Λέανδρος ¹, Παπαχριστοφή Βασιλική ¹, Μπέλλου Σοφία ²,
Γαλάνη Βασιλική ³, Σακάλογλου Πρόδρομος ¹, Κωστούλας Χαρίλαος ¹, Βαρθολομάτος
Γεώργιος ⁴, Ζηκόπουλος Κωνσταντίνος ¹, Τζαβάρας Θεόδωρος ⁵, Γεωργίου Ιωάννης ¹**
*1/Ερευνητικό Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής και Ανθρώπινης Αναπαραγωγής Ιατρική
Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τ.Κ. 45 110, Ιωάννινα - 2 / Ινστιτούτο Μοριακής
Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας - Τμήμα Βιοϊατρικών Ερευνών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,
Τ.Κ. 45 110, Ιωάννινα - 3/Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, Τ.Κ. 45 110, Ιωάννινα - 4/Αιματολογικό Εργαστήριο – Μονάδα Μοριακής
Βιολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Τ.Κ. 45 110, Ιωάννινα - 5/Εργαστήριο
Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τ.Κ. 45 110, Ιωάννινα.*

Τα ανθρώπινα ωάρια εκφράζουν ενεργά ρετρομεταθετά στοιχεία κατά τη διάρκεια της ωρίμανσής τους. Μελετήσαμε την επίδραση της επαγωγής των ανθρώπινων ρετρομεταθετών στοιχείων στα προεμφυτευτικά στάδια ανάπτυξης εμβρύων μυός. Ανθρώπινα ενεργά ρετρομεταθετά στοιχεία LINE-1, HERVK-10 και το ρετρομεταθετό στοιχείο μυός VL30, επωάστηκαν με σπερματοζωάρια, μεταφέρθηκαν παθητικά και ενσωματώθηκαν στα έμβρυα κατά τη γονιμοποίηση. Χρησιμοποιήθηκε ως φορέας εξωγενές πλασμιδιακό DNA με ενσωματώμενα τα εξωγενή ρετρομεταθετά στοιχεία LINE-1, HERVK-10 και VL30, σημασμένα με ειδική κασέττα ανίχνευσης της ρετρομετάθεσης που βασίζεται στην έκφραση της πρωτεΐνης EGFP. Τα πειράματα *in vitro* γονιμοποίησης πραγματοποιήθηκαν σε μύες στελέχους FVB/N. Τα ωάρια απομονώθηκαν από τον ωαγωγό των θηλυκών μετά από πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας, ενώ τα σπερματοζωάρια απομονώθηκαν από την επιδιδυμίδα των αρσενικών. Το δείγμα σπέρματος χωρίστηκε σε δύο επιμέρους δείγματα ανά πείραμα, από τα οποία το ένα επωάστηκε με το αντίστοιχο υπό μελέτη πλασμιδιακό DNA, ενώ το άλλο αποτέλεσε το δείγμα ελέγχου. Παρατηρήθηκε η καθημερινή πορεία της ανάπτυξης των εμβρύων με τη καταγραφή των πολικών σωματίων, των προπυρήνων, του ρυθμού διαίρεσης και της μορφολογίας των εμβρύων. Η εξακρίβωση της ενσωμάτωσης των εξωγενών ρετρομεταθετών στοιχείων στο γένωμα των σπερματοζωαρίων έγινε με κυτταρομετρία ροής και PCR, ενώ των εμβρύων, με PCR και συνεστιακή μικροσκοπία. Ταυτοποιήθηκε ενσωμάτωση και υπερέκφραση των LINE-1, HERVK-10 και VL30, στο 30% των εμβρύων, στα οποία παρατηρήθηκαν περισσότερα κυτταρικά θραύσματα, στάση της ανάπτυξης, αύξηση των θραυσμάτων της διπλής έλικας του DNA και απόπτωση των βλαστομεριδίων σε σύγκριση με τα έμβρυα στα οποία δεν εντοπίστηκε ενσωμάτωση, καθώς και στα έμβρυα της ομάδας ελέγχου. Συμπερασματικά, η παρουσία επαγόμενων και μη-ελεγχόμενων γεγονότων ρετρομετάθεσης των ρετρομεταθετών στοιχείων του ανθρώπου στα έμβρυα άλλου θηλαστικού, επηρεάζει τη φυσιολογική πορεία της προεμφυτευτικής ανάπτυξης και οδηγεί σε στάση κυτταρικών διαιρέσεων, θραύση DNA και απόπτωση.

STUDY OF THE IMPACT OF THE HUMAN RETROELEMENTS LINE-1, HERVK-10 AND MURINE VL30 DURING MOUSE PREIMPLANTATION EMBRYO DEVELOPMENT

Kitsou Chrysoula¹, Lazaros Leandros¹, Papaxristofi Vasiliki¹, Mpellou Sofia², Galani Vasiliki³, Sakaloglou Prodromos¹, Kostoulas Charilaos¹, Vartholomatos Georgios⁴, Zikopoulos Konstantinos¹, Tzavaras Theodoros⁵, Georgiou Ioannis¹

1/Genetics and IVF Unit Department of Obstetrics and Gynecology, Medical School, University of Ioannina, Postcode 45 110, Ioannina - 2/Institute of Molecular Biology and Biotechnology – Department of Biomedical Research, University of Ioannina, Postcode 45 110, Ioannina - 3/Laboratory of Physiology, Medical School, University of Ioannina, Postcode 45 110, Ioannina - 4/Hematology Laboratory – Unit of Molecular Biology, University Hospital of Ioannina, Postcode 45 110, Ioannina - 5/Department of General Biology, Medical School, University of Ioannina, Postcode 45 110, Ioannina.

Human oocytes express active retroelements as LINE-1, HERVK-10 throughout their maturation process. We addressed the impact of uncontrolled retroelement expression in early preimplantation embryos, in in vitro fertilization experiments using spermatozoa preincubated with plasmid vectors containing human origin retroelements LINE-1, HERVK-10 and the mouse retroelement VL30. Retrotransposons were tagged with an enhanced green fluorescence (EGFP) gene-based retrotransposition cassette in order to demonstrate new retrotransposition events when inserted into the embryonic genome. Spermatozoa of FVB/N mouse strain were collected from the cauda epididymides and incubated with the construct. The oocytes were retrieved from the oviducts after ovarian stimulation with gonadotropins, and processed by IVF. The in vitro preimplantation development of FVB/N mouse embryos, after IVF and passive sperm transport of the retrotransposons LINE-1, HERVK-10 and VL30 was monitored and compared with control embryos. Retrotransposition events in spermatozoa were confirmed by cell cytometry and PCR, and in fertilized oocytes by PCR and confocal microscopy. Retrotransposition events were present in 30% of the resulting embryos which were cultured and monitored further during their preimplantation stage development and were also confirmed by PCR and confocal microscopy. The uncontrolled presence of excessive human retroelements in the mouse fertilized oocyte and preimplantation embryo, fired a sequence of events characterized by accelerated asymmetrical cell division, cellular fragmentation, cleavage arrest, embryo degeneration and apoptosis. We conclude that the mouse embryo development to blastocyst is hindered by the presence of active retroelements transferred or expressed by spermatozoa and on the high insertion efficiency of the human retrotransposons into the mouse oocyte.

ΤΟ ΑΝΟΣΟΔΡΑΣΤΙΚΟ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟ ΔΕΚΑΠΕΠΤΙΔΙΟ ΤΗΣ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α ΩΣ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ

**Κλάγκου Ελευθερία¹, Νίκου Σπυριδούλα¹, Σαμαρά Πηνελόπη¹, Μυριαγκού Βιβή²,
Βουτσάς Ιωάννης³, Τσιτσιλώνη Ουρανία¹**

*1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 2/Εργαστήριο
Βακτηριολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, 3/Κέντρο Ανοσολογίας και
Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Π.Α.Ο.Ν.Α. «Ο Άγιος Σάββας»*

Κατά τα πρώιμα στάδια της απόπτωσης, η προθυμοσίνη α (προΤα) θραυσματοποιείται ενδοκυτταρικά από τις ενεργοποιημένες κασπάσες, παράγοντας το δεκαπεπτίδιο προΤα (100-109), το οποίο εξωκυτταρώνεται και ανιχνεύεται στον ορό. Σε αρχικό *in vivo* μοντέλο λοίμωξης από *Streptococcus pyogenes* σε ποντίκια παρατηρήσαμε ότι η συγκέντρωση του προΤα(100-109) αυξανόταν με την πρόοδο της λοίμωξης. Σκοπός μας ήταν να μελετήσουμε τα επίπεδα του προΤα(100-109) σε ένα επιθετικό μοντέλο σηψαιμίας, γι' αυτό μολύναμε ποντίκια με δύο στελέχη *Klebsiella pneumoniae*. Το πρώτο, L-78, ενδοκυτταρώνεται από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα, ενώ το δεύτερο, ATCC43816, δεν ενδοκυτταρώνεται. Στους ορούς των ζώων που μολύνθηκαν με το L-78 παρατηρήθηκε, με τη χρήση ειδικής ELISA, σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης του προΤα(100-109) κατά την πορεία της λοίμωξης. Αντίθετα, στους ορούς των ζώων που ενοφθαλμίστηκαν με το ATCC43816 παρατηρήθηκε απότομη αύξηση της συγκέντρωσης του προΤα(100-109), η οποία παρέμεινε σταθερή. Για να καθορίσουμε τον τύπο κυτταρικού θανάτου που επάγεται *in vivo* από τα 2 αυτά στελέχη, απομονώσαμε τα σπληνοκύτταρα των ποντικών και μετά από χρώση με αννεξίνη V και PI, τα αναλύσαμε με κυτταρομετρία ροής. Εξετάσαμε τα συνολικά σπληνοκύτταρα και τα μακροφάγα, μετά από gating στον υποπληθυσμό που εκφράζει το χαρακτηριστικό δείκτη των μακροφάγων ποντικού CD11b. Παρατηρήσαμε ότι τα μακροφάγα των ζώων που μολύνθηκαν με το L-78 οδηγήθηκαν κυρίως σε απόπτωση και λιγότερο σε νέκρωση, με μικρές μεταβολές των ποσοστών αυτών κατά τη διάρκεια της λοίμωξης. Αντίθετα, τα σπληνοκύτταρα και τα μακροφάγα των ζώων που έλαβαν το ATCC43816, εμφάνισαν κυρίως νεκρωτικό θάνατο και έντονη αύξηση των ποσοστών των νεκρωτικών κυττάρων νωρίς μετά τη λοίμωξη. Συμπερασματικά, τα επίπεδα του προΤα(100-109) στο ορό ποντικών μολυσμένων με βακτήρια που ενδοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα, συσχετίζονται με τα ποσοστά των επαγόμενων από τη λοίμωξη αποπτωτικών κυττάρων και την πορεία της λοίμωξης. Χρηματοδότηση: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE; Η εκπόνηση της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε με χρηματοδότηση του Κοινωφελούς Ιδρύματος Ιωάννη Σ. Λάτση. Η ευθύνη για το περιεχόμενό της ανήκει αποκλειστικά στους συντάκτες αυτής.

THE IMMUNOACTIVE C-TERMINAL DECAPEPTIDE OF PROTHYMOSIN α AS AN APOPTOTIC BIOMARKER

Klagkou Eleftheria ¹, Nikou Spyridoula ¹, Samara Pinelopi ¹, Miriagou Vivi ², Voutsas Ioannis ³, Tsitsilonis Ourania ¹

1/Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, 2/Laboratory of Bacteriology, Hellenic Pasteur Institute, 3/Cancer Immunology and Immunotherapy Center; “Saint Savas” Cancer Hospital; Athens

During the early stages of apoptosis, prothymosin α (proT α) is intracellularly truncated by activated caspases, producing the decapeptide proT α (100-109), which is released and detected in serum. In an initial in vivo mouse model of infection with *Streptococcus pyogenes*, we observed that the concentration of proT α (100-109) increased with the progress of infection. Our aim was to study the levels of proT α (100-109) in an aggressive model of sepsis, and thus we infected mice with two strains of *Klebsiella pneumoniae*. The first strain, L-78, is endocytosed by monocytes/macrophages, whereas the second strain, ATCC43816, is not endocytosed. Using a specific ELISA, we observed a gradual increase in the concentration of proT α (100-109) during the course of infection, in the sera of animals infected with L-78. In contrast, in the sera of animals inoculated with the strain ATCC43816, we recorded a sharp increase in proT α (100-109) concentration, which remained unaffected. To define the type of cell death induced in vivo by these two strains, we isolated mouse splenocytes and analyzed them by flow cytometry, after staining with annexin V and PI. We assessed total splenocytes and macrophages, gating the subpopulation expressing the characteristic murine macrophage marker CD11b. We observed that the macrophages of animals infected with L-78 were mainly driven to apoptosis, and lesser to necrosis, with small variations in their percentages during the course of the infection. In contrast, splenocytes and macrophages from animals administered ATCC43816, were mainly necrotic and we observed an intense increase in the rate of necrotic cells early after infection. In conclusion, the levels of proT α (100-109) in the serum of mice infected with bacteria which are endocytosed by macrophages, are associated with the infection-induced percentages of apoptotic cells and the course of infection. Funding: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE; The project was funded by the John S. Latsis Public Benefit Foundation. The sole responsibility for the content lies with its authors.

ΕΠΑΓΩΓΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑΣ ΑΠΟ ΤΗ ΓΛΟΥΤΕΝΗ

Κλεισιάρη Ε., Πάλλη Ε., Νιζάμης Κ., Γιάγκου Μ.

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

Το σύνδρομο δυσαπορρόφησης της γλουτένης (κοιλιοκάκη) είναι μια αυτοάνοση νόσος που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή στο βλεννογόνο του λεπτού εντέρου σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα και που συχνά συνοδεύεται με ανάπτυξη ερπητοειδούς δερματίτιδας ή αλωπεκίας. Ιστολογικά η δερματίτιδα, χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη υποεπιδερμικών φλυκταινών και τη συσσώρευση ουδετερόφιλων και πολύ λίγων ηωσινόφιλων στο θηλώδες χόριο ενώ ταυτόχρονα, το τυπικό ανοσοπαθολογικό εύρημα αποτελούν οι κοκκώδεις αποθέσεις IgA ανοσοσφαιρινών. Η ερευνητική μας ομάδα, με διατροφή, για τρεις γενεές, Balb/c ποντικών απουσία γλουτένης δημιούργησε μία σειρά μη-ανοχικών(ευαίσθητων) στη γλουτένη (G-)ποντικών. Η πειραματική εντεροπάθεια που επάγεται στους G-ποντικούς μετά τη μεταφορά τους σε δίαιτα, για 1 μήνα, με γλουτένη (G+), παρουσιάζει όλα τα συμπτώματα της κοιλιοκάκης στον άνθρωπο. Η παρατεταμένη διατροφή των G+ ποντικών με γλουτένη έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση δερματίτιδας που χαρακτηρίζεται με ερύθημα και αλωπεκία. Ιστοπαθολογική παρατήρηση τομών δέρματος των G+ ποντικών, έδειξε σημαντική αύξηση αγγείων και σμηγματογόνων αδένων που συνοδεύεται με πάχυνση του χορίου και τη διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων σε σχέση με τους G- ποντικούς. Ανοσοϊστοχημεία σε τομές δέρματος G+ ποντικών έδειξε αύξηση του αριθμού κυττάρων που παράγουν τρανσγλουταμινάση-2, την προφλεγμονώδη κυτοκίνη TNF-α καθώς και των κυτοκινών IFN-γ, IL-10 και IL-15, και όχι της IL-12. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση των κυττάρων που παράγουν IgA αντισώματα. Συμπερασματικά, η διατροφή των G-ποντικών με γλουτένη οδηγεί αρχικά στην ανάπτυξη τοπικής αυτοάνοσης αντίδρασης στο έντερο ενώ η παρατεταμένη διατροφή με γλουτένη οδηγεί σε συστηματική αντίδραση που περιλαμβάνει αυτοαντίδραση στο δέρμα. Τα αποτελέσματα αυτά καθιστούν τους G- Balb/c ποντικούς ιδανικό μοντέλο διερεύνησης μηχανισμών ανάπτυξης αυτοανοσίας μέσω της διατροφής, αφού προσομοιάζει στην κοιλιοκάκη και στις παρενέργειες που τη συνοδεύουν.

INDUCTION OF EXPERIMENTAL DERMATITIS BY GLUTEN

Kleisiari E., Palli E., Nizamis K., Yiangou M.

Dept. of Genetics, Dev. & Molecular Biology, School of Biology, AUTH

The malabsorption syndrome of gluten (CD: Celiac Disease) is an autoimmune disease characterized by inflammation in small intestinal mucosa, in genetically susceptible individuals that is often accompanied by the development of dermatitis herpetiformis or alopecia. Histological dermatitis, characterized by the existence of subepidermal blisters and neutrophil accumulation and very few eosinophils in the papillary dermis, while among the typical immunopathological characteristics the granular depositions of IgA immunoglobulins is included. In previous studies gluten intolerance was developed in Balb/c (G-) mice by feeding them for three generations with diet in the absence of gluten. Enteropathy induced in G-mice after their transfer to diet, for one month, with gluten (G+), exhibits all the symptoms of human CD. Prolonged feeding of G+ mice with gluten, results in the development of dermatitis, which is characterized by inflammation and alopecia. Histopathology of G+ mice skin sections revealed significant increase in vascularization and sebaceous glands that is accompanied with thickening of dermis and infiltration of inflammatory cells in relation to G- mice. Immunohistochemistry of G+ mice skin sections revealed an increase in the number of cells producing transglutaminase-2, the pro-inflammatory cytokine TNF- α as well as the cytokines IFN- γ , IL-10 and IL-15, and not IL-12. In addition, increased number of IgA producing IgA cells was observed in G+ mice skin sections. In conclusion, transfer of G- mice in gluten diet initially results in the development of local autoimmune reaction in the intestine, while the prolonged gluten diet results in systemic reaction involving skin auto-reaction. These results render the G- Balb/c mice model ideal to study the mechanisms responsible for diet induced autoimmunity since simulates the celiac disease and the side effects that associate this disease.

ΝΑΝΟΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΟΞΕΙΔΑΣΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΡΥΠΩΝ

**Κόγκα Ελβετία¹, Πατήλα Μιχάελα¹, Κατσούρα Μαρία¹, Πολύδερα Αγγελική¹,
Καταπόδης Πέτρος¹, Γουρνής Δημήτρης², Σταμάτης Χαράλαμπος¹**

*1/Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα, 2/Τμήμα Μηχανικών & Επιστήμης Υλικών,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα*

Τα νανοδομημένα υλικά, όπως οι νανοσωλήνες άνθρακα, το οξειδίο του γραφενίου και τα μαγνητικά νανοσωματίδια, προσελκύουν ιδιαίτερα το επιστημονικό ενδιαφέρον καθώς βρίσκουν εφαρμογή σε διάφορους τομείς της Βιοτεχνολογίας όπως η εφαρμοσμένη Βιοκατάλυση. Η εφαρμογή των νανοϋλικών στη βιοκατάλυση παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον, καθώς μπορεί να βελτιστοποιήσει τις καταλυτικές ιδιότητες των ενζύμων. Λόγω των ιδιαίτερων ιδιοτήτων τους, όπως η μεγάλη ενεργή επιφάνεια και το επιθυμητό μέγεθος, τα νανοδομημένα υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον χειρισμό του μικροπεριβάλλοντος των ενζύμων, οδηγώντας σε υψηλή δραστηριότητα και σταθερότητα, διευκολύνοντας με αυτόν τον τρόπο την ανάπτυξη καινοτόμων νανοβιοκαταλυτικών συστημάτων [1]. Η χημική τροποποίηση της επιφάνειας των νανοϋλικών με λειτουργικές ομάδες μπορεί να αλλάξει τις φυσικές τους ιδιότητες ώστε να χρησιμοποιούνται για ειδική ακινητοποίηση βιομορίων [2]. Στην παρούσα εργασία μελετάται η ακινητοποίηση της λακκάσης από τον μύκητα *Trametes versicolor* σε διάφορα νανοϋλικά. Νανοσωλήνες άνθρακα πολλαπλού τοιχώματος, παράγωγα του οξειδίου του γραφενίου, καθώς και μαγνητικά νανοσωματίδια χρησιμοποιήθηκαν ως φορείς ακινητοποίησης. Η δραστηριότητα, σταθερότητα καθώς και τα δομικά χαρακτηριστικά της ακινητοποιημένης λακκάσης μελετήθηκαν ως αποτέλεσμα της επίδρασης της φύσης, της γεωμετρίας και της τροποποίησης του νανοϋλικού. Στις περισσότερες περιπτώσεις, το ακινητοποιημένο ένζυμο παρουσιάζει βελτιωμένα καταλυτικά χαρακτηριστικά σε διεργασίες όπως η αποδόμηση πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα συγκεκριμένα νανοϋλικά αποτελούν εξαιρετικούς φορείς ακινητοποίησης ενζύμων που οδηγούν στην ανάπτυξη καινοτόμων νανοβιοκαταλυτικών συστημάτων.

NANOBIOCATALYTIC SYSTEMS OF OXIDASES FOR THE DEGRADATION OF POLLUTANTS

**Koga Elvetia¹, Patila Michaela¹, Katsoura Maria¹, Polydera Aggeliki¹, Katapodis Petros¹,
Gournis Dimitrios², Stamatis Haralambos¹**

1/Laboratory of Biotechnology, Department of Biological Applications & Technologies, University of Ioannina, Ioannina, Greece, 2/Department of Materials Science & Engineering, University of Ioannina, Ioannina, Greece

Nanostructured materials, such as carbon nanotubes, graphene oxide and magnetic nanoparticles, have attracted the scientific attention as they find applications in many fields of Biotechnology, including biocatalysis. The application of nanomaterials in biocatalysis can be of significant interest, since it can considerably improve enzyme performance. Due to their unique properties, such as high active surface and desirable pore sizes, nanostructured materials have manifested great efficiency in the manipulation of the nanoscale environment of enzymes, leading to high catalytic activity and stability, and thus facilitating the design of effective nanobiocatalytic systems [1]. The chemical modification of the nanomaterial surface with functional groups can alter their physical properties and be exploited for specific enzyme immobilization [2]. In the present study the immobilization of laccase from *Trametes versicolor* onto functionalized multi-wall carbon nanotubes, graphene oxide derivatives and magnetic nanoparticles was investigated. The activity, stability and structure of the immobilized enzymes were studied as a result of the effect of the nature, geometry and functionalization of the nanostructured materials. In many cases, the immobilized enzymes exhibited improved catalytic performance, regarding their stability and activity for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), indicating that these nanomaterials could be especially promising matrices for enzyme immobilization and the development of effective nanobiocatalytic systems.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΕΥΡΥΤΕΡΟ ΚΟΛΠΟ ΤΗΣ ΗΓΟΥΜΕΝΙΤΣΑΣ

**Κόκκινος Πέτρος¹, Φειδάκη Ρία¹, Καμπά Διονυσία¹, Κούγια Έφη¹, Παπαροδόπουλος
Σπύρος¹, Μεζίτη Αλεξάνδρα², Καραγιάννη Ήρα², Βανταράκης Απόστολος¹**

*1Μονάδα Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας, Εργαστήριο Υγιεινής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη, GR26504 Ρίο, Πάτρα 2Τμήμα Βιολογικών
Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη, 45110,
Ιωάννινα*

Η περιοχή του ευρύτερου κόλπου της Ηγουμενίτσας περιλαμβάνει εκτάσεις μοναδικής οικολογικής αξίας (Δέλτα Καλαμά), ενώ παράλληλα φιλοξενεί σημαντικές δραστηριότητες στους τομείς της ναυτιλίας, της ιχθυοκαλλιέργειας και του τουρισμού. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της ιολογικής ποιότητας των υδάτων της περιοχής. Κατά τη μελέτη, συλλέχθηκαν μηνιαίως δείγματα θαλασσινού νερού (10 L, 2 m) μεταξύ Οκτώβρη 2012 και Σεπτέμβρη 2013 από 5 σταθμούς. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν εποχικές (4) δειγματοληψίες σε 3 σταθμούς στον ποταμό Καλαμά (Σουλόπουλο, Φράγμα, Σαγιάδα) ο οποίος εκβάλλει στην ευρύτερη περιοχή του κόλπου. Τα δείγματα θαλασσινού νερού αναλύθηκαν για ανθρώπινους αδενοϊούς (hAdV), ιό ηπατίτιδας Α (HAV) και νοροϊούς (NoVGI/GII), ενώ τα δείγματα του Καλαμά αναλύθηκαν επιπλέον για χοίρειους αδενοϊούς (pAdV) και βόειους πολυόμα ιούς (bPyV). Για την ανίχνευση των ιών εφαρμόστηκε μέθοδος συμπύκνωσης (Skimmed Milk Flocculation, SMF) ακολουθούμενη από απομόνωση του γενετικού υλικού με χρήση εμπορικού kit (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen). Τα πρωτόκολλα ανίχνευσης ολοκληρώθηκαν με την τεχνική Real-Time (RT)-PCR με χημεία TaqMan, σε πλατφόρμα Stratagene MX3005p. Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν επίσης για κλασικούς βακτηριακούς δείκτες (*E. coli* και Εντερόκοκκοι) σύμφωνα με διαπιστευμένα κατά ISO17025 (ΕΣΥΔ) πρωτόκολλα. Το 23,3% (14/60) των δειγμάτων θαλασσινού νερού και το 58,3% (7/12) των δειγμάτων του Καλαμά βρέθηκαν θετικά για hAdV. Επίσης, 1/12 δείγματα από το σταθμό δειγματοληψίας στο παλιό λιμάνι βρέθηκε θετικό για HAV. Στον ποταμό Καλαμά, ανιχνεύθηκαν hAdV (1/4, 3/4, 3/4), NoVGI (0/4, 1/4, 0/4) και NoVGII (0/4, 1/4, 1/4) στους τρεις σταθμούς δειγματοληψίας, αντίστοιχα, ενώ τα δείγματα ήταν αρνητικά για pAdV και bPyV. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων δεν έδειξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των βακτηριακών δεικτών και της ιολογικής ποιότητας των δειγμάτων. Είναι η πρώτη φορά που διενεργείται ιολογική μελέτη στην περιοχή, η οποία εκτός από τη συλλογή χρήσιμων δεδομένων για την βιοπαρακολούθηση της, παρέχει πολύτιμα στοιχεία για την εκτίμηση του κινδύνου υδατογενών ιικών λοιμώξεων και την προστασία της Δημόσιας Υγείας. Η πράξη συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης- ΕΤΠΑ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΣΤΕΡΕΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ – ΗΠΕΙΡΟΥ 2007-2013» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ 2007-2013)

EVALUATION OF WATER VIROLOGICAL QUALITY IN THE WIDER AREA OF THE GULF OF IGOUMENITSA

Kokkinos P., Fidaki R., Kamba D., Kougia E., Papadopoulos S., Meziti A., Karagianni I., Vantarakis A.

1Environmental Microbiology Unit (EMU), Laboratory of Hygiene, Department of Medicine, University of Patras, University Campus, GR26504 Rio, Patra 2Department of Biological Applications and Technology (BET), University of Ioannina, University Campus 45110, Ioannina

The wider area of the Gulf of Igoumenitsa includes areas of unique ecological value (such as the delta of Kalamas river), and hosts important activities of shipping, aquaculture and tourism. The aim of the present study was to investigate water virological quality in the area. During this annual study (October 2012 - September 2013), seawater samples were collected monthly (10 L, 2 m), from 5 sampling stations. Also, water samples were collected during 4 seasonal sampling campaigns from 3 sampling stations in the Kalamas river (Soulopoulo, Dam, Sagiada), which drains in the wider area of the Gulf. Seawater samples were analyzed for human adenoviruses (hAdV), hepatitis A virus (HAV) and noroviruses (NoVGI/GII), while Kalamas water samples were analyzed additionally for porcine adenoviruses (pAdV) and bovine polyoma viruses (bPyV). For the detection of viruses a concentration procedure was applied (Skimmed Milk Flocculation, SMF), followed by viral nucleic acids extraction by a commercial kit (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen). The viral molecular detection was finally completed by Real-Time (RT)-PCR protocols (TaqMan assays) on a Stratagene MX3005p platform. All samples were also tested for traditional bacterial indicators (*E. coli*, enterococci), according to accredited protocols under ISO17025 (ESYD). 23.3% (14/60) of the seawater samples, as well as 58.3% (7/12) of Kalamas water samples, were found positive for hAdVs. Also, 1/12 samples from the sampling station in the old port was tested positive for HAV. Regarding Kalamas river, hAdV (1/4, 3/4, 3/4), NoVGI (0/4, 1/4, 0/4) and NoVGII (0/4, 1/4, 1/4) were detected at the three sampling stations, respectively, while the samples were tested negative for pAdV and bPyV. The statistical analysis of the results showed no significant correlation between the bacterial water quality indicators and the virological quality of the water samples. It is the first time that a virological study was performed in the study area, which contributes to the collection of useful data for its biological monitoring and provides useful elements for the risk assessment of waterborne viral infections and the protection of Public Health. This research project has been co-financed by the European Union (European Regional Development Fund- ERDF) and Greek national funds through the Operational Program "THESSALY- MAINLAND GREECE AND EPIRUS-2007-2013" of the National Strategic Reference Framework (NSRF 2007-2013)

**ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ, ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ
ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ NATURA2000: ΟΡΟΣ ΠΑΝΑΧΑΪΚΟ-
GR2320007 ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗΝ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ.**

**Κόκκορης Ιωάννης¹, Τηνιακού Αργυρώ¹, Δημητρέλλος Γεώργιος¹, Γεωργιάδης
Θεόδωρος¹, Κωνσταντακόπουλος Κωνσταντίνος²**

*1/Τομέας Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα - 2/
ΑΔΕΠ Α.Ε Ελ. Βενιζέλου 38 & Σολωμού, 26333 Πάτρα*

Το όρος Παναχαΐκό (1926m) βρίσκεται στο ΒΔ τμήμα της Πελοποννήσου, ανατολικά της πόλης της Πάτρας και χαρακτηρίζεται από το πολυσχιδές του ανάγλυφο και την ποικιλότητα της χλωρίδας και της βλάστησης. Στην παρούσα έρευνα καταγράφηκαν οι ανθρώπινες επιδράσεις στην περιοχή του Δικτύου Natura2000: Όρος Παναχαΐκό-GR2320007 και αξιολογήθηκαν οι επιπτώσεις τους στα σημαντικά είδη χλωρίδας και στους τύπους οικοτόπων. Μεταξύ των επιδράσεων που καταγράφηκαν, ως σημαντικότερη αναδείχθηκε αυτή της υπερβόσκησης, ενώ ακολουθούν οι διανοίξεις δρόμων, που προκαλούν τον άμεσο κατακερματισμό των οικοτόπων και την απομάκρυνση σημαντικών επιφανειών βλάστησης. Τα δεδομένα πεδίου και τα αποτελέσματα καταχωρήθηκαν σε γεω-βαση δεδομένων και καταρτίστηκαν οι σχετικοί θεματικοί χάρτες σε γεωγραφικό σύστημα πληροφοριών (GIS), με σκοπό την παρακολούθηση της κατάστασης στο μέλλον.

RECORDING, MAPPING AND EVALUATING HUMAN IMPACT IN THE NATURA2000 NETWORK AREA: OROS PANACHAIKO-GR2320007, FOR FUTURE MONITORING.

**Kokkoris Ioannis¹, Tiniakou Argyro¹, Dimitrellos Georgios¹, Georgiadis Theodoros¹,
Konstantakopoulos Konstantinos²**

*1/Division of Plant Biology, Department of Biology, University of Patras, 26500 Patra - 2/ADEP
S.A El. Venizelou 38 & Solomou, 26333 Patra*

Mt. Panachaiko (1926m) is located in the north-western part of Peloponnese, Greece, east of the city of Patras and is characterized by its multifarious relief and its diverse flora and vegetation. This research recorded and evaluated the human impact on the Natura2000 Network area: Oros Panachaiko-GR2320007 considering mountain's important flora species and habitat types. Among the recorded impacts, overgrazing emerged as the major one, followed by road construction which cause direct habitat fragmentation and removal of significant vegetation surfaces. Field data and the results of this study were registered in a geo-database and relevant thematic maps were created in a geographic information system (GIS), in order to monitor future status.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΚΑΔΜΙΟΥ ΣΤΟ ΧΟΛΙΝΕΡΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΩΝ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΠΟΝΤΙΚΩΝ

Κοκκόσης Αλέξανδρος¹, Τελώνης Αριστείδης^{1,†}, Βασιλοπούλου Αικατερίνη², Μαργαρίτη Μαριγούλα¹

1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Ρίο, Ελλάδα 2/Εργαστήριο Μεταβολικής Μηχανικής & Συστημικής Βιολογίας, Ινστιτούτο Επιστημών Χημικής Μηχανικής, Ίδρυμα Τεχνολογίας & Έρευνας, Ελλάδα †Current address: Biochemistry & Molecular Pharmacology Program, Jefferson Graduate School of Biomedical Sciences, Thomas Jefferson University, USA

Το κάδμιο (Cd) είναι ένα επικίνδυνο και τοξικό βαρύ μέταλλο το οποίο διαταράσσει την κυτταρική ομοιόσταση και έχει αρνητικές συνέπειες στην υγεία. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει διαταραχές στο χολινεργικό σύστημα εγκεφάλου επίμυων μετά από χορήγηση καδμίου (Cd). Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί εάν η χορήγηση Cd [25 ppm CdCl₂ σε πόσιμο νερό για 3 εβδομάδες] επηρεάζει εκτός από την ενεργότητα της AChE και τα επίπεδα της ACh σε επιμέρους εγκεφαλικές περιοχές (εγκεφαλικά ημισφαίρια, παρεγκεφαλίδα και μεσεγκέφαλο) σε αρσενικούς ενήλικους μύες. Τα επίπεδα της ACh προσδιορίστηκαν με βάση τη χρωματομετρική μέθοδο του Hestrin με τροποποιήσεις οι οποίες έγιναν με σκοπό να προσδιοριστούν, για πρώτη φορά, τα επίπεδα ACh σε μικρούς όγκους. Η ενεργότητα των ισομορφών της AChE προσδιορίστηκε τόσο στο διαλυτό σε άλας κλάσμα (SS-AChE) των εγκεφαλικών περιοχών όσο και στο διαλυτό σε απορρυπαντικό κλάσμα (DS-AChE) με την χρωματομετρική μέθοδο του Ellman. Η κυρίαρχη ισομορφή στο κλάσμα SS είναι η G1 και στο DS κλάσμα η G4. Η χορήγηση Cd μείωσε σημαντικά ($p < 0,05$) τα επίπεδα της ACh σε όλες τις υποπεριοχές του εγκεφάλου που εξετάστηκαν. Επιπλέον, η ενεργότητα της AChE τόσο στο SS όσο και στο DS κλάσμα αναστάλθηκε από τη χορήγηση Cd σε όλες τις εγκεφαλικές περιοχές που εξετάστηκαν. Συμπερασματικά, τα μειωμένα επίπεδα τόσο της ACh όσο και της ενεργότητας της AChE υποδεικνύουν εκφυλισμό των χολινεργικών νευρώνων των εγκεφαλικών περιοχών που εξετάστηκαν ενώ χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για να επιβεβαιωθούν τα ανωτέρω αποτελέσματα.

EFFECT OF CADMIUM INTOXICATION ON THE CHOLINERGIC SYSTEM OF SPECIFIC BRAIN REGIONS OF ADULT MICE

Kokkosis Alexandros¹, Telonis Aristeidis^{1,†}, Vasilopoulou Caterina², Margarity Marigoula¹

1/Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras, Patras 26500, Greece 2/Metabolic Engineering and Systems Biology Laboratory, Institute of Chemical Engineering Sciences, Foundation of Research and Technology Hellas, Greece †Current address: Biochemistry & Molecular Pharmacology Program, Jefferson Graduate School of Biomedical Sciences, Thomas Jefferson University, USA

Cadmium (Cd) is a hazardous and toxic heavy metal disrupting cellular homeostasis with evidenced negative health consequences. Previous studies have shown disorders on the cholinergic system of rat brain after cadmium intake. The aim of the present study was to investigate whether Cd administration [25 ppm CdCl₂ in the drinking water for 3 weeks] affected ACh levels and AChE activity of specific brain regions (cerebral hemispheres, cerebellum and midbrain) in adult male mice. ACh was determined using Hestrin's colorimetric method with minor modifications that were made in order to evaluate for first time ACh levels in small volumes. AChE activity was determined in both salt-soluble (SS-AChE) and detergent-soluble (DS-AChE) fractions of all brain regions tested, using Ellman's colorimetric method. The predominant form in the SS fraction is the G1 and in the DS the G4 isoform. Cd intake significantly reduced ($p < 0.05$) the ACh levels in all brain regions examined. Moreover, both SS- and DS-AChE activity were significantly inhibited after Cd administration ($p < 0.05$) in all brain regions examined. In conclusion, the decreased levels of ACh and the AChE activity indicate degeneration of cholinergic neurons of the brain regions studied however further investigation is needed to confirm the above results.

ΦΥΛΟΓΟΓΕΝΕΣΗ Ή ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ; Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ HELICIDAE.

Κοτσακιάζη Π.¹, Βουτσελά Α.¹, Παρμακέλης Α.², Φίρμπας Π.¹, Γκιώκας Σ.³, Βαλάκος Ε.Δ.¹

1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα - 2/Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα - 3/Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Η κατανομή των χειρσαίων γαστεροπόδων περιορίζεται από παραμέτρους της φυσιολογίας που σχετίζονται με διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η υγρασία και η θερμοκρασία. Τα χειρσαία γαστερόποδα, υπό αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, εξασφαλίζουν την επιβίωση τους εισερχόμενα σε μια κατάσταση νάρκης, τη διάπαυση. Οι δυο ζωτικής σημασίας παράμετροι κατά τη διάπαυση είναι η επάρκεια σε μεταβολίτες και η διατήρηση του υδατικού περιεχομένου των ιστών. Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήσαμε δημοσιευμένα δεδομένα που αφορούν τρία είδη χειρσαίων γαστεροπόδων της οικογένειας Helicidae καθώς και νέα δεδομένα για δυο επιπλέον είδη (συνολικά πέντε είδη), τα οποία διαφέρουν μεταξύ τους στην έκταση της κατανομής τους. Εξετάσαμε και συγκρίναμε τις εποχικές μεταβολές των συγκεντρώσεων των μεταβολιτών τους (λιπίδια, πρωτεΐνες και γλυκογόνο), της δραστηριότητας του ενζύμου γαλακτική αφυδρογονάση, καθώς και του υδατικού περιεχομένου των ιστών τους και διερευνήσαμε εάν και σε ποιο βαθμό οι κλιματικοί παράγοντες όπως η υγρασία, η θερμοκρασία, η βροχόπτωση κ.ά. της περιοχής προέλευσης των πληθυσμών, επηρεάζουν το εποχικό πρότυπο μεταβολής των παραμέτρων που εξετάστηκαν. Στη συνέχεια επαναλάβουμε την ανάλυση λαμβάνοντας υπόψη τις φυλογενετικές σχέσεις των υπό μελέτη πληθυσμών, προκειμένου να διερευνήσουμε εάν οι διαφορές που καταγράφονται στις φυσιολογικές παραμέτρους αντικατοπτρίζουν απλά και μόνο το γεγονός ότι μελετάμε διαφορετικά είδη ή εάν άλλοι παράγοντες, εκτός της φυλογένεσης, ευθύνονται για το παρατηρούμενο πρότυπο.

PHYLOGENY OR ADAPTATION? THE CASE OF HELICIDAE.

Kotsakiozi P.¹, Voutsela A.¹, Parmakelis A.², Firmas P.¹, Giokas S.³, Valakos E.D.¹

1/Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupoli, Ilisia, 15784, Athens - 2/Department of Ecology and Taxonomy, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupoli, Ilisia, 15784, Athens - 3/Department of Animal Biology, Faculty of Biology, University of Patra, 2650, Patra

The distribution of terrestrial gastropods is restricted by physiological limitations that are associated with various environmental factors such as humidity and temperature. In order for terrestrial gastropods to cope with adverse environmental conditions they enter into a state of dormancy, called aestivation. The two crucial parameters during aestivation are the sufficient levels of metabolites and the maintenance of the water content in tissues. In this study we used published data for three terrestrial gastropods species belonging to the Helicidae family together with unpublished data for two additional species (five species in total), which differ in their distribution range. We studied and compared the seasonal changes in the concentrations of the metabolites (lipids, proteins and glycogen), the activity of the enzyme lactate dehydrogenase, and the tissue water content. We also investigated whether and to what extent climatic factors such as humidity, temperature, precipitation etc. of the area of origin, affect the seasonal pattern observed in the parameters examined. Finally, we repeated the analysis taking into account the phylogenetic relationships of the studied populations, in order to investigate whether the observed differences in the physiological parameters can be attributed to the fact that we are studying different species or whether other factors, besides phylogenetic relationships, are responsible for the observed pattern.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΙΜΩΝ ΕΜΠΕΙΡΙΩΝ ΣΤΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ CB1 ΣΤΗΝ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΑΜΠΟΥ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥΣ ΕΠΙΜΥΣ

**Κουπουρτίδου Χριστίνα^{1,3}, Μπούρμπουλα Μαρία- Θεώνη^{1,3}, Βαγγοπούλου Χαρά¹,
Σταματάκης Αντώνης², Στυλιανοπούλου Φωτεινή², Γιομπρές Παναγιώτης³, Κούβελας
Ηλίας¹, Μητσάκου Αδαμαντία¹**

*1/Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη
26504 Πάτρα, Ελλάδα - 2/Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημίας, Τμήμα Νοσηλευτικής,
Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιο Αθηνών, 11527 Αθήνα, Ελλάδα - 3/
Εργαστήριο Φυσιολογίας ανθρώπου και ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών,
Πανεπιστημιούπολη 26504 Πάτρα, Ελλάδα*

Το μοντέλο του νεογνικού χειρισμού είναι ένα καλά εδραιωμένο ζωικό μοντέλο πρώιμων μεταγεννητικών εμπειριών και θεωρείται ως μια ήπια στρεσογόνος εμπειρία η οποία επιδρά στα εγκεφαλικά συστήματα που σχετίζονται με το στρες, οδηγώντας σε μια αυξημένη ικανότητα προσαρμογής του οργανισμού σε μελλοντικές προκλήσεις. Είναι γνωστό ότι ο νεογνικός χειρισμός επηρεάζει τη λειτουργία του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA). Επίσης γνωρίζουμε ότι προκαλεί κυτταρικές και μοριακές αλλαγές στον ιππόκαμπο, μια περιοχή που εμπλέκεται στη μάθηση, τη μνήμη καθώς και στην απόκριση στο στρες. Το σύστημα των ενδοκανναβινοειδών διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ομοιόστασης και της ενεργειακής ισορροπίας των οργανισμών επηρεάζοντας την δραστηριότητα του άξονα HPA καθώς και διαδικασίες της μνήμης και μάθησης. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να ερευνηθεί κατά πόσο ο νεογνικός χειρισμός μπορεί να επιδρά στους υποδοχείς των κανναβινοειδών CB1 στην περιοχή του ιπποκάμπου στον ενήλικο και στον έφηβο εγκέφαλο αρσενικού επίμυ. Σύμφωνα με το παρόν πρωτόκολλο νεογνικού χειρισμού, κάθε νεογνό απομακρυνόταν από τη φωλιά για 15 λεπτά καθημερινά από την πρώτη μεταγεννητική ημέρα μέχρι τον απογαλακτισμό του τρεις εβδομάδες μετά. Η τεχνική του υβριδισμού *in situ* χρησιμοποιήθηκε για την εντόπιση και ποσοτικοποίηση της έκφρασης του mRNA του υποδοχέα CB1 στην περιοχή του ιπποκάμπου. Κατά την ανάλυση των δεδομένων μας δεν παρατηρήσαμε στατιστικώς σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα του mRNA, των υποδοχέων CB1, στα ζώα που είχαν υποστεί χειρισμό έναντι αυτών που δεν υπέστησαν, τόσο στους έφηβους όσο και στους ενήλικους επίμυ. Από τα αποτελέσματα μας μπορούμε να συμπεράνουμε ότι οι υποδοχείς CB1 του ιπποκάμπου πιθανώς δεν επηρεάζονται από την πρώιμη εμπειρία του νεογνικού χειρισμού τόσο στον ενήλικο όσο και στον έφηβο εγκέφαλο αρσενικών επίμυων.

THE EFFECTS OF AN EARLY LIFE EXPERIENCES ON CANNABINOID RECEPTORS CB1 IN HIPPOCAMPUS IN ADULT AND ADOLESCENT BRAIN OF MALE RATS

Koupourtidou Christina^{1,3}, Bourboula Maria-Theoni^{1,3}, Vangopoulou Chara¹, Stamatakis Antonis², Stylianopoulou Fotini², Giompres Panagiotis³, Kouvelas Elias D.¹, Mitsacos Ada¹
1/Laboratory of Physiology, Faculty of Medicine, University of Patras, 26504 Patras, Greece - 2/ Lab of Biology-Biochemistry, Faculty of Nursing, School of Health Sciences, University of Athens, 11527 Athens, Greece - 3/Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras, 26504 Patras, Greece

The model of neonatal handling is a well-established animal model of early life experiences and is regarded as a mild stress experience that affects brain systems associated with stress, leading to an increased adaptability of the organism to future challenges. It is known that neonatal handling affects the function of the hypothalamic- pituitary-adrenal axis (HPA). Furthermore it has been shown that neonatal handling leads to cellular and molecular changes in the hippocampus, a region involved in learning, memory and stress reaction. The endocannabinoid system plays an important role in the regulation of homeostasis and energy balance of organisms affecting the activity of the HPA axis as well as in processes of learning and memory. The purpose of this study was to investigate whether neonatal handling can affect the CB1 cannabinoid receptors in the region of hippocampus of adult and adolescent male rat brain. According to the neonatal handling protocol, each pup was removed from the nest for 15 minutes daily from the first postnatal day until weaning at three weeks of age. In situ hybridization experiments were performed in order to localize and quantify CB1 mRNA expression level in the hippocampus. From our data we observed no statistically significant changes in the levels of CB1 mRNA in handled compared to non handled animals, both in adolescent and adults hippocampus. From our results we can conclude that the hippocampal CB1 receptors are most likely not affected by the early experience of neonatal handling in both adult and adolescent brain of male rats.

**ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΥΟ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΓΑΡΙΔΑΣ
HIPPOLYTE SAPPHICA D'UDEKEM D'ACQZ, 1993 (CRUSTACEA: DECAPODA:
HIPPOLYTIDAE) ΣΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ**

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

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

Το είδος *Hippolyte sapphica* είναι κολυμβητικό δεκάποδο, ενδημικό της Κεντρικής και Ανατολικής Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας, στο οποίο διακρίνονται δύο φαινότυποι: η φόρμα Α, με μακρύ, οδοντωτό ασπίδιο και η φόρμα Β, με βραχύ, υποπλασμένο ασπίδιο. Σύμφωνα με τη σχετική βιβλιογραφία, η δομή και η λειτουργία του ασπιδίου στις γαρίδες σχετίζεται με την ταξινομία, την ενδοειδική ποικιλιότητα, το σεξουαλικό διμορφισμό, την τροφική οικολογία, τη θήρευση και τη βελτίωση της πλευστότητας. Ειδικότερα για το είδος *H. sapphica*, πρόσφατη έρευνα ανέδειξε ότι ο φαινότυπος της φόρμας Β επηρεάζει τη βιωσιμότητα των ατόμων του είδους, τον καθορισμό του φύλου και τη συχνότητα ωοφορίας στα θηλυκά άτομα. Βάσει των παραπάνω δεδομένων, η παρούσα μελέτη έχει ως κύριο στόχο να συγκρίνει την πληθυσμιακή δημογραφία των δύο φαινοτύπων του είδους *H. sapphica*, μεταξύ ενός πληθυσμού που περιλαμβάνει μόνον άτομα της φόρμας Α και ενός μικτού πληθυσμού. Δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν με διμηνιαία περιοδικότητα από δύο σταθμούς: ένας στις εκβολές του Π. Λούρου με Α,Β-πληθυσμό και ένας στη Λιμνοθάλασσα της Σαγιάδας με Α-πληθυσμό. Ακολούθησε προσδιορισμός της φόρμας και του φύλου των ατόμων και λήψη μετρήσεων για τον προσδιορισμό του μήκους του κεφαλοθώρακα και του ασπιδίου. Από τα ωοφόρα άτομα, γινόταν καταμέτρηση των αβγών της ωομάζας. Μελετήθηκαν και παρουσιάζονται συγκριτικά για τους δύο πληθυσμούς του είδους και σε εποχική βάση η αναλογία φύλων, το ποσοστό των ωοφόρων θηλυκών ατόμων, η γονιμότητα και τα σχετικά μήκη κεφαλοθώρακα και ασπιδίου. Από τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας συμπεραίνουμε ότι η παρουσία της φόρμας Β έχει επιπτώσεις στη δομή και σύνθεση του πληθυσμού του είδους. Πιθανότατα όμως να αλληλεπιδρά και με άλλους σχετικούς παράγοντες, ορισμένοι από τους οποίους συζητούνται.

**SEVERAL EFFECTS OF DISTINCT ROSTRAL PHENOTYPES OF THE
MEDITERRANEAN SHRIMP HIPPOLYTE SAPPHICA D'UDEKEM D'ACQZ, 1993
(CRUSTACEA: DECAPODA: HIPPOLYTIDAE) ON POPULATION DEMOGRAPHICS**

**Kourmouli Elli-Christina, Liasko Roman, Ntakos Alexandros, Leonardos Ioannis D.,
Anastasiadou Chryssa**

*Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technology, University of
Ioannina, University Campus, 45110 Ioannina*

Hippolyte sapphica is a swimming decapod, endemic to Central and Eastern Mediterranean and Black Seas, which consists of two phenotypes: form A, with a long, dentate rostrum and form B, with short, toothless rostrum. According to the relevant literature, the structure and operation of shrimp's rostrum are associated with the taxonomy, inter-specific diversity, sexual dimorphism, feeding ecology, predation and swimming efficacy. Especially for H. sapphica, recent research revealed that the phenotype of form B affects the viability of species individuals, the sex determination and the ovigerous females' frequency. Based on the above data, the present study has as main objective to compare the population demographics of the two phenotypes of H. sapphica, between an A-population and a mixed A,B-population. Samples were collected bimonthly from two stations: one in Louros River estuary with A,B-population and one in Sagiada Lagoon with A-population. Form and sex determination followed via micro-stereoscopic inspection and measurements were taken in order to determine carapace and rostrum lengths. From each ovigerous female, egg mass was removed and fecundity was calculated by the total number of eggs. Seasonal sex ratio, percentage of ovigerous females, fertility and relative lengths of carapace and rostrum were studied and presented comparatively for the two studied populations. From the results of this study we conclude that the presence of phenotype B affects the structure and composition of H. sapphica population. However, it probably interacts with other related factors several of which are discussed.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗΝ ΑΚΕΡΑΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ 5S ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΟΥ RNA ΣΤΑ ΜΥΔΙΑ.

**Κουρνούτου Γ. Γεωργία¹, Κωστόπουλος Π. Νικόλαος¹, Λεοτσινίδης Μιχάλης², Καλπαξής
Α. Δημήτριος¹**

1/Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504 Πάτρα.

2/Εργαστήριο Υγιεινής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504 Πάτρα.

Τα βαρέα μέταλλα αποτελούν συνήθεις τοξικούς ρύπους σε εκβολές ποταμών και η ικανότητα βιοσυσσώρευσής τους, καθιστά σημαντική τη μελέτη τους στα υδάτινα οικοσυστήματα. Τα βαρέα μέταλλα εμπλέκονται σε διάφορες φυσιολογικές διεργασίες στους υδρόβιους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένης της μετάφρασης. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι οι διαταραχές στην πορεία της μετάφρασης προκαλούν ένα ευρύ φάσμα αποκρίσεων, οι οποίες εξαρτώνται από τα ειδικά χαρακτηριστικά εκάστου μετάλλου. Ένας άλλος παράγοντας που συμβάλλει στην πολυπλοκότητα των μεταφραστικών αποκρίσεων, είναι η ικανότητα συγκεκριμένων μετάλλων να παράγουν ROS, οι οποίες με τη σειρά τους μπορούν να προκαλέσουν δομικές ριβοσωματικές αλλαγές. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να προσδιοριστεί η επίδραση του οξειδωτικού στρες, προκαλούμενου από έκθεση του μυδιού *Mytilus galloprovincialis* σε Cu^{2+} , Hg^{2+} και Cd^{2+} , στην ακεραιότητα του 5S rRNA. Το 5S rRNA αποτελεί θεμελιώδες συστατικό της μεγάλης ριβοσωματικής υπομονάδας, που λειτουργεί σαν μεταγωγός σήματος μεταξύ λειτουργικών περιοχών του 28S rRNA. Η μελέτη βιοδεικτών οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών συστημάτων έδειξε ότι τα παραπάνω μέταλλα έχουν την ικανότητα να βιοσυσσωρεύονται στον πεπτικό αδένα των μυδιών, γεγονός που οδηγεί στη διατάραξη της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας των πεπτικών κυττάρων. Περαιτέρω, η μελέτη έδειξε ότι η έκθεση των μυδιών σε Cu^{2+} και Hg^{2+} προκαλεί θραύση ή τροποποίηση σε νουκλεοτίδια που βρίσκονται κυρίως στους βρόγχους A, B, C και D του 5S rRNA, κατά χρονο-εξαρτώμενο τρόπο. Αντιθέτως, στα μύδια που εκτέθηκαν σε Cd^{2+} , δομικές βλάβες στο 5S rRNA ταυτοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πρώτων 5 ημερών έκθεσης. Η οξειδωτική βλάβη φάνηκε στη συνέχεια να αναστρέφεται, καταλήγοντας σε αποκατάσταση της φυσιολογικής οξειδοαναγωγικής ισορροπίας στο τέλος της έκθεσης. Αυτά τα ευρήματα συμβαδίζουν με προηγούμενα δεδομένα που υποδείκνυαν αλλαγές στην πρωτεϊνοσυνθετική ικανότητα των εκτεθειμένων μυδιών, και υποδηλώνουν ότι οι δομικές αλλοιώσεις αποτελούν τη βάση για λειτουργικές διαταραχές της μετάφρασης.

IMPACT OF OXIDATIVE STRESS IN MUSSELS ON THE INTEGRITY OF 5S RIBOSOMAL RNA

**Kournoutou G. Georgia¹, Kostopoulos P. Nikolaos¹, Leotsinidis Michel², Kalpaxis L.
Dimitrios¹**

*1/Department of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26504 Patras, Greece. 2/
Laboratory of Public Health, School of Medicine, University of Patras, 26504 Patras, Greece*

Trace metals are common stressors in estuaries, and their importance is increasing due to accumulation of persistent metal pollutants in coastal habitats. Trace metals can interfere with various physiological processes in marine organisms, in particular with protein synthesis. Previous studies have indicated that changes in translation process cover a broad range of potential responses, depending on the idiosyncratic features of each metal. Another factor contributing to the complexity of translational responses is the ability of certain metals to produce reactive oxygen species (ROS) which, in turn, may cause structural alterations in components of the ribosome that may modify its functionality. The present study was therefore initiated to determine the impact of oxidative stress caused by exposure of mussels *Mytilus galloprovincialis* to one of Cu²⁺, Hg²⁺, or Cd²⁺, on the integrity of 5S rRNA, an integral component of the large ribosomal subunit that serves as signal transducer between several functional ribosomal regions of 28S rRNA. As a result of mussel exposure to Cu²⁺, Hg²⁺, and Cd²⁺, the metals were significantly accumulated in the digestive glands, a fact resulting in failure of redox homeostasis, as reflected on oxidative stress indicators and ROS-scavenging systems. Interestingly, exposure of mussels to Cu²⁺ and Hg²⁺ caused scissions or modifications in nucleosides mainly localized within loops A, B, C, and D of 5S rRNA, in a time-dependent manner. In contrast, structural impairments of 5S rRNA in Cd²⁺-exposed mussels were initially increased by day 5, but decreased to reach nearly the control values by day 15. These results go hand-in-hand with parallel alterations in translation efficiency and suggest that structural perturbations constitute the basis of translational alterations.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ HYPERICUM VESICULOSUM
ΣΕ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ
ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΓΗΡΑΙΩΝ
ΘΗΛΥΚΩΝ ΜΥΩΝ**

**Κροντηρά Ανθοδέσμη¹, Κοκκόσης Αλέξανδρος¹, Βογιατζόγλου Αμαλία², Γκαδρής
Θεόδωρος¹, Τσαπάρα Γεωργία¹, Καπλανιάν Εγίς-Άννη¹, Ιατρού Γρηγόριος³, Λάμαρη
Φωτεινή², Μαργαρίτη Μαριγούλα¹**

*1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 26504, Ρίο, Ελλάδα 2/Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών
Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Ρίο, Ελλάδα 3/Τομέας
Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Ρίο, Ελλάδα*

Το *Hypericum vesiculosum* Griseb είναι ένα υποενδημικό τάξον της Ελλάδας. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί εάν η μικρής διάρκειας χορήγηση μεθανολικού εκχυλίσματος του *H. vesiculosum* επηρεάζει το συμπεριφορικό δείκτη του άγχους/φόβου και την ενεργότητα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) συγκεκριμένων εγκεφαλικών περιοχών (παρεγκεφαλίδα, εγκεφαλικό φλοιό, μεσεγκέφαλο, ραβδωτό, ιππόκαμπος και διεγκέφαλο) σε θηλυκούς γηραιούς Balb-c μύες. Τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε τρεις ομάδες (n=6): Γηραιά: Θηλυκοί μύες 12 μηνών, Μάρτυρες: Θηλυκοί μύες 4 μηνών, Γηραιά-Υπερικό: Θηλυκοί μύες 12 μηνών οι οποίοι έλαβαν το φυτικό εκχύλισμα. Το μεθανολικό εκχύλισμα χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά, 48 ώρες, 12 ώρες και 1 ώρα πριν τη δοκιμή του υπερυψωμένου λαβυρίνθου σε δόση 250 mg/kg βάρους σώματος. Η αγχώδης συμπεριφορά εκτιμήθηκε μετρώντας το ποσοστό του χρόνου που τα πειραματόζωα βρέθηκαν στους ανοιχτούς βραχίονες της συσκευής του υπερυψωμένου λαβυρίνθου. Η ενεργότητα των ισομορφών της AChE προσδιορίστηκε τόσο στο διαλυτό σε άλας κλάσμα (SS-AChE) των εγκεφαλικών περιοχών όσο και στο διαλυτό σε απορρυπαντικό (DS-AChE) με την κατά Ellman χρωματομετρική μέθοδο. Το ποσοστό του χρόνου που τα Γηραιά πέρασαν στους ανοιχτούς βραχίονες της συσκευής ήταν σημαντικά μικρότερος από αυτόν των Μαρτύρων. Επιπλέον, τόσο στο SS όσο και στο DS κλάσμα, η ενεργότητα της AChE των Γηραιών ήταν σημαντικά υψηλότερη, σε όλες τις εγκεφαλικές περιοχές, από αυτήν των Μαρτύρων. Η χορήγηση εκχυλίσματος αύξησε σημαντικά το ποσοστό του χρόνου που τα γηραιά πέρασαν στους ανοιχτούς βραχίονες και μείωσε σημαντικά την ενεργότητα της AChE σε όλες τις εγκεφαλικές περιοχές σε σύγκριση με τους γηραιούς μάρτυρες. Συμπερασματικά, το μεθανολικό εκχύλισμα του *Hypericum vesiculosum* προκαλεί αγχολυτική συμπεριφορά και αναστέλλει την ενεργότητα της AChE γηραιών θηλυκών μυών. Μερική υποστήριξη από τη BIOFLORA, δίκτυο του Πανεπιστημίου Πατρών

BEHAVIORAL EFFECTS OF HYPERICUM VESICULOSUM EXTRACT ON AGED FEMALE MICE AND ON ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY OF THEIR BRAIN REGIONS

Krontira Anthodesmi¹, Kokkosis Alexandros¹, Vogiatzoglou Amalia², Gadrīs Theodoros¹, Tsapara Georgia¹, Kaplanian Egis-Ani¹, Iatrou Grigorios³, Lamari Fotini², Margaritī Marigoula¹

1/Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras, 26504, Rio, Greece 2/Laboratory of Pharmacognosy & Chemistry of Natural Products, Department of Pharmacy, University of Patras, 26504, Rio, Greece 3/Division of Plant Biology, Department of Biology, University of Patras, 26504, Rio, Greece

Hypericum vesiculosum Griseb is a subendemic taxon in Greece. The aim of the present study was to investigate whether a short-term administration of *H. vesiculosum* methanolic extract would affect anxiety/fear and acetylcholinesterase (AChE) activity of specific brain regions (cerebellum, cerebral cortex, midbrain, striatum, hippocampus and diencephalon) in female aged Balb-c mice. Animals were randomly separated in three groups (n=6): Aged group: Female mice 12 months old, Control group: Female mice 4 months old, Aged-Hypericum Group: Female mice 12 months old that were treated with *Hypericum* extract. The methanolic extract was administered intraperitoneally, 48 h, 24 h and 1 h before elevated plus-maze test at the dose of 250 mg/kg body weight. Anxiety was assessed by recording the percentage of time mice spent in the open arms of elevated plus maze apparatus. AChE activity was determined in both salt-soluble (SS-AChE) and detergent-soluble (DS-AChE) fractions of all brain regions, by Ellman's colorimetric method. The percentage of time the Aged group spent in the open arms of elevated plus maze apparatus was significantly shorter than that of the Control group. Moreover, both SS- and DS-AChE activity of the Aged group was significantly higher, in all the brain regions studied, compared to the Control group. However, the administration of the extract increased significantly the percentage of time the Aged-Hypericum group spent in the open arms compared to the Aged group and decreased significantly both SS- and DS-AChE activity of the Aged-Hypericum group compared to the Aged group in all areas. In conclusion, *H. vesiculosum* methanolic extract engenders anxiolytic behavior and inhibits cerebral AChE activity of aged female mice. Partially supported by BIOFLORA, network of the University of Patras

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΛΙΠΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΗΣ ΣΤΗΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑ (*Sparus aurata*) ΣΕ ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

**Κυριάκης Δημήτριος¹, Φειδάντσης Κωνσταντίνος¹, Καϊτετζίδου Ελισάβετ¹,
Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος², Αντωνοπούλου Ευθυμία¹**

1/Τομέας Ζωολογίας, E-mail: antonio@bio.auth.gr 2/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και

Μοριακής Βιολογίας, E-mail: atriant@bio.auth.gr

Ο λιποπολυσακχαρίτης (Lipopolysaccharide, LPS), αποτελεί παράγοντα που προσομοιάζει τη βακτηριδιακή μόλυνση και επάγει τη μη ειδική ανοσία. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της εξωγενούς *in vivo* χορήγησης LPS (6 mg/kg βάρους σώματος) στην έκφραση σηματοδοτικών πρωτεϊνών μελών της υπεροικογένειας των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (MAPKs - Mitogen Activated Protein Kinases), αλλά και πρωτεϊνών δεικτών κυτταρικής καταπόνησης, όπως οι πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος (Hsps – Heat Shock Proteins), στην τσιπούρα (*Sparus aurata*), μετά από 24 και 72 ώρες. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν με ανοσοανίχνευση κατά Western Blot, οι Hsp70 και Hsp90, και τα μέλη των MAPKs, ERK 1/2 (Extracellular Signal-Regulated Kinase), JNKs (Jun N-terminal kinases) και p38 MAPK. Η χορήγηση LPS επηρέασε τις Hsps στις 24 ώρες στα βράγχια, ενώ στα νεφρά επηρέασε μόνο την έκφραση της Hsp70. Μετά τις 72 ώρες, παρουσιάστηκε αύξηση στην έκφραση μόνο της Hsp70 στα νεφρά και στον ερυθρό μυ. Η ενεργοποίηση των SAPKs (JNKs & p38MAPK) φαίνεται ότι επηρεάστηκε σε όλους του ιστούς. Στις 24h, ο λόγος φωσφορυλίωσης των JNKs (phospho JNKs/JNKs) αυξήθηκε στο ήπαρ και ερυθρό μυ, ενώ μειώθηκε στα βράγχια. Ο λόγος φωσφορυλίωσης της p38 MAPK (phospho p38 MAPK/p38 MAPK) αυξήθηκε στον ερυθρό μυ, αλλά μειώθηκε στο ήπαρ και στα νεφρά. Μετά τις 72h, παρουσιάστηκε μείωση του λόγου φωσφορυλίωσης των JNKs στα βράγχια και στον ερυθρό μυ, ενώ ο λόγος φωσφορυλίωσης της p38 MAPK αυξήθηκε στο ήπαρ και μειώθηκε στα βράγχια. Ο λόγος φωσφορυλίωσης των ERKs (phospho ERKs/ERKs) αυξήθηκε στις 24h στο ήπαρ, ενώ μετά τις 72h μειώθηκε στον ερυθρό μυ και στα βράγχια. Συμπερασματικά, η χορήγηση LPS και η επακόλουθη ενεργοποίηση της ανοσίας στην τσιπούρα, κινητοποίησε ομοιοστατικούς μηχανισμούς με ιστοειδικό και χρονοεξαρτώμενο τρόπο.

EFFECT OF LIPOPOLYSACCHARIDE IN THE GILTHEAD SEABREAM (*Sparus aurata*) AT POST-TRANSLATIONAL LEVEL

**Kyriakis Dimitrios¹, Feidantsis Konstantinos¹, Kaitetzidou Elisavet¹, Triantafyllidis
Alexandros², Antonopoulou Efthimia¹**

*1/Department of Zoology, E-mail: eantono@bio.auth.gr 2/Department of Genetics, Development
and Molecular Biology, E-mail: atriant@bio.auth.gr*

The lipopolysaccharide (LPS) is a factor that resembles bacterial infection and activates the innate immune system. The aim of the present study was to investigate the effect of exogenous in vivo administration of LPS (6 mg/kg body weight) on the expression of signalling proteins, i.e. members of the mitogen activated protein kinases (MAPKs) superfamily and protein-markers of cellular stress, like heat shock proteins (Hsps) in the gilthead seabream (*Sparus aurata*), after 24 and 72 h. Specifically, we studied the heat shock proteins Hsp70 and Hsp90, and the members of the MAPKs ERK 1/2 (Extracellular Signal-Regulated Kinase), JNKs (Jun N-terminal kinases) and p38 MAPK using Western blot analysis. LPS administration affected the Hsps in gills after 24h, whereas in the kidney, Hsp70 expression was affected. After 72h of LPS treatment, an increase was observed in Hsp70 expression in the kidney and the red muscle. Activation of SAPKs (JNKs & p38MAPK) was present in all the examined tissues. At 24h, the phosphorylation ratio of JNKs (phospho JNKs/JNKs) increased in the liver and the red muscle, while it decreased in the gills. The phosphorylation ratio of p38 MAPK (phospho p38 MAPK/p38 MAPK) increased in red muscle, and decreased in the liver and kidneys. After 72h, the phosphorylation ratio of JNKs was reduced in the gills and red muscle, while the phosphorylation ratio of p38 MAPK was increased in the liver and decreased in the gills. The phosphorylation ratio of ERKs (phospho ERKs/ERKs) increased in the liver at the 24h trial, while after 72h it was decreased in the red muscle and gills. In conclusion, the administration of LPS and the subsequent activation of immunity in sea bream, mobilized tissue-specific and time-dependent homeostatic mechanisms.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗΝ ΕΞΩΓΕΝΗ ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΣΤΟ DNA

**Κύρια Κρυσταλλία¹, Πουϊκλή Ανδρομάχη¹, Πετράκης Σπύρος³, Κολιάκος Γεώργιος²,
Καλογιάννη Μάρθα¹, Τραχανά Βαββάρα¹**

*1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσ/νίκη 541 24 - 2/Εργαστήριο Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσ/νίκη 541 24 - 3/Εταιρία βιοτεχνολογίας
Biohellenika, Λεωφόρος Γεωργικής Σχολής 65, Κτίριο ZEDA, Θεσ/νίκη 570 01*

Η διαταραχή της κυτταρικής ομοιόστασης έχει συνδεθεί με βλάβες στα μακρομόρια που προκαλούνται από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του οξειδωτικού στρες. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) προκαλούν εκτενείς βλάβες στο DNA και τις πρωτεΐνες. Οι επαγόμενες από ROS βλάβες στο DNA, με χαρακτηριστικότερη την 8-υδροξυ-2-δεσοξυγουανωσίνη (8-oxo-dG) αλλά και τις συνεπακόλουθες θραύσεις στη διπλή έλικα (Double Strand Breaks-DSB), διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην κυτταρική γήρανση. Σημαντικό ρόλο στη γήρανση φαίνεται να έχουν εξάλλου και οι μεταβολές στην ικανότητα των βλαστοκυττάρων των ενηλίκων να ανανεώνουν τους ιστούς στους οποίους εντοπίζονται. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα (multipotent) κύτταρα με ικανότητα αυτο-ανανέωσης και κύρια λειτουργία την αντικατάσταση των κυττάρων του ιστού στον οποίο ανήκουν μέσω της διαφοροποίησής τους. Τα τελευταία χρόνια τα ενήλικα βλαστοκύτταρα και κυρίως τα ανθρώπινα μεσεγχυματικά κύτταρα θεωρούνται σημαντικά εργαλεία στις κυτταρικές θεραπείες. Η χρήση τους αυτή προϋποθέτει την καλλιέργειά τους *in vitro*, κατά την οποία όμως γερνούν γρήγορα χάνοντας την ικανότητα διαφοροποίησης. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήσαμε ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα από λιπώδη ιστό, προκειμένου να μελετήσουμε τη γήρανση τους *in vitro*, καθώς και την απόκρισή τους στην επίδραση εξωγενούς οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα, μεσεγχυματικά κύτταρα καλλιιεργήθηκαν μέχρι να φτάσουν στο στάδιο της γήρανσης και εκτιμήθηκε ο βαθμός βλάβης στο DNA μέσω ειδικών αντισωμάτων εναντίον της 8-oxo-dG και εναντίον μορίων-δεικτών των DSB και τη χρήση μικροσκοπίας φθορισμού ή/και confocal μικροσκοπίου. Με τη μέθοδο western blot εκτιμήθηκαν εξάλλου τα επίπεδα των p53, p21Cip1/Waf1 και p16INK4a, γνωστών δεικτών εισόδου στο στάδιο της γήρανσης. Ακόμη εκτιμήθηκε η απόκριση νεαρών αλλά και γηρασμένων κυττάρων στην επίδραση H₂O₂. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι τα γηρασμένα κύτταρα συσσωρεύουν περισσότερες βλάβες στο DNA, ενώ επιπλέον τα κύτταρα αυτά αποτυγχάνουν να αποκαταστήσουν τις βλάβες που προκλήθηκαν από την επίδραση εξωγενούς οξειδωτικού στρες.

STUDY OF THE RESPONSE OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS TO EXOGENOUS INDUCTION OF OXIDATIVE DNA DAMAGE

**Kyrka Krystallia¹, Pouikli Andromachi¹, Petrakis Spiros³, Koliakos George², Kaloyianni
Martha¹, Trachana Varvara¹**

*1/Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University
of Thessaloniki, Thessaloniki 541 24 - 2/Department of Biochemistry, Medical School, Aristotle
University of Thessaloniki, Thessaloniki 541 24 - 3/Biotechnology Company Biohellenika, Farm
School 65 Avenue, Building ZEDA, Thessaloniki 570 01*

The loss of cellular homeostasis is related with damages in macromolecules, caused by various intrinsic and extrinsic factors, such as oxidative stress. Reactive oxygen species (ROS) can cause extensive damage to macromolecules-mainly on proteins and DNA. ROS-induced DNA damage, like the 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and the subsequent double strand breaks (DSB), plays an important role in ageing. It has been also suggested that some aspects of ageing result from a decline in replicative function of certain tissue-specific regenerative cells-adult stem cells. Human adult stem cells are multipotent cells with the capacity for self-renewal and main function the tissue maintenance via their differentiation. During the recent years adult stem cells and especially human mesenchymal stem cells have evolved to be important tools for several cell-based therapies. Their use in such therapies require in vitro expansion, during which, however, besides reaching replicative senescence very soon, may also lose their responsiveness to differentiation signals. In the present study, we used human mesenchymal stem cells from adipose tissue in order to examine their senescence in vitro as well as their response to the exposure to oxidative stress. For this purpose, adipose stem cells were cultured until they reached senescence. DNA damage was estimated with antibodies against 8-oxo-dG and against markers of DSB, using fluorescence or/and confocal microscopy. Western blot analysis was used in order to calculate the levels of cell cycle related proteins p16, p53 and p21, also known markers of cellular senescence. Moreover, we estimated the response to the exposure to H₂O₂ of both young and senescent cells. Our results indicate that senescent cells accumulate more DNA damages and that these cells fail to repair the damage induced by exogenous oxidative stress.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΑΝΤΙ-ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΜΑΣΤΙΧΟΝΕΡΟΥ, VERBENONE, Α-TERPINEOL, LINALOOL ΚΑΙ TRANS-PINOCARVEOL

**Κωφίδου Δανάη¹, Τσαμαδού Σοφία¹, Αναγνωστοπούλου Μαρία¹, Κυριζάκη
Παρασκευή¹, Γαβριηλίδης Μαξίμ¹, Δροσοπούλου Ελένη¹, Βλαστός Δημήτριος²,
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Πηνελόπη¹**

*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 Πατρών, 26500 Αργόλιος*

Η μαστίχα είναι η ρητινώδης ουσία, που συλλέγεται από τον κορμό και τα κλαδιά του μαστιχόδενδρου της Χίου (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*). Το μαστιχόνερο είναι 100% φυσικό υδατικό απόσταγμα, που περιέχει όλα τα υδατοδιαλυτά συστατικά της μαστίχας. Προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας έδειξαν ότι το μαστιχόνερο παρουσιάζει αντιμεταλλαξιγόνο δράση έναντι του ισχυρού γενοτοξικού παράγοντα μιτομυκίνη-C (*mitomycin-C*, MMC). Στην παρούσα μελέτη γίνεται έλεγχος της πιθανής μεταλλαξιγόνου και αντιμεταλλαξιγόνου δράσης των κύριων συστατικών του μαστιχόνερου, *verbenone*, *α-terpineol*, *linalool* και *trans-pinocarveol*, εφαρμόζοντας τη δοκιμή SMART (*Somatic Mutation And Recombination Test*). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως και προσδιορίζει τόσο τη μεταλλαξιγόνο όσο και την αντι-μεταλλαξιγόνο δράση ουσιών. Ως πειραματόζωο χρησιμοποιείται το έντομο *Drosophila melanogaster*, ένας από τους οργανισμούς-μοντέλα για *in vivo* μελέτες τοξικότητας. Χρησιμοποιήθηκαν τρία στελέχη (*mwh*, *flr* και *ORR*) και πραγματοποιήθηκαν δύο διασταυρώσεις {*standard (ST)* και *high bioactivation (HB)*}. Η χρήση των γενετικών δεικτών *mwh* και *flr* κάνουν δυνατή την αναγνώριση μεταλλάξεων ή ανασυνδυασμών σε άτομα *trans-ετερόζυγα* ως προς τους δυο αυτούς δείκτες μέσω της δημιουργίας κηλίδων διαφορετικού φαινοτύπου στα φτερά. Για τον καθορισμό της αντι-μεταλλαξιγόνου δράσης πραγματοποιήθηκαν χρόνιες επιδράσεις σε προνύμφες *Drosophila* τριών ημερών με προσθήκη στην τροφή (α) των συστατικών του μαστιχόνερου *verbenone* και *α-terpineol* (2,5 και 0,05 $\mu\text{g/ml}$) και *linalool* και *trans-pinocarveol* (2,5 και 0,025 $\mu\text{g/ml}$), (β) του μεταλλαξιγόνου παράγοντα MMC (2,5 $\mu\text{g/ml}$), και (γ) μείγματος MMC και των τεσσάρων συστατικών. Η στατιστική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων έδειξε ότι τα υπό εξέταση συστατικά (στις συγκεντρώσεις που ελέγχθηκαν) δεν αυξάνουν τη συχνότητα των κηλίδων σε σχέση με το μάρτυρα, υποδεικνύοντας την απουσία μεταλλαξιγόνου ή/και ανασυνδυαστικής δράσης. Σε ορισμένες ουσίες παρατηρήθηκε αντιμεταλλαξιγόνο δράση έναντι της MMC.

EVALUATION OF THE MUTAGENIC AND ANTIMUTAGENIC EFFECTS OF THE MAJOR CHIOS MASTIC WATER CONSTITUENTS, VERBENONE, A-TERPINEOL, LINALOOL KAI TRANS-PINOCARVEOL

Kofidou Danai¹, Tsamadou Sofia¹, Anagnostopoulou Maria¹, Kirizaki Paraskevii¹, Gavriilidis Maxim¹, Drosopoulou Eleni¹, Vlastos Dimitrios², Mavragani-Tsipidou Pinelopi¹

1/Department of Genetic, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki, Greece-2/Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Patras, 30100 Agrinio, Greece

Chios mastic gum is a resinous substance obtained from the trunk and branches of the schinos tree (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*). Mastic water is a 100% natural aqueous extract that contains the authentic mastic scent and all the water soluble components of mastic. Previous work showed considerable antimutagenic activity of mastic water against the mutagenic agent mitomycin-C (MMC). In the present study, the potential mutagenic as well as antimutagenic properties of the main constituents of mastic water (verbenone, a-terpineol, linalool, trans- pinocarveol) were evaluated by employing the Somatic Mutation And Recombination Test (SMART). The SMART test is an *in vivo* assay able to detect 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, is used in this assay. Its genetic markers *mwh* and *flr* allow the detection of mutations and recombination in the wings of trans-heterozygous flies through the presence of mosaic spots. In order to explore the anti-mutagenic potential of the tested constituents, *Drosophila* third instar larvae were treated with: a) verbenone and a-terpineol (2.5 and 0.05 µg/ml) and linalool and trans-pinocarveol (2.5 and 0.025 µg/ml), b) the mutagenic agent MMC (2.5µg/ml) and c) mixes of MMC and the four constituents. The mutagenic, recombinogenic and anti-mutagenic activity of the assessed substances is estimated by recording the number of spots of mutant phenotype on the wing blade. Statistical analysis of the data showed that none of the four compounds tested increase the frequency of the spots compared to the negative control series, indicating absence of mutagenic or/and recombinogenic activity, while some of them present antimutagenic effect against MMC.

ΤΟ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΜΕ ΑΡΓΥΡΟ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΤΙΤΑΝΙΟΥ (Ag-doped TiO₂) ΕΠΑΓΕΙ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟ ΘΑΝΑΤΟ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΣΤΟΥ

Λαγοπάτη Ν.^{1,2}, Κωτσοπούλου Ε.¹, Διαμαντή Ε.¹, Τσιλιμπάρη Ε.¹, Φαλάρας Π.², Κίτσιου Π.¹

1) Ινστιτούτο Βιοεπιστημών & Εφαρμογών, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή Αττικής, 153 10, Αθήνα, Ελλάδα 2) Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας, Τομέας Φυσικοχημείας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή Αττικής, 153 10, Αθήνα, Ελλάδα

Το διοξείδιο του Τιτανίου (TiO₂) είναι ένα υλικό με εξαιρετική βιοσυμβατότητα που αξιοποιείται σε πλήθος ιατροβιολογικών εφαρμογών. Εξαιτίας των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του χρησιμοποιείται ευρέως και σε εφαρμογές φωτοκατάλυσης. Τα τελευταία χρόνια, πολλές εργασίες που εστιάζουν στο πεδίο της έρευνας για τη θεραπεία του καρκίνου, εξετάζουν την πιθανή χρήση του TiO₂ ως αντικαρκινικό παράγοντα. Μάλιστα συχνά μελετάται η επίδραση διαφόρων χαρακτηριστικών του, όπως η φάση κρυστάλλωσης ή η επιφανειακή τροποποίηση με μέταλλα, στη βιολογική δράση του. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της πιθανής κυτταροτοξικής δράσης του φωτο-ενεργοποιημένου και επιφανειακά τροποποιημένου με άργυρο TiO₂. Έτσι, το TiO₂ τροποποιήθηκε με άργυρο, χαρακτηρίστηκε πλήρως, ως προς την κατανομή μεγέθους των νανοδομημάτων και το ηλεκτρικό φορτίο, με τις τεχνικές micro Raman και δυναμική σκέδαση φωτός (D.L.S). Στη συνέχεια, εισήχθη σε δύο διαφορετικές καρκινικές κυτταρικές σειρές που προέρχονται από επιθηλιακά κύτταρα μαστού, στα MCF-7 (χαμηλής μεταστατικότητας) και στα MDA-MB-468 (εντονότερης μεταστατικότητας), TiO₂ σε μορφή εναιωρήματος. Με την εισαγωγή του στα καρκινικά κύτταρα, πυροδοτεί ενδοκυτταρικές βιοχημικές αντιδράσεις, καθώς ενεργοποιείται μετά από ακτινοβολία με υπεριώδη ακτινοβολία UV-A (350nm). Η βιωσιμότητα των κυτταρικών πληθυσμών μελετήθηκε με τη χρωματομετρική μέθοδο MTT. Στη συνέχεια η τεχνική Western Blotting και η ανίχνευση του κατακερματισμένου DNA (DNA laddering) εφαρμόστηκαν με σκοπό να διαπιστωθεί η εικόνα αποπτωτικού θανάτου. Φαίνεται πως η επίδραση του τροποποιημένου με Άργυρο TiO₂ και κυρίως του φωτο-ενεργοποιημένου με ορατή ακτινοβολία και τροποποιημένου με Άργυρο TiO₂, σε μορφή εναιωρήματος, στα κύτταρα MDA-MB-468, έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή της απόπτωσης, ενώ κάτω από τις ίδιες συνθήκες τα κύτταρα MCF-7 παραμένουν ανεπηρέαστα. Η βελτιστοποίηση της μεθόδου θα μπορούσε να περιλαμβάνει την προσπάθεια αντικατάστασης της ακτινοβολίας UV-A, με ορατό φως, που συνεπάγεται την ανάγκη τροποποίησής του με άζωτο.

AG-DOPED NANOSTRUCTURED TITANIUM DIOXIDE (TiO₂) PHOTO-INDUCED APOPTOTIC EFFECT ON BREAST CANCER EPITHELIAL CELLS

Lagopati N.^{1,2}, Kotsopoulou E.¹, Diamanti, Tsilibary E.¹, Falaras P.², Kitsiou P.¹

1) Institute of Biosciences and Applications, N.C.S.R. "Demokritos", 15310 Aghia Paraskevi, Athens, Greece 2) Institute of Nanoscience and Nanotechnology, Department of Physical Chemistry, N.C.S.R. "Demokritos", 15310 Aghia Paraskevi, Athens, Greece

The use of nanoparticles has seen an exponential growth in the area of health care, due to the unique physicochemical properties of nanomaterials which make them desirable for medical applications. It is now well established that photoexcited titanium dioxide (TiO₂) is widely used in biomedical applications, due to its mechanical properties, biocompatibility and of course for photocatalysis purposes. Surface modification by doping with metal ions and particularly with silver has been proven to improve the photocatalytic activity of TiO₂. The aim of this study is to examine the effect of this surface modification of titanium dioxide particles on their bioactivity/cytotoxicity in breast cancer epithelial cells. Thus, Ag-doping of TiO₂ was undergone, followed by detailed characterization which was performed by dynamic light scattering. Cultured MCF-7 and MDA-MB-468 breast cancer epithelial cells were irradiated, using UV-A light (wavelength 350 nm) for 20 minutes, in the presence of Ag-doped TiO₂ aqueous dispersion. MTT colorimetric assay was employed to estimate the percentage of viable cells for a series of experiments. Western blot analysis of protein expression and characterization as well as DNA laddering assay were used to detect cell apoptosis. We demonstrated that Ag-doped TiO₂ nanoparticles as well as photoexcited Ag-doped TiO₂ nanoparticles exerted a significant apoptotic effect specifically in the highly malignant MDA-MB-468 cancer cells whereas MCF-7 cells were not considerably affected. The molecular mechanism of TiO₂ nanoparticles cytotoxicity was associated with increased pro-apoptotic Bax expression decreased anti-apoptotic Bcl-2 expression and caspase-mediated poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) activation thus resulting in DNA fragmentation and programmed cell death-apoptosis. Further studies, which are already in progress, focalize at the development and optimization of visible-light-excited TiO₂ nanoparticles for targeted cancer therapy, thus avoiding harmful UV-A irradiation.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΤΩΝ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΣΤΟ ΕΥΚΑΙΡΙΑΚΟ ΠΑΘΟΓΟΝΟ *Acinetobacter* *calcoaceticus*

**Λάζου Παναγιώτα, Μπότου Μαρία, Παπακώστας Κωνσταντίνος, Καρενά Αικατερίνη,
Φριλίγγος Ευστάθιος**

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα*

Οι νουκλεοτιδικές βάσεις αποτελούν ζωτικής σημασίας ενώσεις σε όλα τα επίπεδα των οργανισμών. Τα συστήματα μεταφοράς τους έχουν ελάχιστα μελετηθεί έως σήμερα. Στα βακτήρια οι πιθανοί μεταφορείς νουκλεοτιδικών βάσεων εμπίπτουν σε δυο οικογένειες, NCS1 (Nucleobase-Cation Symporter-1) και NCS2. Στον άνθρωπο απαντώνται αντιπρόσωποι μόνο της οικογένειας NCS2 οι οποίοι όμως δεν αναγνωρίζουν νουκλεοτιδικές βάσεις ούτε τοξικά ανάλογά τους. Το γεγονός αυτό επιτρέπει την προοπτική σημαντικών βιοϊατρικών εφαρμογών μέσω σχεδιασμού ειδικών αναλόγων πουρινών/πυριμιδινών με στοχευμένη αντιμικροβιακή δράση. Στην μελέτη αυτή, χαρακτηρίστηκαν λειτουργικά 4 μεταφορείς του ευκαιριακά παθογόνου *Acinetobacter calcoaceticus*, το οποίο αποτελεί και μέρος του μικροβιώματος του ανθρώπου, τρεις από τους οποίους ανήκουν στην οικογένεια NCS2, οι υψηλής συγγένειας μεταφορείς ξανθίνης AcS6Q3, ξανθίνης/ουρικού οξέος AcS4X6 και ουρακίλης AcS572, και ένας στην οικογένεια NCS1, ο χαμηλής συγγένειας μεταφορέας ουρακίλης/γουανίνης AcS356. Αναλύοντας το προφίλ εξειδίκευσης του μεταφορέα ξανθίνης/ουρικού AcS4X6, διαπιστώθηκε ότι ο AcS4X6 αναγνωρίζει ικανοποιητικά την 8-μεθυλοξανθίνη, το ουρικό οξύ και την οξυπουρινόλη, αλλά δεν αναγνωρίζει σε σημαντικό βαθμό 2-θειοξανθίνη, 7-μεθυλοξανθίνη ή 6-θειοξανθίνη, γεγονός που τον διαφοροποιεί σε σχέση με όλους τους άλλους χαρακτηρισμένους μεταφορείς από μη παθογόνα βακτήρια, και ειδικά από τον πολύ συγγενικό ομόλογο μεταφορέα ξανθίνης/ουρικού οξέος του ριζοβακτηρίου *Sinorhizobium meliloti* SmLL9, με τον οποίο διαφέρει πολύ λίγο στην αλληλουχία (ταυτότητα 69%). Διερευνήσαμε περαιτέρω την μοριακή βάση του προφίλ εξειδίκευσης του μεταφορέα AcS4X6 με μεταλλαξιγένεση. Το μετάλλαγμα V272I/M302T/L389I/A391F/C421A του AcS4X6, στο οποίο πέντε δυνητικά σημαντικές αλλά περιφερειακές του κέντρου δέσμευσης ομάδες αμινοξέων έχουν αντικατασταθεί με τις αντίστοιχες του SmLL9, αναγνωρίζει με μεγαλύτερη συγγένεια την ξανθίνη, την 2-θειοξανθίνη, και την 7-μεθυλοξανθίνη ενώ μειώνει τη συγγένεια για το ουρικό οξύ και την 8-μεθυλοξανθίνη, δηλαδή προσομοιάζει καλύτερα στο προφίλ του SmLL9, υποδεικνύοντας ότι οι θέσεις αυτές συμβάλλουν στην διαμόρφωση του προφίλ εξειδίκευσης

FUNCTIONAL PROFILE ANALYSIS OF NUCLEOBASE TRANSPORTERS IN THE OPPORTUNISTIC PATHOGEN *Acinetobacter calcoaceticus*

**Lazou Panayiota, Botou Maria, Papakostas Konstantinos, Karena Ekaterini, Frilingos
Stathis**

*Laboratory of Biological Chemistry, Department of Medicine, School of Health Sciences,
University of Ioannina, Panepistimiopolis Dourouti, 45110 Ioannina, Greece*

The putative nucleobase transporters encoded in bacterial genomes fall into one of only two structural folds, corresponding to Nucleobase:Cation Symporter families NCS1 and NCS2. The NCS1 family has no structural homologs in animals, while NCS2 transporters are present in all major taxa of organisms, including mammals, but the human homologs do not recognize nucleobases or related cytotoxic compounds, allowing important biomedical perspectives on designing targeted antimicrobial purine-related drugs. In this study we showed that the genome of *Acinetobacter calcoaceticus*, a Gram-negative opportunistic pathogen of the human microbiome, encodes five purine transporters, four belonging to NCS2 and being high-affinity transporters for xanthine (AcS6Q3), xanthine/uric acid (AcS4X6) or uracil (AcS572) or low-affinity transporter for guanine (AcRZR2), and one belonging to NCS1 and being a low-affinity transporter for uracil and guanine (AcS356). The selectivity profile of AcS4X6 is novel relative to the known profiles of NCS2 transporters from non-pathogenic bacteria, as it recognizes 8-methylxanthine, oxypurinol and uric acid with high (low- μ M) affinity, while 2-thioxanthine, 6-thioxanthine and 7-methylxanthine are recognized with low affinity, in contrast to any other NCS2 studied thus far, including the closely related SmLL9 from *S. meliloti* with which it shares an overall identity of 69%. In an effort to study the molecular basis of the specificity profile of AcS4X6, we showed that the multiple AcS4X6 mutant V272I/M302T/L389I/A391F/C421A recognizes with improved affinity xanthine, 2-thioxanthine, 7-methylxanthine and with lower affinity uric acid or 8-methylxanthine, mimicking in part the profile of SmLL9, suggesting that these five amino acid positions contribute to the profile of substrate specificity.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΒΕΝΘΙΚΗΣ ΠΑΝΙΔΑΣ ΣΕ ΛΙΜΝΟΘΑΛΑΣΣΕΣ ΤΟΥ ΙΟΝΙΟΥ

Λεγάκη Αγλαΐα¹, Σιγάλα Καλλιόπη², Ρεϊζοπούλου Σοφία², Νικολαΐδου Άρτεμις¹

1/Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784 Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα, Ελλάδα-2/Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών, Τ.Θ.712, 19013 Ανάβυσσος, Αττική, Ελλάδα

Στα πλαίσια της Ευρωπαϊκής οδηγίας για τα ύδατα, μελετήθηκε η αφθονία και η ποικιλότητα του μακροζωοβένθους σε 12 λιμνοθάλασσες της δυτικής Ελλάδας (Ιόνιο Πέλαγος) την άνοιξη του 2013. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε έναν κεντρικό σταθμό και σε έναν σταθμό κοντά στο στόμιο κάθε λιμνοθάλασσας. Οι λιμνοθάλασσες που μελετήθηκαν ήταν : η Κορισσίων στην Κέρκυρα, η Ροδιά, το Τσουκαλιό, η Λογαρού και το Μάζωμα στον Αμβρακικό κόλπο, η λιμνοθάλασσα των Στενών Λευκάδας, ο Κούταβος στην Κεφαλλονιά και η Καλογριά, ο Άραξος, το Κοτύχι, ο Καϊιάφας και η Γιάλοβα στις δυτικές ακτές της Πελοποννήσου. Συνολικά καταμετρήθηκαν 23.514 άτομα που ανήκαν σε 132 είδη, πολλά από τα οποία είναι χαρακτηριστικά των λιμνοθαλασσών. Το λιμνοθαλάσσιο είδος *A. segmentum* είχε ευρεία εξάπλωση σε όλες τις λιμνοθάλασσες όμως τα επικρατή είδη διέφεραν μεταξύ των λιμνοθαλασσών πράγμα που εκφράστηκε και στις πολυπαραγοντικές αναλύσεις. Ειδικά στις λιμνοθάλασσες του Αμβρακικού επικράτησε το δίθυρο *Mytilaster minimus* ενώ στην Καλογριά και στον Καϊιάφα υπήρχε μεγάλη επικράτηση των προνυμφών εντόμων. Υψηλότερη ποικιλότητα παρατηρήθηκε στη λιμνοθάλασσα Κούταβου με 30 είδη στο κέντρο και 44 στο στόμιο και δείκτη ποικιλότητας 2,438 και 2,953 αντίστοιχα. Στον κεντρικό σταθμό της λιμνοθάλασσας του Καϊιάφα καταμετρήθηκε ο μικρότερος αριθμός ειδών (τρία) και οι χαμηλότερες τιμές ποικιλότητας ($H' = 0,253$) και ομοιομορφίας ($J' = 0,23$). Έντονες διαφορές στην αφθονία των ειδών, μεταξύ των κεντρικών και των «εξωτερικών» σταθμών, παρατηρήθηκαν στην λιμνοθάλασσα του Κούταβου, στα Στενά Λευκάδας, στην Καλογριά και στον Καϊιάφα. Αντίθετα οι λιμνοθάλασσες Ροδιά και Κοτύχι παρουσίασαν ομοιότητα μεταξύ των δυο σταθμών τους.

COMPARISON OF BENTHIC FAUNA IN IONIAN SEA LAGOONS

Legaki Aglaia¹, Sigala Kalliopi², Reizopoulou Sofia², Nicolaidou Artemis¹

*1/Department of Zoology and Marine Biology, School of Biology, University of Athens, 15784
Panepistimioupoli, Athens, Greece-2/Institute of Oceanography, Hellenic Centre for Marine
Research, PO BOX 712, 19013 Anavissos, Attiki, Greece*

In complying with the European Water Framework Directive, abundance and diversity of macrozoobenthos were studied in 12 lagoons of West Greece (Ionian Sea) in the spring of 2013. Sampling took place in a central station and a station near the “outer part” of each lagoon. Lagoons studied were: Korission in Corfu, Rodia, Tsoukalio, Logarou and Mazoma in Amvrakikos Gulf, Lefkada lagoon, Koutavos in Kefallonia and Kalogria, Araxos, Kotychi, Kaiafas and Gialova in west coasts of Peloponnisos. In total 23.514 individuals belonging to 132 species were found, many of which are typical of lagoons. The lagoonal species *A. segmentum* was ubiquitous; however the dominant species differed between lagoons, a fact also expressed by the multivariate analyses. In the Amvrakikos lagoons in particular the bivalve *Mytilaster minimus* was dominant while in Kalogria, and Kaiafas there was great dominance of insect larvae. Highest diversity was observed in Koutavos with 30 species in the centre and 44 at the outer part and diversity values of 2,438 and 2,953 respectively. The smaller number of species (three) and the lowest diversity ($H' = 0,253$) and evenness ($J' = 0,23$) were found in the central station of Kaiafas. Marked differences between the outer and central stations were only observed in the lagoons of Koutavos, Lefkada, Kalogria and Kaiafas. Conversely, in Rodia and Kotychi the two stations were similar.

***Carassius gibelio*: ΕΝΑ ΠΑΡΑΞΕΝΟ ΑΛΟΧΘΟΝΟ ΕΙΔΟΣ ΨΑΡΙΟΥ ΣΤΑ ΕΣΩΤΕΡΙΚΑ ΥΔΑΤΑ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΗΣ**

Λεονάρδος Ιωάννης Δ.

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων*

Η πεταλούδα ή αγριοκυπρίνος (*Carassius gibelio*, Bloch, 1782) είναι ένα ξενικό είδος το οποίο έχει καταλάβει τα Ευρωπαϊκά υδάτινα οικοσυστήματα είδος ψαριού της οικογένειας των Cyprinidae. Η φυσική του εξάπλωση είναι η Ανατολική Ασία. Το είδος αυτό έχει την ικανότητα να αναπαράγεται φυλετικά και αφυλετικά. Σε αρκετές περιπτώσεις οι φυλετικά και αφυλετικά αναπαραγόμενοι πληθυσμοί συνυπάρχουν. Κατά την αφυλετική αναπαραγωγή τα ωάρια των πολυπλοειδών (3N ή και 4N) θηλυκών «ενεργοποιούνται» από το σπέρμα αρσενικών διάφορων ειδών (γυνογένεση ή εκ του σπέρματος εξαρτώμενη παρθενογένεση). Ενώ το γενετικό υλικό των αρσενικών δεν συμμετέχει ή συμμετέχει ελάχιστα στα χαρακτηριστικά των απογόνων. Στη φυλετική αναπαραγωγή συμμετέχουν διπλοειδή (2N) αρσενικά και θηλυκά άτομα του είδους. Οι πληθυσμοί του στην Κεντρική και Δυτική Ευρώπη στο μεγαλύτερο μέρος τους αποτελούνται από πολυπλοειδή θηλυκά ‘γυνογενετικά’ αναπαραγόμενα, ενώ στις περιοχές φυσικής εξάπλωσής του από τελούνται κυρίως από διπλοειδή θηλυκά και αρσενικά. Οι αφυλετικά αναπαραγόμενοι πληθυσμοί έχουν το πλεονέκτημα της γρήγορης κυριαρχίας σε νέους ή κενούς θώκους, ενώ οι φυλετικά αναπαραγόμενοι πληθυσμοί πλεονεκτούν σε μεταβαλλόμενα ή επιβαρυνόμενα οικοσυστήματα. Το είδος, στην Ελλάδα εμφανίστηκε στα μέσα της δεκαετίας του 50, ωστόσο εξαπλώθηκε κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 80. Σήμερα έχει καταλάβει το σύνολο των υδάτινων οικοσυστημάτων της χώρας. Παράμετροι της βιολογίας του είδους, του επιτρέπουν να κυριαρχεί στα υδάτινα οικοσυστήματα. Το είδος αυτό ενοχοποιείται για την υποβάθμιση της ποιότητας των υδάτινων οικοσυστημάτων, τη συμβολή στην εξαφάνιση ενδημικών και απειλούμενων ειδών. Σημαντικές επιπτώσεις όμως έχουν προκύψει στην οικονομία των παραλίμνιων κοινοτήτων, για τη στρόφη των κατοίκων από την αλιεία σε άλλες δραστηριότητες και για την εγκατάλειψη των λιμνών.

***Carassius gibelio*: A STRANGE INVASIVE FISH SPECIES IN EUROPEAN INLAND WATERS**

Leonardos Ioannis D.

Laboratory of Zoology, Biological Applications & Technologies Dept., University of Ioannina

Prussian carp (*Carassius gibelio*, Bloch 1782) is an invasive for the European inland water ecosystems fish species of the family of Cyprinidae, which is considered as native in Eastern Asia. This species is able for sexual and asexual reproduction. Populations of both sexually and asexually reproducing individuals in a lot of cases are co-existing. In asexual reproduction oocytes of polyploid (3N or 4N) females ‘triggered’ from the sperm of males of various fish species (gynogenesis or sperm-dependent parthenogenesis). In this case the genetic material of males is not or partially incorporated into the offspring’s genome. While in sexual reproduction diploid (2N) males and females are participate. The populations of this species in Central and Western Europe mainly consist of polyploid females gynogenetically reproducing, while in the areas of its natural distribution mainly consist of by diploid (2N) females and males. The asexual reproduction gives the advantage of rapid spread and colonization of new or empty niches, while the sexual reproduction has the advantage in unstable, polluted or eutrophic ecosystems. This species probably is first appeared in Greece in the middle of '50s, however, spread during the 80s. Today has occupied the total of inland water ecosystems of Greece. Some parameters of its life trait allow the colonization of the aquatic ecosystems. This species is implicated for the extinction of endemic and endangered species, the impairment of the quality of water and the degradation of aquatic ecosystems. Although, significant effects have emerged in socio-economic level of littoral communities.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ PI-3 ΚΙΝΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΥΜΜΕΤΡΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΔΙΑΙΡΕΣΕΩΝ ΠΟΥ ΟΔΗΓΟΥΝ ΣΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΠΑΡΑΣΤΟΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΦΥΤΟ ZEA MAYS

Λιβανός Παντελής, Γαλάτης Βασίλειος, Αποστολάκος Παναγιώτης
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15781, Αθήνα

Τα παραστοματικά κύτταρα (ΠΚ) των στοματικών συμπλόκων των αγρωστωδών είναι το αποτέλεσμα ασύμμετρης διαίρεσης των μητρικών κυττάρων των παραστοματικών (ΜΠ), η οποία επάγεται από ερεθίσματα που εκπέμπονται από τα μητρικά κύτταρα των καταφρακτικών (ΜΚ). Τα ερεθίσματα αυτά οδηγούν στην καθιέρωση κυτταρικής πολικότητας στα ΜΠ, τα οποία στη συνέχεια διαιρούνται ασύμμετρα με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός παραστοματικού και ενός τυπικού επιδερμικού κυττάρου. Η πόλωση των ΜΠ σε μορφολογικό επίπεδο εκδηλώνεται με τη μετακίνηση του πυρήνα πλησίον του επάγοντος ΜΚ, τη δημιουργία μίας ιδιόμορφης προ-προφασικής ζώνης μικροσωληνίσκων (ΠΠΖ-ΜΣ) πλευρικά του ΜΚ, τη συνάθροιση μικρονηματίων ακτίνης στο πολικό άκρο και την ασύμμετρη οργάνωση της προφασικής ατράκτου. Τα μονοπάτια των φωσφολιπασών C και D σχετίζονται με τη μεταγωγή ερεθισμάτων που επάγουν την ασύμμετρη διαίρεση των ΜΠ (Apostolakis et al., 2008; Cell Motil Cytoskel 65:863-75). Στις αλληλομετατροπές φωσφοϊνοσιτιδίων συμμετέχει και η 3-κινάση της διφωσφορικής φωσφατιδύλοϊνοσιτόλης (PI3K), η οποία είναι απαραίτητη σε αρκετές κυτταρικές διεργασίες, στις οποίες περιλαμβάνεται και η καθιέρωση κυτταρικής πολικότητας (Lee et al., 2008; Plant Physiol 147:624-35). Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η συμμετοχή της PI3K στους μηχανισμούς που ελέγχουν τη δημιουργία ΠΚ στο φυτό *Zea mays*. Νεαρά αρτίβλαστα του φυτού *Zea mays* υπέστησαν την επίδραση του εξειδικευμένου αναστολέα της PI3K LY294002. Ακολούθησε παρατήρηση νωπού υλικού, ανοσοεντόπιση ΜΣ και χρώση μικρονηματίων ακτίνης. Βρέθηκε ότι η πολική μετακίνηση του πυρήνα αναστέλλεται, ενώ η ΠΠΖ-ΜΣ συχνά απουσιάζει από τα ΜΠ. Παράλληλα, φαίνεται ότι επηρεάζεται και οργάνωση και η πολική διευθέτηση των μικρονηματίων ακτίνης. Επιπλέον, μεγάλος αριθμός στοματικών συμπλόκων στερείται ΠΚ, ενώ αντίθετα οι σύμμετρες διαιρέσεις των ΜΚ δεν επηρεάζονται. Τα παραπάνω δεδομένα υποστηρίζουν ότι η καταλυτική δραστηριότητα της PI3K έχει πρωταρχικό ρόλο στη μεταγωγή των ερεθισμάτων που επάγουν την ασύμμετρη διαίρεση, η οποία δίδει γένεση στα ΠΚ των στοματικών συμπλόκων του φυτού *Zea mays*.

IMPLICATION OF PI-3 KINASE IN THE ASYMMETRIC DIVISIONS GENERATING THE SUBSIDIARY CELLS IN ZEA MAYS STOMATAL COMPLEXES

Livanos Pantelis, Galatis Basil, Apostolakos Panagiotis

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

In grasses, the formation of subsidiary cells (SC) of stomatal complexes is the outcome of asymmetric divisions of the subsidiary mother cell (SMC). This division is triggered by an induction stimulus emitted by the guard cell mother cell (GMC) and generates a SC and a typical epidermal cell. In SMCs, the polarization sequence includes the polar migration of nucleus to the adjacent GMCs, the formation of an unusual pre-prophase microtubule band, a distinct actin-filament patch at the polar end and the assembly of an asymmetric prophase spindle. It was recently found that phospholipases C and D are implicated in transduction of the stimuli that establish polarity and induce the asymmetric division of the SMC (Apostolakos et al., 2008; Cell Motil Cytoskel 65:863-75). The 3-kinase of phosphatidyl-inositol biphosphate (PI3K) is involved in phosphoinositide metabolism and concurrently actively participates in polarization establishment in several plant developmental processes (Lee et al., 2008; Plant Physiol 147:624-35). In the present study, the involvement of PI3K in the generation of SCs was examined. Zea mays seedlings were treated with LY294002, a substance that specifically inhibits the catalytic activity of PI3K. Afterwards, microscopic examination of fresh material, as well as microtubule immunolocalization and actin staining were carried out. In treated leaves, the polar migration of the SMC's nucleus was inhibited, whereas the affected SMCs were devoid of preprophase bands. Besides, the actin cytoskeleton was affected and the actin patch seemed disturbed. As a result a significant number of stomatal complexes lacked SCs. Unlike asymmetric divisions, the symmetric ones in GMCs were not affected. These data collectively support the hypothesis that the catalytic activity of PI3K is critical for the transduction of stimuli that induce the premitotic polarization of SMCs and the SC generation in developing stomatal complexes of Zea mays.

Η ΑΠΟΣΙΩΠΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ HNF4α ΑΥΞΑΝΕΙ ΤΟΝ ΟΓΚΟΓΟΝΙΚΟ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟ ΣΕ ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΕΣ HEPG2 ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ

Λιούλια Ελισάβετ¹, Βαλλιάνου Ιωάννα¹, Ντίνα Όλγα-Μαρία¹, Χυτίρογλου Πρόδρομος², Πουταχίδης Θεόφιλος³, Χατζοπούλου-Κλαδαρά Μαργαρίτα¹, Ντάφου Δήμητρα¹

1/Εργαστήριο Βιολογίας Ανάπτυξης, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 2/Εργαστήριο Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, Τομέας Ανατομικής και Παθολογικής Ανατομικής, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 3/Εργαστήριο Παθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Το ηπατοκαρκίνωμα (ΗΚΚ) συνιστά την 3η συχνότερη αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως. Κύριοι παράγοντες κινδύνου αποτελούν η χρόνια ηπατίτιδα (HBV/HCV), το αλκοόλ, οι αφλατοξίνες, οδηγώντας σε κίρρωση του ήπατος και στη συνέχεια σε ΗΚΚ. Η απορρύθμιση του μοριακού δικτύου HNF4α-miR24, διαδραματίζει σημαίνοντα ρόλο στο μηχανισμό της ηπατοκαρκινογένεσης. Για την περαιτέρω διερεύνηση του ρόλου του HNF4α στον καρκίνο του ήπατος, δημιουργήθηκαν HepG2 μονοκλωνικές κυτταρικές σειρές, διαφορετικών επιπέδων σταθερής καταστολής του HNF4α, με τη μέθοδο της λεντι-ϊκής μόλυνσης. Τα κύτταρα αναπτύχθηκαν ως πολυκυτταρικά σφαιροειδή σε αιώρημα, τα οποία μιμούνται *in vitro* χαρακτηριστικά του 3D μικροπεριβάλλοντος του ιστού, αντιγράφοντας την αρχιτεκτονική και ομοιοστάση του ιστού. Επιλέχθηκαν κλώνοι με χαμηλή, ενδιάμεση και υψηλή καταστολή του HNF4α, μετά από ανάλυση της έκφρασης του HNF4α, σε επίπεδο RNA (Real-Time PCR) και σε πρωτεϊνικό επίπεδο (Western). Σε κλώνους με αυξημένη γονιδιακή αποσιώπηση του HNF4α, μελετήθηκε: το μέγεθος των 3D σφαιροειδών, το κυτταρικό περιεχόμενο με ανοσοϊστοχημικές χρώσεις πρωτεϊνικών δεικτών (α-fetoprotein, HEPAR1), η βιωσιμότητα και απόπτωση των κυττάρων (Ki67), καθώς και οι αλλαγές στην ικανότητα διήθησης και μετάστασης (Scratch Assay, Anchorage Independence Growth Assay). Τα αποτελέσματα έδειξαν συσχέτιση της αύξησης του ογκογονικού φαινοτύπου με τη μείωση των επιπέδων έκφρασης του HNF4α. Τα παραπάνω κυτταρικά μοντέλα θέτουν τις βάσεις για την καλύτερη κατανόηση των βασικών βιολογικών μηχανισμών, που απορρυθμίζονται κατά τη διάρκεια της ηπατικής καρκινογένεσης. Η παρούσα έρευνα ευελπιστεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη νέων στοχευμένων και αποτελεσματικών θεραπευτικών μεθόδων για την καταπολέμηση του καρκίνου του ήπατος.

HNF4 α TRANSCRIPTION FACTOR SILENCING INCREASES ONCOGENIC PHENOTYPE IN 3D HEPG2 HEPATIC CELL LINES

Lioulia Elisavet¹, Vallianou Ioanna¹, Ntina Olga-Maria¹, Hytioglou Prodromos², Poutahidis Theofilos³, Hadzopoulou-Cladaras Margarita¹, Dafou Dimitra¹

1/Laboratory of Developmental Biology, Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54 124, Greece - 2/Laboratory of Pathology and Anatomy, Department of Anatomy and Pathology, AHEPA Hospital, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54 124, Greece - 3/Laboratory of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, 54 124 Thessaloniki, Greece

Hepatocellular Carcinoma (HCC) represents the third most common cancer in mortality worldwide. Main risk factors are: chronic hepatitis (HCV/HBV), alcohol consumption, aflatoxins, leading to liver cirrhosis and HCC. The deregulation of the molecular signaling network of HNF4 α -miR24, plays an important role in the mechanism of hepatocarcinogenesis. To further elucidate the role of HNF4 α in liver cancer, we established HepG2 monoclonal cell lines with different expression levels of stable HNF4 α knock down (KD) using lentiviral transduction methods. HNF4 α _KD cells were cultured as multicellular spheroids, which recapitulate the 3 Dimensional (3D) tissue microenvironment in vitro. Clones were selected with low, intermediate and high levels of HNF4 α , following analysis of HNF4 α expression levels in RNA (Real-Time qPCR) and protein (Western). Clones with high levels of HNF4 α _KD were further analyzed for: size of 3D spheroids, cellular context by immunohistochemistry for hepatic protein markers (α -fetoprotein, HEPAR1), viability and apoptosis (Ki67), and changes in migratory and metastatic ability (Scratch Assay, Anchorage Independence Growth Assay). It was observed that reduced levels of expression of HNF4 α correlate with increased oncogenic phenotype. The described cellular models form the basis for better understanding of the basic mechanisms deregulated during hepatic carcinogenesis. This study will also aid the development of novel and efficient therapeutic targets against liver cancer.

ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΛΗΠΤΟΕΙΔΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΚΥΚΛΩΜΑ MEC-CA3 IN VITRO ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΜΙΑ ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΗ ΕΠΙΛΗΠΤΙΚΗ ΚΡΙΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΠΤΥΞΗ

Διοσγάρας Χρήστος, Ψαρροπούλου Αικατερίνη

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπων, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα

Μια γενικευμένη επιληπτική κρίση κατά την διάρκεια της ανάπτυξης σχετίζεται με μακροπρόθεσμες νευροβιολογικές αλλαγές. Το κύκλωμα ιππόκαμπος-μέσος ενδορρινικός φλοιός (mEC) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε διανοητικές λειτουργίες αλλά και στην διάδοση επιληπτοειδών εκφορτίσεων. Διερευνήθηκαν τα χαρακτηριστικά επιληπτοειδών εκφορτίσεων στο μοντέλο της 4-αμινοπυριδίνης σε συνδυασμένες τομές ιπποκάμπου-mEC προερχόμενες από φυσιολογικά (N) και ‘‘επιληπτικά’’ (SE) πειραματόζωα. Μια γενικευμένη και παρατεταμένη επιληπτική κρίση νωρίς κατά την ανάπτυξη προκλήθηκε με ενδοπεριτονιακή ένεση 60-70 mg/kg πεντυλενετετραζόλης και έπειτα τα ζώα αφέθηκαν να ωριμάσουν. Συνδυασμένες εγκεφαλικές τομές ιπποκάμπου-mEC παρασκευάστηκαν κατά την P60 ή αργότερα και αυθόρμητα δυναμικά πεδίου κατεγράφησαν ταυτόχρονα από την πυραμδική στοιβάδα της CA3 και τις στοιβάδες V-VI του mEC. Προκειμένου να αποκλειστούν συγκεκριμένα νευρωνικά μονοπάτια πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές τομές στο ιστικό παρασκεύασμα (τομή στις ίνες Schaffer και στο ύψος του παρα-υποθέματος). Παρατηρήθηκαν 2 τύποι μεσοκρισιακού-τύπου δραστηριότητας (IEDs) στην CA3 στις φυσιολογικές εγκεφαλικές τομές (n=11): σύντομες IEDs (364 ± 34 ms) και σχετιζόμενες με ένα αργό δυναμικό, αργές IEDs (978 ± 50 ms). Στον mEC, οι εκφορτίσεις χαρακτηρίζονταν από ένα αρνητικό πεδίο διάρκειας 1100 ± 186 ms. Δεν παρατηρήθηκε καμία χρονική σύμπτωση μεταξύ των διαφορετικού τύπου εκφορτίσεων ανάμεσα στις 2 περιοχές καταγραφής. Η συχνότητα και διάρκεια των εκφορτίσεων δεν μεταβλήθηκαν έπειτα από την σταδιακή απομόνωση των 2 περιοχών. Μόνο ο σύντομος τύπος μεσοκρισιακής εκφόρτισης παρατηρήθηκε στην CA3 περιοχή των τομών από SE πειραματόζωα (n=7). Συμπλέγματα εκφορτίσεων που περιελάμβαναν και ταλαντώσεις πεδίου κατεγράφησαν από τον mEC μόνο των φυσιολογικών τομών (n=5/11 N, n=0/7 SE). Συμπερασματικά, ένας διαφορετικός μηχανισμός συγχρονισμού φαίνεται να ενέχεται στην μεταγωγή πληροφοριών στο κύκλωμα ιππόκαμπος-mEC στον ώριμο εγκέφαλο έπειτα από SE νωρίς κατά την ανάπτυξη. Η απουσία συμπλεγμάτων εκφορτίσεων στις τομές SE μπορεί να αποτελεί ένα είδος προσαρμοστικού μηχανισμού.

ALTERED EPILEPTIFORM PATTERN ACTIVITY IN THE MEC-CA3 CIRCUITRY IN VITRO FOLLOWING IMMATURE SE

Lisgaras Christos, Psarropoulou Caterina

Lab. of Animal & Human Physiology, Dept. of Biological Applications & Technology, Faculty of Health Sciences, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece

A SE-like seizure in juvenile rats is associated with neurobiological changes in adulthood. The hippocampus-medial entorhinal cortex (mEC) network plays a crucial role in cognitive processes and in epileptiform discharge generation. We therefore investigated the features of 50 μ M 4-aminopyridine-induced synchronous discharges, in combined temporal hippocampal-mEC slices from adult control (N) and SE animals. A SE-like seizure was provoked at P20 by 60-70mg/kg pentylenetetrazole i.p. injection, after which animals were allowed to mature. Combined hippocampal-mEC slices were prepared at P60 or later and spontaneous field potentials were recorded simultaneously from CA3 pyramidal and V-VI mEC layers. Successive incisions (Schaffer collateral cut, Parasubiculum cut) were performed in order to abolish specific network connections. In N slices (n=11) we observed 2 types of IEDs in CA3 area, i) short-lasting IEDs (364 $\pm$ 34ms) and ii) long-lasting IEDs associated with a negative wave (978 $\pm$ 50ms). In mEC slow negative-going discharges (1100 $\pm$ 186ms) often accompanied by several spikes were recorded. The features of all discharges remained stable after the successive cuts and we did not detect any pattern of coincidence of the various discharge types between areas. In CA3 area of SE slices (n=7) only the short-lasting IEDs were observed. Also, clusters of discharges forming seizure-like events with low-amplitude oscillatory activity within them were recorded in mEC of N (n=5/11) but not of SE (n=0/7) slices. It appears that different synchronization modalities control the processing of information in the mEC-CA3 loop in adult hippocampus after a SE-like seizure during development. The absence of clusters in SE may represent an adaptive effect.

**ΕΝΑ ΠΕΠΤΙΔΙΟ-ΑΝΑΛΟΓΟ ΤΟΥ ΑΜΙΝΟΤΕΛΙΚΟΥ ΑΚΡΟΥ ΤΗΣ
ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ Α-I (ΑΡΟ Α-I) ΜΕ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΕΣ
ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΟΝΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ**

**Λούρος, Νικόλαος Ν., Τσιολάκη, Παρασκευή Α., Παπανδρέου, Νικόλαος Χ.,
Οικονομίδου, Βασιλική Α., Χαμόδρακας, Σταύρος Ι.**

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

Η ανθρώπινη απολιποπρωτεΐνη Α-I (ΑpoA-I) είναι μια μη-γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη που αποτελείται από 243 αμινοξικά κατάλοιπα. Εκκρίνεται από τα κύτταρα του λεπτού εντέρου και από τα ηπατικά κύτταρα. Εμφανίζεται είτε ελεύθερη, είτε προσδεσμένη σε λιπίδια. Αποτελεί την βασική συνιστώσα των ώριμων HDL σωματιδίων και συμμετέχει, μεταξύ άλλων, στο αντίστροφο μονοπάτι καταβολισμού της χοληστερόλης. Μεταλλαγές της ΑpoA-I, που οδηγούν στην πρωτεόλυση του αμινοτελικού τμήματος της πρωτεΐνης (1-93), συσχετίζονται με κληρονομικές αμυλοειδώσεις, υπεύθυνες για την δημιουργία νευροπαθειών, νεφροπαθειών, ηπατοπαθειών και καρδιοπαθειών. Ωστόσο, η φυσικού τύπου ΑpoA-I έχει επίσης συσχετιστεί με μια μη-κληρονομική αμυλοείδωση. Συγκεκριμένα, συμμετέχει στον σχηματισμό αμυλοειδών εναποθέσεων στις αθηρωματικές πλάκες κατά την αρτηριοσκλήρωση. Με χρήση του εργαλείου μας AMYLPRED, ενός συναινετικού αλγορίθμου πρόγνωσης πρωτεϊνικών περιοχών επιρρεπών προς συσσώματωση, προγνώστηκε ένα πεπτίδιο του αμινοτελικού τμήματος 1-93 της ΑpoA-I, ως επιρρεπές προς συσσώματωση. Το πεπτίδιο αυτό συντέθηκε χημικά και μελετήθηκε πειραματικά με την χρήση βιοφυσικών μεθόδων. Τα πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι το πεπτίδιο αυτοσυγκροτείται, δημιουργώντας ινίδια που εμφανίζουν τα βασικά χαρακτηριστικά αμυλοειδών ινιδίων. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν πως η αμυλοειδογόνος αυτή περιοχή πιθανότατα παίζει ιδιαίτερα ενεργό ρόλο στον σχηματισμό των αμυλοειδών εναποθέσεων της ΑpoA-I που δημιουργούνται κατά την αθηροσκλήρωση ή τις κληρονομικές αμυλοειδώσεις. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης - ΕΤΠΑ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος 'Ανταγωνιστικότητα & Επιχειρηματικότητα' του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) (Κωδικός Έργου 11ΣΥΝ-1-1230).

IDENTIFICATION OF AN AMYLOID FORMING PEPTIDE OF THE APOLIPOPROTEIN A-I (APO A-I) N-TERMINAL SEGMENT, RELATED TO APO A-I AMYLOIDOSES

Louros, Nikolaos N., Tsiolaki, Paraskevi L., Papandreou, Nikolaos C., Iconomidou, Vassiliki A., Hamodrakas, Stavros J.

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

Human ApoA-I is a 243-amino acid non-glycosylated protein, secreted by the liver and the small intestine. In solution, it appears either in a lipid-bound or a lipid-free state. It is the major component of mature HDL particles, promoting efflux of cholesterol and phospholipids from cell membranes back to the liver for catabolism. ApoA-I naturally occurring mutants have been implicated with familial amyloidoses. A proteolytic fragment of these variants, which consists of the first 1-93 residues, has been found within amyloid plaques causing neuropathy, nephropathy, hepatopathy or cardiomyopathy. However, wild-type ApoA-I is also associated with a non-hereditary amyloidosis. Specifically, it produces amyloid deposits, commonly located within atherosclerotic plaques, as a consequence of the pre-inflammatory microenvironment associated to atherogenesis. A segment presenting high aggregation potency, of the ApoA-I N-terminal (1-93) was predicted by AMYLPRED, our consensus aggregation propensity prediction algorithm and was subsequently synthesized and studied experimentally. We present experimental evidence revealing that the predicted, potentially “aggregation-prone” peptide-analogue folds and self-assembles into fibrils, exhibiting characteristic amyloidogenic properties. Our results directly implicate this amyloidogenic peptide segment, located at the N-terminal of the protein, with the formation of amyloid deposits formed in either atherosclerosis or the several ApoA-I associated familial amyloidoses. This research has been 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) (Project code 11SYN-1-1230).

ΜΟΡΙΑΚΗ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ ΣΤΙΣ ΑΛΠΙΚΕΣ ΛΙΜΝΕΣ ΤΗΣ ΗΠΕΙΡΟΥ

Λύτη Ελεόνα², Σαΐνης Ιωάννης¹, Τούκα Αναστασία¹, Μονοκρούσος Νικόλαος², Χάλλευ
Τζων²

*1/Διεπιστημονικό Εργαστήριο Μοριακής Ογκολογίας, Βιοτράπεζα Καρκίνου,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110 - 2/ Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και
Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110*

Οι αλπικές λίμνες αποτελούν οικοσυστήματα υψηλού ερευνητικού ενδιαφέροντος, διότι είναι γεωγραφικά απομονωμένα περιβάλλοντα. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να διαπιστώσουμε μια πιθανή ομοιότητα μεταξύ των κυανοβακτηριακών κοινοτήτων στις αλπικές λίμνες της Ηπείρου, της δρακόλιμνης του Σμόλικα, της Βερλίγκας και της Γκιστόβα, με τη μέθοδο της μοριακής χαρτογράφησης και σύγκριση αυτών με την λίμνη Οχρίδα, την πιο αρχαία λίμνη των Βαλκανίων, προκειμένου να διαπιστώσουμε μια πιθανή ομοιότητα των κυανοβακτηριακών κοινοτήτων. Το σύνολο των φυσικοχημικών παραμέτρων έδειξε πλήρη διαφοροποίηση της λίμνης Οχρίδας από τις αλπικές λίμνες, καθώς επίσης και των αλπικών λιμνών μεταξύ τους, με μεγαλύτερες διαφορές ανάμεσα στη λίμνη Βερλίγκα και του Σμόλικα, ενώ η λίμνη Γκιστόβα έχει ενδιάμεσα χαρακτηριστικά. Για την εκτίμηση της βιοποικιλότητας των κυανοβακτηρίων εφαρμόστηκε ηλεκτροφόρηση σε διαβάθμιση συγκέντρωσης αποδιατακτικών παραγόντων (DGGE) για το ενδιάμεσο μεταγραφόμενο διάστημα (Internal Transcribed Spacer ITS). Με βάση τη μελέτη της παρουσίας ή απουσίας ζωνών, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπάρχει πολύ χαμηλή ομοιότητα στη σύνθεση των κυανοβακτηρίων μεταξύ όλων των λιμνών. Ειδικότερα για τις αλπικές λίμνες, τα ποσοστά ομοιότητας ήταν σχεδόν μηδενικά για τη λίμνη Βερλίγκα και τη λίμνη του Σμόλικα. Τέλος, τα αποτελέσματα από τη μοριακή χαρτογράφηση οκτώ κυανοβακτηριακών στελεχών της λίμνης Γκιστόβα, έδειξαν ότι η κυανοβακτηριακή κοινότητα της συγκεκριμένης λίμνης είναι ιδιαίτερη, καθώς τα στελέχη που βρέθηκαν δεν αντιστοιχούν με κανένα άλλο γνωστό κατατεθειμένο στέλεχος στις βάσεις δεδομένων της GenBank.

ASSESSING THE SIMILARITY OF CYANOBACTERIAL COMMUNITIES IN ALPINE LAKES OF EPIRUS USING MOLECULAR MAPPING

Liti Eleona², Sainis Ioannis¹, Tuka Anastasia¹, Monokrousos Nikolaos², Halley John²

1/Interscience Molecular Oncology Laboratory, Human Cancer Biobank Center, University of Ioannina, 45110 Ioannina -2/ Department of Biological Applications and Technology, University of Ioannina, 45110 Ioannina

Alpine lakes represent an ecosystem of great research interest, due to their high levels of isolation. The main goal of this study was to determine the resemblance among the cyanobacterial communities in these lakes in Epirus (specifically lakes Gistova, Verlīga and the lake of Smolikas) and their resemblance with those of Lake Ohrid, the most ancient lake in the Balkans, using the method of molecular mapping. The results of the physicochemical data, showed that Lake Ohrid is totally different from all the alpine lakes. Results also showed that the alpine lakes are different among themselves, with the greatest differences between Lake Verlīga and the lake of Smolikas with Lake Gistova somewhere in the middle. For the evaluation of the cyanobacterial community in these lakes, a Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) was applied for the Internal Transcribed Spacer (ITS) region. The data extracted from the photo of DGGE electrophoresis showed that there is a low resemblance of cyanobacterial communities among all lakes. Specifically for alpine lakes, the rate of resemblance is almost zero for Lake Verlīga and lake of Smolikas. Finally, the results of the molecular mapping of eight cyanobacterial strains in Lake Gistova, showed that the cyanobacterial community of Lake Gistova must be considered as a unique one, due to the fact that, all of the cyanobacterial strains found there showed very low levels of identity with other cyanobacterial strains, deposited in database of GenBank.

ΟΙ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΣΥΝΔΕΣΜΟΙ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ, ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΟΙ ΑΠΟ ΚΑΔΕΡΙΝΗ, ΡΥΘΜΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΠΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Μαλταμπέ Α.Βιολέττα^{1,2}, Μελιδώνη Άννα³, Κούκλης Παναγιώτης^{1,2}

*1/Εργαστήριο Βιολογίας Ιατρική Σχολή Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Δουρούτη 45110 2/
Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Παράρτημα Βιοιατρικής, FORTH-
ITE, Δουρούτη 45110 3/ Hopkins Building Department of Biochemistry Downing site Cambridge
CB2 1QW*

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων με τα καρδιομυοκύτταρα, είναι απαραίτητες για την επιβίωση, την ανάπτυξη καθώς και για την τελική διαφοροποίηση των καρδιομυοκυττάρων. Ωστόσο, οι λειτουργικές αυτές αλληλεπιδράσεις κατά την πρώιμη ιστοική εξειδίκευση των καρδιομυοκυττάρων δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Για να προσδιορίσουμε τις αλληλεπιδράσεις ενδοθηλιακών και καρδιακών προγονικών κυττάρων χρησιμοποιήσαμε ως μοντέλο της εμβρυογένεσης, τη διαφοροποίηση Εμβρυονικών Βλαστικών κυττάρων (ESCs) in vitro μέσω σχηματισμού εμβρυοϊδών σωματιδίων (EBs). Παρατηρήσαμε ότι, κάτω από την παρουσία αυξητικών παραγόντων που προάγουν το σχηματισμό ενδοθηλίου η διαφοροποίηση προς καρδιακούς τύπους κυττάρων είναι επίσης υψηλής αποδοτικότητας. Αυτό φαίνεται από το αυξημένο ποσοστό των EBs που σχηματίζουν καρδιομυοκύτταρα τα οποία συσπώνται καθώς επίσης και από το υψηλό αριθμό καρδιακών προγονικών κυττάρων στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι οι δύο αυτοί κυτταρικοί τύποι βρίσκονται σε στενή γειτνίαση κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης. Στη συνέχεια μελετήσαμε αν θα επηρεαστεί η διαφοροποίηση των καρδιομυοκυττάρων στην απουσία ενδοθηλίου. Για να επιτευχθεί αυτό, εκφράστηκε μια αρνητικά επικρατούσα μεταλλαγμένη μορφή Καδερίνης (ΔNEXD-VEC), η οποία διαρρηγνύει όλους τους συνδέσμους προσκόλλησης, υπό τον ιστοειδικό έλεγχο του υποκινητή της VE-Cadherin (PVec). Η έκφραση του ΔNEXD-VEC προκαλεί την καταστροφή των συνδέσεων μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά και γενικότερα την απώλεια των ενδοθηλιακών δομών. Επίσης παρατηρήθηκε ότι στα μεταλλαγμένα EBs η διαφοροποίηση προς καρδιακούς κυτταρικούς τύπους επηρεάζεται αρνητικά κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης. Συγκεκριμένα απουσιάζουν EBs που συσπώνται γεγονός το οποίο πηγάζει από τη χαμηλή παραγωγή τόσο των προγονικών όσο και των ώριμων καρδιακών κυττάρων. Φαίνεται ότι οι δομές κυτταρικής προσκόλλησης είναι απαραίτητες για την εξειδίκευση κυττάρων-προβαθμίδων του μεσοδέρματος.

CADHERIN-DEPENDENT ADHESION REGULATES CARDIAC PROGENITOR CELLS DIFFERENTIATION

Maltabe A .Violet ^{1,2}, Melidoni Anna ³, Kouklis Panos ^{1,2}

*Laboratory of Biology, School of Medicine University of Ioannina, Dourouti 45110 2/ The Institute
of Molecular Biology and Biotechnology, Biomedical Division, FORTH-ITE Dourouti 45110
Ioannina Greece 3/Hopkins Building Department of Biochemistry Downing site Cambridge CB2
1QW*

During development endothelial-cardiomyocyte interaction is essential for the survival, growth and contractile activity of cardiomyocytes. However, little is known about the specific nature of the functional interaction between endothelium and cardiomyocytes. In order to identify functional interactions between these lineages we used the differentiation of embryonic stem (ES) cells through embryoid bodies (EBs) formation in the presence of appropriate growth factors. We demonstrate that cardiac differentiation was very efficient reflected in the high potential of EBs to give rise to beating cardiomyocytes (88%), as well in the high percentage of cardiac progenitor cells appearing during the early differentiation stages. Endothelial and cardiac cell lineages are in close proximity at all stages of their development. We tested whether cardiomyocyte differentiation was affected under conditions that perturbed vascular formation and organization. We achieved this by expressing a Vascular Endothelial (VE-) Cadherin mutant, lacking the extracellular domain (Δ NEXD-VEC), under the control of the promoter of VE-Cadherin (Pvec). We demonstrate that expression of Δ NEXD-VEC under the control of Pvec causes not only impairment of endothelial cell assembly and lack of vascular structure formation in EBs, but also has an inhibitory effect on cardiomyocyte differentiation. Mutant EBs show a striking loss of beating phenotype and this effect appears to be the result of a substantial deficiency in the formation of cardiac progenitors of both heart fields, such as *Isl1* and *Nkx2.5*.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ Α ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ CRZΑ ΣΤΟΝ *Aspergillus nidulans*

Μανώλη Μαρία - Τ., Espeso A. Eduardo

*Τομέας Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας, Κέντρο Βιολογικών Επιστημών, CSIC,
Ramiro de Maeztu, 9 Μαδρίτη, 28040, Ισπανία*

Επιβίωση του νηματώδους μύκητα *Aspergillus nidulans* σε διάφορα περιβαλλοντικά στρες εξαρτάται από τους αποτελεσματικούς μηχανισμούς σηματοδότησης και μεταγραφικής απόκρισης. Ο CrzA (calcineurin responsive zing finger) είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας δομής δακτύλων ψευδαργύρου που απαιτείται για την ανοχή υψηλών συγκεντρώσεων ασβεστίου και αλκαλινοποίησης περιβάλλοντος μέσου. Η φωσφορυλίωση αποτελεί έναν από τους κύριους μηχανισμούς μετα-μεταφραστικής τροποποίησης του CrzA, ρυθμίζοντας πιθανώς την ενεργότητα και κυτταρική του διανομή. Η φωσφατάση καλσινευρίνη αποφωσφορυλιώνει τον CrzA ως απόκριση σε αυτά τα ερεθίσματα και η ενεργότητα της απαιτείται για την υπό στρες πυρηνική μεταφορά του μεταγραφικού αυτού παράγοντα. Αντιθέτως, έχειδειχθεί ότι ορισμένες κινάσες τροποποιούν τον CrzA, ανάμεσα στις οποίες θα μελετηθεί ο ρόλος του κυκλικού cAMP/πρωτεϊνικής κινάσης Α (PkaA στον *A. nidulans*). Με ακριβή γονιδιακή αντικατάσταση κατασκευάστηκε μετάλλαγμα στο οποίο απουσιάζει το γονίδιο της PKA (Δ pkaA) και με ανάλυση Western ακολούθησε μελέτη των επιπέδων φωσφορυλίωσης του CrzA. Από τα αποτελέσματα μας φαίνεται ότι η ενεργότητα της PkaA δεν απαιτείται για ανοχή στο ασβέστιο ή στο αλκαλικό στρες, παρόλα αυτά, επηρεάστηκε σημαντικά η βλαστική ανάπτυξη του μύκητα. Η διακίνηση μεταξύ πυρήνα κυτταροπλάσματος στο μετάλλαγμα Δ pkaA είναι παρόμοια με την παρατηρούμενη στο φυσικό τύπο. Στο Δ pkaA η μετα-μεταφραστική τροποποίηση του CrzA είναι τροποποιημένη ενώ εντοπίστηκαν μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ακόμα και απουσία κυτταρικού στρες. Σε συμφωνία με προηγουμένως δημοσιευμένα αποτελέσματα, τα δεδομένα αυτά ενισχύουν τη μη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων φωσφορυλίωσης και κυτταρικής διανομής του CrzA σε αυτό το μύκητα. Τελικά, προτείνουμε ότι ο PkaA παίζει θετικό ρόλο στη σηματοδότηση του CrzA υπό στρες οφειλόμενο σε μεταβαλλόμενες συγκεντρώσεις ασβεστίου ή αλκαλινοποίησης του περιβάλλοντος μέσου.

ROLE OF PROTEIN KINASE A IN THE SIGNALLING OF THE CALCINEURIN RESPONSIVE TRANSCRIPTION FACTOR CRZA IN *Aspergillus nidulans*

Manoli M.T., Espeso A. E.

*Department of Cellular and Molecular Biology, Centro Investigaciones Biológicas, CSIC, Ramiro
de Maeztu, 9, Madrid, 28040, Spain*

Survival of the filamentous fungus *Aspergillus nidulans* under different environmental stresses depends on effective mechanisms for signal transduction and transcriptional response. CrzA is a zinc-finger transcription factor required for tolerance to elevated concentrations of calcium and to alkaline ambient pH. Phosphorylation is a major mechanism for posttranslational modification of CrzA, and predictably regulates activity and cellular distribution of this transcription factor. Calcineurin phosphatase dephosphorylates CrzA in response to these stimuli and its activity is required for nuclear transport under stress. Opposed to this activity several kinases have been demonstrated or envisaged to modify CrzA. Among these kinases here we study the role of cAMP/protein kinase A (PkaA in *A. nidulans*). A null pkaA mutant was generated by precise gene replacement and phosphorylation levels of CrzA were studied by Western blotting using a GFP-tagged version of this transcription factor. Our results show that PkaA activity is not required for tolerance to calcium or alkaline stress, although, as expected, vegetative growth is severely affected. Nucleocytoplasmic trafficking of CrzA in the mutant pkaA background is similar to that observed in a wild type. In Δ pkaA the posttranslational modification of CrzA is altered and highly posttranslationally modified forms were detected even in the absence of stress. In agreement with previous published results, these data reinforces the absence of correlation between phosphorylation levels and cellular distribution of CrzA in this fungus. Finally, we propose a positive role of PkaA on CrzA signaling under mild calcium stress or alkalinity.

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ ΠΡΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

Μαργιολάκη Α¹, Κατσούρα Μ¹, Παπαδοπούλου Α¹, Πατήλα Μ¹, Χατζηκωνσταντίνου Α^{1,2}, Πολύδερα Α¹, Καταπόδης Π¹, Σταμάτης Χ^{1,2}

1Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Τμ. Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110/ 2Τομέας Οργανικής Χημείας & Βιοχημείας, Τμ. Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110

Η υδροξυτυροσώλη αποτελεί μία φαινολική ένωση με ποικίλες βιολογικές δράσεις, όπως αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιϊκές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές. Η ένωση αυτή περιέχεται σε υγρά απόβλητα ελαιουργείων (ΥΑΕ), αυτούσια ή συζευγμένη με άλλα βιοδραστικά συστατικά σε ενώσεις, όπως η ελευρωπαΐνη. Σκοπό της παρούσας μελέτης αποτελεί η ανάπτυξη νέων βιοδιεργασιών για την παραγωγή υδροξυτυροσώλης και παραγώγων αυτής από φαινολικά συστατικά που περιέχονται σε μεγάλο ποσοστό σε ΥΑΕ. Οι βιομετατροπές στηρίζονται στη χρήση βιοκαταλυτών διαφόρων κατηγοριών, όπως οξειδάσες και υδρολάσες. Ως μέσα για την πραγματοποίηση των βιοκαταλυτικών αντιδράσεων χρησιμοποιούνται ιοντικοί διαλύτες καθώς και υδατικά διαλύματα με διαφορετικές περιεκτικότητες ιοντικών διαλυτών. Οι ιοντικοί διαλύτες περιλαμβάνουν ιοντικά υγρά (ΙΥ, άλατα που παραμένουν υγρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος) 2ης και 3ης γενιάς καθώς και ευτηκτικά υγρά (DES, φυσικά μίγματα αλάτων και μη φορτισμένων δοτών δεσμών υδρογόνου). Τα νέα αυτά μη συμβατικά μέσα παρουσιάζουν ποικίλα πλεονεκτήματα έναντι των κλασικών οργανικών διαλυτών, όπως χαμηλή τάση ατμών, χαμηλή τοξικότητα, δυνατότητα τροποποίησης των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους ανάλογα με την ιοντική τους σύσταση. Ειδικά τα ΙΥ 3ης γενιάς και τα DES αποτελούνται από φτηνές και βιοαποικοδομήσιμες πρώτες ύλες και θεωρούνται περιβαλλοντικά φιλικοί διαλύτες [1]. Οι σύγχρονες απαιτήσεις των βιοδιεργασιών, και ειδικά αυτών που λαμβάνουν χώρα σε μη συμβατικά μέσα, περιλαμβάνουν την ανάπτυξη μεθοδολογιών για την ακινητοποίηση των βιοκαταλυτών. Η ακινητοποίηση επιτρέπει την επαναχρησιμοποίηση των βιοκαταλυτών, διευκολύνει τη διαδικασία απομόνωσης των τελικών προϊόντων και μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση της σταθερότητας τους. Στη παρούσα μελέτη παρασκευάστηκαν διασυνδεδεμένα ενζυμικά συσσωματώματα (CLEAs) και μελετήθηκε η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης καθώς και η σταθερότητά τους παρουσία ιοντικών διαλυτών. Η ανάπτυξη μίας αποτελεσματικής βιοδιεργασίας αξιοποίησης των φαινολικών συστατικών των ΥΑΕ προς παραγωγή υψηλής προστιθέμενης αξίας βιοδραστικών προϊόντων, μπορεί να συμβάλλει στην ανεύρεση μίας ολοκληρωμένης λύσης στο πρόβλημα της διαχείρισης των αποβλήτων. [1] Athena A Papadopoulou, Maria H Katsoura, Alexandra Chatzikonstantinou, Eleni Kyriakou, Angeliki C Polydera, Andreas G Tzakos, Haralambos Stamatis. Enzymatic hybridization of α -lipoic acid with bioactive compounds in ionic solvents. *Bioresource Technology*, 2013; 136, 41-48.

BIOCATALYTIC SYNTHESIS OF HYDROXYTYROSOL AND ITS DERIVETIVES FOR THE VALORIZATION OF OLIVE-MILL WASTEWATER

Margiolaki A¹, Katsoura M¹, Papadopoulou A¹, Patila M¹, Chatzikonstantinou A^{1,2}, Polydera A¹, Katapodis P¹, Stamatis H¹,

¹Laboratory of Biotechnology, Dep. of Biological Applications & Technologies, University of Ioannina 45110, Greece /²Section of Organic Chemistry and Biochemistry, Dep. of Chemistry, University of Ioannina, Ioannina 45110, Greece

Hydroxytyrosol is a phenolic compound with various biological activities, such as antioxidant, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, anticancer properties. This compound is found in olive-mill wastewater (OMW) either in a free or in conjugated forms with other bioactive compounds in molecules, such as oleuropein. The aim of the present study is to develop novel bioprocesses for the production of hydroxytyrosol and its derivatives from main phenolic compounds of OMW. The developed bioprocesses are based on the utilization of various biocatalysts, oxidases and hydrolases. The reaction media employed are pure ionic solvents, as well as aqueous solutions with varying compositions of ionic solvents. The ionic solvents used are either 2nd and 3rd generation ionic liquids (ILs, salts that remain liquid in RT) or deep eutectic solvents (DES, physical mixtures of salts and uncharged hydrogen-bond donors). These novel non-conventional media present several advantages over organic solvents, such as low vapor pressure, low toxicity and the ability to fine-tune their physicochemical properties depending on their composition. Especially the 3rd generation ILs and DES comprise of cheap biodegradable compounds and they are considered environmentally friendly media [1]. Novel bioprocesses, and especially those developed in non-conventional media, demand the immobilization of biocatalysts. Enzyme immobilization enables the down-stream process and can improve biocatalyst stability. In the present study a methodology for the preparation of cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) was developed and their repeated use and stability in the presence of ionic solvents were studied. The development of a sustainable bioprocess for the exploitation of OMW for the production of high-added value phenolic antioxidants could contribute an alternative solution to the problem of treatment of OMW. [1] Athena A Papadopoulou, Maria H Katsoura, Alexandra Chatzikonstantinou, Eleni Kyriakou, Angeliki C Polydera, Andreas G Tzakos, Haralambos Stamatis. Enzymatic hybridization of α -lipoic acid with bioactive compounds in ionic solvents. *Bioresource Technology*, 2013; 136, 41-48.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ IN VITRO ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ENZYMOY NAT1 ΣΤΟ ΠΡΩΤΕΥΟΝ *Macaca mulatta* (RHESUS)

**Μαρινάκης Νικόλαος^{1*}, Γιαννουρή Δέσποινα^{1*}, Ρίζου Σοφία^{1*}, Τσίρκα Θεοδώρα¹,
Sabbagh Audrey², Μπουκουβάλα Σωτηρία¹, Φακής Γιαννούλης¹,
*Ισοδύναμη συμμετοχή στη μελέτη**

*1Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Αλεξανδρούπολη 2Institut de Recherche pour le Développement (IRP-UMR216), Université Paris
Descartes, France*

Οι N-ακετυλοτρανσφεράσες των αρυλαμινών (NAT) είναι πολυμορφικά ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό ξενοβιοτικών ουσιών (φάρμακα, καρκινογόνα). Στον άνθρωπο και στα υπόλοιπα πρωτεύοντα υπάρχουν δύο ενεργά ισοένζυμα, NAT1 και NAT2. Τα γονίδια NAT1 και NAT2 έχουν μελετηθεί ευρέως, καθώς οι πολυμορφισμοί τους μπορούν να επηρεάσουν τη φαρμακολογική απόκριση του οργανισμού και εμπλέκονται στη χημική καρκινογένεση. Ως εκ τούτου, παίζουν σημαντικό ρόλο σε φαρμακογενετικές και τοξικογενετικές έρευνες. Μελετήθηκαν οι μη-συνώνυμοι πολυμορφισμοί του ενζύμου NAT1 p.Gly51Ala, p.Met82Val, p.Phe175Leu, p.Asp115Tyr, p.Glu155Gln και p.Leu89Phe στο πρωτεύν Rhesus (*Macaca mulatta*, MACMU), από πληθυσμό 25 ατόμων. Πραγματοποιήθηκε αντίδραση σημειακής μεταλλαξιγένεσης με κατάλληλα σχεδιασμένους εκκινητές, σε κλωνοποιημένους φορείς έκφρασης pET28b που φέρουν την αλληλουχία αργίου τύπου (wt) του γονιδίου (MACMU)NAT1, προκειμένου να εισαχθούν οι επιθυμητοί πολυμορφισμοί. Βακτηριακά κύτταρα *E. coli* στελέχους BL21 (DE3plus) μετασχηματίστηκαν με ανασυνδυασμένα πλασμίδια και αναπτύχθηκαν σε καλλιέργειες. Η ύπαρξη της μεταλλαγής επιβεβαιώθηκε με αλληλούχηση. Ακολούθησε επαγωγή της έκφρασης των παραλλαγμάτων της πρωτεΐνης (MACMU)NAT1 με 1mM IPTG, καθαρισμός με χρωματογραφία συγγένειας και μέτρηση της ενζυμικής ενεργότητας με τη χρωματομετρική μέθοδο DTNB. Χρησιμοποιήθηκαν τα υποστρώματα p-αμινοβενζοϊκό οξύ, 5-αμινοσαλικυλικό οξύ (επιλεκτικά για NAT1), σουλφαμεθαζίνη (επιλεκτική για NAT2), καθώς και η p-ανισιδίνη. Όπως προκύπτει από την ενζυμική μελέτη, οι πολυμορφισμοί p.Gly51Ala, p.Met82Val, p.Phe175Leu και p.Asp115Tyr μειώνουν την ενζυμική ενεργότητα σε σχέση με το wt. Ο πολυμορφισμός p.Glu155Gln φαίνεται να μην έχει επίπτωση, ενώ ο p.Leu89Phe βρίσκεται υπό μελέτη. Ανάλυση με SDS-PAGE και ανοσοαποτύπωση (Western Blot) κατέδειξε ότι οι πολυμορφισμοί p.Gly51Ala, p.Met82Val, p.Phe175Leu και p.Asp115Tyr οδηγούν σε μείωση της σταθερότητας του ενζύμου (MACMU) NAT1, με αποτέλεσμα τη μείωση της ανιχνευόμενης ενζυμικής ενεργότητάς του.

FUNCTIONAL IN VITRO STUDY OF POLYMORPHISMS OF THE NAT1 ENZYME IN THE PRIMATE *Macaca mulatta* (RHESUS)

**Marinakos Nikolaos^{1*}, Giannouri Despoina^{1*}, Rizou Sophia^{1*}, Tsirka Theodora¹, Sabbagh
Audrey², Boukouvala Sotiria¹, Fakis Giannoulis¹, *Equal contribution**

*1Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace,
Alexandroupolis, Greece 2Institut de Recherche pour le Développement (IRP-UMR216), Université
Paris Descartes, France*

Arylamine N-acetyltransferases (NATs) are polymorphic enzymes involved in the metabolism of xenobiotics (such as drugs or carcinogens). Two functional isoenzymes, NAT1 and NAT2, are found in humans and other primates. The NAT1 and NAT2 genes and their polymorphisms have been extensively studied, as they can affect drug metabolism, while they are also involved in chemical carcinogenesis. Hence, they play a crucial role in toxicogenetic and pharmacogenetic research. We studied six non-synonymous polymorphisms of NAT1 enzyme (p.Gly51Ala, p.Met82Val, p.Phe175Leu, p.Asp115Tyr, p.Glu155Gln and p.Leu89Phe) originally found in a population of 25 Rhesus individuals (*Macaca mulatta*, MACMU). Using appropriately designed primers, we performed site-directed mutagenesis reactions, in order to insert each of the desired polymorphisms into the wild type (wt) sequence of the (MACMU)NAT1 gene. We transformed bacteria of the *E. coli* strain BL21 (DE3plus) with the six recombinant constructs (in pET28b plasmid). The presence of the mutation in the resulting colonies was confirmed by sequencing. We expressed the six (MACMU)NAT1 protein variants using 1mM IPTG for induction and purified the recombinant proteins by affinity chromatography. We measured the enzyme activity by the colorimetric method DTNB, using p-aminobenzoic acid, 5-aminosalicylic acid (both selective for NAT1), sulfamethazine (selective for NAT2) and p-anisidine, as substrates. Results showed that the polymorphisms p.Gly51Ala, p.Met82Val, p.Phe175Leu and p.Asp115Tyr reduce the enzymatic activity compared with the wt (MACMU)NAT1. The polymorphism p.Glu155Gln seems to have no effect, while the p.Leu89Phe is under further study. Analysis by SDS-PAGE and immunoblotting (Western Blot) showed that polymorphisms p.Gly51Ala, p.Met82Val, p.Phe175Leu and p.Asp115Tyr cause reduced stability of the enzyme (MACMU)NAT1 and therefore lead to lower enzymatic activity.

**In vivo ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΩΝ ΤΥΠΟΥ Ι
ΜΕΣΩ ΤΩΝ Τ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ
ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΔΑ (ΠΑΕ)**

**Μαρκογιαννάκη Μελίνα^{1,2}, Καβροχωριανού Νάντια^{1,2}, Θυφρονίτης Γιώργος²,
Χαραλάμπους Σύλβα¹**

*1/Ομάδα Φλεγμονής, Εργαστήριο Διαγονιδιακής Τεχνολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο
Παστερ, Λεωφόρος Βασιλίσσης Σοφίας 127 11521, Αθήνα - 2/Τμήμα Βιολογικών
Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα*

Η ιντερφερόνη β (IFNβ-1b) χρησιμοποιείται ως θεραπευτική αγωγή στην σκλήρυνση κατά πλάκας (ΣΚΠ), μια αυτοάνοση νόσο του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ), που διαμεσολαβείται από τα Τ λεμφοκύτταρα. Το πώς η ιντερφερόνη διαφοροποιεί τη δράση των Τ λεμφοκυττάρων κατά την ανάπτυξη της νόσου αποτελεί σήμερα ένα σημαντικό πεδίο μελέτης. Έχει δειχθεί πρόσφατα, ότι κατά την πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα (ΠΑΕ), ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο ζωικό πρότυπο της ΣΚΠ, οι υποπληθυσμοί των βοηθητικών Τ κυττάρων (Th1, Th17) επηρεάζονται διαφορετικά κατά τη θεραπεία με IFNβ, με αποτέλεσμα τη διαφορετική θεραπευτική αποτελεσματικότητά της. Η παρούσα μελέτη αφορά στη δράση της ενδογενούς ιντερφερόνης αποκλειστικά στα Τ λεμφοκύτταρα. Για το σκοπό αυτό εφαρμόστηκε το πρότυπο της ΠΑΕ σε διαγονιδιακά ποντίκια, όπου ο υποδοχέας των IFNs τύπου Ι εκφράζεται μόνο στα Τ λεμφοκύτταρα (Tg9393: CD2-IFNAR1+/-/IFNAR1-/-), σε IFNAR1 ελλειμματικά (IFNAR1-/-), καθώς και σε αγρίου τύπου ποντίκια. Τα αποτελέσματα έδειξαν καθυστέρηση της έναρξης της νόσου στα διαγονιδιακά ποντίκια καθώς και πιο ομαλή εξέλιξή της σε σύγκριση με τα ποντίκια και των δύο ομάδων ελέγχου. Κατά την ΠΑΕ, η παθολογία των νευρώνων, που αξιολογήθηκε με κριτήρια τη διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων, την απομυελίνωση και τον εκφυλισμό, σε τομές νωτιαίου μυελού των ποντικών, βρέθηκε λιγότερο εκτεταμένη στα διαγονιδιακά ποντίκια συγκριτικά με τα ποντίκια των δύο ομάδων ελέγχου. Επιπλέον, την ίδια χρονική στιγμή της νόσου, παρατηρήθηκε μεγαλύτερο ποσοστό βοηθητικών κυττάρων (CD4+) που παράγουν τις χαρακτηριστικές προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες ιντερφερόνη γ (IFN-γ) και ιντερλευκίνη 17 (IL-17) αλλά και την αντι-φλεγμονώδη κυτταροκίνη ιντερλευκίνη 10 (IL-10) στην περιφέρεια των διαγονιδιακών ποντικών. Συμπερασματικά, η σηματοδότηση της ιντερφερόνης αποκλειστικά στα Τ κύτταρα φαίνεται να εμφανίζει προστατευτική δράση κατά την ανάπτυξη της ΠΑΕ, φαινόμενο που απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση. Ανάλυση της ανοσολογικής απόκρισης κατά το προ-συμπτωματικό στάδιο της νόσου, είναι υπό εξέλιξη.

In vivo STUDY OF TYPE I INTERFERONS SIGNALING IN T CELLS IN EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS (EAE)

**Markogiannaki Melina^{1,2}, Kavrochorianou Nadia^{1,2}, Thyphronitis George², Haralambous
Sylva¹**

*1/Inflammation Group, Laboratory of Transgenic Technology, Hellenic Pasteur Institute, 127, Vas.
Sofias Ave., Athens, Greece - 2/Department of Biological Applications and Technologies, University
of Ioannina, Ioannina, Greece*

Interferon beta (IFN β) is widely used as first-line treatment for multiple sclerosis (MS), a T cell-mediated autoimmune disease of the central nervous system. The mechanism by which IFN β modulates the effect of T lymphocytes during the progression of the disease attracts, at the moment, researchers' immense interest. Recent studies have shown that during experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), an established animal model of MS, the subpopulations of T helper (CD4⁺) cells (Th1, Th17) may differentially determine the efficacy of IFN β treatment. Our present objective is to study the effect of endogenous IFN β particularly on T cells. For this purpose we induced EAE in transgenic mice, that express functional type I IFN receptor (IFNAR1) exclusively on T lymphocytes (Tg9393: CD2-IFNAR1^{+/-}/IFNAR1^{-/-}), IFNAR1 knockout (IFNAR1^{-/-}) and wild-type mice. According to our results, transgenic mice exhibited delayed onset and milder progression of the acute phase of EAE, as compared to IFNAR1^{-/-} and wild-type mice, along with higher frequency of IFN γ -, IL-17 and IL-10- producing CD4⁺ cells in the periphery. Additionally, spinal cord sections from transgenic EAE mice showed lower degree of inflammation, demyelination and neuronal degeneration. These results indicate a protective role of endogenous type I IFNs in EAE, when signaling is T cell restricted, though this phenomenon needs to be further elucidated. Currently we sought to exemplify the peripheral immunological response, at the pre-onset phase of EAE.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΗΜΕΙΑΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D (VDR, VITAMIN D RECEPTOR) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΝΕΑΝΙΚΗ ΙΔΙΟΠΑΘΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΚΑΙ ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ.

**Μαμαρά Κωνσταντίνα¹, Μητσιώνη Γ. Άρτεμις¹, Αλφαντάκη Σαπφώ², Γεωργίου
Ιωάννης¹, Σιαμοπούλου-Μαυρίδου Αντιγόνη²**

*1/Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής και Ανθρώπινης Αναπαραγωγής, Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη 45110 Ιωάννινα, 2/Παιδιατρική Κλινική
Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, Λεωφ. Στ. Νιάρχου 45500 Ιωάννινα.*

Η βιταμίνη D είναι σημαντική για το μεταβολισμό των οστών και την ομοιοστάση των ιόντων ασβεστίου και φωσφόρου. Ο υποδοχέας της βιταμίνης D (VDR: Vitamin D receptor) είναι κύριος διαμεσολαβητής για την κυτταρική δράση της και αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα που όταν ενεργοποιηθεί μεταβάλλει το ρυθμό μεταγραφής των γονιδίων στόχων του. Τέσσερις είναι οι πιο καλά μελετημένοι πολυμορφισμοί του VDR (ApaI, TaqI, BsmI και FokI) και φαίνεται να συσχετίζονται με την ευπάθεια για την καταστροφή των αρθρώσεων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ). Έρευνες υποδηλώνουν ότι η ίδια βιταμίνη μπορεί να είναι ένας μεσολαβητής της φλεγμονής καθώς μόνο ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα και μονοκύτταρα εκφράζουν το γονίδιο VDR. Ελέγχθηκαν 69 ασθενείς που για τις μορφές αρθρίτιδας κατατάχθηκαν σύμφωνα με την διεθνή κατάταξη ILAR (International League of Associations for Rheumatology) σε ομάδες καθώς και 64 μάρτυρες παρόμοιας ηλικίας με τους ασθενείς, για τους πολυμορφισμούς TaqI και ApaI. Η αλληλουχία του γονιδίου ενισχύθηκε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης και η γονοτύπηση έγινε με τη χρήση της τεχνικής RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση (χ² τεστ) μεταξύ του συνόλου των ασθενών και των επιμέρους ομάδων, σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων, αλλά δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι πολυμορφισμοί TaqI και ApaI δεν συσχετίζονται με την ΡΑ στον πληθυσμό μελέτης, αλλά είναι πιθανόν να συσχετίζονται άλλοι πολυμορφισμοί του γονιδίου VDR με την εμφάνιση της, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Η ανάλυση των υπόλοιπων πολυμορφισμών, FokI και BsmI, καθώς και η συλλογή μεγαλύτερου αριθμού ασθενών και μαρτύρων είναι υπό εξέλιξη για την ολοκλήρωση της μελέτης συσχέτισης στο γονίδιο VDR, ώστε να μπορούν να προκύψουν ασφαλή αποτελέσματα.

ASSOCIATION STUDY OF VITAMIN D RECEPTOR GENE (VDR) SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS AND OTHER AUTOIMMUNE DISEASES.

Marmara Konstantina¹, Mitsioni G. Artemis, Alfantaki Sapfo², Georgiou Ioannis¹, Siamopoulou-Mauridou Antigoni²

1/Laboratory of Medical Genetics and Human Reproduction, Medical School, University of Ioannina, University Campus 45110 Ioannina, 2/Department of Paediatrics, University Hospital of Ioannina, St.Niarchou Av. 45500 Ioannina.

Vitamin D is essential for the control of bone metabolism and in calcium and phosphate homeostasis. Most of vitamin's D biological activities are mediated by its receptor (VDR: Vitamin D Receptor) that acts as a ligand-activated transcription factor with a role in the control of target genes transcription after its activation. Four are the most well studied polymorphisms of the VDR gene (ApaI, TaqI, BsmI and FokI) which are related with susceptibility to joint destruction in rheumatoid arthritis (RA). Recent findings suggest that vitamin D itself mediates inflammation, which is supported by the fact that only activated leukocytes and monocytes express the VDR gene. We examined 69 patients, categorized into clinical subgroups for the arthritis types, according to the International League of Associations for Rheumatology (ILAR) classification system and 64 controls at the same age group as the patients, for ApaI and TaqI polymorphisms. The gene's sequence was amplified using Polymerase Chain Reaction and the genotyping was performed with the RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) method. Statistical analysis was performed, using the chi-square test, comparing the total patients and their subgroups to the control group. The chi-square test did not demonstrate statistically significant difference between the genotypes. TaqI and ApaI polymorphisms are not associated with RA in the study population, but it is possible other polymorphisms of VDR gene to be associated with RA onset according to recent studies. The genotyping of the other two polymorphisms, FokI and BsmI, and the collection of a larger number of both, patients and controls, are under progression in order to complete the association study of VDR gene and for safer conclusions to be extracted.

ΔΥΝΗΤΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Aesculus hippocastanum* L. ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Μαστρογιάννη Άννα¹, Τσιρούκης Αχιλλέας³, Δρούζας Ανδρέας², Τσιριπίδης Ιωάννης²
1/Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Διατήρηση της Βιοποικιλότητας και Αειφορική Εκμετάλλευση Αυτοφύων Φυτών», Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη - 2/Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη - 3/Τμήμα Δασοπονίας και Διαχείρισης Φυσικού Περιβάλλοντος Καρδίτσας (ΤΕΙ Λάρισας)

Κατά τη διάρκεια του Τριτογενούς, το γένος *Aesculus* είχε ευρεία εξάπλωση στην Ευρώπη, ενώ στο Τεταρτογενές η εξάπλωσή του περιορίστηκε στο νότιο τμήμα της. Σήμερα, το γένος αντιπροσωπεύεται από ένα μόνο είδος στην Ευρώπη, το *Aesculus hippocastanum* L. (ιπποκαστανιά), που είναι ενδημικό της βαλκανικής χερσονήσου, με κύρια περιοχή εξάπλωσης την ηπειρωτική Ελλάδα (Πίνδος και όρη ανατολικής-κεντρικής Ελλάδας). Τα σύγχρονα δεδομένα εξάπλωσης του είδους στην Ελλάδα περιλαμβάνουν περίπου 100 θέσεις παρουσίας, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν μαζί με χωρικά περιβαλλοντικά δεδομένα, με σκοπό την εύρεση της δυνητικής εξάπλωσής του στην Ελλάδα, με τη χρήση του αλγορίθμου μέγιστης εντροπίας (maximum entropy, MaxEnt). Ως περιβαλλοντικές μεταβλητές χρησιμοποιήθηκαν η κλίση του εδάφους, η έκθεση, το υψόμετρο, το γεωλογικό υπόστρωμα, τέσσερις βιοκλιματικές μεταβλητές, καθώς και τρεις μεταβλητές που αφορούσαν την ηλιακή ακτινοβολία (άμεση και διάχυτη ακτινοβολία και διάρκεια άμεσης ακτινοβολίας). Οι παραπάνω μεταβλητές χρησιμοποιήθηκαν αφού έγινε έλεγχος ώστε να μην εμφανίζουν μεγάλη συγγραμμικότητα μεταξύ τους. Το μοντέλο πρόβλεψης εξάπλωσης της ιπποκαστανιάς, έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα, σύμφωνα με το κριτήριο “Mean Area Under Curve”. Ως σημαντικότερες μεταβλητές, με βάση το κριτήριο “permutation importance”, βρέθηκαν το υψόμετρο και τρεις από τις τέσσερις βιοκλιματικές μεταβλητές. Οι περιοχές που συνιστούν τη δυνητική εξάπλωση του είδους (πιθανότητα παρουσίας πάνω από 0.5) προβλέφθηκαν κυρίως μέσα στο γνωστό εύρος εξάπλωσής του. Το γεγονός όμως ότι η δυνητική εξάπλωση βρέθηκε αρκετά μεγαλύτερη από την πραγματική, υποδηλώνει μείωση της εξάπλωσης της ιπποκαστανιάς λόγω διαταραχών ή ανταγωνιστικού αποκλεισμού. Ο παραπάνω χάρτης δυνητικής εξάπλωσης πρόκειται να αποτελέσει τη βάση για τη μελέτη της ποικιλότητας ενδιαιτημάτων και της γενετικής ποικιλότητας του είδους καθώς και τυχόν συσχέτισης αυτών. Η γνώση τόσο της εξάπλωσης όσο και της ποικιλότητας (ενδιαιτημάτων και γενετικής), συνιστούν απαραίτητα δεδομένα για την αποτελεσματική διατήρηση της ιπποκαστανιάς. Η Μαστρογιάννη Άννα είναι υπότροφος του Κοινοφελούς Ιδρύματος Αλέξανδρος Σ. Ωνάσης.

POTENTIAL DISTRIBUTION OF THE RELICT SPECIES *Aesculus hippocastanum* L. IN GREECE

Mastrogianni Anna¹, Tsiroukis Ahilleas³, Drouzas Andreas², Tsiripidis Ioannis²

1/Postgraduate Studies Program Conservation of biodiversity and sustainable exploitation of native plants (bnp), School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki – 2/Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki - 3/Department and Forestry and Management of Natural Environment, TEI Larissa

The genus *Aesculus* was widely distributed in Europe during the Tertiary, while during the Quaternary its distribution was restricted to the southern part of the continent. Today, *Aesculus hippocastanum* L. (horsechestnut) is the only species of the genus surviving in Europe. The main distribution area of this relict and Balkan endemic species is the Greek mainland (Pindos range and mountains of the east-central Greece). The so far known distribution of the species in Greece, which includes about 100 localities, was used together with environmental spatial data to investigate its potential distribution in Greece, by employing the maximum entropy algorithm (MaxEnt). The environmental variables used in the algorithm were the following: slope, aspect, elevation, geological substrate, four bioclimatic variables as well as three variables concerning the solar radiation (direct, diffuse and duration of the direct radiation). These variables were chosen among others after testing for collinearity between them. The modeled distribution of horsechestnut was found highly accurate on the basis of the “Mean Area Under Curve” criterion. Elevation and three bioclimatic variables were found to have the highest permutation importance in the model. The species’ potential distribution, which includes the localities with probability of occurrence higher than 0.5, is mainly within the range of its so far known distribution. However, the significantly larger area of the potential distribution than the actual one, indicates a possible reduction of species distribution due to disturbances or competitive exclusion. The map of potential distribution is going to assist the investigation of species’ habitats’ and genetic diversity, as well as of a possible correlation between them. The thorough knowledge of horsechestnut’s distribution and diversity (genetic and of its habitats) comprise crucial data for planning its effective conservation. Mastrogianni Anna is a scholar of Alexander S. Onassis Public Benefit Foundation in Greece.

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΜΒΡΑΚΙΚΟ ΚΟΛΠΟ – ΜΟΡΙΑΚΗ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΟΞΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ

**Μαυρογιώργου Μαρία - Χριστίνα^{1,3}, Κουμάση Δήμητρα¹, Βαρέλη Κατερίνα²,
Μπριασούλης Ευάγγελος¹, Φριλίγγος Ευστάθιος³, Σαΐνης Ιωάννης¹**

*1 Διεπιστημονικό εργαστήριο Μοριακής Ογκολογίας, Βιοτράπεζα Καρκίνου,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 45110 2 Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και
Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 45110 3 Εργαστήριο Βιολογικής
Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 45110*

Ο Αβρακικός κόλπος (ΒΔ Ελλάδα) είναι σημαντικός υδροβιότοπος ο οποίος προστατεύεται με διεθνείς συμβάσεις (Ramsar). Η περιοχή είναι από τις πιο παραγωγικές στον ελλαδικό χώρο, σε ότι αφορά τα θαλάσσια αλιεύματα. Στον Αμβρακικό κόλπο απαντώνται ποικίλα οικοσυστήματα: εκβολές ποταμών (Λούρος, Άραχθος), λιμνοθάλασσες (τουλάχιστον 20) και κλασσικά θαλάσσια οικοσυστήματα. Λόγω της αυξημένης γεωργοκτηνοτροφικής δραστηριότητας τόσο γύρω από τα ποτάμια, όσο και στις παραλιακές περιοχές του Αμβρακικού, το φαινόμενο του ευτροφισμού είναι συχνό. Εξαιτίας αυτού του φαινομένου η αύξηση του αριθμού δυνητικά τοξικών ειδών είναι πιθανή (1). Για το λόγο αυτό, κατά διαστήματα στο παρελθόν, έχει απαγορευθεί η συλλογή, εμπορία και κατανάλωση διθύρων. Επίσης, έχει ανιχνευθεί μικροκυστίνη σε δίθυρα από την περιοχή της Αμφιλοχίας (2). Στη παρούσα μελέτη έγινε εποχιακή συλλογή δειγμάτων νερού (3 λιμνοθάλασσες, 2 εκβολές ποταμού και 5 θαλάσσιες περιοχές) και διθύρων περιμετρικά του Αμβρακικού και στο Ιόνιο Πέλαγος. Αρχικά, στα δείγματα αυτά έγινε μοριακή ταυτοποίηση κυανοβακτηριών χρησιμοποιώντας ηλεκτροφόρηση διαβάθμισης συγκέντρωσης (DGGE) για το τμήμα της περιοχής του γονιδιώματος μεταξύ των ριβοσωμικών γονιδίων 16S και 23S (ITS). Τα κυρίαρχα γένη των κυανοβακτηριών σε όλη την περιοχή είναι τα *Synechococcus* και *Synechocystis*. Επίσης, προσδιορίστηκε σε δίθυρα η συγκέντρωση των μικροκυστινών με ELISA. Οι συγκεντρώσεις που βρέθηκαν (12 ± 2 μέχρι $145 \pm 2,4$ ng g ww⁻¹) υπερβαίνουν τα επίπεδα της ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης (TDI), όπως αυτά καθορίζονται από τον WHO. Η μελέτη συνεχίζεται στη κατεύθυνση ανίχνευσης και άλλων βιοτοξινών (σαξιτοξίνη, οκαδαϊκό οξύ, δομοϊκό οξύ, μπρεβετοξίνη) καθώς επίσης και στη κατεύθυνση της μοριακής χαρτογράφησης των ειδών των κυανοβακτηριών και πρωτίστων ικανών να παράγουν τις τοξίνες αυτές. (1) Ignatiades, L.; Gotsis-Skretas, O., *Toxins* 2010, 2, 1019-1037. (2) Vareli, K., Zarali, E., Zacharioudakis, G. S. A., Vagenas, G., Varelis, V., Pilidis, G., Sainis, I. (2012). *Harmful Algae*, 15, 109-118.

BIOTOXINS IN AMVRAKIKOS GULF – MOLECULAR CHARACTERIZATION OF POTENTIALLY TOXIC CYANOBACTERIA AND PROTISTS

**Mavrogiorgou Maria - Christina^{1,3}, Koumasi Dimitra¹, Vareli Katerina², Briasoulis
Evangelos¹, Frillingos Stathis³, Sainis Ioannis¹**

*Interscience Molecular Oncology Laboratory, Human Cancer Biobank Center, University of
Ioannina, Ioannina 45110, Greece, 2 Department of Biological Applications and Technologies,
University of Ioannina, Ioannina 45110, Greece, 3 Laboratory of Biological Chemistry, School of
Medicine, University of Ioannina*

The Amvrakikos Gulf is the biggest enclosed basin in Greece, among the most productive Greek “seafood” areas, as well as a key wetland of international importance under the Ramsar Convention. In Amvrakikos Gulf there are different ecosystems: estuaries (Arachthos and Louros rivers), lagoons (at least 20) and classical marine ecosystems. The area is at risk due to pollutants carried by the rivers and the wastewaters from the processing of agricultural products by small industries established in the area and as a result the eutrophic state is high. Due to these eutrophic phenomena, the increasing number of potentially toxic species is possible (1). For this reason, from time to time in the past, gathering, marketing and consumption of bivalves has been banned. Furthermore, microcystin has been detected in bivalves harvested near Amfilochia (2). In this study, water samples and bivalves around the Amvrakikos Gulf (from three lagoons, two estuaries and five marine ecosystems) and the Ionian Sea, were collected seasonally. At first, cyanobacteria species composition was revealed based on molecular techniques (Denaturated Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) of the rRNA Internal Transcribed Spacer region – ITS). The dominant cyanobacterial genera throughout the region found to be *Synechococcus* and *Synechocystis*. In addition, microcystin concentration in bivalves was determined by ELISA. The concentrations (12 ± 2 μέχρι $145 \pm 2,4$ ng g ww⁻¹) found to exceed the tolerable daily intake (TDI), as defined by WHO. Detection of other biotoxins (saxitoxin, okadaic acid, domoic acid, brevetoxin) as well as the molecular mapping of potentially toxic cyanobacteria and protists is in progress. (1) Ignatiades, L.; Gotsis-Skretas, O., *Toxins* 2010, 2, 1019-1037. (2) Vareli et al (2012). *Harmful Algae*, 15, 109-118.

ΕΞΕΡΕΥΝΩΝΤΑΣ ΤΙΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΙΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ ΣΤΟΝ ΚΟΛΠΟ ΤΗΣ ΗΓΟΥΜΕΝΙΤΣΑΣ

Μεζίτη Αλεξάνδρα,¹ Κορμάς Αρ. Κωνσταντίνος,² Καραγιάννη Ήρα,¹

1. Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη Ιωάννινα, 45110, Ιωάννινα 2. Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Οδός Φυτόκου, Ν. Ιωνία Μαγνησίας - 384 46

Η χρήση των τεχνικών αλληλούχισης νέας γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS), έχει επιτρέψει τη λεπτομερή μελέτη των μικροοργανισμικών κοινοτήτων στα υδάτινα οικοσυστήματα. Μέχρι τώρα, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες των χωρικών και χρονικών μεταβολών των μικροοργανισμικών κοινοτήτων στην ανοιχτή θάλασσα αλλά ελάχιστες σε παράκτιες περιοχές. Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε για πρώτη φορά σε χωροχρονικό επίπεδο η βακτηριακή ποικιλότητα μιας παράκτιας περιοχής στενά συνδεδεμένης με το αστικό περιβάλλον. Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν μηνιαίες δειγματοληψίες βακτηριοπλάγκτου (Οκτώβριος 2012 – Σεπτέμβριος 2013), σε πέντε διαφορετικά σημεία του κόλπου της Ηγουμενίτσας, ο οποίος δέχεται ποικίλες ανθρωπογενείς επιδράσεις. Τα δείγματα συλλέχθηκαν υποεπιφανειακά (2 m) και μετά την απομόνωση του DNA ακολούθησε 454 πυροαλληλούχιση με την χρήση παγκόσμιων βακτηριακών εκκινητών. Οι ομοιοτητες κατά Morisita ξεπέρασαν το 60% ανάμεσα σε όλες τις περιοχές και όλους τους μήνες, εκτός από τον Αύγουστο όπου παρατηρήθηκαν μεγάλες διαφοροποιήσεις ανάμεσα στις περιοχές. Αντιπρόσωποι των α-, β- Proteobacteria και των Bacteroidetes εντοπίστηκαν σε όλα τα δείγματα με τις συνολικές σχετικές αφθονίες να ξεπερνούν το 65%. Στο επίπεδο του γένους, αλληλουχίες που ομαδοποιούνται στο γένος Pelagibacter (α-Proteobacteria, SAR11), επικράτησαν σε όλα τα δείγματα από το Νοέμβριο μέχρι τον Απρίλιο, ενώ αλληλουχίες που ομαδοποιούνται στα γένη Psychrobacter, Alteromonas και Vibrio (γ-Proteobacteria) επικράτησαν τους υπόλοιπους μήνες. Μετά από τη χρήση ανάλυσης πλεονασμού (Redundancy Analysis, RDA), η θερμοκρασία, η αλατότητα, η ένταση του φωτός και η συγκέντρωση της chl_a και των καροτενοειδών αποδείχτηκαν στατιστικά σημαντικοί παράγοντες για την απεικόνιση των δειγμάτων στο χώρο. Η επικράτηση των SAR11 κατά τους χειμερινούς μήνες έδειξε για άλλη μία φορά την παγκόσμια κατανομή αυτής της ομάδας όχι μόνο στην ανοιχτή θάλασσα αλλά επίσης και σε έναν κλειστό κόλπο. Η πράξη συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης- ΕΤΠΑ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΣΤΕΡΕΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ –ΗΠΕΙΡΟΥ 2007-2013» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ 2007-2013)

EXPLORING THE CHANGES OF MICROBIAL COMMUNITIES IN IGOUMENITSA GULF

Meziti A.¹, Kormas K.², Kragianni H.¹

1. Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, University Campus, 45110, Ioannina 2. Department of Ichthyology and Aquatic environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Fytoko str. Nea Ionia Magnisias, Volos, 38446

The use of Next Generation Sequencing techniques has allowed the thorough study of microbial communities in aquatic ecosystems. So far, several studies on the spatial and temporal variability of microbial communities have been performed in the open sea but only a few in coastal environments. Here, we studied for the first time the temporal and spatial changes of the bacterial communities in a coastal area strongly influenced by the urban environment. For this purpose, monthly bacterioplankton samplings were performed monthly (October 2012 - September 2013) in five different sites of the Igoumenitsa Gulf, which receives several anthropogenic influences. Samples were collected from 2m depth. DNA extraction was followed by 454 pyrosequencing using universal bacterial primers. Morisita similariities exceeded 60% between all sites in all months except from August when sites were highly differentiated. Representatives of α -, β -Proteobacteria and Bacteroidetes were detected in all samples with their relative frequencies exceeding 65%. In the genus level, sequences clustering in *Pelagibacter* (α -Proteobacteria, SAR11) dominated in all samples from December to April, while sequences clustering in the genera *Vibrio*, *Psychrobacter* and *Alteromonas* (γ -Proteobacteria) dominated for the rest of the months. Redundancy Analysis (RDA) showed that temperature, salinity, light intensity and the concentration of Chl *a* and carotenoids were statistically significant factors for the plotting of the samples. The dominance of SAR11 in the winter months showed for one more time the global distribution of this group, not only in the open sea but also in a semi-enclosed gulf. This research project has been co-financed by the European Union (European Regional Development Fund- ERDF) and Greek national funds through the Operational Program "THESSALY- MAINLAND GREECE AND EPIRUS-2007-2013" of the National Strategic Reference Framework (NSRF 2007-2013)

Η ΑΡΩΜΑΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ «ΡΙΓΑΝΗΣ» ΚΑΙ «ΘΥΜΑΡΙΟΥ» ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Μερτζανίδης Δημήτριος¹, Χανλίδου Έφη³, Κουρεάς Δημήτριος², Καρούσου Ρεγγίνα³,
Κοκκίνη Στυλιανή³

1/Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Διατήρηση της Βιοποικιλότητας και Αειφορική
Εκμετάλλευση Αυτοφύων Φυτών», Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 2/Μουσείο Φυσικής Ιστορίας, Λονδίνο,
Ηνωμένο Βασίλειο - 3/Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τομέας
Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Μέλη διαφορετικών γενών συνθέτουν την ομάδα των αρωματικών φυτών που χρησιμοποιούνται ως «ρίγανη, oregano» ή «θυμάρι, thyme». Αυτά ανήκουν κυρίως στα γένη *Origanum*, *Thymbra*, *Thymus*, *Satureja* και τα αιθέρια έλαιά τους ποικίλουν, χαρακτηριζόμενα συχνά από την κυρίαρχη παρουσία της καρβακρόλης (ρίγανη) ή και θυμόλης (θυμάρι). Σύμφωνα με τους Dimopoulos et al. (2013), στα τέσσερα γένη ανήκουν 57 αυτοφυή taxa (είδη και υποείδη) της ελληνικής χλωρίδας, 24 από τα οποία είναι ενδημικά. Σκοπός της εργασίας είναι η συγκέντρωση και κριτική ανασκόπηση της ερευνητικής δημοσιευμένης πληροφορίας (Web-of-Science, Scopus και Google-Scholar) με βασικά ερωτήματα: (i) ποια από τα αυτοφυή taxa του ελλαδικού χώρου έχουν μελετηθεί σε σχέση με τα αιθέρια έλαιά τους, (ii) σε ποια φυτογεωγραφικά διαμερίσματα απαντούν τα taxa που μελετήθηκαν και (iii) υπάρχει σχέση της συνολικής εξάπλωσης των επιμέρους taxa με το σύνολο των δημοσιευμάτων για τα αιθέρια έλαιά τους. Το σύνολο των δημοσιεύσεων παγκοσμίως για τα αιθέρια έλαια των τεσσάρων γενών είναι > 2000, με τις περισσότερες να αφορούν στο γένος *Thymus* (45%). Για 26 taxa που απαντούν στην Ελλάδα υπάρχουν σχετικές δημοσιεύσεις, με τις περισσότερες να αφορούν στο γένος *Origanum* (29) και τις λιγότερες στο *Thymus* (7). Οι μεγαλύτερες διακυμάνσεις της συνολικής περιεκτικότητας αλλά και της σύστασης των αιθερίων ελαίων έχουν καταγραφεί στα taxa που φύονται σε διαφορετικά φυτογεωγραφικά διαμερίσματα και ενδιαιτήματα όπως το *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*. Η περιεκτικότητα του σε αιθέριο έλαιο κυμαίνεται από 1.1 (στη Βόρεια Κεντρική Ελλάδα) έως 8.2 mL 100g⁻¹ ξηρού βάρους (Κρήτη-Κάρπαθος). Οι περισσότερες δημοσιεύσεις αναφέρονται σε φυτά από τα φυτογεωγραφικά διαμερίσματα Κρήτης-Καρπάθου και Στερεάς Ελλάδας, που φιλοξενούν 38 taxa «ρίγανης» και «θυμαριού». Οι συγγραφείς ευχαριστούν για την οικονομική υποστήριξη το ΕΣΠΑ - Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο της Δράσης ΑΡΙΣΤΕΙΑ II (NATURAL AROMA- 4204).

AROMATIC DIVERSITY OF “OREGANO” AND “THYME” PLANTS IN GREECE

Mertzanidis Dimitrios¹, Chanlidou Efi³, Koureas Dimitrios², Karousou Regina³, Kokkini Styliani³

1/Postgraduate Studies Programme “Conservation of Biodiversity and Sustainable Exploitation of Native Plants”, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece
- 2/Natural History Museum, London, UK - 3/Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

Members of different genera constitute the group of aromatic plants which are used as “oregano” or “thyme”. These plants mainly belong to the genera *Origanum*, *Thymbra*, *Thymus*, *Satureja* and their essential oils vary, often defined by the dominant presence of carvacrol (oregano) or and thymol (thyme). According to Dimopoulos et al. (2013), 57 native taxa (species and subspecies) of the Greek flora belong to them, 24 of which are endemic. The purpose of this study is the collection and critical review of the published research information (Web-of-Science, Scopus and Google-Scholar) looking for; (i) how many native taxa of the Greek flora have been studied in relation to their essential oils, (ii) in which floristic regions the studied taxa are present, (iii) there is a relation between the total distribution of the individual taxa and the total number of papers about their essential oils. The total number of worldwide published studies about the essential oils of the four genera is > 2000, most of which concern the genus *Thymus* (45%). The published studies concerns 26 taxa of the four genera that are grown in Greece, most on *Origanum* (29) and less on *Thymus* (7). The highest fluctuations of the total content but also the composition of essential oils have been found on the taxa that grow on different floristic regions and habitats, such as *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*. The plant’s essential oil content ranges between 1.1 (North Central) and 8.2 mL 100g⁻¹ of the dry weight (Kriti – Karpathos). The highest number of published studies is about plants that have been collected from the floristic regions of Kriti–Karpathos and Sterea Ellas, where 38 taxa of “oregano” and “thyme” are present. The authors acknowledge the financial support of the National Strategic Reference Framework (NSRF), Research Funding Programme of the Action ARISTEIA II (NATURAL AROMA-4204).

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΙΚΑΝΩΝ ΝΑ ΑΝΑΓΟΥΝ ΤΟ ΕΞΑΣΘΕΝΕΣ ΧΡΩΜΙΟ ΑΠΟ ΦΥΣΙΚΗ ΠΗΓΗ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΙΔΗΡΟΥ

Μερτζανίδου Μ., Κωνσταντινίδης Κ., Σάκουλα Δ., Σκούρας Ζ., Γιάγκου Μ.
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

Το χρώμιο (Cr) ανήκει στην έκτη ομάδα των μετάλλων στον περιοδικό πίνακα και συναντάται σε δύο κύριες οξειδωτικές καταστάσεις, την τρισθενή και την εξασθενή. Η ευρεία χρήση του χρωμίου σε διάφορες δραστηριότητες του ανθρώπου το έχει καταστήσει ως έναν από τους σημαντικότερους ρυπαντές του υδάτινου περιβάλλοντος. Η ομοιόσταση στο σίδηρο μέσω ρεδουκτασών συμπεριλαμβάνεται στους μηχανισμούς που καθιστούν διάφορα σιδηροβακτήρια ικανά να ανάγουν το Cr(VI) Cr(III). Στην παρούσα εργασία απομονώθηκαν βακτηριακά στελέχη, από φυσική υδάτινη πηγή πλούσια σε σίδηρο με σκοπό τη διερεύνηση της ικανότητάς τους να ανέχονται το εξασθενές χρώμιο και να το ανάγουν στο μη τοξικό τρισθενές. Από τέσσερα δείγματα του θώκου της υδάτινης πηγής απομονώθηκαν εννέα βακτηριακά στελέχη με βάση φυσικοχημικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά τους. Κανένα στέλεχος δεν είχε χαρακτηριστικά για πιθανή παθογένεια. Τα στελέχη αυτά αναπύχθηκαν σε θρεπτικό υλικό παρουσία 0,5 mg/L έως και 500 mg/L Cr(VI). Όλα τα στελέχη παρουσίασαν ανθεκτικότητα στο Cr(VI), ενώ τα έξι παρουσίασαν ικανότητα αναγωγής του μετάλλου. Κάθε στέλεχος παρουσίασε ανθεκτικότητα σε διαφορετική συγκέντρωση, ενώ δεν παρουσίασαν όλα τα στελέχη ικανότητα αναγωγής του μετάλλου. Ένα από τα στελέχη που εξετάστηκαν (B1), παρουσίασε ανθεκτικότητα μέχρι τα 200 mg/L Cr(VI) και αναγωγή τους κατά 50% σε χρονικό διάστημα 72 ωρών. Για το συγκεκριμένο στέλεχος εφαρμόστηκαν μοριακές (ενίσχυση τμήματος του γονιδίου 16S rRNA) και βιοχημικές μέθοδοι για την ταυτοποίησή του και κατασκευάστηκε πιθανό φυλογενετικό δέντρο που δείχνει ότι πιθανά ανήκει στο γένος *Achromobacter*. Συμπερασματικά, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση του μικροοργανισμού ως πιθανό μέσο για τη διαχείριση και βιοαπορρύπανση λυμάτων επιβαρυνμένων με Cr(VI).

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MICROORGANISMS CAPABLE OF REDUCING HEXAVALENT CHROMIUM FROM A NATURAL SOURCE WITH HIGH CONCENTRATION OF IRON

Mertzanidou M., Konstantinidis K., Sakoula D., Skouras Z., Yiangou M.

Dept. of Genetics, Dev. & Molecular Biology, School of Biology, AUTH

Chromium (Cr) belongs to the sixth group of metals of the periodic table and it is mainly found in two oxidative states, the hexavalent and the trivalent state. The wide use of hexavalent chromium in several human activities has established it as one of the major pollutants of the aquatic environment. Homeostasis to iron performed by reductases (SDR) is included among the mechanisms that many iron bacteria able to reduce Cr(VI) to Cr(III) render. In the present study, bacterial strains were isolated from a natural aquatic source, rich to iron, in order to investigate their capacity to tolerate Cr(VI), as well as to reduce it to the non-toxic Cr(III). Nine different bacterial strains were isolated from several areas of the aquatic source, based on their physicochemical and biochemical characteristics. None of these strains exhibited characteristics for potential pathogenicity. Growth time curves were performed in nutrient medium in the presence of Cr(VI), ranging from 0.5 to 500 mg/L Cr(VI). All strains exhibited resistance to the metal, while six of them showed capacity to reduce Cr(VI) to Cr(III). Furthermore, it was depicted that all strains were resistant to different Cr (VI) concentrations, while not all of them had the ability to reduce the toxic metal. Among the strains tested, B1 displayed the highest resistance at 200 mg/L Cr(VI) along with 50% reduction in 72-hours. For this particular strain, molecular (amplification of partial 16S rRNA gene) and biochemical methods were implemented for its identification and a possible phylogenetic tree was constructed showing that this strain may belong to the *Achromobacter* genus. Conclusively, further research is required, in order to investigate the microorganism's possible use in the management and the bioremediation of wastewater burdened with Cr(VI).

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Chondrostoma vardarensis* (CYPRINIDAE) ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΡΩΤΟΔΙΑΤΑΞΗΣ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Μηνά Αμαλία, Μίνος Γεώργιος, Ιμσιρίδου Αναστασία

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

Το είδος *Chondrostoma vardarensis* (Karaman, 1928), γνωστό και ως γουρουνομούτης, ανήκει στην οικογένεια Cyprinidae. Πρόκειται για ρεόφιλο, ενδημικό είδος γλυκών υδάτων των Βαλκανίων που προτιμά ρηχά αμμώδη έως πετρώδη υποστρώματα, τα οποία επιλέγει για την αναπαραγωγή του. Το είδος είναι διαδεδομένο αλλά με τάση μείωσης. Απειλείται από τη ξηρασία, τη ρύπανση των υδάτων και τη κατασκευή φραγμάτων. Στη παρούσα εργασία συλλέχθηκαν δεκατέσσερα άτομα από τη τεχνητή λίμνη Πολυφύτου του ποταμού Αλιάκμονα. Ακολούθησε εξαγωγή DNA από τμήμα του ουραίου περυγίου, ενίσχυση του μιτοχονδριακού γονιδίου 16S rDNA με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και τέλος ανάλυση πρωτοδιάταξης των ενισχυμένων προϊόντων. Το προϊόν της PCR ήταν περίπου 600 ζεύγη βάσεων, ενώ η ακολουθία του γονιδίου που διαβάστηκε με την ανάλυση πρωτοδιάταξης ήταν 555 ζεύγη βάσεων. Βρέθηκαν συνολικά τέσσερις απλότυποι στα δεκατέσσερα άτομα που μελετήθηκαν. Ο απλότυπος H1 βρέθηκε σε έντεκα άτομα ενώ οι απλότυποι H2, H3 και H4 παρατηρήθηκαν σε ένα άτομο ο κάθε ένας. Οι απλότυποι H1, H2 και H3 διέφεραν μεταξύ τους σε μία βάση, ενώ ο απλότυπος H4 διέφερε σε δύο βάσεις. Οι τιμές της γενετικής απόστασης μεταξύ των απλοτύπων κυμαίνονταν από 0,000–0,005 ενώ η μέση γενετική απόσταση μεταξύ αυτών βρέθηκε 0,003. Η τιμή της απλοτυπικής ποικιλότητας ήταν $h=0,396$ ενώ αυτή της νουκλεοτιδικής ποικιλότητας βρέθηκε $\pi=0,0001$. Ο μεγάλος αριθμός απλοτύπων καθορίζει την ικανότητα ενός πληθυσμού να αντέξει τις πιέσεις από οποιονδήποτε περιβαλλοντικό παράγοντα. Η μειωμένη όμως γενετική ποικιλότητα που βρέθηκε σε αυτή τη μελέτη, μπορεί να έχει σοβαρές συνέπειες στην επιβίωση και αναπαραγωγή του είδους. Είναι απαραίτητη μία μελλοντική μελέτη με τη χρήση της ανάλυσης πρωτοδιάταξης μιτοχονδριακών γονιδίων περισσότερων ατόμων, η οποία θα συμβάλλει σε σχέδια διαχείρισης του εν λόγω είδους.

GENETIC DIVERSITY STUDY OF SPECIES *Chondrostoma vardarense* (CYPRINIDAE) WITH MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCING ANALYSIS

Mina Amalia, Minos George, Imsiridou Anastasia

*Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Department of Fisheries and
Aquaculture Technology, P.O. Box 157, GR-63200 Nea Moudania, Greece*

Chondrostoma vardarense (Karaman, 1928), known as vardar nase, belongs to Cyprinidae family. It is a demersal, freshwater, endemic species of the Balkan peninsula. It lives in shallow waters, in sandy and rocky substrates which choose for reproduction. The species is widespread but it is decreasing. It is threatened by drought, water pollution and dam construction. For the present study, fourteen individuals were collected from the Polyphytos artificial lake of the river Aliakmonas (Kozani, Greece). DNA extraction was made from caudal fin, followed by PCR amplification of the mitochondrial 16S rDNA gene and finally sequencing analysis of the amplified products. The PCR product was roughly 600 base pairs and the gene sequence that was read with the sequencing analysis, was 555 base pairs. Four haplotypes were found in total among the fourteen individuals studied. Haplotype 1 was found in eleven individuals, while haplotypes 2, 3 and 4 were each observed in one individual. The three haplotypes 1, 2 and 3 differed to each other in one nucleotide, while haplotype 4 differed in two nucleotides. Values of genetic distance among haplotypes ranged from 0.000 to 0.005 and the mean genetic distance among them was found 0.003. The value of haplotype diversity in the population was $h=0.396$, while the value of nucleotide diversity was estimated $\pi=0.0001$. The large number of haplotypes defines the ability of a population to withstand the pressure of any environmental factor. The decreased genetic diversity found in this study, can have serious effects on the survival and reproduction of the species. A future study of more *Chondrostoma vardarense* individuals is necessary - with the sequencing analysis of mitochondrial genes - which will contribute to management plans of the species.

ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΝΟΘΕΙΑΣ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ ΜΕ DNA ΑΝΑΛΥΣΗ

Μηνούδη Στυλιανή, Καραΐσκου Νικολέτα, Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος
*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.,
Πανεπιστημιούπολη, 54124, Θεσσαλονίκη*

Η επιλογή ενός προϊόντος από τον καταναλωτή βασίζεται κυρίως στον τρόπο ζωής του, τη θρησκεία του, τη διατροφή του και τις ανησυχίες του για την υγεία. Για το λόγο αυτό επιβάλλεται από την ευρωπαϊκή νομοθεσία η ακριβής επισήμανση των τροφίμων. Αυτό είναι απαραίτητο ειδικά στην περίπτωση των μεταποιημένων προϊόντων διατροφής, όπου η διάκριση των διαφόρων συστατικών μπορεί να είναι δύσκολη. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις οι ετικέτες των προϊόντων είναι ανακριβείς, με πιθανό αποτέλεσμα την ακούσια ή εκούσια παραπλάνηση και εξαπάτηση του καταναλωτή. Χαρακτηριστικότερο και πιο πρόσφατο παράδειγμα αποτελεί το διατροφικό σκάνδαλο του 2013 όπου εντοπίστηκε κρέας αλόγου σε διάφορα προϊόντα κρέατος με τη βοήθεια ανάλυσης DNA. Σκοπός της έρευνας μας ήταν να εκτιμήσουμε την κατάσταση της ελληνικής αγοράς σήμερα, εντοπίζοντας τυχόν νοθείες. Για το λόγο αυτό, λήφθηκαν 50 διαφορετικά εμπορικά προϊόντα κρέατος από τα οποία απομονώθηκε DNA. Στη συνέχεια, με συμβατική PCR ενισχύθηκε το μιτοχονδριακό γονίδιο του κυτοχρώματος b, χρησιμοποιώντας εκκινητές για έξι διαφορετικά είδη: χοίρος, μοσχάρι, κοτόπουλο, άλογο, πρόβατο και κατσίκι. Παρατηρήθηκαν ανακριβείς της επισήμανσης των τροφίμων σε μεγάλο ποσοστό. Συχνότερα εντοπίστηκε DNA μοσχαριού και κοτόπουλου σε δείγματα που δεν αναγραφόταν η περιεκτικότητά τους στα συγκεκριμένα είδη. Σε ένα πολύ μικρό ποσοστό εντοπίστηκε και DNA αλόγου (ακόμη και σε προϊόντα εταιρειών που είχε αποκαλυφθεί παλιότερα από τον ΕΦΕΤ η ύπαρξη κρέατος αλόγου). Αυτή τη στιγμή τα δείγματα ελέγχονται με τη χρήση της real time PCR, έτσι ώστε να γίνει ποσοτικοποίηση της περιεκτικότητας του DNA κάθε είδους στα εκάστοτε δείγματα.

QUALITATIVE DETECTION OF FRAUD IN FOOD BASED ON DNA ANALYSIS

Minoudi Styliani, Karaïskou Nikoleta, Triantafyllidis Alexandros

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

The choice of a product by the consumer is based primarily on his lifestyle, religion, nutrition and his concerns about health. For this reason, the accurate food labeling is embedded by European legislation. This is essential especially in the case of processed food products where the distinction of the various components can be difficult. However, many times the products' labels are inaccurate resulting in unintentional or deliberate deception of the consumer. The most recent and typical example is the food scandal of 2013 where horse DNA was detected in various meat products. The aim of our study was to assess the state of the Greek market today, identifying any adulteration. For this reason, 50 different commercial meat products were obtained, from which DNA was isolated. Subsequently, the mitochondrial gene cytochrome b was amplified by conventional PCR, using primers for six different species: pig, beef, chicken, horse, sheep and goat. A large percentage of inaccuracies in food labeling were observed. More frequently, beef and chicken DNA were detected in samples that do not include those species (according to their labels). In a very small percentage of products horse DNA was detected (including cases where the Hellenic Food Authority had identified DNA horse in older batches of these products). Samples are currently tested by the use of real time PCR, in order to quantify the levels of DNA of each species in the samples.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ, ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ, ΣΤΗΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΧΗΜΕΙΟ-ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΟΥΣ.

Μητροκάς Γ. Αχιλλέας, Καλαμίδα Δήμητρα, Κουκουράκης Ι. Μιχαήλ
*Μονάδα Ραδιοβιολογίας και Ραδιοπαθολογίας, Τμήμα Ακτινοθεραπείας/Ογκολογίας,
Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Τα μιτοχόνδρια και ο κυτταρικός μεταβολισμός φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική επιβίωση και αποτελούν πιθανούς στόχους με σκοπό την βαθύτερη κατανόηση της νόσου του καρκίνου. Στην συγκεκριμένη επιστημονική μελέτη διερευνήθηκε πως παράγοντες που επηρεάζουν τον μεταβολισμό επιδρούν στον καταβολισμό της resazurin από τα μιτοχόνδρια και εάν αυτοί οι παράγοντες ευαισθητοποιούν τα κύτταρα στην χημειοθεραπεία. Χρησιμοποιήθηκαν οι κυτταρικές σειρές A549 (κυτταρική σειρά καρκίνου του πνεύμονα) και DU145 (κυτταρική σειρά καρκίνου του προστάτη) οι οποίες επώαστηκαν με αμοδαρόνη και μετφορμίνη με σκοπό την μελέτη της αύξησης της αποτελεσματικότητας της χημειοθεραπείας. Επιβεβαιώθηκε ότι η αμοδαρόνη και μετφορμίνη εμφανίζουν συνέργεια με την cisplatin και την docetaxel και στις δύο κυτταρικές σειρές. Επομένως, συμπεραίνουμε ότι αλλαγές στην μεταβολική λειτουργία έχει ως αποτέλεσμα την βελτίωση της επίδρασης χημειοθεραπείας στα καρκινικά κύτταρα. Λαμβάνοντας όλα τα παραπάνω υπόψη, μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι η αμοδαρόνη και η μετφορμίνη αποτελούν πιθανά φάρμακα τα οποία θα μπορέσουν να βελτιώσουν την θεραπεία κατά του καρκίνου, ευαισθητοποιώντας τα κύτταρα στην χημειοθεραπεία.

EFFECT OF MITOCHONDRIAL METABOLISM INTERFERING AGENTS (MMIAS) ON CANCER CELL MITOCHONDRIAL FUNCTION AND CHEMO-SENSITIVITY

Mitrakas G. Achilleas 1, Kalamida Dimitra 1, Koukourakis I. Michael 1

*Unit of Radiobiology and Radiopathology, Department of Radiotherapy/Oncology, School of
medicine, Democritus University of Thrace*

Mitochondria and cell metabolism play a crucial role on cell survival and constitute potential target in order to obtain deeper knowledge about cancer. This current study had focused on how metabolism interfering agents affect on metabolism of resazurin in mitochondria and if these drugs could sensitize the cells to chemotherapy. A549 (lung cancer cell line) and DU145 (prostate cancer cell line) were used and treated with amiodarone and metformin in order to investigate if chemotherapy could be more efficient. It is proved that amiodarone and metformin has a synergetic activity with cisplatin and docetaxel on both of these cell lines. Thus, we conclude that changes on metabolic functions could improve the effect of chemotherapy on cancer treatment. Taking all the results into account we can support that amiodarone and metformin constitute two potential drugs which could help us to improve cancer treatment, sensitizing the cancer cells to chemotherapy.

**ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ ORIGANUM VULGARE SSP.
HIRTUM ΧΗΜΕΙΟΤΥΠΟΥ ΚΑΡΒΑΚΡΟΛΗΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΡΟΦΟΓΕΝΩΝ
ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ**

**Μητροπούλου Γρηγορία¹, Νικολάου Αναστάσιος¹, Μπιμπίλας Ανδρέας², Τσιμογιάννης
Δημήτρης², Ωραιοπούλου Βασιλική², Κουρκουτάς Ιωάννης¹**

*1/Ερευνητική Ομάδα Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας και Μοριακής Βιοτεχνολογίας,
Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Δραγάνα,
Αλεξανδρούπολη, 68100, Ελλάδα. , 2/Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων,
Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα, Ελλάδα.*

Τα αιθέρια έλαια είναι σύνθετα μίγματα πτητικών δευτερογενών μεταβολιτών από φυτά με σημαντική αντιμικροβιακή δράση. Όμως, μόνο πρόσφατα η χρήση τους ως πρόσθετα τροφίμων έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον, λόγω της διαθεσιμότητάς τους και των ελάχιστων τοξικών επιδράσεων σε σχέση με τις συνθετικές ενώσεις. Συνεπώς, ο στόχος της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η μελέτη πιθανής αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* χημειότυπου καρβακρόλης έναντι τροφογενών παθογόνων βακτηρίων. Το αιθέριο έλαιο απομονώθηκε με ατμοαπόσταξη και ακολούθησε GC/MS ανάλυση. Το κύριο συστατικό που ταυτοποιήθηκε ήταν η καρβακρόλη (48.6 %). Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε *in vitro* η αντιβακτηριακή δράση έναντι των *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* typhi, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* και *Staphylococcus epidermidis*. Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες προσδιορίστηκαν αρχικά με την μέθοδο διάχυσης με χρήση δισκίων (disk diffusion assay) και μετά υπολογίστηκαν η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) και η μη ανασταλτική συγκέντρωση (NIC) συσχετίζοντας τις τιμές οπτικής απορρόφησης από microplate reader με μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (non-linear regression analysis). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* χημειότυπου καρβακρόλης είναι ένας δραστικός παράγοντας παρεμπόδισης ανάπτυξης των παραπάνω βακτηρίων και αποτελεί μια αποτελεσματική και χαμηλού κόστους πηγή φυσικών αντιμικροβιακών μέσων με πολλαπλές πιθανές εφαρμογές στην βιομηχανία τροφίμων.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ORIGANUM VULGARE SSP. HIRTUM (CARVACROL CHEMOTYPE) ESSENTIAL OIL AGAINST FOODBORNE PATHOGENIC BACTERIA

**Mitropoulou Gregoria¹, Nikolaou Anastasios¹, Bimpilas Andreas², Tsimogiannis Dimitrios²,
Oreopoulou Vasiliki², Kourkoutas Yiannis¹**

1//Applied Microbiology and Molecular Biotechnology Research Group, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Dragana, Alexandroupolis, GR 68100, Greece. , 2/Laboratory of Food Chemistry and Technology, School of Chemical Engineering, National Technical University of Athens, Athens, Greece.

Essential oils are complex mixtures of volatile secondary metabolites isolated from plants with significant antimicrobial action. However, only recently, their use as food supplements has attracted attention, due to their availability and negligible toxic effects compared to synthetic compounds. Hence, the aim of the present study was to investigate potential antimicrobial action of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (carvacrol chemotype) essential oil against foodborne pathogenic bacteria. The essential oil was isolated by steam distillation and analyzed by GC/MS analysis. The main component identified was carvacrol (48.6 %). Subsequently, in vitro antibacterial activities were evaluated against *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* typhi, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. The antimicrobial properties were initially assayed by the disk diffusion method and then the minimum inhibitory (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values were assessed using a microplate reader and an automated technique which combines the absorbance measurements with the common dilution method. Non-linear regression analysis was used to fit the data using a previously published model. The results revealed that *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (carvacrol chemotype) essential oil is a noteworthy growth inhibitor against the bacteria studied, indicating that it represents an effective and inexpensive source of potent natural antibacterial agents with many applications in food industry.

ΕΞΟΡΥΞΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΥΔΡΟΞΥΤΥΡΟΣΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΕΛΙΑ (OLEA EUROPEAE cv. KORONEIKI).

Μούγιου Νίκη ^{1,2}, Τραντάς Εμμανουήλ ³, Αργυρίου Αναγνώστης ², Βερβερίδης Φίλιππος ³, Μακρής Αντώνιος ², Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος ¹

*1/ Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη 2/ Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων
Βιοεπιστημών, ΕΚΕΤΑ, 6ο χλμ Χαριλάου- Θέρμης, 57001 Θέρμη, Θεσσαλονίκη 3/
Εργαστήριο Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας Φυτών, Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων, ΤΕΙ
Κρήτης, 71004 Ηράκλειο Κρήτης*

Η υδροξυτυροσώλη είναι μία φαινολική ένωση, παράγωγο της ελευρωπαίνης, με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση που συναντάται άφθονη στην ελιά. Η κατανάλωση υδροξυτυροσώλης και ελευρωπαίνης μέσω του ελαιολάδου και των καρπών της ελιάς έχει συσχετισθεί με ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία. Επιπλέον η υδροξυτυροσώλη έχει υψηλή αντιβακτηριδιακή δράση ενάντια σε ορισμένα παθογόνα βακτήρια των φυτών. Το μονοπάτι βιοσύνθεσης της υδροξυτυροσώλης στην ελιά δεν είναι αποσαφηνισμένο. Σκοπός της έρευνάς μας είναι ο εντοπισμός των γονιδίων της ελιάς που θεωρητικά εμπλέκονται στη βιοσύνθεση της υδροξυτυροσώλης. Έγινε μελέτη του μεταγραφώματος του καρπού ελιάς (cv. Κορωνέικη), ηλικίας 30 ημερών μετά την καρπόδεση, χρησιμοποιώντας RNA-seq. Από την αλληλούχιση του μεταγραφώματος προέκυψαν 76272 μοναδικά μετάγραφα, εκ των οποίων τα 53864 μπορούν να χαρακτηριστούν λειτουργικά σε βάσεις δεδομένων. Η βιοπληροφορική ανάλυση των αποτελεσμάτων εντόπισε τα 4 γονίδια που ενδέχεται να συμμετέχουν στη βιοσύνθεση της υδροξυτυροσώλης: την αποκαρβοξυλάση της τυροσίνης (TDC), την μονοαμινική οξειδάση (MAO), την αναγωγή της φαινυλακεταλδεϋδης (PAR) ή αλκοολική αφυδρογονάση (ALDH) και την τυροσινάση (TYR). Το μεταγράφημα του καρπού της ελιάς έφερε δώδεκα μετάγραφα του TDC, έξι του MAO, εννέα του ALDH και έξι του TYR. Για κάθε γονίδιο επιλέχθηκε το μετάγραφο που έφερε ακέραιο αναγνωστικό πλαίσιο και τη μεγαλύτερη ομολογία με αντίστοιχα μετάγραφα από άλλες ποικιλίες ελιάς. Η πρωτεΐνη TYR φέρει 99% ομολογία με τις αντίστοιχες των ποικιλιών ελιάς Coratina και Dolce d' Andria, η MAO 88% με την ποικιλία Tendellone, η TDC 68% με την Coratina και η ALDH 99% με την Carolea. Τα γονίδια αυτά θα χρησιμοποιηθούν στην προσπάθεια ανασύστασης του μονοπατιού σε άλλους οργανισμούς. Η έρευνα χρηματοδοτείται από το πρόγραμμα “ΘΑΛΗΣ BIOHYDROX-T - MIS380210”, στο πλαίσιο του ΕΣΠΑ.

IDENTIFICATION OF THE GENES INVOLVED IN THE BIOSYNTHESIS OF HYDROXYTYROSOL IN OLIVE (OLEA EUROPEAE cv. KORONEIKI).

Mougiou Niki ^{1,2}, Trantas Emmanouil ³, Argiriou Anagnostis ², Ververidis Filippos ³, Makris Antonios ², Vlachonasios Konstantinos

1/ Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki 2/ Institute of Applied BioSciences, CERTH, 6th km Charilaou-Thermis, 57001 Thermi Thessaloniki 3/ Laboratory of Plant Biochemistry and Biotechnology, Department of Agricultural Technology, TEI of Crete, 71004 Heraklion, Greece

Hydroxytyrosol (HT), a derivative of oleuropein, is a phenolic compound with high antioxidant activity present in olive fruits. HT and oleuropein consumption through olive oil and fruits has been correlated with health benefits in humans. Moreover HT has antibacterial activity against various plant pathogenic bacteria. HT biosynthesis pathway is not yet clarified. Our goal is to identify the genes that are proposed to be involved in olive HT biosynthesis. We use RNA-seq of the cv. Koroneiki fruit, at age 30 days after fruit set. The transcriptome analysis data revealed 76272 unigenes (unique transcripts), 53864 of which were functionally annotated in databases. The 4 proposed genes for HT biosynthesis, the tyrosine decarboxylase (TDC), the monoamine oxidase (MAO), the phenylacetaldehyde reductase (PAR) or alcohol dehydrogenase (ALDH) and the tyrosinase (TYR) were identified through bioinformatics analysis. The olive transcriptome bears 12 TDC, 6 MAO, 9 ALDH and 6 TYR partial transcripts. For each gene was chosen the transcript that had an intact open reading frame and the highest homology with translated transcripts in other Olive cultivars. For instance, the TYR protein from Koroneiki has 99% homology with Coratina and Dolce d' Andria cultivars, MAO has 88% homology with Tendellone, TDC has 68% with Coratina and ALDH has 99% homology with Carolea. These genes will be used in our effort to reconstitute the HT biosynthesis pathway in other organisms. This project is funded by the program "THALES BIOHYDROX-T, MIS 380210" within the framework of NSRF.

**ΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΦΩΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΙ -
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΗΣ ΠΟΙΝΣΕΤΤΙΑΣ
(*Euphorbia pulcherrima*)**

**Μουστάκα Ιουλιέττα¹, Αδαμάκης Ιωάννης-Δημοσθένης¹, Τάνου Γεωργία², Παντελής
Εμμανουήλ¹, Διαμαντίδης Γρηγόριος², Ελευθερίου Π. Ελευθέριος¹, Μουστάκας
Μιχάλης¹**

*1Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη 2Τμήμα Γεωπονίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη*

Το αλεξανδρινό ή ποϊνσέττια συγκαταλέγεται ανάμεσα στα πιο εμπορικά καλλωπιστικά φυτά παγκοσμίως, γεγονός που οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στις τρεις αποχρώσεις του φυλλώματός του (κόκκινα-βράκτια, πράσινα και κοκκινωπά φύλλα). Η διαφορά στο χρώμα των φύλλων οφείλεται στη διαφορετική συγκέντρωση ανθοκυανινών, η οποία επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η φωτοπερίοδος. Τα κόκκινα φύλλα βρέθηκε ότι ήταν περίπου δύο φορές παχύτερα από τα πράσινα εξαιτίας των μεγάλων μεσοκυττάρων χώρων στο μεσόφυλλο, το οποίο επιπλέον δεν διακρίνονταν σε δρυφακτοειδές και σπογγώδες παρέγχυμα, όπως στα πράσινα. Ανατομικά, τα κοκκινωπά φύλλα είχαν ενδιάμεσο πάχος, με υποανάπτυκτο δρυφακτοειδές παρέγχυμα. Στα κόκκινα φύλλα εντοπίστηκαν κόκκινα-χρωματισμένα κύτταρα με συσσώρευση ανθοκυανινών τόσο στα επάνω και κάτω θηλόμορφα επιδερμικά κύτταρα, όσο και στα γειτονικά κύτταρα του μεσοφύλλου. Τα πράσινα φύλλα δεν περιείχαν κόκκινα-χρωματισμένα κύτταρα, ενώ στα κοκκινωπά περιοριζόνταν στα άνω επιδερμικά κύτταρα. Διαπιστώθηκε ότι ο φωτοπροστατευτικός μηχανισμός των πράσινων και των κοκκινωπών φύλλων είναι διαφορετικός, με τα τελευταία να διαθέτουν μεγαλύτερη ικανότητα εξουδετέρωσης (εκκαθάρισης) του H₂O₂, ενμέρει οφειλόμενη στη μεγαλύτερη ενζυμική δράση της ισομορφής 1 της ασκορβικής υπεροξειδάσης (APX 1). Τα κοκκινωπά φύλλα διέθεταν όχι μόνο μεγαλύτερη μέγιστη φωτοχημική απόδοση (Fv/Fm) και πραγματική (λειτουργική) φωτοχημική απόδοση (Fv/Fm), σε σχέση με τα πράσινα φύλλα, επομένως και μεγαλύτερο ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR), αλλά και περισσότερα ανοικτά κέντρα αντίδρασης (QA+>QA-). Επίσης τα κοκκινωπά φύλλα παρουσίασαν μικρότερη φωτοπροστατευτική αποβολή ενέργειας υπό μορφή θερμότητας, δηλαδή μικρότερη μη φωτοχημική απόσβεση ενέργειας (NPQ). Συμπεραίνεται ότι η επαγωγή του φωτοπροστατευτικού μηχανισμού NPQ στα κοκκινωπά φύλλα δεν είναι αναγκαία σε μικρές εντάσεις φωτοσυνθετικά ενεργού ακτινοβολίας (200 μE m⁻²s⁻¹), σε αντίθεση με τα πράσινα φύλλα όπου κρίνεται αναγκαία επειδή διαθέτουν μικρότερη συγκέντρωση ανθοκυανινών για την απομάκρυνση της πλεονάζουσας ακτινοβολίας.

STRUCTURAL CHARACTERISTICS AND PHOTOPROTECTIVE - ANTIOXIDATIVE MECHANISMS OF POINSETTIA (*Euphorbia pulcherrima*) LEAVES

**Moustaka Julietta¹, Adamakis Ioannis-Dimosthenis¹, Tanou Georgia², Panteris Emmanuel¹,
Diamantidis Grigorios², Eleftheriou P. Eleftherios¹, Moustakas Michael¹**

1Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece 2Department of Horticulture, School of Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

Red (bracts), reddish and green leaves of poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*), a valuable floriculture plant worldwide, have differential vacuolar anthocyanin accumulation, which is influenced by environmental factors such as temperature and photoperiod. Anatomically, red leaves were about two-fold thicker than green leaves due to their extensive intercellular spaces in the mesophyll, which moreover was not distinguished in palisade and spongy parenchyma, as in green leaves. Reddish leaves exhibited intermediate thickness and poorly developed palisade parenchyma. In red leaves, red-pigmented cells with anthocyanin accumulation were found in both the upper and lower papilla-like epidermal cells and in sub-epidermal mesophyll cells. Green leaves did not contain red-pigmented cells, while in the reddish ones they were restricted to the upper epidermis. A differential photoprotective mechanism was revealed between green and reddish leaves with the second ones exhibiting a higher H₂O₂-scavenging capacity, in part due to their higher ascorbate peroxidase isoform 1 (APX 1) activity. Reddish leaves when compared to green ones, possessed not only a higher maximum quantum yield (F_v/F_m) and an actual quantum yield (ΦPSII), implying a higher electron transport rate (ETR), but also a higher oxidized redox state of quinone A (QA) and a reduced non-photochemical quenching (NPQ) for photoprotective heat dissipation. It is concluded that the induction of the NPQ photoprotective mechanism was not necessary in reddish leaves under low light (200 μE m⁻²s⁻¹), in contrast to green leaves, in which the NPQ photoprotective mechanism was essential due to lower anthocyanin accumulation to attenuate light energy.

Η ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΟ DHA ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ EOL-1.

**Μουστάκα Καλλιόπη 1, Λαμπριανίδου Ανδρομάχη 1, Λέκκα Μαρία-Ελένη 2, Τράγκα
Θεώνη 1, Κητσιούλη Ειρήνη 1**

*1)Εργαστήριο Βιοχημείας,Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, Ελλάδα 2)Εργαστήριο Βιοχημείας,Τμήμα Χημείας,Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,
Ελλάδα*

Η EOL-1 κυτταρική σειρά εκφράζει μία ιδιοσυστατικά ενεργή κινάση τυροσίνης ,η οποία κωδικοποιείται από το χιμαιρικό γονίδιο FIP1L1 - PDGFRA(F/P). Το χιμαιρικό αυτό γονίδιο είναι η πιο συχνή γενετική ανωμαλία σε ασθενείς με υπερηωσινοφιλικό σύνδρομο(HES) Στην παρούσα μελέτη ,ερευνήθηκε η επίδραση του εικοσιδυο-εξα-εν-νοϊκού οξέος(DHA), ενός ω - 3 πολυακόρεστου λιπαρού οξέος, στον πολλαπλασιασμό της κυτταρικής σειράς EOL - 1 και ο μηχανισμός της αντιπολλαπλασιαστικής του δράσης .Το DHA ανέστειλε την ανάπτυξη των EOL-1 μετά από 3 ημέρες με δόσοεξαρτώμενο τρόπο . Το DHA προκάλεσε καθήλωση στη G0 / 1 φάση του κυτταρικού κύκλου . Επιπλέον , το DHA, επάγει την έκφραση του γονιδίου PTAFR mRNA . Το γονίδιο PTAFR κωδικοποιεί τον υποδοχέα για τον παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) και η έκφρασή του υποδηλώνει την διαφοροποίηση των EOL - 1 κυττάρων. Προσδιορίστηκαν οι ενζυμικές ενεργότητες των cPLA2, ενός υδρολυτικού ενζύμου (Ca²⁺ + εξαρτώμενη φωσφολιπάση A2 ή cPLA2) το οποίο υδρολύει και απελευθερώνει το εστεροποιημένο λιπαρό οξύ στην sn- 2 θέση των φωσφολιπιδίων καθώς και της ακετυλνυδρολάσης του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF-AH). Παρατηρήθηκε ότι το DHA μετέβαλλε τόσο την κυτοσολική όσο και την εκκρινόμενη ενεργότητα cPLA2 και την PAF-AH, κατά τον ίδιο τρόπο όπως και το βουτυρικό, έναν καθιερωμένο παράγοντα διαφοροποίησης των EOL-1. Τα δύο προαναφερθέντα ένζυμα είναι γνωστά ως φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Τα ανωτέρω ευρήματα υποδεικνύουν ότι το DHA επάγει διαφοροποίηση της κυτταρικής σειράς EOL 1. Αυτό μπορεί να συσχετισθεί με την αποσταθεροποίηση του μηνύματος mRNA του ογκογονιδίου c-Myc και την μείωση των επιπέδων του που παρατηρήθηκε 2 ώρες μετά την έκθεση στον παράγοντα.Το DHA είναι μια φυσική ουσία η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένα μελλοντικό θεραπευτικό εργαλείο εναντίον του υπερηωσινοφιλικού συνδρόμου.

DHA INDUCED DIFFERENTIATION OF EOL-1 CELL LINE.

Moustaka Kaliopi, Labrianidou Andromahi, Lekka Maria-Eleni, Trangas Theoni, Ktsiouli Eirini

DHA INDUCED DIFFERENTIATION OF EOL-1 CELL LINE.

EOL-1 cell line expresses a constitutively active tyrosine kinase encoded by the fusion gene FIP1L1 - PDGFRA(F/P). This fusion gene is the characteristic genetic abnormality in patients with hypereosinophilic syndromes (HES). In the present study, the effect of docosahexaenoic acid (DHA, an omega-3 polyunsaturated fatty acid) upon the proliferation of the EOL-1 cell line was assessed and the mechanism of the antiproliferative action was investigated. DHA inhibited growth dose-dependently after 3 days. DHA caused growth arrest at G0/1 phase of the cell cycle. Moreover, DHA, induced the expression of PTAFR mRNA gene. The PTAFR gene encodes the receptor of platelet activating factor (PAF) and its expression implies the differentiation of EOL-1 cells. The enzymic activities of cPLA2 a hydrolytic enzyme (Ca²⁺ dependent phospholipase A2 or cPLA2) which cleaves and liberates the fatty acid esterified at the sn-2 position of phospholipids as well as platelet activating factor acetyl hydrolase (PAF-AH) were measured. It was shown that DHA altered both the intracellular and extracellular activities of cPLA2 and PAF-AH in the same manner as butyrate, an established differentiating agent of EOL-1 cell line. Both these enzymes are known as inflammatory mediators. The above findings suggest that DHA induces differentiation of EOL cell line. This can be correlated with the destabilization and decrease of c-Myc mRNA levels observed 2 hours after exposure to the agent. DHA is a natural substance which could be used as a future therapeutic tool against F/P+ hypereosinophilic syndrome.

ΣΠΑΝΙΑ ΚΑΙ ΑΠΕΙΛΟΥΜΕΝΑ ΦΥΤΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΧΩΡΙΣ ΕΠΙΤΟΠΙΑ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ

Μπάγκου Ευ.¹, Κρίγκας Ν.^{1,2}, Βώκου Δ.¹

1/ Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, 2/ Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Χαρτογραφήθηκαν οι ελληνικοί πληθυσμοί ($n=1.890$) των Σπάνιων και Απειλούμενων Φυτών της χώρας ($n=473$) με χρήση Συστημάτων Γεωγραφικών Πληροφοριών (GIS) και ελέγχθηκε η κατανομή τους ως προς τα όρια των περιοχών του ελληνικού δικτύου Natura 2000. Βρέθηκε ότι για 199 taxa, όλοι οι πληθυσμοί τους εμπίπτουν εντός περιοχών του δικτύου, ενώ για άλλα 197 taxa, υπάρχει εντός τους τουλάχιστον ένας. Ωστόσο, για 77 Σπάνια και Απειλούμενα φυτά της χώρας (16,3%), δεν περιλαμβάνεται κανένας πληθυσμός στο ελληνικό τμήμα του δικτύου. Ανάμεσα στα τελευταία, συγκαταλέγονται 7 Κρισίμως Κινδυνεύοντα (π.χ. *Satureja acropolis*), 22 Κινδυνεύοντα (π.χ. *Dianthus ingoldbyi*), 33 Τρωτά (π.χ. *Fritillaria spetsiotica*), 13 Σπάνια (π.χ. *Erysimum naxense*) και το Σχεδόν Απειλούμενο *Asperula saxicola*. Οι περισσότεροι πληθυσμοί φυτών χωρίς επιτόπια προστασία βρίσκονται στις φυτογεωγραφικές περιοχές της Στερεάς Ελλάδας (23 taxa) και της Πελοποννήσου (17 taxa). Για τα φυτά αυτά θα πρέπει να θεσμοθετηθούν μικρο-αποθέματα επειγόντως.

RARE AND THREATENED PLANTS OF GREECE NOT PROTECTED IN SITU

Bagkou E.¹, Krigas N.^{1,2}, Vokou D.¹

1/ Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, 2/ Laboratory of Systematic Botany & Phytogeography, Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki

Using GIS (Geographic Information Systems), we mapped all Greek populations (n=1,890) of the Rare and Threatened Plants of the country (n=473). We also examined their distribution in relation to the boundaries of the Greek Natura 2000 network. We found that all populations of 199 of these taxa and at least one of another 197 fall within this network. However, for 77 taxa (16.3% of the Rare and Threatened Plants of the country), none of their populations is included in the network. Among them, there are 7 Critically Endangered plants (e.g. *Satureja acropolitana*), 22 Endangered (e.g. *Dianthus ingoldbyi*), 33 Vulnerable (e.g. *Fritillaria spetsiotica*), 13 Rare (e.g. *Erysimum naxense*) and the Near Threatened *Asperula saxicola*. Most of the non-protected populations are located in Sterea Ellada (23 taxa) and Peloponnese (17 taxa). A network of micro-reserves should be established urgently for these plants.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΑΥΤΟΦΑΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΛΥΣΟΣΣΩΜΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΕΓΚΕΦΑΛΟ ΚΑΙ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΟΣ

**Μπαμπαλή Ζωή¹, Μητρούκας Γ. Αχιλλέας¹, Καλαμίδα Δήμητρα¹, Γιατρομανωλάκη
Αλεξάνδρα², Κουκουράκης Ι. Μιχαήλ¹**

*1) Μονάδα Ραδιοβιολογίας και Ακτινοπαθολογίας, Κλινική Ακτινοθεραπείας/
Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη 2)
Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο
Θράκης, Αλεξανδρούπολη*

Το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα είναι ο πιο επιθετικό όγκος του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η αυτοφαγία είναι ένα ενδοκυτταρικό μονοπάτι που αποσκοπεί στην ανακύκλωση κατεστραμμένων πρωτεϊνών και οργανιδίων μέσω μιας διαδικασίας εγκόλπωσης τους στα αυτοφαγοσώματα και σύντηξης με τα λυσοσώματα. Οι βασικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στο μονοπάτι είναι η LC3A και LC3B (πρωτεΐνες των αυτοφαγοσωμάτων), Lamp2a (πρωτεΐνη των λυσοσσωμάτων), Cathepsin D (πρωτεάση των λυσοσσωμάτων) και η p62 (μεταφορέας κατεστραμμένων οργανιδίων στα αυτοφαγοσώματα). Στη μελέτη αυτή, διερευνήθηκε το πρότυπο έκφρασης των πρωτεϊνών αυτών σε φυσιολογικό ιστό και σε δύο καρκινικές σειρές γλοιοβλαστώματος με Western Blot analysis. Επίσης, μελετήθηκε ο εντοπισμός των LC3A και LC3B στα καρκινικά κύτταρα που επωάστηκαν με Bafilomycin A (αναστολέας της ύστερης αυτοφαγίας) με συνεστιακή μικροσκοπία. Τέλος, μελετήθηκε το πρότυπο έκφρασης της LC3 σε καρκινικά κύτταρα που υποβλήθηκαν σε stress που προσομοιάζουν το περιβάλλον του όγκου με ανοσοιστοχημεία. Συμπερασματικά, ο φυσιολογικός εγκέφαλος εμφανίζει την proLC3A και την LC3A-I αλλά όχι την LC3A-II η οποία εκφράζεται στα κύτταρα U87MG ενώ έχει χαμηλή έκφραση στα κύτταρα T98G. Αντίθετα, καμία μορφή της LC3B δεν εκφράζεται έντονα στον φυσιολογικό εγκέφαλο και στα κύτταρα T98G αλλά έχει έντονη έκφραση στα U87MG. Επιπλέον, οι δύο αυτές πρωτεΐνες δεν εμφανίζουν κανέναν συν-εντοπισμό ακόμη και παρουσία της Bafilomycin A. Τέλος, τα ανοσοιστοχημικά ευρήματα έδειξαν επαγωγή των αυτοφαγικών κυστιδίων και των δομών SLS (stone-like structure) σε έκθεση στην 2DG και στις δύο κυτταρικές σειρές, ενώ σε χαμηλό pH παρατηρήθηκε αύξηση τους μόνο στα U87MG. Οι υπόλοιπες αυτοφαγικές πρωτεΐνες έδειξαν το εξής πρότυπο: α) p62, χαμηλή έκφραση στο φυσιολογικό εγκέφαλο, έντονη στις καρκινικές σειρές, β) Lamp2a, Cathepsin D, έντονη έκφραση στην κυτταρική σειρά U87MG, μειωμένη έκφραση στα T98G, απουσία έκφρασης στον φυσιολογικό ιστό.

AUTOPHAGY AND LYSOSOMAL RELATED PROTEIN EXPRESSION PATTERNS IN HUMAN NORMAL BRAIN AND GLIOBLASTOMA CELL LINES.

**Mpampali Zoi ¹, Mitrakas G. Achilleas ¹, Kalamida Dimitra ¹, Giatromanolaki Alexandra ²,
Koukourakis I. Michael ¹**

1) Unit of Radiobiology and Radiopathology, Department of Radiotherapy/Oncology, School of Medicine, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, 2) Department of Pathology, School of Medicine, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis

Glioblastoma is the most aggressive tumor of central nervous system. Autophagy is an intracellular pathway that aims at recycling of damaged proteins and organelles via a process of engulfing them in autophagosomes and fusing with lysosomes. The basic proteins that take part in this pathway are LC3A and LC3B (autophagosomes' proteins), Lamp2a (lysosomal membrane protein), Cathepsin D (lysosomal protease) and p62 (carries damaged organelles to the autophagosomes). In this study, we investigated the expression pattern of these proteins in normal tissue and two glioblastoma cell lines with Western Blot Analysis. Moreover, we studied the localization of LC3A and LC3B in glioblastoma cells after incubation with Bafilomycin A (late autophagy inhibitor) using confocal microscopy. Finally, we used immunohistochemistry to study the expression pattern of LC3 in cancer cells exposed to various stress factors that simulate tumor environment. Overall, normal brain expressed proLC3A and LC3A-I, but not LC3A-II. This later form was intensively present in U87MG cells and to a lower extent in T98G. In contrast, none of the LC3B forms was expressed in normal brain and T98G cells, whilst an intense expression was evident in U87MG. Moreover, LC3A and B autophagosomes were distinct between them, as confirmed by the lack of co-localization in immunofluorescence, even in the presence of Bafilomycin A. Finally, immunohistochemical findings showed induction of autophagic vesicles and stone-like structures (SLS) in both cancer cell lines under 2DG exposure, but their expression was increased only in U87MG under low pH exposure. All the other autophagic proteins showed the following pattern: a) p62, weak expression in normal brain, intense expression in cancer cell lines, b) Lamp2a, Cathepsin D, intense expression in U87MG cell line, weak expression in T98G cell line and lack of expression in normal tissue.

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΟΣ ΝΕΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ PSEUDOMONAS

Μπαμπέτσα Μαρία, Σιβροπούλου Αφροδίτη

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

Σε προηγούμενη μελέτη μας, απομονώθηκε ένα βακτήριο από διάλυμα που προσομοιάζει τα υγρά του σώματος, ταυτοποιήθηκε σε επίπεδο γένους ως *Pseudomonas* και ονομάστηκε στέλεχος A1. Το στέλεχος *Pseudomonas* A1 έχει την ικανότητα να διαλυτοποιεί φωσφορικό ασβέστιο, αποτρέπει το σχηματισμό υδροξυαπατίτη σε δοκίμια βιουάλου και προκαλεί σημαντική μείωση της επιφανειακής σύστασης των δοκιμίων σε ασβέστιο και φώσφορο. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η ταξινόμηση του στελέχους *Pseudomonas* A1 σε επίπεδο είδους. Φυλογενετική ανάλυση του γονιδίου 16S rRNA του στελέχους *Pseudomonas* A1, έδειξε ότι παρουσιάζει τον ίδιο βαθμό συγγένειας με τα είδη *P.alcaliphila*, *P.medocina* και *P.toyotomiensis*. Η διερεύνηση των φυσιολογικών χαρακτηριστικών του στελέχους *Pseudomonas* A1 έδειξε ότι διαφέρει από τα συγγενικά του είδη ως προς το εύρος θερμοκρασιών (40C έως 46oC) και pH (5 έως 12) στα οποία αναπτύσσεται. Με βάση τα βιοχημικά χαρακτηριστικά διαπιστώθηκε ότι το στέλεχος *Pseudomonas* A1 παρουσιάζει διαφορές με τα είδη *P.toyotomiensis*, *P.alcaliphila*, *P.medocina* και *P.pseudoalcaligenes* σε 5, 3, 2 και 2 βιοχημικούς ελέγχους αντίστοιχα. Τα παραπάνω δεδομένα οδήγησαν σε φυλογενετική ανάλυση με την χρήση των γονιδίων *gyrB* (β-υπομονάδα της DNA γυράσης), *ropB* (β-υπομονάδα της RNA πολυμεράσης) και *ropD* (σίγμα υπομονάδα της RNA πολυμεράσης) και διαπιστώθηκαν τα ακόλουθα: (α) με βάση την αλληλουχία του γονιδίου *gyrB*, το στέλεχος *Pseudomonas* A1 παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια με το είδος *P.toyotomiensis* (ομολογία 95%), (β) με βάση την αλληλουχία του γονιδίου *ropB*, το στέλεχος *Pseudomonas* A1 παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια με το είδος *P.alcaliphila* (ομολογία 97%), (γ) με βάση την αλληλουχία του γονιδίου *ropD*, το στέλεχος *Pseudomonas* A1 παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια με το είδος *P.pseudoalcaligenes* (ομολογία 98%). Τα δεδομένα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το βακτήριο *Pseudomonas* A1 ανήκει σε νέο είδος και προτείνεται το όνομα *Pseudomonas hellenica*.

IDENTIFICATION OF A NEW BACTERIAL SPECIES OF THE GENUS PSEUDOMONAS

Babetsa Maria, Sivropoulou Afroditi

Laboratory of General Microbiology, Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

In a previous study of ours, a bacterium was isolated from a solution that simulates body fluids, identified at the level of genus as *Pseudomonas* and named strain A1. This strain is capable of calcium phosphate solubilization, prevents the formation of hydroxyapatite layer in bioglass specimens and causes considerable decrease of the surface composition of specimens in calcium and phosphorus. The purpose of the present study was the identification of *Pseudomonas* A1 at species level. Phylogenetic analysis of 16S rRNA gene of *Pseudomonas* A1 showed that it presents the same degree of affinity with the species *P.alcaliphila*, *P.medocina* and *P.toyotomiensis*. The investigation of physiological characteristics of *Pseudomonas* A1, showed that differs from related species regarding the range of temperatures (4°C to 46°C) and pH (5 to 12) in which it can grow. Upon comparison of biochemical characteristics, it was found that *Pseudomonas* A1 differs from the species *P. toyotomiensis*, *P. medocina*, *P. alcaliphila* and *P. pseudoalcaligenes* in 5, 3, 2 and 2 biochemical tests, respectively. The investigation of physiological characteristics of *Pseudomonas* A1, showed that differs from related species regarding the range of temperatures (4°C to 46°C) and pH (5 to 12) in which it can grow. The above data led to phylogenetic analysis using *gyrB* gene (β -subunit of DNA gyrase), *ropB* (β -subunit of RNA polymerase) and *ropD* (sigma subunit of RNA polymerase) and found the following: (a) based on *gyrB* gene sequence, *Pseudomonas* A1 shows greater affinity with the species *P. toyotomiensis* (homology 95%), (b) based on the sequence of the gene *ropB*, *Pseudomonas* A1 shows greater affinity with the species *P. alcaliphila* (homology 97%), (c) based on the sequence of the gene *ropD*, *Pseudomonas* A1 shows greater affinity with the species *P. pseudoalcaligenes* (homology 98%). These data lead to the conclusion that *Pseudomonas* A1 belongs to a new species and the suggested name is *Pseudomonas hellenica*.

Η ΑΝΑΣΧΕΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΜΗΚΥΝΣΗΣ ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΤΟΝ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΣΤΟ ΑΚΡΟΡΡΙΖΟ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Arabidopsis thaliana*

**Μπαντοτάκη Ευδοξία¹, Μπλιάτκα Δέσποινα¹, Αδαμάκης Ιωάννης-Δημοσθένης¹, Δάρας Γεράσιμος², Χατζόπουλος Πολυδεύκης², Ελευθερίου Ελευθέριος¹, Ρήγας Σταμάτης²,
Παντερής Εμμανουήλ¹**

1/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη - 2/Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Ο εγκάρσιος προσανατολισμός των περιφερειακών μικροσωληνίσκων καθοδηγεί την απόθεση εγκάρσια προσανατολισμένων μικροϊνιδίων κυτταρίνης στο κυτταρικό τοίχωμα, εξασφαλίζοντας την ανισότροπη επιμήκυνση των κυττάρων. Αντίστροφα, οι ιδιότητες του κυτταρικού τοιχώματος επηρεάζουν την οργάνωση των περιφερειακών μικροσωληνίσκων. Η αμφίδρομη αυτή σχέση μελετήθηκε στα μεταλλάγματα συνθετασών της κυτταρίνης (CesA) *rsw1* (CesA1), *thanatos* (CesA3) και *procuste1* (CesA6), καθώς και στο *rom2-4* (μετάλλαγμα CSI1), του φυτού *Arabidopsis thaliana*, τα οποία εμφανίζουν ελαττωμένη σύνθεση κυτταρίνης και μειωμένη ανάπτυξη. Με έμμεσο ανοσοφθορισμό α-σωληνίνης και παρατήρηση ολόκληρων ακρόρριζων σε συνεστιακό μικροσκόπιο ακτίνων laser, βρέθηκε ότι, τόσο στον άγριο τύπο όσο και στα μεταλλάγματα, οι περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι ήταν εγκάρσια προσανατολισμένοι στα κύτταρα της μεριστωματικής και μεταβατικής ζώνης, καθώς και στα αρχικά κύτταρα της ζώνης επιμήκυνσης. Ωστόσο, ενώ στον άγριο τύπο ο εγκάρσιος προσανατολισμός παρέμενε μέχρι και την αρχή της ζώνης διαφοροποίησης, στα μεταλλάγματα από το μέσο της ζώνης επιμήκυνσης οι μικροσωληνίσκοι δεν ήταν πλέον εγκάρσιοι. Επίσης, στα μεταλλάγματα το τελικό μήκος των κυττάρων ήταν σημαντικά μικρότερο σε σχέση με τον άγριο τύπο. Μετά από επίδραση με *isoxaben*, που αναστέλλει τη σύνθεση κυτταρίνης, και *Congo red*, που διαταράσσει την κρυσταλλική διαμόρφωσή της, οι ρίζες φυτών άγριου τύπου επέδειξαν φαινότυπο όμοιο με αυτόν των μεταλλαγμάτων. Το γεγονός ότι το *Congo red* δεν επηρεάζει την ποσότητα της κυτταρίνης που παράγεται αλλά εμποδίζει την επιμήκυνση των κυττάρων αλλοιώνοντας την κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι στα μεταλλάγματα ο αναπροσανατολισμός των μικροσωληνίσκων στη ζώνη επιμήκυνσης δεν οφείλεται άμεσα στη δυσλειτουργία των CesA αλλά σε ανασχέση της επιμήκυνσης των κυττάρων λόγω έλλειψης κυτταρίνης. Η διαφορά της απόκρισης των μικροσωληνίσκων μεταξύ των αναπτυξιακών ζωνών της ρίζας αποδίδεται στη διαφορετική ανάγκη για σύνθεση κυτταρίνης, λόγω του διαφορετικού ρυθμού επιμήκυνσης των κυττάρων και συνεπώς έκτασης των τοιχωμάτων τους.

INHIBITION OF ELONGATION AFFECTS CORTICAL MICROTUBULE ORIENTATION AT THE ROOT TIP OF THE PLANT *Arabidopsis thaliana*

**Bantotaki Evdoxia¹, Mpliatka Despoina¹, Adamakis Ioannis-Dimosthenis¹, Daras Gerasimos²,
Hatzopoulos Polydefkis², Eleftheriou Eleftherios¹, Rigas Stamatis², Panteris Emmanuel¹**

*1/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-541 24,
Thessaloniki, Greece - 2/Department of Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera
Odos 75, GR-118 55, Athens, Greece,*

Anisotropic cell elongation requires the deposition of transversely oriented cellulose microfibrils, which is guided by transverse cortical microtubule orientation. Reversely, cell wall properties influence cortical microtubule arrangement. This bidirectional relationship was studied in the Cellulose Synthase A (CesA) mutants *rsw1* (CesA1), *thanatos* (CesA3) and *procuste1* (CesA6), as well as the *pom2-4* (CSII1), of the plant *Arabidopsis thaliana*, characterised by a reduced cellulose production and defective growth. Whole mount α -tubulin immunostaining was applied on root tips, which were observed by confocal laser scanning microscopy. It was found that, in the meristematic and transition root zones, as well as in the first cells of the elongation zone, cortical microtubules were transversely oriented in the wild-type and the mutants. However, while in the wild-type transverse microtubule orientation persevered up to the differentiation zone, in the mutants microtubules were prematurely reoriented at the middle of the elongation zone. Moreover, in the mutants the final cell length was significantly reduced in comparison with the wild-type. Wild-type roots treated with isoxaben, an inhibitor of cellulose synthesis, and Congo red, which disrupts cellulose crystallinity, exhibited a phenotype similar to that of the mutants. The fact that Congo red does not affect the quantity of produced cellulose but inhibits cell elongation by altering cellulose crystallinity, allows the conclusion that in the mutants microtubule reorientation in the elongation zone is not directly related to CesA malfunction but to inhibition of cell expansion because of cellulose shortage. The differential responsiveness of microtubule orientation among the developmental root zones is attributed to the different need for cellulose synthesis, due to the different rate of cell elongation and, concomitantly, cell wall expansion.

Ο COUP-TF ΚΑΙ Η ΝΕΥΡΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟ ΕΜΒΡΥΟ ΤΟΥ ΑΧΙΝΟΥ

Μπάρου Βασιλική, Φλυτζάνης Κωνσταντίνος Ν.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα 26 504, Ελλάδα

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι ο προσδιορισμός του ρόλου του ορφανού υποδοχέα PICoup-TF στην νευρογένεση και συγκεκριμένα στην περιοχή του πρόσθιου νευροεξωδέρματος (ANE) στα διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια του εμβρύου του αχινού. Γι αυτό το σκοπό, κλωνοποιήθηκαν τα cDNAs ρυθμιστικών πρωτεϊνών, οι οποίες εκφράζονται ειδικά στο ANE και μελετήθηκε το πρότυπο έκφρασή τους σε σχέση με το πρότυπο έκφρασης του PICoup-TF. Κατασκευάστηκαν αντινοσηματικοί RNA ιχνηθέτες για *in situ* υβριδοποίηση φθορισμού για τα ακόλουθα γονίδια: PICoup-TF, PISix3, PINk2.1 και PIFoxQ2. Ακολούθως πραγματοποιήθηκε διπλή *in situ* υβριδοποίηση φθορισμού και επαληθεύτηκε ο συνεντοπισμός των γονιδίων αυτών στην περιοχή του πρόσθιου νευροεξωδέρματος. Η περιοχή του ANE καθορίζεται μέσα στην ευρύτερη περιοχή του στοματικού εξωδέρματος, ως αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων των ρυθμιστικών αυτών παραγόντων. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές συνιστούν ένα ρυθμιστικό γονιδιακό δίκτυο γνωστό και ως GRN. Θέλοντας να προσδιορίσουμε την ακριβή θέση του PICoup-TF στο ρυθμιστικό αυτό δίκτυο καταστείλαμε την έκφρασή του σε έμβρυα αχινού με ενέσεις μορφολίνο αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων (MASO) στο στάδιου του αυγού. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν αλλαγές στην έκφραση των ρυθμιστικών γονιδίων με την τεχνική της *in situ* υβριδοποίησης στα ενεμένα έμβρυα. Οι αλλαγές αυτές επιβεβαιώνονται και ποσοτικά με qPCR, όπου συγκρίνεται το ποσοστό μετάγραφων του παράγοντα PICoup-TF αλλά και των άλλων γονιδίων σε φυσιολογικά και ενεμένα έμβρυα.

Coup-TF AND EMBRYONIC NEURAL DEVELOPMENT IN SEA URCHIN

Mparou B., Flytzanis K.

Department of Biology, University of Patras, Patras 26 504, Greece

Our aim is to identify the role of the orphan nuclear receptor PICoup-TF during embryonic neurogenesis and especially in the determination of the anterior neuroectoderm (ANE). To this end, we cloned a set of embryonic cDNAs encoding regulatory proteins expressed specifically in the ANE and studied their spatial pattern of expression in conjunction with the expression pattern of PICoup-TF. Thus, we prepared antisense RNA probes for fluorescence in situ hybridization for the following genes: PICoup-TF, PISix3, PINk2.1 and PIFoxQ2 and performed double fluorescent in situ hybridization. Thus, the embryonic expression pattern of each gene in combination with PICoup-TF was analyzed in late embryonic stages of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. ANE, a neurogenic territory specified within the oral ectoderm of the embryo, is formed as a result of the interplay of the aforementioned regulatory factors that together constitute a sub-circuit within the embryonic gene regulatory network (GRN). We want to determine PICoup-TF's place within the GRN and specifically the ANE sub-circuit. Therefore, we knockdown PICoup-TF expression during embryogenesis by injecting specific morpholino antisense oligonucleotides (MASO) into sea urchin eggs and determine the expression pattern of the ANE specific genes by in situ hybridization to the resulting morphant embryos. The efficiency of the knockdown is measured by qPCR, where the amount of PICoup-TF transcripts is compared to control embryos.

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΕΝΟΣ “ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ-ΑΝΑΛΟΓΟΥ” ΤΗΣ CsgB
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΩΝ ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΝ ΙΝΙΔΙΩΝ CURLI, ΠΙΘΑΝΟΥ
ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΟΝΟΥ-ΚΑΘΟΡΙΣΤΗ**

Μπόλας, Γ.Μ., Λούρος, Ν.Ν., Τσιολάκη, Π.Α., Οικονομίδου, Β.Α., Χαμόδρακας, Σ.Ι.
*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01*

Πολλά εντεροβακτήρια παράγουν πολύπλοκα στρώματα εξωκυττάρων πολυμερών ουσιών, σχηματίζοντας δομές που ονομάζονται βιοϋμένια. Τα βιοϋμένια εμφανίζουν αυξημένη αντοχή σε συνθήκες καταπόνησης και παρέχουν ένα μικροπεριβάλλον ιδανικών συνθηκών διαβίωσης των βακτηρίων. Ο βασικός σκελετός των βιοϋμενίων αποτελείται από τα ινίδια curli, τα οποία συμμετέχουν και στην αρχική προσκόλληση των βακτηρίων σε επιφάνειες ή κύτταρα. Σχηματίζονται από δύο δομικές πρωτεΐνες, τις CsgA και CsgB. Η CsgB είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία των αρχικών ολιγομερών/πυρήνων που επάγουν τον πολυμερισμό της CsgA, η οποία σχηματίζει τον κύριο άξονα του ινιδίου. Τα ινίδια curli εμφανίζουν χαρακτηριστικές ιδιότητες αμυλοειδών ινιδίων. Αρκετοί οργανισμοί εκμεταλλεύονται τις αμυλοειδείς ιδιότητες τους για να υποστηρίξουν πολύπλοκες βιολογικές διεργασίες. Επομένως, τα ινίδια curli ανήκουν στην κατηγορία των λειτουργικών αμυλοειδών. Με τη χρήση του AMYLPRED, ενός εργαλείου πρόγνωσης πρωτεϊνικών περιοχών με τάση προς συσσωμάτωση, που αναπτύχθηκε στο εργαστήριό μας, οδηγηθήκαμε στη σύνθεση ενός προβλεφθέντος “πεπτιδίου-αναλόγου” της CsgB πρωτεΐνης του εντεροβακτηρίου E.coli. Το “πεπτίδιο-ανάλογο” (διαλύματα του και δομές που δημιουργεί) μελετήθηκε με: α) χρώση Congo Red και παρατήρηση με πολωτική μικροσκοπία β) φασματοσκοπία υπερερύθρου ATR-FTIR γ) ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (TEM) και δ) περίθλαση ακτίνων-X. Τα πειραματικά αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι το πεπτίδιο-ανάλογο αυτοσυγκροτείται, δημιουργώντας ινίδια με αμυλοειδογόνες ιδιότητες.

STUDIES OF A “PEPTIDE-ANALOGUE” OF CsgB, A STRUCTURAL PROTEIN COMPONENT OF CURLI AMYLOID FIBERS

Bolas, G.M., Louros, N.N., Tsiolaki, P.L., Iconomidou, V.A., Hamodrakas, S.J.

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

Many Enterobacteriaceae produce a complex matrix of extracellular polymeric substances, forming structures called biofilms. Biofilms exhibit increased resistance to stress and provide an ideal microenvironment for bacteria. The biofilm backbone is composed of curli fibers, which are also involved in the initial adhesion of bacteria to surfaces or cells. They are formed from the major structural subunit CsgA and the nucleator protein CsgB. Specifically, CsgB is responsible for creating the original oligomeric/nuclei that induce polymerization of CsgA, which forms the major axis of the fiber. Curli fibers exhibit characteristic properties of amyloid fibrils. Several organisms exploit the extraordinary physical properties of amyloid fibrils to support complex biological functions. Therefore, curli fibers are considered as natural protective amyloids. Using AMYLPRED, a consensus prediction method for identifying ‘aggregation-prone’ regions in protein sequences, developed in our laboratory, we were guided to synthesize one predicted peptide of the CsgB subunit of E.coli. This “peptide-analogue” and structures formed by this peptide were studied, utilizing: a) Congo Red staining and polarized light microscopy b) Attenuated Total Reflectance Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (ATR FT-IR) c) Transmission electron microscopy (TEM) and d) X-ray diffraction. Our experimental data indicate that, this “peptide-analogue” self-assembles in solutions, forming fibrils with characteristic amyloidogenic properties.

ΠΙΘΑΝΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΞΑΝΘΙΝΗΣ ΣΤΟ ΑΖΩΤΟΔΕΣΜΕΥΤΙΚΟ ΡΙΖΟΒΑΚΤΗΡΙΟ *Sinorhizobium meliloti*

**Μπότου Μαρία, Καλλιαμπάκου Κατερίνα, Καραλιάς Γεώργιος, Καλλονιάτη Χρυσάνθη,
Παπακώστας Κωνσταντίνος, Φλεμετάκης Εμμανουήλ, Φριλίγγος Ευστάθιος**
*1/Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 2/Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωργικής
Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα*

Το ριζοβακτήριο *Sinorhizobium meliloti* είναι ένας μικροοργανισμός-μοντέλο για την μελέτη των συμβιωτικών σχέσεων βακτηρίων-φυτών. Μολύνει τις ρίζες του ψυχανθούς *Medicago truncatula* και σχηματίζει φυμάτια μη καθορισμένου τύπου. Για την ανάπτυξη αυτής της συμβιωτικής σχέσης απαιτούνται αρκετές προσαρμογές, μία εκ των οποίων είναι η πρόσληψη των μεταβολιτών που είναι απαραίτητοι ως πηγές άνθρακα ή αζώτου στο αζωτοδεσμευτικό συμβιόσωμα. Πολλά δυνητικά συστήματα πρόσληψης μεταβολιτών του συμβιοσώματος δεν έχουν μελετηθεί έως σήμερα σε κανέναν από τους διαφορετικούς τύπους αζωτοδεσμευτικών φυματίων. Μεταξύ αυτών είναι και δυνητικά συστήματα πρόσληψης πουρινών. Το γονιδίωμα του *S.meliloti* περιέχει 6 πιθανούς μεταφορείς πουρινών της οικογενείας NCS2 (Nucleobase-cation symporter 2). Λειτουργικός χαρακτηρισμός τους, μέσω ετερόλογης έκφρασης στην *Escherichia coli*, απέδειξε ότι, πράγματι, είναι υψηλής συγγένειας μεταφορείς πουρινών. Ειδικότερα, ο SmLL9 είναι μεταφορέας ξανθίνης και ουρικού οξέος, οι SmLL8, SmX28 και SmWQ0 μεταφορείς ουρικού οξέος, ο SmYE1 μεταφορέας αδενίνης και ο SmVC3 μεταφορέας αδενίνης/υποξανθίνης/γουανίνης. Το *S.meliloti* μπορεί να χρησιμοποιήσει ξανθίνη ως μοναδική πηγή αζώτου και ανάλυση με RT-PCR απέδειξε ότι τόσο στα κύτταρα *S.meliloti* που αναπτύχθηκαν με μοναδική πηγή αζώτου ξανθίνη όσο και στα φυμάτια του *S.meliloti-M.truncatula* ο μεταφορέας SmLL9 καθώς και ένζυμα του καταβολισμού της ξανθίνης έχουν αυξημένα επίπεδα μεταγραφής σε σχέση με κύτταρα *S.meliloti* που αναπτύχθηκαν παρουσία αμμωνίου. Επιπλέον, δοκιμασίες ενεργού μεταφοράς απέδειξαν ότι η ξανθίνη μεταφέρεται σε σημαντικά επίπεδα από κύτταρα *S.meliloti* που αναπτύχθηκαν παρουσία ξανθίνης. Αντίθετα κύτταρα ενός άλλου ριζοβακτηρίου, του *Mesorhizobium loti*, τα οποία σχηματίζουν φυμάτια καθορισμένου τύπου στο φυτό *Lotus japonicus* και δεν έχουν κανένα γονίδιο για πιθανό μεταφορέα της οικογένειας NCS2 στο γονιδίωμά τους, δεν αναπτύσσονται παρουσία ξανθίνης και δεν μεταφέρουν ξανθίνη παρά μόνο όταν μετασχηματιστούν με τον μεταφορέα SmLL9. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η ξανθίνη είναι σημαντική στην περίπτωση των μη καθορισμένων φυματίων. Ευχαριστίες Η έρευνα αυτή συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από ελληνικούς εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) για την χρηματοδότηση της Έρευνας: πρόγραμμα ΘΑΛΗΣ, επένδυση στην γνώση μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

POSSIBLE ROLE OF XANTHINE TRANSMEMBRANE TRANSPORT IN THE NITROGEN-FIXING BACTERIUM *Sinorhizobium meliloti*

Botou Maria 1, Kalliampakou Katerina I. 2, Karalias George 2, Kalloniati Chryssanthi 2, Papakostas Konstantinos 1, Flemetakis Emmanouel 2, Frillingos Stathis 1

1/Laboratory of Biological Chemistry, Department of Medicine, School of Health Sciences, University of Ioannina, Panepistimiopolis Dourouti, 45110 Ioannina, Greece 2/Laboratory of Molecular Biology, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855 Athens, Greece

Sinorhizobium meliloti is a model example for symbiotic studies between plants and bacteria. It induces the formation of indeterminate-type symbiotic nodules on legume roots in *Medicago truncatula*. The process requires several adaptations, one of which is the uptake of metabolites necessary as carbon or nitrogen sources for the nitrogen-fixing symbiosome. Several putative metabolite uptake systems of the nitrogen-fixing symbiosome have not been studied so far in any type of nitrogen-fixing nodules. One type of such transport systems concerns the uptake of purine nucleobases. *S. meliloti* genome encodes 6 putative transporters of the NCS2 family (Nucleobase-cation symporter 2). Their functional characterization, when expressed in the heterologous system of *Escherichia coli*, demonstrated that they are high affinity purine transporters. Of them, SmLL9 is a xanthine and uric acid transporter, SmLL8, SmX28, SmWQ0 are uric acid transporters, SmYE1 is an adenine transporter and SmVC3 is an adenine/hypoxanthine/guanine transporter. *S. meliloti* can utilize xanthine as sole nitrogen source and RT-PCR revealed that SmLL9 and enzymes implicated in xanthine catabolism have high transcript levels in *S. meliloti* cells cultured with xanthine as sole nitrogen source and in *S. meliloti*-*M. truncatula* nodules, as compared with *S. meliloti* cells cultured with ammonium. In addition, [³H]-xanthine uptake assay revealed that *S. meliloti* cells grown in the presence of xanthine as sole nitrogen source can transport xanthine to significant levels. On the other hand, *Mesorhizobium loti* cells, which form determinate-type nodules in *Lotus japonicus* and do not contain any putative NCS2 transporter, cannot utilize xanthine as a sole nitrogen source and cannot transport [³H]-xanthine unless they are transformed with SmLL9. These results imply that xanthine is important in indeterminate-type symbiotic nodules. Acknowledgment This research was co-supported by the European Union (European Social Fund) and Greek national funds through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the National Strategic Reference Framework-Research Funding Program: THALES, investing in knowledge society through the European Social Fund.

ΔΙΪΔΡΟΦΟΛΙΚΗ ΑΝΑΓΩΓΑΣΗ: ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΑΚΡΑΙΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ

Μπουλάκη Βασιλική Κ.¹, Παπανδρέου Νικόλαος Κ.¹, Βοργιάς Κωνσταντίνος Ε.²

1/ Τομέας Κυτταρικής Βιολογίας και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 15701, Ελλάδα 2/ Τομέας Βιοχημείας-Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 15701, Ελλάδα

Οι ζωντανοί οργανισμοί έχουν προσαρμοστεί σε ποικίλες θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Ιδιαίτερα, οι προκαρυωτικοί οργανισμοί ζουν σε ένα εύρος θερμοκρασιών που εκτείνεται από 0°C έως θερμοκρασίες άνω των 113°C. Οι πρωτεΐνες διατηρούν την λειτουργία τους σε διαφορετικές θερμοκρασίες εφ' όσον διατηρούν την τρισδιάστατη δομή και την δυναμική της πολυπεπτιδικής τους αλυσίδας. Η πρωτεϊνική θερμοφιλή προσαρμογή μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με την στρατηγική που ακολουθείται κι αυτή είναι συνέπεια της εξελικτικής ιστορίας του οργανισμού και της συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Η διΪδροφολική αναγωγή (DHFR) είναι ένα ένζυμο κλειδί του μεταβολισμού και η πιθανή αναστολή του μπορεί να προκαλέσει τον κυτταρικό θάνατο. Η DHFR χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη μας ως ένα παράδειγμα πρωτεΐνης καθώς απομονώθηκε και η δομή της προσδιορίστηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X από ψυχρόφιλα, μεσόφιλα και υπερθερμόφιλα βακτήρια. Πιστεύεται ότι, η συγκριτική μελέτη αυτών των πρωτεϊνών θα προσφέρει πληροφορίες για την προσαρμογή τους σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Συλλέχθηκαν δομές DHFR υψηλής διακριτικής ικανότητας ως σύμπλοκα με Μεθοτρεξάτη για την όσο δυνατό, πό σωστή συγκριτική μελέτη. Επιλέχθηκαν δομές DHFR από το ψυχρόφιλο βακτήριο *Moritella profunda* (PDB ID 3IA4), το μεσόφιλο *Escherichia coli* (PDB ID 3DAU) και το υπερθερμόφιλο *Thermotoga maritima* (PDB ID 1D1G). Οι δομές αυτές συγκρίθηκαν με βάση τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, την αμινοξική τους σύσταση, την ακολουθία, την δευτεροταγή και τριτοταγή δομή και τις λειτουργικά σημαντικές περιοχές τους. Επίσης πραγματοποιήθηκε υπέρθεση των δομών τους και μελέτη των μη-ομοιοπολικών τους αλληλεπιδράσεων. Παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην αμινοξική τους σύσταση, γεγονός που μας οδηγεί να πιστέψουμε πως η διαφοροποίηση στην αμινοξική ακολουθία, η οποία επηρεάζει και την κατανομή και τον αριθμό των μη-ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, αποτελεί τον μηχανισμό θερμικής προσαρμογής. Τέλος, οι αλληλεπιδράσεις της πρωτεΐνης με τον διαλύτη (νερό) σημειώνονται ως αλληλεπιδράσεις καθοριστικής σημασίας για την ψυχρόφιλη προσαρμογή της DHFR.

DIHYDROFOLATE REDUCTASE: ADAPTATION TO EXTREME TEMPERATURES

Boulaki Vasiliki C.¹, Papandreou Nikolaos C.¹, Vorgias Constantinos E.²

1/ Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15701 Greece 2/ Department of Biochemistry-Molecular Biology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, 15701, Greece

Life has been adapted to a variety of niche temperatures. Especially, prokaryotic life is compatible with temperatures well below 0°C, as well as temperatures above 113°C. Proteins retain their function at different environments depending on their three-dimensional structure and dynamics of their polypeptide chain. Thermophilic adaptation reflected on the structure of the proteins of thermophilic organisms, may contain information about the strategy they adopt in order to adapt at different environments, which is a direct consequence of the evolutionary history of the source organism and the particular protein family. Dihydrofolate reductase (DHFR) is a key enzyme in metabolism. Blocking this important enzyme may result to cell death. The DHFR crystal structures from psychrophilic, mesophilic and hyperthermophilic bacteria, determined by X-ray crystallography, were studied in this work, hoping that the comparative analysis of these, homologous in sequence, structures may give us insights on how this enzyme has been adapted at different temperatures. We collected DHFR structures isolated from the psychrophilic *Moritella profunda* (PDB ID: 3IA4), the mesophilic *Escherichia coli* (PDB ID: 3DAU) and thermophilic *Thermotoga maritima* (PDB ID: 1D1G), as complexes with Methotrexate. The selected DHFR structures were compared in detail. The comparison was based on their physicochemical properties, amino acid composition, sequence, secondary and tertiary structure and functionally important protein regions. These structures were also superimposed and their non covalent interactions were studied in detail. We note as a significant differentiation the composition of these proteins, fact that encourage as believe that DHFR's strategy of thermal adaptation is based mainly on sequence that influence the number and the distribution of non covalent interactions. Proteins' interactions with solvent has been noted as a very important factor for DHFR cold adaptation.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΙΜΩΝ ΕΜΠΕΙΡΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΑΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ CB1 ΤΟΥ ΡΑΒΔΩΤΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥΣ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΕΠΙΜΥΩΝ

**Μπούρμπουλα Μαρία-Θεώνη^{1,3}, Κουπουρτίδου Χριστίνα^{1,3}, Βαγγοπούλου Χαρά¹,
Σταματάκης Αντώνης², Στυλιανοπούλου Φωτεινή², Γιομπρές Παναγιώτης³, Κούβελας
Ηλίας¹, Μητσάκου Αδαμαντία¹**

*1/Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη
26504 Πάτρα, Ελλάδα-2/ Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Τμήμα Νοσηλευτικής,
Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιο Αθηνών, 11527 Αθήνα, Ελλάδα-3/
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπων και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, Πανεπιστημιούπολη 26504 Πάτρα, Ελλάδα*

Ο νεογνικός χειρισμός αποτελεί ένα πειραματικό μοντέλο πρώιμων εμπειριών με σημαντικές νευροχημικές και συμπεριφορικές μεταβολές στους επίμυς. Είναι γνωστό ότι ο νεογνικός χειρισμός επηρεάζει ιδιαίτερα τον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) βελτιώνοντας την προσαρμοστικότητα, την αντιμετώπιση του στρες και διεργασίες του εγκεφάλου που σχετίζονται με τη πλαστικότητα. Οι υποδοχείς CB1 των κανναβινοειδών βρίσκονται κυρίως σε δομές του κεντρικού νευρικού συστήματος που εμπλέκονται σε διαδικασίες όπως η μνήμη-μάθηση και το συναίσθημα. Επίσης εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στο ραβδωτό σώμα για το οποίο γνωρίζουμε ότι εκτός από το κυρίαρχο ρόλο που διαδραματίζει στη κινητική λειτουργία εμπλέκεται και σε ανώτερες λειτουργίες όπως η άδηλη μνήμη και η ανταμοιβή. Στη παρούσα μελέτη διερευνήσαμε την επίδραση του νεογνικού χειρισμού στο σύστημα των ενδοκανναβινοειδών σε έφηβους και ενήλικες αρσενικούς επίμυς στην εγκεφαλική περιοχή του ραβδωτού σώματος. Για το σκοπό αυτό κάθε νεογνό απομακρυνόταν από τη φωλιά για 15 λεπτά καθημερινά από τη πρώτη μεταγεννητική μέρα μέχρι τον απογαλακτισμό. Χρησιμοποιήσαμε τη τεχνική του υβριδισμού *in situ* προκειμένου να εντοπίσουμε και να ποσοτικοποιήσουμε τα επίπεδα του mRNA των υποδοχέων CB1. Κατά την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων μας με *two way* ΑνοVA παρατηρήσαμε αλληλεπίδραση μεταξύ της ηλικίας και του νεογνικού χειρισμού. Επίσης παρατηρήσαμε μία στατιστικώς σημαντική μείωση των επιπέδων του mRNA στο ραβδωτό στους ενήλικες επίμυς που έχουν υποστεί χειρισμό σε σχέση με εκείνους που δεν έχουν υποστεί. Αντίθετα στους έφηβους επίμυς δεν παρατηρήθηκαν παρόμοιες μεταβολές. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων μας εξάγουμε το συμπέρασμα ότι οι γνωστές από συμπεριφορικά πειράματα θετικές επιδράσεις του νεογνικού χειρισμού στη συμπεριφορά του ενήλικα επίμυ είναι δυνατό να διαμεσολαβούνται από αλλαγές στο σύστημα των ενδοκανναβινοειδών του ραβδωτού σώματος.

THE EFFECT OF EARLY LIFE EXPERIENCES ON CANNABINOID RECEPTORS CB1 OF STRIATUM IN ADULT AND ADOLESCENT BRAIN OF MALE RATS

Bourboula Maria-Theoni ^{1,3}, **Koupourtidou Christina** ^{1,3}, **Vangopoulou Chara** ¹, **Stamatakis Antonis** ², **Stylianopoulou Fotini** ², **Giompres Panagiotis** ³, **Kouvelas Elias D.** ¹, **Mitsacos Ada** ¹
1/ Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Patras, 26504 Patra, Greece-2/ Laboratory of Biology-Biochemistry, Faculty of Nursing, University of Athens, 11527 Athens, Greece-3/ Laboratory of Animal and Human Physiology, Biology Department, University of Patras, 26504 Patra, Greece

Neonatal handling constitutes an experimental model of early life experiences, with important neurochemical and behavioral consequences in rats. It is known that neonatal handling affects the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) improving adaptability, reaction to stress and brain processes associated with plasticity. CB1 cannabinoid receptors are located mainly in structures of CNS involved in processes such as learning, memory and emotion. They are also expressed at high levels in the striatum which apart from its dominant role in motor function is engaged in higher functions such as implicit memory and reward. In the present study we investigated whether neonatal handling might have an effect on the endocannabinoid system in adolescent and adult male rats in the striatal brain region. For this purpose, each pup was removed from the nest for 15 min daily, from the first postnatal day until weaning. In situ hybridization was used in order to localize and quantify CB1 mRNA levels. Statistical analysis of our results by two way Anova showed a significant interaction between age and neonatal handling. In addition, we observed a statistically significant decrease in mRNA levels in the striatum of adult handled rats compared to non-handled. In contrast, we did not observe similar changes in CB1 mRNA levels of adolescent rats. From our results we can conclude that the positive effects of neonatal handling on behavior of adult rats, known from previous behavioral experiments, could be mediated by changes in the endocannabinoid system of striatum.

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗΣ ΔΥΣΜΟΡΦΙΑΣ ΛΟΡΔΩΣΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΑ ΑΤΟΜΑ *Sparus aurata*

**Μπουρσιάκη Βάια, Παναγιωτόπουλος Νίκος Θ., Καραπαναγιωτίδης Ιωάννης Θ.,
Βερίλλης Παναγιώτης**

*1 Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών
Επιστημών Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, 2 Τμήμα Φυσικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.*

Η τσιπούρα αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα εκτρεφόμενα είδη ιχθύων στη Μεσόγειο. Οι σκελετικές δυσμορφίες και η συχνότητα που αυτές παρουσιάζονται είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζουν το κόστος παραγωγής, επηρεάζουν την εξωτερική μορφολογία, την ανάπτυξη και την επιβίωση του ψαριού. Η δημιουργία των σκελετικών αυτών δυσμορφιών δεν είναι απολύτως κατανοητή, σχετίζεται όμως με διατροφικούς, γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το ανόργανο στοιχείο του οστίτη ιστού αποτελεί περίπου το 65% του ξηρού βάρους του οστίτη ιστού. Κύρια συστατικά του είναι ο φώσφορος και το ασβέστιο με τη μορφή κρυστάλλων υδροξυαπατίτη. Η σκληρότητα και η ανθεκτικότητα του οστίτη ιστού οφείλονται στη σχέση των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη με το κολλαγόνο. Στην παρούσα εργασία ενήλικα άτομα τσιπούρας με σκελετική δυσμορφία λόρδωσης (βάρος: $338,6 \pm 27,2$ gr, μήκος: $24,8 \pm 1,3$ cm) και ενήλικα άτομα τσιπούρας χωρίς σκελετικές δυσμορφίες (βάρος: $325,6 \pm 45,7$ gr, μήκος: $27,3 \pm 1,2$ cm) συλλέχθηκαν από μια μονάδα εκτροφής και ακτινογραφήθηκαν. Από τις ακτινογραφίες μετρήθηκαν τα μήκη των 24 σπονδύλων που απαρτίζουν την σπονδυλική στήλη του κάθε ατόμου τσιπούρας, χωρίς να παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε αυτά που παρουσίαζαν λόρδωση και σε αυτά που δεν εμφάνιζαν σκελετικές δυσμορφίες ($0,59 \pm 0,11$ cm και $0,60 \pm 0,12$ cm αντίστοιχα). Εν συνεχεία ελήφθησαν σπόνδυλοι από την περιοχή όπου παρουσιάζονταν η σκελετική δυσμορφία, αποτεφρώθηκαν, κορνιτοποιήθηκαν και μετρήθηκαν με τη μέθοδο φασματοσκοπίας διασκορπιζόμενης δέσμης (EDS) τα ποσοστά ασβεστίου και φωσφόρου. Τα αποτελέσματα ήταν $65,87 \pm 4,93$ wt.% για το ασβέστιο και $31,91 \pm 3,88$ wt.% για τον φώσφορο. Κατόπιν, από τα άτομα χωρίς σκελετικές αλλοιώσεις ελήφθησαν σπόνδυλοι από το μεσαίο μέρος της σπονδυλικής στήλης και με την ίδια διαδικασία μετρήθηκαν τα ποσοστά ασβεστίου και φωσφόρου ($68,66 \pm 6,03$ wt.% και $31,34 \pm 6,00$ wt.% αντίστοιχα), χωρίς να προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τα άτομα που παρουσίαζαν λόρδωση. Τα προκαταρκτικά αυτά αποτελέσματα δείχνουν ότι τα σκελετικά δύσμορφα ενήλικα άτομα τσιπούρας δεν παρουσιάζουν διαφορές με τα φυσιολογικά άτομα τόσο ως προς το μήκος των σπονδύλων τους όσο και ως προς την περιεκτικότητα αυτών σε ασβέστιο και φώσφορο.

PRELIMINARY RESULTS OF LORDOSIS STUDY IN GILTHEAD SEABREAM (*Sparus aurata*).

Boursiaki Vaia 1, Panagiotopoulos Nikolaos T. 2, Karapanagiotidis Ioannis T. 1, Berillis Panagiotis 1

1Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, 2Department of Physics, University of Ioannina.

Gilthead seabream (*Sparus aurata*) is one of the most important farmed fish species in the Mediterranean region. Skeletal deformities is a major factor that effects the production cost, the external morphology of the fish as well as its survival and growth. The development of skeletal disorders is not well understood but it is related to nutritional, environmental and genetic factors. Fish bones consist of calcium-phosphor hydroxyapatite salts (inorganic part, about 65% of bone's dry mass) embedded in a matrix of type I collagen fibers (organic part). The relationship between collagen and hydroxyapatite is crucial for bone toughness and stiffness. At the present study adults individuals of *Sparus aurata* were collected from a commercial fish farm. Fishes were divided in to two groups. One with the presence of lordosis (mean weight 338.6 ± 27.2 gr, mean length 24.8 ± 1.3 cm), and one without any skeletal deformity (mean weight 325.6 ± 45.7 gr, mean length 27.3 ± 1.2 cm). Each fish X-rayed and the length of each of the 24 vertebrae, which constitute *Sparus aurata*'s vertebra column, was measured (mean vertebra length 0.59 ± 0.11 cm for the group with lordosis and 0.60 ± 0.12 cm for the group without any skeletal deformity). T-test revealed no significant difference between the vertebrae mean length of the two groups. Moreover, vertebrae were taken from the part of the vertebra column that the lordosis occurred, incinerated and Ca and P contents were measured (mean values 65.87 ± 4.93 wt.% and 31.91 ± 3.88 wt.% for Ca and P, respectively). The stoichiometries of the samples were obtained by Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) in a Jeol JSM-6510LV scanning electron microscope (SEM) using a X-act Oxford Instruments X-ray analyzer. The same procedure was followed for fish without any skeletal deformity (vertebrae were taken from the middle part of the vertebra column, mean values 68.66 ± 6.03 wt.% and 31.34 ± 6.00 wt.% for Ca and P, respectively). T-test revealed no significant difference for both Ca and P between the two fish groups. These preliminary results indicate that skeletal deformities in adult seabream are not associated either with changes in the length of vertebra or vertebra's calcium and phosphorus contents.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΜΕΡΙΚΗΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΙΧΘΥΑΛΕΥΡΩΝ ΜΕ ΑΛΕΥΡΑ ΑΠΟ ΕΝΤΟΜΑ ΣΤΑ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΤΟΥ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dicentrarchus labrax*)

**Μπούσδρας Θωμάς¹, Φειδάντσης Κωνσταντίνος¹, Χατζηφώτης Σταύρος², Gasco Laura³,
Αντωνοπούλου Ευθυμία¹**

*1/Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη - 2/Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και
Υδατοκαλλιεργειών, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, 71003 Ηράκλειο - 3/
Department of Agricultural, Forest and Food Sciences, University of Torino, Torino, Piedmont,
Italy*

Η συνεχής ανάπτυξη των ιχθυοκαλλιεργειών έχει δημιουργήσει μια αυξημένη ανάγκη για ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια στα σιτηρέσια των ψαριών και επιτάσσει την ανάγκη χρήσης εναλλακτικών πηγών αλεύρων και ελαίων, όπως τα άλευρα από έντομα. Στη συγκεκριμένη εργασία διερευνήθηκε η επίδραση της μερικής υποκατάστασης ιχθυάλευρων με άλευρα από έντομα στο εκτρεφόμενο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Συγκεκριμένα, άτομα του είδους αυτού υποβλήθηκαν σε τρεις καταστάσεις σίτισης (0 – ομάδα ελέγχου, FM, 25 και 50% αντικατάσταση ιχθυάλευρου με άλευρο από έντομα, IM25 και IM50, αντιστοίχως), ενώ οι ιστοί του ψαριού που εξετάστηκαν ήταν ο ερυθρός μυς, το ήπαρ, το έντερο και η καρδιά. Η δραστικότητα των μεταβολικών (MDH, L-LDH, CS) και των αντιοξειδωτικών ενζύμων (GR, SOD, Cat) μελετήθηκε φασματοφωτομετρικά. Στην καρδιά, παρατηρήθηκαν αυξημένες δραστικότητες στα εξεταζόμενα μεταβολικά ένζυμα στα άτομα που σιτίστηκαν με IM25 και IM50, ενώ στα επίπεδα δραστικότητας των αντιοξειδωτικών παρατηρήθηκε αύξηση μόνο στην ομάδα IM50. Στον ερυθρό μυ παρατηρήθηκε επαγωγή στις δραστικότητες τόσο των μεταβολικών, όσο και των αντιοξειδωτικών ενζύμων, κυρίως στα IM50 ψάρια. Στο ήπαρ παρατηρήθηκαν μειωμένες δραστικότητες των μεταβολικών ενζύμων μετά τη σίτιση με IM25, ενώ στα αντιοξειδωτικά ένζυμα βρέθηκε αύξηση των δραστικότητων στα IM50 λαβράκια. Τέλος, στο έντερο τα άτομα που σιτίστηκαν με IM50 παρουσίασαν αυξημένη L-LDH δραστικότητα, αλλά και επαγωγή στις δραστικότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Συμπερασματικά, από τον προσδιορισμό των ενζυμικών δραστικότητων φαίνεται να υπάρχει ιστοειδική απόκριση, αλλά και απόκριση εξαρτώμενη από το ποσοστό υποκατάστασης, γεγονός που υποδηλώνει τις διαφορετικές μεταβολικές απαιτήσεις και τη διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα κάθε ιστού στο συγκεκριμένο είδος.

EFFECT OF PARTIAL SUBSTITUTION OF FISH MEAL WITH INSECT MEAL ON THE METABOLIC AND ANTIOXIDANT ENZYMES OF FARMED EUROPEAN SEA BASS (*Dicentrarchus labrax*)

Bousdras Thomas¹, Feidantsis Konstantinos¹, Chatzifotis Stavros², Antonopoulou Efthimia¹

1/Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki, Greece - 2/Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Hellenic Centre for Marine Research, 71003 Heraklion, Crete, Greece - 3/Department of Agricultural, Forest and Food Sciences, University of Torino, Torino, Piedmont, Italy

Continuous rise of aquaculture has created an increased need for fish meals and fish oils in fish diets and to date demands the use of alternative meals and oil sources, such as insect meal. In the present study, we investigated the effect of partial substitution of fishmeal with insect meal in farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*). More specific, the fish were subjected in three feeding conditions (0-control group, FM, 25 and 50% substitution of fishmeal by insect meal, IM25 and IM50, respectively), while the examined tissues were the red muscle, the liver, the intestine and the heart. Activity of metabolic (MDH, L-LDH, CS) and antioxidant enzymes (GR, SOD, Cat) was determined phasmatophotometrically. In the heart, IM25 and IM50 showed increased activity of metabolic enzymes, while in activity levels of antioxidant enzymes increases were observed at the IM50 substitution. In the red muscle, increased activities of both metabolic and antioxidant enzymes were observed, mainly at the IM50 substitution. In the liver, the 25% substitution reduced the activities of metabolic enzymes, while the 50% one increased the antioxidant enzymes' activities. Finally, in the intestine, increased activity of L-LDH in the 50% substitution was observed, while the activity levels of the antioxidant enzymes were increased, mainly in the 50% condition. Based on the enzymatic activity levels examined, both a tissue-specific and a dose-specific response were detected, which indicate the different metabolic demands and antioxidant capacity of each tissue of this species.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΔΙΚΑΣΤΙΚΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΟΥ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΜΕΛΙΣΜΟΥ

**Μωραΐτης Κωνσταντίνος, Αναστοπούλου Ιωάννα, Ζορμπά Ελένη, Σπηλιοπούλου Χαρά,
Παπαδόδημα Σταυρούλα**

*Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ Μ. Ασίας 75
Γουδή, Τ.Κ. 11527, Αθήνα*

Ο διαμελισμός του πτώματος, δηλαδή η πράξη τεμαχισμού του ανθρώπινου σώματος σε μικρότερα τμήματα, αφήνει ευδιάκριτα ίχνη στα οστά. Ο δράστης καταφεύγει στην εν λόγω αποτρόπαιη πράξη προκειμένου να δυσχεράνει την ταυτοποίηση του θύματος, να δηλώσει την έλλειψη σεβασμού προς αυτό ή να διευκολύνει τη μεταφορά του. Εγκλήματα που ακολουθούνται από διαμελισμό συνήθως διαπράττονται από άτομα οικεία προς το θύμα και σπανίως είναι εκ προμελέτης ή κατ' εξακολούθηση. Ο ρόλος του δικαστικού ανθρωπολόγου στα συγκεκριμένα περιστατικά είναι αφ' ενός η εκτίμηση των ατομικών χαρακτηριστικών του θύματος (π.χ. φύλο, ηλικία, ανάστημα κ.α.), τα οποία μπορεί να μην αναγνωρίζονται όταν το πτώμα βρίσκεται σε προχωρημένη σήψη και αφ' ετέρου η αξιολόγηση των σκελετικών κακώσεων που προκλήθηκαν συνεπεία του διαμελισμού. Η εκτίμηση των ατομικών χαρακτηριστικών του θύματος θα διευκολύνει τις ανακριτικές Αρχές στη διερεύνηση περιπτώσεων εξαφανισμένων ατόμων, επισπεύδοντας την ταυτοποίησή τους, ενώ η μελέτη των σκελετικών κακώσεων παρέχει πληροφορίες σχετικά με τις συνθήκες θανάτου, αλλά και τον τρόπο δράσης του δράστη καταρρίπτοντας σε κάποιες περιπτώσεις αναληθείς ισχυρισμούς του. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται μία υπόθεση ανθρωποκτονίας ακολουθούμενης από διαμελισμό του θύματος, η οποία απεστάλη για εξέταση στο Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, καθώς και τα συμπεράσματα που προέκυψαν από τη δικαστική ανθρωπολογική διερεύνηση σχετικά με το θύμα, το δράστη και τις συνθήκες του εγκλήματος. Τέλος, αξιολογείται η συμβολή που είχε η χρήση μιας νέας μεθόδου ταυτοποίησης στην απεικόνιση της όψεως που είχε το άτομο εν ζωή, με βάση το φωτογραφικό υλικό που ελήφθη κατά τη μεταθανάτια εξέτασή του.

THE ROLE OF FORENSIC ANTHROPOLOGIST IN THE INVESTIGATION OF DISMEMBERED REMAINS

**Moraitis Konstantinos, Anastopoulou Ioanna, Zorba Eleni, Spiliopoulou Chara, Papadodima
Stavroula**

*Department of Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Medicine, University of Athens 75 M.
Asias Str., 11527 Athens, Greece*

Corpse dismemberment, i.e. the act of intentional separation of a human body into segments, leaves visible traces on bones. The perpetrator resorts to such a despicable act in order to hinder identification, to show a disregard for the victim or to facilitate the transportation of the body. Crimes followed by dismemberment are usually committed by people familiar with the victim and they are rarely premeditated or repeated. The role of forensic anthropologist in such cases is on one hand the assessment of the demographic characteristics of the victim (e.g. sex, age, stature, etc.), which may not be determined in case of decomposing bodies and on the other hand the evaluation of skeletal injuries due to dismemberment. The assessment of the biological profile will provide law enforcement authorities with enough information about human remains that can be matched with a missing persons file, leading to a positive identification. Also the evaluation of skeletal injuries provides information about the circumstances of death and the perpetrator's modus operandi, revealing in some cases his false allegations. This paper presents a case of dismemberment submitted to the Department of Forensic Medicine and Toxicology at the University of Athens, Faculty of Medicine for examination and the conclusions reached by the anthropological investigation regarding the victim, the perpetrator, and the circumstances of the crime. Finally, the contribution of an identification method used to depict a reasonable facial likeness of the victim based upon morgue photographs is evaluated.

ΕΠΟΧΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ (HEAT SHOCK PROTEINS) ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Helix lucorum* ΑΠΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΥΨΟΜΕΤΡΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

**Νάκος-Μπίμπος Μόδεστος¹, Φειδάντης Κωνσταντίνος¹, Καρυοφύλλης Κωνσταντίνος¹,
Χατζηιωάννου Μαριάνθη², Στάικου Αλεξάνδρα³, Μιχαηλίδης Βασίλειος¹**

1/Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη - 2/Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 38446 Ν.Ιωνία Μαγνησίας - 3/Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

Η θερμοκρασία, ως ένας κύριος αβιοτικός περιβαλλοντικός παράγοντας, εκτός από το να ρυθμίζει διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες στα χερσαία σαλιγκάρια, καθορίζει και την βιογεωγραφική κατανομή τους. Επομένως, είδη με διαφορετική κατανομή μπορεί να εμφανίζουν διαφορετικά θερμικά όρια ανοχής. Σε κυτταρικό επίπεδο, η έκφραση των πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος (Hsps) παίζει ένα «κυτταροπροστατευτικό ρόλο» προσδιορίζοντας και τα θερμικά όρια ανοχής των κυττάρων. Εκτός της θερμοκρασίας, η έντονη επαναδραστικοποίηση του μεταβολικού ρυθμού κατά την αφύπνισή τους από τη νάρκη μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες. Τα παραπάνω γεγονότα εγείρουν ερωτήματα όσον αφορά τον φυσιολογικό ρόλο των Hsps στην κυτταρική ομοιόσταση των σαλιγκαριών κατά τη διάρκεια της νάρκης και της αφύπνισής τους, σε άτομα του ίδιου είδους με διαφορετική υψομετρική κατανομή. Το χερσαίο σαλιγκάρι *Helix lucorum* εμφανίζει ευρεία υψομετρική εξάπλωση και επομένως οι πληθυσμοί του εκτίθενται σε εποχικά διαφορετικές θερμοκρασιακές μεταβολές. Σκοπός της εργασίας ήταν ο ποσοτικός προσδιορισμός των Hsp70 και Hsp90 στο ηπατοπάγκρεας ατόμων του *H. lucorum* από δύο διαφορετικούς πληθυσμούς, έναν στην περιοχή Αξιού ποταμού (επίπεδο θάλασσας-0μ) και έναν στον Κοκκινοπηλό (Όλυμπος-1.250μ). Επίσης, πραγματοποιήθηκαν αμοιβαίες αλλαγές πληθυσμών έτσι ώστε να μελετήσουμε εάν οι διαφορετικές αποκρίσεις των Hsps εξαρτώνται μόνον από τις περιβαλλοντικές θερμοκρασίες. Σε μηνιαία βάση γινόταν λήψη του ηπατοπαγκρέατος, και στη συνέχεια ποσοτικός προσδιορισμός των Hsps με τη μέθοδο της SDS ηλεκτροφόρησης σε πολυακρυλαμίδα. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης έδειξαν μεταβολή στα επίπεδα και των 2 μελετώμενων πρωτεϊνών στο ηπατοπάγκρεας του σαλιγκαριού, τόσο μεταξύ των διαφορετικών πληθυσμών όσο και μεταξύ των ίδιων πληθυσμών που εκτέθηκαν σε διαφορετικό υψόμετρο. Παρόλα αυτά, οι διαφορές μεταξύ των ατόμων του ίδιου πληθυσμού που εγκλιματίστηκαν σε διαφορετικό ενδιαίτημα παρέμειναν σχετικά όμοιες, υποστηρίζοντας την έκφραση των συγκεκριμένων πρωτεϊνών κάτω από το πρίσμα της θερμικής ιστορίας του κάθε είδους.

SEASONAL RESPONSES OF HEAT SHOCK PROTEINS IN THE SPECIES OF *Helix lucorum* FROM POPULATIONS WITH DIFFERENT ALTITUDINAL DISTRIBUTION

Nakos-Bibos Modestos¹, Feidantsis Konstantinos¹, Karyofyllis Konstantinos¹, Hatzioannou Marianthi², Staikou Alexandra³, Michaelidis Basile¹

1/Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki - 2/Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly 38446 Nea Ionia, Magnesia - 3/Laboratory of Zoology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki

Temperature, as a major abiotic environmental factor, besides regulating various physiological functions in land snails, also determines their biogeographical distribution. Thus, species with different distribution may present different tolerance thermal limits. At the cellular level, the expression of heat shock proteins (Hsps) has a cytoprotective role defining the cell's thermal limits. Besides temperature, the snail's metabolic rate's intense reactivation upon awakening from dormancy may provoke stress. The facts mentioned above raise serious questions regarding the physiological role of Hsps in the cellular homeostasis of snails during dormancy and awakening at the members of the same species which present different altitudinal distribution. Specifically, land snail *Helix lucorum* displays a wide altitudinal distribution resulting in its populations being exposed to different seasonal temperature variations. The aim of the present study was the measurement of Hsp70 and Hsp90 levels in the tissue of hepatopancreas of *H. lucorum* individuals from two different populations, one residing at Axios (sea level-0m) and the other one at Kokkinopilos (Olympus-1250 m). There have also been mutual populations' changes, in order to study whether the different responses of Hsps depend solely on the environmental temperatures. Sampling of hepatopancreas tissues was performed on a monthly basis, followed by measurement Hsps using the method of SDS polyacrylamide gel electrophoresis. The results of the present study showed altered levels in both studied proteins in the hepatopancreas tissue of the snail, as much among different populations as between the same populations being exposed to varying altitudes. However, the changes between the members of the same population acclimated to different habitat, showed a relatively similar pattern of expression supporting the induction of the specific proteins under the prism of the thermal history of each species.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ ΕΙΔΗ ΜΙΚΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ KEFIR ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΗΛΙΤΗ ΟΙΝΟΥ

Νικολάου Αναστάσιος, Νικάκου Μαρία, Γαλάνης Αλέξης, Κουρκουτάς Ιωάννης
*Ερευνητική ομάδα Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας και Μοριακής Βιοτεχνολογίας, Τμήμα
Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Δραγάνα,
Αλεξανδρούπολη, 68100, Ελλάδα.*

Για την παραγωγή οίνων υψηλής και σταθερής ποιότητας απαιτείται η χρήση συγκεκριμένων μικροβιακών καλλιιεργειών, ενώ συνίστανται χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης (0-15°C) και διεξαγωγή μηλογαλακτικής ζύμωσης ταυτόχρονα με την αλκοολική. Σήμερα, υπάρχει έντονο ενδιαφέρον για την χρήση ακινητοποιημένων μικτών καλλιιεργειών στην βιομηχανική παραγωγή οίνου αποτελούμενες από ζύμες και μηλογαλακτικά βακτήρια, λόγω των τεχνικών και οικονομικών πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν. Κατά συνέπεια, στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν ο προσδιορισμός των α) μικροβιακών ειδών μικτής καλλιιεργείας kefir και β) πιθανών μεταβολών των μικροβιακών ειδών μετά από ακινητοποίηση σε φυσικά υποστρώματα, όπως κομμάτια μήλου και απολιγνισμένα κυτταρινούχα υλικά, και επαναλαμβανόμενων παρτίδων ζύμωσης για παραγωγή μηλίτη οίνου σε διάφορες θερμοκρασίες. Ο προσδιορισμός των μικροβιακών ειδών βασίστηκε στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ακολουθούμενη από ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης με κλίση αποδιατακτικών παραγόντων (PCR-DGGE ανάλυση). Οι επικρατέστερες ζύμες που ανιχνεύθηκαν ανήκαν στο είδος *Saccharomyces cerevisiae* και στο γένος *Kluyveromyces*. Όσο αφορά τον βακτηριακό πληθυσμό, ταυτοποιήθηκαν είδη λακτοβακίλλων, όπως *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus kefir* και *Lactobacillus sunkii*, που επιτελούν μηλογαλακτική ζύμωση. Η ακινητοποίηση συντέλεσε στην επιβίωση των γαλακτικών βακτηρίων και του είδους *Kluyveromyces* σε εύρος θερμοκρασιών 4-37°C και 4-45°C, αντίστοιχα. Το είδος *Zymomonas mobilis*, που προκαλεί αλλοίωση στον μηλίτη οίνο, ανιχνεύθηκε μόνο στα ελεύθερα κύτταρα κατά την διάρκεια των ζυμώσεων, αλλά όχι στην ακινητοποιημένη καλλιιεργεία.

EFFECT OF CELL IMMOBILIZATION AND TEMPERATURE ON MICROBIAL COMPOSITION OF KEFIR CULTURE DURING CIDER FERMENTATION

Nikolaou Anastasios, Nikakou Maria, Galanis Alex, Kourkoutas Yiannis

Applied Microbiology and Molecular Biotechnology Research Group, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Dragana, Alexandroupolis, GR 68100, Greece.

The selection of the appropriate microbial cultures and application of low temperature (0-15°C) fermentations are crucial factors for high quality cider production with steady product consistency. Nowadays, an upsurge of interest is observed in the use of immobilized mixed cultures in cider industry, consisting mainly of yeasts and malolactic bacteria, due to the techno-economic advantages compared to the free cells systems. Hence, the aims of the present study were to determine a) the microbial species present in kefir mixed culture and b) potential changes in microbial composition due to cell immobilization on natural supports, such as apple pieces and delignified cellulosic material, and to repeated batch fermentation of cider at various temperatures. Determination of microbial species was based on PCR-DGGE assay. The results showed that *Saccharomyces cerevisiae* and members of *Kluyveromyces* spp. were the predominant yeasts. Concerning malolactic bacteria populations, the major species identified were *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus kefir* and *Lactobacillus sunkii*. Cell immobilization resulted in survival of malolactic bacteria and *Kluyveromyces* members at temperature range of 4-37°C and 4-45°C, respectively. *Zymomonas mobilis*, known as cider spoilage microorganism, was detected only in free cells during fermentations, but not in the immobilized systems.

ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ CYCLIN A ΣΤΗΝ Escherichia coli: ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΑΠΟ ΤΑ ΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ, ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗΣ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ.

Νικολόπουλος Βάιος^{1,2}, Γρηγορούδης Αστέριος¹, Λεωνίδας Δημήτριος², Κοντοπίδης Γεώργιος¹

1/Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα, Ελλάδα - 2/Εργαστήριο Δομικής και Λειτουργικής Βιοχημείας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα

Οι εξαρτώμενες από τις κυκλίνες κινάσες, καθώς και οι συνεργοί ενεργοποίησής τους, έχουν γίνει ευρέως γνωστοί ως αντικαρκινικοί στόχοι, λόγω του ρυθμιστικού ρόλου τους στον κυτταρικό κύκλο. Στην εργασία αυτή επιχειρούμε την υπερέκφραση της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης Cyclin A (CA2), αναζητώντας τα επίπεδα απόδοσης και καθαρότητας που απαιτούνται στην προσπάθειά μας για κρυστάλλωση με πιθανούς αναστολείς. Το τμήμα της CA2 με την αλληλουχία αμινοξέων 174-432, δημιουργήθηκε από το αντίστοιχο cDNA και κλωνοποιήθηκε σε κατάλληλο βακτηριακό φορέα. Κατά την εξέταση διάφορων μεταβλητών και E. coli ξενιστών, καθορίστηκαν οι βέλτιστες συνθήκες για την έκφραση της πρωτεΐνης. Κατά την εφαρμογή στρατηγικών για την απόκτηση διαλυτής και αναδιπλωμένης πρωτεΐνης, επιχειρήθηκε η ανάκτηση της CA2 από τα σωματίδια εγκλεισμού. Αυτό οδήγησε και σε ένα βελτιστοποιημένο πρωτόκολλο ανάκτησης και αναδίπλωσης της πρωτεΐνης στόχου. Με τη μέθοδο χρωματογραφίας συγγένειας έγινε καθαρισμός του διαλυτού πλέον κλάσματος της πρωτεΐνης. Ακολούθησε χαρακτηρισμός της CA2 με πιθανούς αναστολείς με τη μορφή συντιθέμενων πεπτιδίων. Προσδιορίστηκε η σταθερά διάστασης (Kd) μέσω τιτλοδότησης με φασματοσκοπία φθορισμού κατά τη δέσμευσή της σε υποκαταστάτες και μελετώντας τη σχετική ενεργότητα της αναδιπλωμένης CA2 σε συνάρτηση με την ανάκτηση της.

OPTIMIZED EXPRESSION OF RECOMBINANT HUMAN CYCLIN A IN *Escherichia coli*: PURIFICATION FROM INCLUSION BODIES, REFOLDING SCREENING AND INHIBITION CHARACTERIZATION.

Nikolopoulos Vaios^{1,2}, Grigoroudis Asterios¹, Leonidas Dimitrios², Kontopidis George¹

1/Laboratory of Biochemistry, Department of Veterinary Science , University of Thessaly, Karditsa, Greece - 2/Laboratory of Structural and Functional Biochemistry, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece

Cyclin-dependent kinases, as well as their activation partners, have been widely held as anti-cancer targets, due to their regulatory role in cell cycle. In this work we attempt the over-expression of recombinant truncated forms of human Cyclin A (CA2), seeking the high levels of yield and purity required in our attempt to crystallize its complexes with potential inhibitors. Truncated CA2 (amino acids 174-432) have already been generated from cDNA and fused to the appropriate bacterial vector. Upon screening various expression factors and *E. coli* hosts, optimum expression conditions were determined. Implementing various strategies for protein refolding, we attempted to purify soluble CA2 from inclusion bodies, leading to an optimized refolding protocol. One-step affinity chromatography methods were utilized to purify soluble protein at a satisfactory level. CA2 was subsequently characterized with putative inhibitors in the form of existing synthesized peptides. Determination of Dissociation Constant (K_d) from Fluorescence titration of binding activity to already established ligands, revealed that refolded CA2 retained its activity in levels respective to the purity and recovery of the product.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟΥ ΔΕΚΑΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α ΣΕ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Νίκου Σπυριδούλα ¹, Κλάγκου Ελευθερία ¹, Σαμαρά Πηνελόπη ¹, Τσιτσάμη Έλενα ²,
Μαγκίνα Νίνα ³, Κουνουγέρη Αικατερίνη ³, Γερμενής Αναστάσιος ⁴, Τσιτσιλώνη
Ουρανία ¹

1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 2/Μονάδα
Παιδιατρικής Ρευματολογίας, Α' Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, 3/ΜΕΘ
«Κωνσταντοπούλειου» Γενικού Νοσοκομείου Νέας Ιωνίας, Αθήνα, 4/Εργαστήριο
Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η προθυμοσίνη α (προΤα) βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου και ελέγχει σημαντικές διεργασίες που σχετίζονται με την κυτταρική επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό. Κατά τη νέκρωση, το κύτταρο καταστρέφεται και διάφορα συστατικά του, ανάμεσα στα οποία και η προΤα, απελευθερώνονται εξωκυτταρικά. Κατά την απόπτωση, η προΤα θραυσματοποιείται και εξωκυτταρώνεται το δεκαπεπτιδίό της, προΤα(100-109). Στο εργαστήριο μας αναπτύξαμε ευαίσθητη ELISA που ανιχνεύει ειδικά το προΤα(100-109) στον ορό του αίματος και προσδιορίσαμε τη συγκέντρωσή του σε ορούς υγιών ατόμων (n=44), σε παιδιατρικούς ασθενείς με αυτοφλεγμονώδη νοσήματα (n=27) και με λοιμώξεις (n=15), καθώς και σε σειριακά δείγματα ορών από ενήλικες νοσηλεύομενους στη ΜΕΘ (n=30). Όπως προέκυψε από τα αποτελέσματα, η μέση συγκέντρωση του προΤα(100-109) στον ορό των υγιών ατόμων είναι ιδιαίτερα χαμηλή (<1 ng/mL). Στους παιδιατρικούς ασθενείς με λοιμώξεις ανιχνεύθηκε υψηλότερη μέση συγκέντρωση προΤα(100-109) (1,966 ng/mL) σε σχέση με την ομάδα των αυτοφλεγμονωδών νοσημάτων, όπου η μέση συγκέντρωση του δεκαπεπτιδίου ήταν σε ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα (0,358 ng/mL). Στους ασθενείς της ΜΕΘ που εμφάνισαν βακτηριακές λοιμώξεις παρατηρήθηκαν διακυμάνσεις στη συγκέντρωση του προΤα, οι οποίες συσχετίζονταν με την αντίστοιχη κλινική εικόνα και τους εργαστηριακούς δείκτες. Αντίθετα, χαμηλή ήταν η συγκέντρωση του προΤα(100-109) (<2 ng/mL) σε περιστατικά που νοσηλεύθηκαν στη ΜΕΘ για διάφορες αιτίες, χωρίς ωστόσο να εμφανίσουν λοίμωξη. Από τα μέχρι τώρα δεδομένα, συμπεραίνουμε ότι η μέτρηση του προΤα(100-109) στον ορό μπορεί να συμβάλλει, σε συνδυασμό με καθιερωμένους εργαστηριακούς δείκτες, ως βιοδείκτης στην παρακολούθηση της κλινικής πορείας δυνητικά σηπτικών ασθενών, καθώς και στη διαφοροδιάγνωση ασθενών με φλεγμονές μη λοιμώδους αιτιολογίας από τις αντίστοιχες λοιμώδους αιτιολογίας. Χρηματοδότηση: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE; Η εκπόνηση της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε με χρηματοδότηση του Κοινωφελούς Ιδρύματος Ιωάννη Σ. Λάτση. Η ευθύνη για το περιεχόμενό της ανήκει αποκλειστικά στους συντάκτες αυτής.

PROGNOSTIC EVALUATION OF THE C-TERMINAL DECAPEPTIDE OF PROTHYMOSIN α IN INFECTIONS CAUSED BY PATHOGENIC BACTERIA

Nikou Spyridoula¹, Klagkou Eleftheria¹, Samara Pinelopi¹, Tsitsami Elena², Maggina Nina³, Kounougeri Aikaterini³, Germenis Anastasios⁴, Tsitsilonis Ourania¹

1/Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, 2/Pediatric Rheumatology Unit, 1st Department of Pediatrics, Children's Hospital "Aghia Sophia", NKUA, 3/Intensive Care Unit, 'Konstantopouleio" Hospital, Nea Ionia, Athens, 4/Department of Immunology and Histocompatibility, School of Medicine, University of Thessaly

Under physiological conditions, prothymosin α is localized in the cell nucleus and controls important processes related to cell survival and proliferation. During necrosis, the cell is destroyed and various components, including proT α , are extracellularly released. During apoptosis, proT α is truncated and its decapeptide proT α (100-109) is exocytosed. In our laboratory, we developed a sensitive ELISA that specifically detects proT α (100-109) in blood serum and we determined its concentration in the serum of healthy individuals (n=44), in pediatric patients with autoinflammatory diseases (n=27) and infections (n=15) and in serially collected serum samples from adults hospitalized in the ICU (n=30). As shown by our results, the mean concentration of proT α (100-109) in the serum of healthy individuals is very low (<1 ng/mL). In pediatric patients with infections, we detected higher mean concentration of proT α (100-109) (1.966 ng/mL) compared to the group of patients with autoinflammatory diseases, where the mean concentration of the decapeptide was particularly low (0.358 ng/mL). In ICU patients who developed bacterial infections, we observed variations in the concentration of proT α (100-109), which were correlated with clinical symptoms and laboratory markers. In contrast, the concentration of proT α (100-109) was low (<2 ng/mL) in patients hospitalized in the ICU for various reasons, without signs of infection. Based on the current data, we conclude that the determination of the levels of proT α (100-109) in serum may be used, in conjunction with established laboratory markers, as a biomarker to monitor the clinical course of potentially septic patients and to discriminate patients with non-infectious inflammations from those with inflammation caused by infectious agents. Funding: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE; The project was funded by the John S. Latsis Public Benefit Foundation. The sole responsibility for the content lies with its authors.

ΤΑ ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ MYC ΕΠΑΓΟΥΝ ΤΗ ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΣΗ ΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ VL30: ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ c-Myc-ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

**Νουτσόπουλος Δημήτριος^{1,2}, Παπαθανασίου Μαρία^{1,2}, Μαρκόπουλος Γεώργιος¹,
Μάντζιου Στεφανία¹, Θρασυβούλου Σωτηρούλα¹, Βαρθολομάτος Γεώργιος³, Κωλέττας
Ευάγγελος⁴, Τζαβάρας Θεόδωρος¹**

*1/ Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων - 2/
Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Νευροανοσολογίας, Τμήμα Βιολογικών
Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων - 3/ Αιματολογικό Εργαστήριο,
Μονάδα Μοριακής Βιολογίας, ΠΠΝΙ - 4/ Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45-110, Ιωάννινα*

Τα στοιχεία VL30 είναι μη αυτόνομα LTR-ρετροτρανσποζόνια, παρόντα στο γένωμα του μυός, και έχουμε αποδείξει ότι η ρετρομετάθεσή τους συσχετίζεται με τον κυτταρικό μετασχηματισμό. Τα ογκογονίδια Myc, δρώντας ως μεταγραφικοί παράγοντες, εμπλέκονται στην απορρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και τον κυτταρικό μετασχηματισμό. Στόχος μας ήταν η συσχέτιση της έκφρασης των ογκογονιδίων c-Myc και N-Myc με την επαγωγή της ρετρομετάθεσης των στοιχείων VL30. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε ένα κυτταρικό μοντέλο μελέτης της ρετρομετάθεσης (Pcl.10) και πλάσμιδια που εκφράζουν τα ογκογονίδια c-Myc και N-Myc. Μετά από διαμόλυνση κυττάρων Pcl.10, απομονώσαμε μονήρεις και μαζικούς κλώνους Pcl.10/c-Myc, καθώς και μαζικούς κλώνους Pcl.10/N-Myc. Σε όλες τις περιπτώσεις των κυτταρικών πληθυσμών ανιχνεύθηκαν γεγονότα ρετρομετάθεσης μέσω EGFP-θετικών κυττάρων με μικροσκοπία UV που πιστοποιήθηκαν σε γενωμικό επίπεδο με ανάλυση PCR. Η συχνότητα ρετρομετάθεσης μετρήθηκε με FACS και βρέθηκε ότι η έκφραση των ογκογονιδίων c-Myc ή N-Myc επάγει τη ρετρομετάθεση έως και 191.600 ή 78.200 φορές παραπάνω από τη φυσική συχνότητα, αντίστοιχα. Αναλύοντας μονήρεις κυτταρικούς κλώνους που εκφράζουν το ογκογονίδιο c-Myc με διαφορετικές συχνότητες ρετρομετάθεσης αποδείξαμε ότι η ρετρομετάθεση των VL30 οδηγεί σε στάση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M, αντικατοπτρίζοντας το μέγεθος των βλαβών του DNA και τη γενωμική αστάθεια που προκαλούν οι ρετρομεταθετικές ενσωματώσεις. Παρατηρήσαμε ότι η επαγόμενη ρετρομετάθεση από c-Myc συνοδεύεται από παρουσία μορφολογικών χαρακτηριστικών κυτταρικού θανάτου, όπως πυρηνική συμπύκνωση, σχηματισμό κενοτοπίων στο κυτταρόπλασμα και σχηματισμό πολυπύρηνων κυττάρων. Περαιτέρω, η καλλιέργεια κυττάρων θετικών σε ρετρομετάθεση αποκάλυψε το σχηματισμό κυτταρικών εστιών αναπτυσσόμενων υπέρμετρα υπό συνθήκες μειωμένης προσκόλλησης. Συνολικά, τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν ότι η έκφραση των ογκογονιδίων Myc αποτελεί ικανή συνθήκη επαγωγής γεγονότων ρετρομετάθεσης των στοιχείων VL30 και, επιπρόσθετα, αναδεικνύουν το ρόλο της ρετρομετάθεσης στην επαγόμενη από c-Myc γενωμική αστάθεια που δύναται να οδηγήσει σε καρκινογένεση.

MYC ONCOGENES INDUCE VL30 RETROTRANSPOSITION: CORRELATION OF RETROTRANSPOSITION WITH c-Myc-INDUCED CARCINOGENESIS

Noutsopoulos Dimitrios^{1,2}, Papathanasiou Maria^{1,2}, Markopoulos Georgios¹, Mantziou Stefania¹, Thrasyvoulou Soteroula¹, Vartholomatos Georgios³, Kolettas Evangelos⁴, Tzavaras Theodore¹

1/ Laboratory of General Biology, Medical School, University of Ioannina - 2/ Laboratory of Cellular and Molecular Neuroimmunology, Department of Biological Applications and Technology, University of Ioannina - 3/ Hematology Laboratory, Molecular Biology Unit, University Hospital of Ioannina - 4/ Laboratory of Physiology, Medical School, University of Ioannina, 45-110, Ioannina

VL30 elements are non-autonomous LTR-retrotransposons, present in the mouse genome, and we have previously shown that VL30 retrotransposition is correlated with cellular transformation. Myc oncogenes, acting as transcriptional factors, are implicated in the deregulation of cell cycle and cellular transformation. Aim of this work was to investigate whether the expression of c-Myc and N-Myc oncogenes can induce VL30 retrotransposition. To this end, we used an EGFP-based cell culture assay for studying VL30 retrotransposition (Pcl.10) as well as expression vectors encoding c-Myc and N-Myc oncogenes. Following transfection of Pcl.10 cells, we isolated Pcl.10/c-Myc single and massive clone as well as Pcl.10/N-Myc massive clone cell populations. VL30 retrotransposition events were detected in all cell populations through EGFP-positive cells using UV microscopy, further confirmed as genomic integrations by PCR analysis. Furthermore, measuring retrotransposition events by FACS analysis we found that the expression of c-Myc or N-Myc induces retrotransposition at high levels, resulting in an induction up to 191.600- or 78.200-fold higher comparing to the natural retrotransposition frequency, respectively. By analyzing cell cycle phase distributions of c-Myc expressing single clones with different retrotransposition frequencies, we showed that VL30 retrotransposition induces G2/M arrest, reflecting the extend of DNA damage and genomic instability caused by VL30 retrotransposon integrations. We observed that c-Myc-induced retrotransposition-positive cells displayed typical hallmarks of cell death, such as nuclear condensation, cytoplasmic vacuolization and multinucleation. Moreover, cell culture of retrotransposition-positive cells revealed the formation of foci, which were proliferated in an uncontrolled manner under reduced anchorage conditions. Taken together, our results demonstrate that Myc oncogenes expression can induce VL30 retrotransposition and, moreover, highlight the role of retrotransposition on c-Myc-induced cellular transformation capable to lead in carcinogenesis.

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ HNF4α ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ EMT ΣΕ ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΕΣ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ HUH-7

**Ντίνα Όλγα-Μαρία¹, Λιούλια Ελισάβετ¹, Χυτίρογλου Πρόδρομος², Πουταχίδης
Θεόφιλος³, Βαλλιάνου Ιωάννα¹, Ντάφου Δήμητρα¹, Χατζοπούλου-Κλαδαρά Μαργαρίτα¹**
*1/Εργαστήριο Βιολογίας Ανάπτυξης, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής
Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 2/Εργαστήριο Γενικής Παθολογίας και
Παθολογικής Ανατομικής, Τομέας Ανατομικής και Παθολογικής Ανατομικής,
Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ - 3/Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54
124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα -3/Εργαστήριο Παθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα*

Ο ηπατοειδικός μεταγραφικός παράγοντας HNF4α διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των ηπατοκυττάρων και είναι υπεύθυνος για τον σχηματισμό του ηπατικού επιθηλίου ρυθμίζοντας την έκφραση μορφογενετικών παραγόντων, όπως η E-cadherin. Πρόσφατα, η μειωμένη έκφραση του, μέσω ενεργοποίησης των miR-24 και miR-629 συσχετίστηκε με την εμφάνιση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (HCC). Κύριο φαινόμενο κατά την καρκινογένεση αποτελεί η επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή (EMT), όπου μέσω απώλειας επιθηλιακού προτύπου έκφρασης και ενεργοποίησης σηματοδοτικών μονοπατιών, προάγεται η μετάσταση. Για τη διερεύνηση του ρόλου της καταστολής του HNF4α στην καρκινογένεση, πραγματοποιείται μελέτη της EMT σε σταθερές μονοκλωνικές κυτταρικές σειρές σε κύτταρα Huh-7 με μειωμένη έκφραση του HNF4α. Η δημιουργία τους βασίστηκε στη μέθοδο μόλυνσης με λέντι-ιό, ενώ η εκτίμηση των επιπέδων του HNF4α έγινε με Real-Time PCR και Western Blot. Ελέγχθηκε η έκφραση επιθηλιακών και μεσεγχυματικών δεικτών στις σειρές αυτές, ενώ με μικροσυστοιχίες Real-Time PCR μελετήθηκε η εμπλοκή των μονοπατιών Notch και TGF-β στην EMT. Τα παραπάνω γονιδιακά πρότυπα μελετήθηκαν και σε τρισδιάστατα κυτταρικά μοντέλα παροδικής καταστολής του HNF4α μέσω του miR-24, και έγινε επαλήθευση των προτύπων με ανοσοϊστοχημεία. Χαρακτηρίστηκαν μονοκλωνικές κυτταρικές σειρές με χαμηλό, ενδιάμεσο και υψηλό επίπεδο καταστολής του HNF4α. Η ποσοτικοποίηση δεικτών EMT έδειξε αναλογική σχέση της αυξημένης καταστολής του HNF4α με την επαγωγή EMT, αποκαλύπτοντας έντονη απώλεια επιθηλιακών δεικτών (E-cadherin) και εμφάνιση μεσεγχυματικών (N-cadherin, vimentin), σε συνδυασμό με ενεργοποίηση της έκφρασης μεταγραφικών παραγόντων επαγωγέων της EMT (SNAIL, ZEB, TWIST). Επιπλέον, παρατηρήθηκε ενεργοποίηση των μονοπατιών Notch και TGF-β στις υπό μελέτη σειρές, με ανοδική έκφραση διαφόρων συστατικών τους. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η μειωμένη έκφραση του HNF4α οδηγεί στην επαγωγή της EMT σε ηπατοκαρκινικά κύτταρα.

HNF4 α TRANSCRIPTION FACTOR MEDIATED EMT IN 3D HUH-7 HEPATIC CELL LINES

Ntina Olga-Maria¹, Lioulia Elisavet¹, Hytioglou Prodromos², Poutahidis Theofilos³, Vallianou Ioanna¹, Dafou Dimitra¹, Hadzopoulou-Cladaras Margarita¹

1/Laboratory of Developmental Biology, Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54 124, Greece - 2/ Laboratory of Pathology and Anatomy, Department of Anatomy and Pathology, AHEPA Hospital, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54 124, Greece - 3/ Laboratory of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, 54 124 Thessaloniki, Greece

The hepatic transcription factor HNF4 α plays an important role in the differentiation of hepatocytes, and is responsible for the development of hepatic epithelium by regulating the expression of morphogenetic factors such as E-cadherin. Recently, the correlation has been made of reduced expression of HNF4 α with increased expression of miR-24 and miR-629, in hepatocellular carcinoma (HCC). Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) represents an important phenotypic marker during carcinogenesis, where the loss of epithelial specific markers and the increased expression of mesenchymal markers support the progression of metastasis. In order to elucidate the role of reduced expression of HNF4 α in liver carcinogenesis, we aimed to study the process of EMT in stable monoclonal HNF4 α knock down (KD) Huh-7 cells. The establishment of these cell lines was achieved by lentiviral mediated transduction of silencing constructs. The assessment of HNF4 α KD was performed by Real-Time qPCR and Western blot analysis. Next, the expression of epithelial and mesenchymal specific markers was analyzed. We also investigated the involvement of major signaling pathways (Notch, TGF- β) by Real Time qPCR Arrays. Similarly, gene expression profiles were analyzed in 3 Dimensional (3D) models of transient overexpression of miR-24 in Huh-7 cells followed by validation of protein expression by immunohistochemistry. Huh-7 stable monoclonal cells lines with low, intermediate and high levels of HNF4 α expression were characterized. Quantification of EMT markers revealed a correlation in increased HNF4 α KD with increased expression of mesenchymal (N-cadherin, vimentin), reduced expression of epithelial markers (E-cadherin) and altered expression of master inducers (SNAIL, ZEB, TWIST). Furthermore, we observed the induction of the Notch and TGF- β signaling pathways in these cellular models. The data collectively indicate that reduced expression of HNF4 α induces EMT in liver cancer cells.

ΣΤΑΔΙΟ-ΕΔΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΗΣ ΘΕΡΜΟΕΠΑΓΟΜΕΝΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ HSP27 ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ CERATITIS CAPITATA

Οικονόμου Κατερίνα, Κοτσιλίτη Ελένη, Μίντζας Αναστάσιος
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ο κύριος ρόλος των μικρών θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών (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 την έκφραση της πρωτεΐνης HSP27 της μεσογειακής μύγας (CcHSP27) στις ωοθήκες. QPCR ανάλυση έδειξε σημαντική έκφραση του Cchsp27 mRNA στις γονάδες των ενηλίκων ατόμων, με τους όρχεις να παρουσιάζουν περίπου τριπλάσια έκφραση από τις ωοθήκες. Για τον κυτταρικό εντοπισμό της CcHSP27, δημιουργήθηκε ένα διαγονιδιακό στέλεχος που έφερε το διαγονίδιο Cchsp27-GFP υπό τον έλεγχο της 5' ανοδικής περιοχής (-2808/+150) του γονιδίου Cchsp27. Ωοθήκες από ομόζυγα διαγονιδιακά άτομα τεσσάρων ημερών εξετάστηκαν με συνεστιακή μικροσκοπία. Η εξέταση έγινε τόσο σε κανονικά άτομα όσο και σε άτομα που είχαν υποστεί θερμικό στρες στους 39°C για μία ώρα. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι σε όλα τα στάδια της ωογένεσης, η χιμαιρική πρωτεΐνη CcHSP27-GFP εντοπίζεται μόνο στον πυρήνα των θυλακιοκυττάρων, τόσο σε κανονικές συνθήκες όσο και μετά από θερμικό στρες. Η χιμαιρική πρωτεΐνη εκφράζεται στα θυλακιοκύτταρα των πρώιμων ωοθυλακίων (στάδια 2-6), ενώ στα στάδια 8 ένας μικρός αριθμός θυλακιοκυττάρων εκφράζει την χιμαιρική πρωτεΐνη. Στο στάδιο 10, η πρωτεΐνη εκφράζεται ισχυρά στα θυλακιοκύτταρα που περιβάλλουν το ωοκύτταρο και λιγότερο στα θυλακιοκύτταρα που περιβάλλουν τα τροφικά κύτταρα. Στο ίδιο στάδιο, έντονη έκφραση παρατηρήθηκε και στα κύτταρα που βρίσκονται στο όριο των τροφικών κυττάρων και του ωοκυττάρου (border cells). Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν πως η CcHSP27 παίζει σημαντικό ρόλο στα θυλακιοκύτταρα κατά την ωογένεση του εντόμου.

STAGE-SPECIFIC LOCALIZATION OF THE SMALL HEAT SHOCK PROTEIN HSP27 DURING OOGENESIS IN THE MEDFLY CERATITIS CAPITATA

Economou Katerina, Kotsiliti Eleni, Mintzas Anastassios

Department of Biology, University of Patras

The primary role of the small heat shock proteins (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 expression of the medfly sHSP27 (CcHSP27) during oogenesis. QPCR analysis showed significant expression of Cchsp27 mRNA in the gonads of mature flies, with testis showing about 3 fold expression comparatively to the ovaries. To determine cell localization of CcHSP27 we made a transgenic strain that contained the Cchsp27-GFP transgene under the control of the 5' upstream region (-2808/+150) of the Cchsp27 gene. Ovaries from homozygous transgenic mature flies (4-day-old) were examined by confocal microscopy. Ovaries from both unstressed and heat-shock (1 h at 39°C) individuals were examined. In both cases the chimeric protein CcHSP27-GFP was found in the nuclei of the follicle cells. The chimeric protein was expressed in follicle cells of the early egg chambers (stages 2-6) while a small number of follicle cells expressed this protein at stage 8. At stage 10, the follicle cells surrounding the oocyte showed high expression of the chimeric protein, while low expression was observed in the follicle cells surrounding the nurse cells. In the same stage, high expression was also observed in the border cells. Our results suggest that CcHSP27 has important function(s) in the follicle cells during medfly oogenesis.

ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΑ: ΟΙ ΣΥΝΗΘΕΙΣ ΥΠΟΠΤΟΙ ΣΤΗΝ ΛΙΜΝΗ ΚΑΡΛΑ

Πάνου Μάνθος, Γκέλης Σπύρος

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

Η Λίμνη Κάρλα αποτελεί ένα παράδειγμα λιμναίου οικοσυστήματος, που αποξηράνθηκε το 1962 και η επαναπλήρωση της ξεκίνησε το 2009. Η ποιότητα του νερού της λίμνης έχει υποβαθμιστεί κυρίως λόγω της υπερφόρτωσής της με άλατα αζώτου και φωσφόρου, προερχόμενα από ανθρωπογενείς δραστηριότητες, αυξάνοντας την συχνότητα των ανθήσεων τοξικών κυανοβακτηρίων και την παρουσία κυανοτοξινών. Η παρούσα εργασία, μέρος ενός ευρύτερου προγράμματος παρακολούθησης της ποιότητας του νερού στη Λίμνη Κάρλα, έχει ως στόχο την καταγραφή των κυρίαρχων φυτοπλαγκτικών οργανισμών και την απομόνωση κυανοβακτηρίων. Δείγματα νερού συλλέχθηκαν μεταξύ Ιουλίου 2013 και Μαρτίου 2014 από τρεις σταθμούς δειγματοληψίας στην Λίμνη Κάρλα και έναν στον γειτονικό ταμιευτήρα Καλαμάκι. Η αναγνώριση των ειδών έγινε με οπτική μικροσκοπία και ο προσδιορισμός της αφθονίας τους με τη μέθοδο Utermöhl. Τα στελέχη απομονώθηκαν σε στερεό και υγρό θρεπτικό μέσο BG11 με την χρήση κλασσικών μικροβιολογικών μεθόδων και αναπτύχθηκαν ως υγρές μονοκαλλιέργειες. Οι «συνήθεις ύποπτοι» *Anabaenopsis elenkinii*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides*, *Planktothrix agardhii* και ο «τροπικός εισβολέας» *Cylindrospermopsis raciborskii* είναι τα κυρίαρχα είδη κυανοβακτηρίων (και μεταξύ των κυρίαρχων ειδών φυτοπλαγκτού) στη Λίμνη Κάρλα. Απομονώθηκαν 17 στελέχη, που ανήκουν σε 10 γένη (*Microcystis*, *Radiocystis*, *Synechococcus*, *Limnothrix*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena*, *Anabaena/Dolichospermum*, *Anabaenopsis*, *Cylindrospermopsis*, και *Sphaerospermopsis*) και εξετάστηκαν για την παρουσία γονιδίων που εμπλέκονται στην παραγωγή κυανοτοξινών, όπως οι μικροκυστίνες, κυλινδροσπερμοψίνες, σαξιτοξίνες και ανατοξίνες, με τη χρήση μοριακών μεθόδων. Η απομόνωση και ο χαρακτηρισμός όλων των μέχρι στιγμής καταγεγραμμένων δυνητικά τοξικών κυανοβακτηρίων από τη Λίμνη Κάρλα, μας παρέχει νέο υλικό για την κατανόηση της δημιουργίας ανθήσεων και παραγωγής κυανοτοξινών τόσο στην Λίμνη Κάρλα όσο και στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου.

CYANOBACTERIA: THE USUAL SUSPECTS IN LAKE KARLA

Panou Manthos, Gkelis Spyros

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki, Greece*

Lake Karla (Central Greece) is an example of a lake ecosystem, which was dried up in 1962 and its refilling started in 2009. The lake's water quality has been degraded by nutrient loading, primarily from extensive human activities, increasing the frequency of toxic cyanobacteria blooms and cyanotoxin occurrence. This study, being part of an ongoing water quality monitoring program in Lake Karla, focuses on the identification of the dominant phytoplankton species and the isolation of cyanobacteria. Water samples were collected between July 2013 and March 2014 from three sampling sites in Lake Karla and one from the adjacent Kalamaki reservoir. Species were identified using light microscopy and their abundance was determined by the Utermöhl method. Strains were isolated on solid and/or liquid BG11 growth medium using classical microbiological techniques and grown as batch clonal unialgal liquid cultures. The "usual suspects" *Anabaenopsis elenkinii*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides*, *Planktothrix agardhii* and the tropic invasive *Cylindrospermopsis raciborskii* were the most abundant cyanobacteria (and among the dominant phytoplankton species) in Lake Karla. 17 strains belonging to 10 genera (*Microcystis*, *Radiocystis*, *Synechococcus*, *Limnothrix*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena*, *Anabaena/Dolichospermum*, *Anabaenopsis*, *Cylindrospermopsis*, and *Sphaerospermopsis*) were isolated and screened for the occurrence of genes implicated in the biosynthesis of the cyanotoxins microcystins, cylindrospermopsins, saxitoxins, and anatoxins using molecular methods. The isolation and characterization of all the currently known potentially toxic cyanobacteria in Lake Karla provides a missing study material for the understanding of bloom formation and cyanotoxin production both in Lake Karla and the Mediterranean.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ AKT ΚΑΙ MTOR ΣΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΩΝ ΝΕΥΡΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Παπαγεωργίου Κυριακή^{1,2}, Τσίγκας Ιωάννης^{1,2}, Μιχαηλίδης Θεολόγος^{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 που ρυθμίζουν βασικές λειτουργίες της βιολογίας του κυττάρου όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση. Ένας απ' τους κύριους μηχανισμούς με τους οποίους η Akt προάγει τις παραπάνω λειτουργίες είναι η ενεργοποίηση του συμπλόκου mTORC1, φωσφορυλιώνοντας την καταλυτική του υπομονάδα στη θέση Ser2448. 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 συγκριτική μελέτη της επίδρασης των μονοπατιών Akt και mTOR στον πολλαπλασιασμό της νευροβλαστωματικής κυτταρικής σειράς Neuro2A. Μετά από την φαρμακολογική αναστολή των παραπάνω μονοπατιών παρακολουθήσαμε την κυτταρική διαίρεση και τα επίπεδα έκφρασης πρωτεϊνών-δεικτών του πολλαπλασιασμού καθώς και πρωτεϊνών-στόχων των κινασών Akt και mTOR. Μέσω ανάλυσης FACS και μικροσκοπίας φθορισμού διαπιστώσαμε ότι η παρεμπόδιση των δύο μονοπατιών προκαλεί αναστολή του κυτταρικού κύκλου σε διαφορετικές φάσεις. Παρατηρήσαμε επίσης ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών-στόχων των κινασών PI3K και mTOR μεταβάλλονται με διαφορετικό τρόπο κατά την αναστολή, αλλά και κατά την ενεργοποίηση του κυτταρικού κύκλου μετά την απομάκρυνση των αναστολέων. Αυτή η προσέγγιση 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.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE AKT AND mTOR SIGNALING ON NEUROBLASTOMA CELL PROLIFERATION

Papageorgiou Kyriaki^{1,2}, Tsigkas Ioannis^{1,2}, Michaelidis Theologos^{1,2}

1/Department 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 represents a convergence point for multiple signaling pathways coordinating critical cell functions, such as proliferation and differentiation. Among the major mechanisms by which Akt regulates these processes appears to be the activation of mTORC1 complex through phosphorylation of the catalytic subunit at Ser2448. A prerequisite for Akt kinase activation is the phosphorylation on residue Thr308 from PDK1, a PI3K target, and on Ser473 from mTORC2. Our purpose is the comparative analysis of the influence of Akt and mTOR pathways on the proliferation of Neuro2A neuroblastoma cell line. Using selective pharmacological inhibitors for these pathways we monitored cell division and expression levels of proliferating markers as well as of key components of Akt and mTOR pathways. FACS and fluorescent microscopy analysis revealed that the inhibition of these pathways results in cell cycle arrest at different phases. The results also revealed that the phosphorylation pattern of certain mTOR and PI3K target proteins is differentially affected by the presence of the inhibitors as well as by their removal. Our data may provide new insights for the identification of novel Akt –mTOR targets that might be linked to the onset and progression of neuroblastoma.

**ΕΚΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΡΥΘΡΟΕΙΔΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΑΠΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΜΙΚΤΗΣ ΧΙΜΑΙΡΑΣ ΣΕ
IN VITRO ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΞΕΝΟΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗΣ**

**Παπαγιάννη Π.^{1,2}, Καρπώνη Γ.¹, Βαφειάδου Κ.¹, Αναγνωστόπουλος Α.¹, Γιάγκου Μ.²,
Γιαννάκη Ε.¹**

1/Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική-ΜΜΜΟ, Νοσοκομείο Γ. Παπανικολάου, Θεσσαλονίκη - 2/Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

Η προκλινική αξιολόγηση της ικανότητας εμφύτευσης γενετικά διορθωμένων ανθρώπινων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCs) αποτελεί προϋπόθεση πριν την κλινική εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας. Το πλέον εξελιγμένο μοντέλο ξενομεταμόσχευσης ποντικού (IL2R γ manull) υποστηρίζει την ανθρώπινη αιμοποίηση, αλλά ανεπαρκώς την ερυθροποίηση. Κατά συνέπεια, η προκλινική εκτίμηση της εμφύτευσης και έκφρασης της ερυθράς σειράς μετά από μεταμόσχευση γενετικά διορθωμένων HSCs από θαλασσαιμικούς ασθενείς σε μερικώς μυελοκατεσταλμένους IL2R γ manull λήπτες, είναι πρακτικά αδύνατη. Εναλλακτική προσέγγιση αποτελεί η απομόνωση των εμφυτευμένων ανθρώπινων κυττάρων από τον μυελό των οστών (ΜΟ) των ζώων και η ex vivo καλλιέργειά τους προς ερυθροειδική διαφοροποίηση. Πραγματοποιήθηκε in vitro προσομοίωση του μοντέλου ξενομεταμόσχευσης, με στόχο την ανάπτυξη μεθόδου που θα εξασφάλιζε ικανοποιητική έκπτυξη ερυθροβλαστών, ώστε να καταστεί εφικτή η ποσοτικοποίηση των ανθρώπινων σφαιρινών. Για το σκοπό αυτό, ΜΟ ανθρώπου και ποντικού αναμίχθηκε σε αναλογία 20:80 ώστε να προσεγγιστεί ρεαλιστικά το αναμενόμενο ποσοστό της ανθρώπινης χίμαιρας για τη λευκή σειρά κατά τον 2ο-3ο μήνα μετά την ξενομεταμόσχευση. Με ανοσομαγνητικό διαχωρισμό, απομακρύνθηκαν τα CD45+ κύτταρα του ποντικού από τον χιμαιρικό ΜΟ. Στη συνέχεια, ο εμπλουτισμένος σε ανθρώπινα κύτταρα πληθυσμός καλλιιεργήθηκε προς ερυθροειδική διαφοροποίηση για 17 ημέρες. Πραγματοποιήθηκαν δύο ανακαλλιέργειες (ημέρες 7,10) και η πορεία της διαφοροποίησης ελεγχόταν με κυτταρομετρία ροής σε διαφορετικά χρονικά στιγμότυπα (ημέρες 4,7,10,17) μετά από χρώση με CD235α και CD45. Κατά τον τερματισμό της καλλιέργειας την ημέρα 17, τα κύτταρα καταψύχθηκαν για μελλοντική ποσοτικοποίηση των σφαιρινών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Συνολικά, σε 3 επαναλαμβανόμενα πειράματα, επιτεύχθηκε πενταπλάσια έκπτυξη των ανθρώπινων κυττάρων συγκριτικά με την ημέρα 0, ενώ το ποσοστό των ερυθροβλαστών ανθρώπινης προέλευσης την ημέρα 17 ήταν >75%. Εν κατακλείδι, αναπτύχθηκε μια αναπαραγώγιμη μέθοδος ex vivo έκπτυξης και ερυθροειδικής διαφοροποίησης από πληθυσμό μικτής χίμαιρας που θα χρησιμεύσει ιδιαίτερα στην προκλινική αξιολόγηση της γονιδιακής θεραπείας της β-θαλασσαιμίας.

EXPANSION AND ERYTHROID DIFFERENTIATION OF HUMAN BONE MARROW CELLS FROM MIXED CHIMERA: IN VITRO SIMULATION OF A XENOTRANSPLANTATION MODEL

Papagianni P.^{1,2}, Karponi G.¹, Vafeiadou K.¹, Anagnostopoulos A.¹, Yiangou M.², Yannaki E.¹

1/Gene and Cell Therapy Center, Hematology Department-BMT Unit, George Papanicolaou Hospital, Thessaloniki, Greece - 2/School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki.

The preclinical evaluation of the engrafting potential of genetically modified hematopoietic stem cells (HSCs) is a prerequisite for the clinical application of gene therapy. The IL2R γ manull NOD-SCID mice represent the best available xenotransplantation model which supports human hemopoiesis, albeit inadequately human erythropoiesis, thus hampering preclinical assesement of the engraftment potential and globin expression in thalassemia gene therapy. The ex vivo human erythroid expansion of the chimeric bone marrow from xenografted mice is potentially an alternative approach to investigate the erythroid lineage engraftment and expression. We performed an in vitro simulation of the mixed chimera after xenotransplantation, in order to develop a method that ensures the expansion and differentiation of erythroid lineage starting from limited numbers of human HSCs. For this purpose, human and murine bone marrow was mixed at a 20:80 ratio in order to mimic the expected frequency of human chimera during the 2nd-3rd month post xenotransplantation. The chimeric bone marrow was depleted from murine CD45⁺ cells with immunomagnetic separation and the enriched human cell population was cultured to the erythroid lineage for 17 days. Cells were split twice (Days 7, 10) and the differentiation process was checked at specific time points (Days 4, 7, 10, 17) by flow cytometry after CD235a and CD45 staining. Upon culture termination on Day 17, the cells were frozen for globin chain quantification via high performance liquid chromatography (HPLC). Overall, in three experiments, we achieved a five-fold expansion of human cells over baseline and a >75% enrichment in human erythroblasts . In summary, we developed a reproducible method for the ex vivo expansion and erythroid differentiation of human cells starting from mixed chimera, which could be particularly useful for the preclinical evaluation of gene therapy of β -thalassemia.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ EMI2 ΣΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΩΝ ΩΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Παπαδοπούλου Ε.

*Εργαστήριο Αναπτυξιακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη Ιωαννίνων, ΤΚ 45110*

Κάθε ωοκύτταρο υπόκειται στη διαδικασία της ωρίμανσης. Το ώριμο ωοκύτταρο είναι αυτό που θα γονιμοποιηθεί από το σπερματοζωάριο, προκειμένου στη συνέχεια να αναπτυχθεί το έμβρυο μέσω πολλαπλών διαιρέσεων. Δύο από τους σημαντικότερους παράγοντες που εμπλέκονται στη διαδικασία της ωρίμανσης είναι ο SAC (Spindle Assembly Checkpoint), καθώς και ο Emi2 (Endogenous Meiotic Inhibitor 2). Η λειτουργία του SAC καθορίζει το σωστό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά τη μετάβαση του κυττάρου από τη φάση της Μείωσης I (MI) στη φάση της Μείωσης II (MII), ενώ η Emi2 είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση του ωοκυττάρου στη Μείωση II (MII), από την οποία το ωοκύτταρο θα βγει, μόνον εφόσον υπάρξουν στο περιβάλλον του ταλαντώσεις Ca^{++} . Εξετάζεται εάν η πρωτεΐνη Emi2 κατέχει κάποιο σημαντικό ρόλο MI, παρόμοιο με αυτό στη MII. Βρέθηκε ότι προκαλώντας βλάβη στη μιτωτική άτρακτο GVBD ωοκυττάρων, με ειδικά φάρμακα, αυτά παραμένουν arrested στη MI. Σε arrested MI απενεργοποιήθηκε η Emi2 με προσθήκη του UO126 (αναστολέα της MAPK) καθώς και με προσθήκη του Okadaic Acid (αναστολέα της PP2A). Επίσης, με microinjections προσθέσαμε στα arrested MI ποσότητα RNA της CamkII, (αναστολέας της Emi2). Επιπλέον, το Strontium ενεργοποιεί την CaMkII, οπότε απενεργοποιείται η Emi2. Ακόμη, σε GVs απενεργοποιήσαμε την Emi2 με προσθήκη dsRNA της Emi2 μέσω microinjections. Παρατηρήθηκε ότι τα ωοκύτταρα παραμένουν arrested στη MI όταν προκληθεί βλάβη στη μιτωτική τους άτρακτο από την οποία βγαίνουν μόνο όταν απενεργοποιηθεί η Emi2. Αντιθέτως, GVs στα οποία έχει απενεργοποιηθεί η Emi2 και δεν έχουν βλάβη στη μιτωτική άτρακτο δε γίνονται arrested. Η Emi2, λοιπόν, δρα σημαντικά στη MI μόνο σε συνεργασία με το SAC.

THE ROLE OF EMI2 IN THE MATURATION OF OOCYTES

Papadopoulou E.

*Laboratory of Developmental Biology, Department of Biological Applications and
Technologies ,University of Ioannina, Campus Ioannina, GR 45110*

Each oocyte must be subjected to the maturation process. In this way, mature oocytes are capable of being fertilized in order to produce the embryo through multiple divisions. Two of the most important factors that contribute to the maturation process is the SAC (Spindle Assembly Checkpoint) and the Emi2 (Endogenous Meiotic Inhibitor 2). The SAC function specifies the right separation of chromosomes during the transition from Meiosis I phase (MI) to Meiosis II phase (MII), whereas the Emi2 protein is responsible for the maintenance of cell in MII phase from which the cell will be released only after the increase in the oocyte concentration of intracellular 'free' calcium. This research examines if there is an also important role of protein Emi2 in MI apart from the MII. Found that causing damage to the mitotic spindle of GVBD oocytes with specific drugs results in arrested MI. In arrested MI Emi2 was deactivated by adding UO126 (inhibitor of MAPK) and Okadaic Acid (inhibitor of PP2A). Also, added amount of RNA CamkII (inhibitor Emi2), through microinjections, in arrested MI. Moreover, Strontium activates CaMkII, so Emi2 was disabled. In addition, we disabled Emi2 in GVs by adding dsRNA of Emi2 through microinjections. Observed that oocytes remain arrested in MI when the mitotic spindle is damaged from which they release only when Emi2 is disabled. Instead , GVs which have disabled Emi2 and not damage to the mitotic spindle are not arrested. The Emi2, therefore , acts significantly in MI only in cooperation with the SAC.

Ο ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ T393C ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ GNAS1 ΚΑΙ Ο ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΓΙΑ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ

Παπαδοπούλου Ζωή¹, Μητσιώνη Άρτεμις¹, Μουζάκη Αθανασία², Σύρρου Μαρία¹

*1/Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων - 2/
Εργαστήριο Ανοσοαιματολογίας, Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο
Πατρών*

Η οστεοπόρωση (OMIM 166710) είναι μια κοινή διαταραχή σε γυναίκες που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση. Πρόκειται για μια πολυπαραγοντική ασθένεια που επηρεάζεται από γενετικούς και επιγενετικούς παράγοντες. Υπάρχουν πολλά γονίδια που σχετίζονται με την οστεοπόρωση (GNAS1, COL1A1, VDR, ER) και συνδέονται με την ευαισθησία των εμμηνοπαυσιακών γυναικών στην οστεοπόρωση. Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου GNAS1 συνδέονται με χαμηλά επίπεδα Ca. Εμείς ασχοληθήκαμε με έναν μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό (SNP) του γονιδίου GNAS1, τον T393C (rs7121). Το δείγμα μας αποτελούνταν από 85 οστεοπορωτικές γυναίκες που βρίσκονταν στην εμμηνόπαυση, ηλικίας 45-79 ετών, που τους χορηγούνταν Ca και βιταμίνη D, και 94 υγιείς μάρτυρες. Το γενωμικό DNA απομονώθηκε από δείγματα περιφερικού αίματος. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν αντιδράσεις PCR και πέψη με την περιοριστική ενδονουκλεάση FokI (RFLPs). Τα προϊόντα ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης, και οι συχνότητες των γονοτύπων στην ομάδα των ασθενών ήταν TT 22.4%, TC 63.5% και CC 14.1%, έναντι TT 45.8%, TC 50% και CC 4.2% στην ομάδα των μαρτύρων. Το χ^2 τεστ έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του CC γονότυπου του πολυμορφισμού και του κινδύνου για οστεοπόρωση ($p=0.0001$). Το γονίδιο GNAS1 μπορεί να θεωρηθεί σαν ένα υποψήφιο γονίδιο για την εμφάνιση της οστεοπόρωσης και ο πολυμορφισμός rs7121 πιθανόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης πρόγνωσης. Μετά από επιπλέον έρευνα και έλεγχο μεγαλύτερου δείγματος ασθενών, θα μπορεί να επιβεβαιωθεί η κλινική χρήση του πολυμορφισμού σαν προγνωστικό δείκτη.

GNAS1 T393C POLYMORPHISM AND RISK FOR OSTEOPOROSIS

Papadopoulou Zoi¹, Mitsioni Artemis¹, Mouzaki Athanasia², Syrrou Maria¹

1/Laboratory of General Biology, Medical School, University of Ioannina - 2/Laboratory of Immunohematology, Division of Hematology, Dpt.of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Patras

Osteoporosis (OMIM 166710) is a common disorder among women in menopause. It is considered as a multifactorial polygenic disease with genetic and epigenetic influences. Several genetic polymorphisms in different genes (GNAS1, COLIA1, VDR, ER) are correlated with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal women. Polymorphisms of GNAS1 gene are associated to lower circulating Ca levels. We investigate the impact of T393C single nucleotide polymorphism (SNP) (rs7121) of GNAS1 gene. We examined 85 post-menopausal osteoporotic women, aged 45-79 (who were under medication of Ca and vitamin D) and 94 unrelated healthy controls. Genomic DNA was isolated from peripheral blood samples by standard procedures. Genotyping of rs7121 was performed using PCR and digestion of PCR product by FokI restriction endonuclease (RFLPs). The genotype frequencies of the menopausal women group were TT 22.4%, TC 63.5% and CC 14.1%, vs TT 45.8%, TC 50% and CC 4.2% of the control women group. The chi-square test demonstrated statistically significant association between CC genotype of polymorphism and risk for osteoporosis ($p=0.0001$). GNAS1 could be a good candidate osteoporosis risk gene and rs7121 has a potential to be used as a prognostic marker. Additional prospective studies in larger series of patients may confirm the clinical utility of rs7121 as a prognostic marker.

ΜΟΡΙΑΚΗ – ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΒΛΑΣΤΗΤΙΚΗΣ ΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Verticillium dahliae*

Παπαϊωάννου Ιωάννης Α., Τύπας Μιλτιάδης Α.

*Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Ο αφυλετικός μύκητας *Verticillium dahliae* έχει μεγάλη φυτοπαθολογική σημασία παγκοσμίως. Για την περιγραφή της πληθυσμιακής δομής του έχει εφαρμοσθεί εκτεταμένα η κατάταξη των στελεχών του σε Ομάδες Βλαστητικής Συμβατότητας (VCGs), με κριτήριο τη δυνατότητα συμπληρωματικών αυξότροφων μεταλλαγών τους να υποστηρίζουν μυκηλιακή αύξηση πρωτότροφου τύπου όταν διασταυρώνονται σε ελάχιστο θρεπτικό υλικό. Έτσι, το είδος *V. dahliae* διακρίνεται σε πέντε κύριες VCGs, τρεις εκ των οποίων υποδιαιρούνται σε υποομάδες, ανάλογα με το εύρος των θετικών αντιδράσεων συμπληρωματικότητας. Δεδομένης της αφυλετικότητας του μύκητα, οι VCGs παραδοσιακά θεωρούνται γενετικά απομονωμένες ενδοειδικές ομάδες, με πιθανή διαφοροποίηση σε φυτοπαθολογικά και άλλα χαρακτηριστικά των στελεχών τους. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε μοριακή μελέτη των VCGs του *V. dahliae* με συμπληρωματικές αναλύσεις (α) μοριακών δεικτών PCR-SCAR, (β) σημειακών πολυμορφισμών SNP στην περιοχή ITS1-5.8S-ITS2, (γ) της κατανομής εσώνίων τύπου I στο πυρηνικό γονίδιο 18S, καθώς και (δ) δομική και φυλογενετική μελέτη των αλληλουχιών DNA μας υπερμεταβλητής περιοχής της διαχωριστικής περιοχής IGS του πυρηνικού rDNA. Τα αποτελέσματά μας συνολικά αμφισβητούν την παραδοσιακή θεωρία της ομοιογένειας εντός των VCGs, καθώς οι υποομάδες τους αποδείχθηκαν μοριακά διαφορετικές και ομαδοποιήθηκαν με υποομάδες άλλων VCGs. Πιο συγκεκριμένα, οι υποομάδες VCG 2A και 4B είναι γενετικά παρεμφερείς και σε στενή συγγένεια με τη VCG 1, ενώ οι υποομάδες VCG 2B και 4A κατατάσσονται σε διαφορετικό ενδοειδικό κλάδο πλησίον της VCG 6, η οποία αναθεωρήθηκε στην εργασία μας με επανέλεγχο των δοκιμασιών συμπληρωματικότητας. Συμπερασματικά, η μοριακή – φυλογενετική ανάλυση των VCGs του *V. dahliae* αποκάλυψε ένα πολύπλοκο πρότυπο σχέσεων μεταξύ των υποομάδων τους και θέτει υπό αμφισβήτηση την παραδοσιακή ιδέα της γενετικής απομόνωσης των VCGs. Η παρούσα έρευνα συγχρηματοδοτήθηκε από την ΕΕ (ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του ΕΣΠΑ, χρηματοδοτούμενο έργο Ηράκλειτος II.

MOLECULAR – PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *Verticillium dahliae* VEGETATIVE COMPATIBILITY GROUPS

Papaioannou Ioannis A., Typas Milton A.

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

The asexual fungus *Verticillium dahliae* is an important ascomycete causing vascular wilt disease in numerous plants worldwide. Traditionally, the study of population structures of this pathogen has been addressed by classifying fungal strains into Vegetative Compatibility Groups (VCGs), based on the production of wild type-like prototrophic growth when complementary auxotrophic mutants are co-inoculated on minimal medium. Thus, *V. dahliae* strains have been assigned to 5 main VCGs, with three of them being subdivided into subgroups depending on the extent of prototrophic growth achieved during complementation tests. Because no sexual stage has been observed for *Verticillium*, different VCGs have been traditionally assumed to represent genetically isolated subspecific groups, which may differ in pathogenicity and other traits. In this study, *V. dahliae* VCGs were molecularly analyzed by studying (i) PCR-based and SCAR DNA markers, (ii) single nucleotide polymorphisms (SNPs) within the ITS1-5.8S-ITS2 region, (iii) group-I intron distribution in the nuclear 18S gene, and (iv) a structural and phylogenetic analysis of a highly variable domain within the IGS spacer region of the nuclear rDNA. Our results altogether question the traditionally assumed intra-VCG homogeneity and clearly demonstrate that VCG subgroups are molecularly distinct and related to subgroups of different VCGs. Subgroups VCG 2A and 4B are genetically similar and clustered with VCG 1, whereas VCG subgroups 2B and 4A were grouped in a distinct clade together with VCG 6, which was re-examined in this work. In conclusion, the molecular – phylogenetic analysis of *V. dahliae* VCGs revealed a complex pattern of molecular relationships between VCG subgroups and challenges the traditional notion of genetic isolation between VCGs. This research was co-financed by the EU (ESF) and Greek national funds through NSRF, funding program Heracleitus II.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΝΕΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΤΙΚΗΣ ΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟΝ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟ
ΜΥΚΗΤΑ *Verticillium dahliae***

Παπαϊωάννου Ιωάννης Α., Τύπας Μιλτιάδης Α.

*Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Ο μυτοσπορικός φυτοπαθογόνος μύκητας *Verticillium dahliae* προσβάλλει εκατοντάδες φυτά διεθνώς. Ο παραφυλετικός κύκλος, κατόπιν της ετεροκαρύωσης, αποτελεί τον μοναδικό τρόπο ανταλλαγής γενετικού υλικού για αυτό το αφυλετικό είδος μυκήτων. Ωστόσο, η δημιουργία βιώσιμων ετεροκαρύων μεταξύ στελεχών του μύκητα συχνά παρεμποδίζεται από συστήματα ασυμβατότητας. Η πλέον διαδεδομένη μέθοδος για την πληθυσμιακή εκτίμηση της συμβατότητας στο είδος *V. dahliae* είναι οι δοκιμασίες συμπληρωματικότητας μεταξύ μεταλλαγών που αδυνατούν να αναπτυχθούν στα νιτρικά ιόντα (μεταλλαγές nit). Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε μια εκτεταμένη συλλογή στελεχών *V. dahliae* για την ανάπτυξη και βελτιστοποίηση αποδοτικών μεθόδων για την ταχεία παραγωγή μεταλλαγών nit και τον έλεγχο αυτών σε δοκιμασίες συμπληρωματικότητας μεγάλης κλίμακας, σε υγρές μικροκαλλιέργειες. Τα αποτελέσματα από την εφαρμογή τόσο της παραδοσιακής μεθοδολογίας όσο και των βελτιωμένων μεθόδων αναλύθηκαν γενετικά και συγκρίθηκαν με εκείνα από άλλες μεθόδους, ήτοι (α) τη δημιουργία ετεροκαρύων κατόπιν σύντηξης πρωτοπλάστων, (β) μια νέα μέθοδο για τη μελέτη της συμβατότητας μεταξύ στελεχών φυσικού τύπου, με τη χρήση διπλά σημασμένων (nit και ανθεκτικών στον παράγοντα benomyl) στελεχών ελέγχου, και (γ) τον σχηματισμό ζωνών αντεπίδρασης (barrage zones) κατά μήκος της ζώνης επαφής μεταξύ αποικιών φυσικού τύπου των στελεχών του μύκητα. Επιγραμματικά, σε αυτήν την εργασία περιγράφουμε εναλλακτικές βελτιστοποιημένες μεθόδους για την εκτίμηση της βλαστητικής συμβατότητας σε πληθυσμούς του *V. dahliae* και παρέχουμε δεδομένα από γενετικές αναλύσεις που πιθανά έχουν σημαντικές επιπτώσεις στην ερμηνεία των δεδομένων συμβατότητας – καθώς αποδεικνύουν τη σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα συμβατότητας της διαφορετικής επιλεκτικής πίεσης για τη δημιουργία ετεροκαρύων στις διαφορετικές μεθόδους – και ίσως συμβάλουν στην πληρέστερη κατανόηση της πληθυσμιακής βιολογίας του *V. dahliae* και άλλων μυκήτων. Η παρούσα έρευνα συγχρηματοδοτήθηκε από την ΕΕ (ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του ΕΣΠΑ, χρηματοδοτούμενο έργο Ηράκλειτος II.

DEVELOPMENT AND COMPARATIVE EVALUATION OF NOVEL METHODS FOR THE ASSESSMENT OF VEGETATIVE COMPATIBILITY IN *Verticillium dahliae*

Papaioannou Ioannis A., Typas Milton A.

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

Verticillium dahliae is a phytopathogenic ascomycete causing vascular wilt disease in hundreds of plants worldwide. *Verticillium* species are generally regarded as mitosporic, thus the parasexual cycle following heterokaryosis is perceived as the only means of exchange of genetic information within *V. dahliae*. However, the formation of viable heterokaryons between different strains of the fungus is frequently blocked by incompatibility systems. The use of nitrate-non-utilizing (nit) mutants in complementation pairings has been by far the most widely adopted technique for the assessment of vegetative compatibility in *V. dahliae* populations. In this study, a diverse collection of *V. dahliae* strains were used for the development and optimization of an efficient method for the rapid generation of UV-induced nit mutants and a reproducible high-throughput technique for their complementation tests in liquid microcultures. The compatibility data resulting from the application of the traditional procedure as well as the novel methodological enhancements presented here were genetically analyzed and compared to the results from other methods, i.e., (i) the forced heterokaryon synthesis after protoplast fusion, (ii) a novel high-throughput method for the complementation grouping of wild-type *Verticillium* strains using a set of double mutant (nit and benomyl-resistant) tester strains, and (iii) the formation of barrage zones at the interface of confronting wild-type colonies. In summary, we provide in this work optimized alternative methods for the assessment of vegetative compatibility in *V. dahliae*, as well as evidence from genetic analyses that may have important implications for the interpretation of compatibility data and contribute to a better understanding of the population biology of *V. dahliae* and possibly other fungi. This research was co-financed by the EU (ESF) and Greek national funds through NSRF, funding program Heracleitus II.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΙΟΝΤΩΝ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΤΟΥ ΘΥΜΟΥ ΑΔΕΝΑ

Παπαϊωάννου Νίκος ¹, Βουτσάς Ιωάννης ², Τσιτσιλώνη Ουρανία ¹

*1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 2/Κέντρο
Ανοσολογίας και Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Π.Α.Ο.Ν.Α. «Ο Άγιος Σάββας», Αθήνα*

Η μεταβολή της κυτταροπλασματικής συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο σε μονοπάτια που έπονται της κυτταρικής ενεργοποίησης. Στόχος μας ήταν ο προσδιορισμός των μεταβολών αυτών, που αποτελούν τμήμα του σηματοδοτικού μονοπατιού μέσω TLR-4, σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος έπειτα από ενεργοποίησή τους με τα ανοσοδραστικά πεπτίδια του θύμου αδένος, προθυμοσίνη α (προΤα) και το καρβοξυτελικό της δεκαπεπτίδιο προΤα(100-109). Σε μονοκύτταρα περιφερικού αίματος ανθρώπου επιδράσαμε με LPS, ως πρότυπο συνδέτη του TLR-4, προΤα και προΤα(100-109), άμεσα ή μετά από προεπώαση τους για 24 ώρες με τα ίδια μόρια. Ως θετικό μάρτυρα χρησιμοποιήσαμε το ιονοφόρο A 23187. Οι μεταβολές των επιπέδων κυτταροπλασματικού ασβεστίου καταγράφηκαν με κυτταρομετρία ροής, χρησιμοποιώντας τη χρωστική fluo-4. Παρατηρήσαμε άμεση και σημαντική αύξηση των επιπέδων κυτταροπλασματικού ασβεστίου μετά από επίδραση με LPS στα μονοκύτταρα που προεπώαστηκαν με LPS ή προΤα, και μικρότερης κλίμακας μεταβολές σε δείγματα που προεπώαστηκαν με προΤα(100-109). Σε καμία ομάδα δεν ανιχνεύθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων κυτταροπλασματικού ασβεστίου έπειτα από επίδραση με προΤα ή προΤα(100-109), στις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν. Δε σημειώθηκε, επίσης, ανιχνεύσιμη μεταβολή στα δείγματα που δεν προεπώαστηκαν. Συμπεραίνουμε ότι η εικοσιτετράωρη προεπώαση με LPS ή προΤα ενεργοποιεί επαρκώς τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος, ώστε μετά από δεύτερη διέγερση με LPS, οι προκαλούμενες μεταβολές της συγκέντρωσης κυτταροπλασματικού ασβεστίου να είναι ανιχνεύσιμες με κυτταρομετρία ροής. Επιπλέον, φαίνεται ότι η προεπώαση με προΤα ή προΤα(100-109) δημιουργεί υπόβαθρο ενεργοποίησης για τη δράση του LPS. Τέλος, κρίνεται απαραίτητος ο ακριβής προσδιορισμός των συνθηκών προεπώασης (χρονικού διαστήματος και βέλτιστης συγκέντρωσης) των μονοκυττάρων με τα πεπτίδια του θύμου αδένος, ώστε να καταγραφούν με σαφήνεια οι επαγόμενες μεταβολές των επιπέδων του κυτταροπλασματικού ασβεστίου στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Χρηματοδότηση: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

DETERMINATION OF ALTERATIONS IN THE CYTOPLASMIC CONCENTRATION OF CALCIUM IONS IN IMMUNE SYSTEM CELLS UPON ACTIVATION WITH THYMIC PEPTIDES

Papaioannou Nikos ¹, Voutsas Ioannis ², Tsitsilonis Ourania ¹

1/Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, 2/Cancer Immunology and Immunotherapy Center, "St. Savas" Anticancer Hospital, Athens

Alterations in cytoplasmic calcium concentrations play a key-role in signaling pathways following cell activation. In this study, we assessed to detect such changes, implicated in the intracellular signaling pathway downstream TLR-4, in immune system cells following their activation with the immunoreactive thymic peptides prothymosin alpha (proTα) and its C-terminal decapeptide proTα(100-109). Human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were activated with LPS, as a model ligand of TLR-4, proTα and proTα(100-109) directly or after pre-incubation for 24 h with the same molecules. The ionophore A23187 was used as a positive control. Cytoplasmic calcium alterations were recorded by flow cytometry, following loading of the cells with the dye fluo-4. We observed an immediate and significant increase in the levels of cytoplasmic calcium after challenge with LPS, in PBMCs pre-incubated with LPS or proTα, and marginal changes in samples pre-incubated with proTα(100-109). No significant increase in calcium levels was detected in cells directly treated with proTα or proTα(100-109), at the concentrations used. In addition, no detectable changes in calcium influx were observed in non-pre-incubated samples. We conclude that pre-incubation of PBMCs for 24 h with LPS or proTα results in sufficient stimulation thereof, and upon a second challenge with LPS, the induced changes in cytoplasmic calcium concentration are detectable by flow cytometry. Moreover, pre-incubation of PBMCs with proTα or proTα(100-109) generates an activating background for the subsequent stimulation with LPS. Finally, it is necessary to precisely establish the pre-incubation conditions (time and optimal concentration) of PBMCs with the thymic peptides, in order to visualize and record the induced changes at the levels of cytoplasmic calcium in cells of the immune system. Funding: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

Ο ΜΕΤΑΦΟΡΕΑΣ ΠΟΥΡΙΝΩΝ/ΠΥΡΙΜΙΔΙΝΩΝ RUTG ΤΗΣ ESCHERICHIA COLI

Παπακώστας Κωνσταντίνος, Μπότου Μαρία, Φριλίγγος Ευστάθιος
*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα*

Στην ερευνητική μας ομάδα μελετάμε τις σχέσεις δομής-λειτουργίας της εξελικτικά ευρείας οικογένειας Συμμεταφορέων Κατιόντων Νουκλεοτιδικών βάσεων-2 (NCS2), η οποία περιλαμβάνει μεταφορείς πουρινών/πυριμιδινών/βιταμίνης C, με στόχο να διερευνηθεί η συνεισφορά αμινοξέων και μοτίβων αλληλουχιών που καθορίζουν το προφίλ εξειδίκευσης υποστρώματος, με έμφαση στις εξελικτικές συσχετίσεις μεταξύ βακτηριακών ομολόγων και ομολόγων από θηλαστικά ή από άλλα ευκάρυα. Τα μέλη της οικογένειας NCS2 μοντελοποιούνται με βάση την κρυσταλλογραφική δομή της περμεάσης ουρακίλης της *Escherichia coli* UraA, που είναι η μόνη διαθέσιμη έως σήμερα για έναν μεταφορέα NCS2. Ο μεταφορέας RutG είναι ο πλησιέστερος στην αλληλουχία με τον UraA στην *E. coli* (38% ταυτότητα, 55% ομοιότητα καταλοίπων), και έχει υποτεθεί ότι αποτελεί μέρος ενός οπερονίου υπεύθυνου για μια μη συμβατική πορεία καταβολισμού πυριμιδινών, του οπερονίου *rut*. Το οπερόνιο *rut* περιέχει 7 δομικά γονίδια (*rutABCDEFG*) και το γονίδιο-υποκινητή *rutR*, τα οποία φαίνεται να εμπλέκονται σε ένα πρόσφατα χαρακτηρισμένο μονοπάτι αξιοποίησης πυριμιδινών που λειτουργεί μόνο σε θερμοκρασία δωματίου και όχι στους 37°C. Στην παρούσα εργασία αποκαλύπτουμε ότι ο RutG είναι μεταφορέας ξανθίνης χαμηλής συγγένειας (140μM) και υψηλής συγγένειας μεταφορέας ουρακίλης (1.9μM) και θυμίνης (1.59μM), και οι ιδιότητές του συγκρίνονται με αυτές του UraA, ο οποίος δεν είχε μελετηθεί ως προς το συνολικό προφίλ εξειδίκευσης έως τώρα. Ο RutG έχει παρόμοια συγγένεια με τον UraA για ουρακίλη αλλά μεγαλύτερη ικανότητα μεταφοράς. Και οι δύο αναγνωρίζουν 5-φθοροουρακίλη με υψηλή συγγένεια, όμως ο UraA αναγνωρίζει καλύτερα την κυτοσίνη και ο RutG είναι ο μόνος που αναγνωρίζει οξυπουρινόλη. Η μοριακή βάση αυτής της διαφοράς εξειδίκευσης μελετάται εκτενέστερα με στοχευμένη *in vitro* μεταλλαξιγένεση βασισμένη σε συγκριτική μοντελοποίηση με τη δομή του UraA. Ευχαριστίες Η έρευνα αυτή συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από ελληνικούς εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) για την χρηματοδότηση της Έρευνας: πρόγραμμα ΘΑΛΗΣ, επένδυση στην γνώση μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

THE PURINE-PYRIMIDINE TRANSPORTER RUTG FROM ESCHERICHIA COLI

Papakostas Konstantinos, Botou Maria, Frillingos Stathis

*Laboratory of Biological Chemistry, Department of Medicine, School of Health Sciences,
University of Ioannina, Panepistimiopolis Dourouti, 45110 Ioannina, Greece*

In our research group we study structure-function relationships of the evolutionarily broad Nucleobase Cation Symporter-2 (NCS2) family of purine/pyrimidine/vitamin C transporters to gain insight on side chains and sequence motifs that dictate substrate selectivity and uptake. Emphasis is given on the evolutionary relationship between prokaryotic and mammalian or other eukaryotic homologs of the family. Members of NCS2 family model on the template of the recently described x-ray structure of the Escherichia coli uracil permease UraA, the first and only for a NCS2 transporter, which represents a novel fold. RutG transporter is the closest in sequence with UraA in E. coli (sharing 38% identity and 55% similarity) and it has been implied that it is a pyrimidine transporter, as it forms part of an unconventional pyrimidine degradation operon, the rut operon. This operon consists of 7 genes (rutABCDEFG) with rutR coding for a regulator, and encodes a previously undescribed pathway to utilize pyrimidines only at room temperature, but not at 37 °C. In the present study we verify RutG to be a low-affinity xanthine transporter (140μM) and a high-affinity uracil (1.9μM) and thymine (1.59μM) transporter, and we compare it to UraA, which had not been studied for its ligand recognition profile thus far. RutG has comparable affinity with UraA for uracil (1.9μM and 1.36μM respectively) but higher capacity. Both of them recognize 5-fluorouracil with high affinity, but UraA binds cytosine better and RutG is the only one of the two to bind oxypourinol. The molecular basis of this specificity split is further studied through rationally-designed site-directed mutagenesis derived from homology modeling based on the structure of UraA. Acknowledgment This research was co-supported by the European Union (European Social Fund) and Greek national funds through the Operational Program “Education and Lifelong Learning” of the National Strategic Reference Framework-Research Funding Program: THALES, investing in knowledge society through the European Social Fund.

ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ «ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΘΟΥΝ» ΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΦΥΤΑ; Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ «DNA BARCODING» ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ LAMIACEAE

Παπαντωνάκη Ηλιάνη¹, Κοκκίνη Στυλιανή^{1,3}, Βλαχονάσιος Κωσταντίνος^{1,2}

1/Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Διατήρηση της Βιοποικιλότητας και Αειφορική Εκμετάλλευση Αυτοφύων Φυτών», Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 2/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα - 3/Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Αρωματικά φυτά (ΑΦ) ονομάζονται είδη που παράγουν πτητικές τερπενικές ενώσεις και έχουν ποικίλες χρήσεις στις βιομηχανίες καλλυντικών, τροφίμων και φαρμάκων. Στην Ελλάδα, τα περισσότερα αυτοφύα ΑΦ ανήκουν στην οικογένεια Lamiaceae και κυρίως στα γένη *Acinos* (7 taxa), *Calamintha* (9), *Clinopodium* (4), *Mentha* (7), *Origanum* (12), *Salvia* (24), *Satureja* (11), *Thymbra* (3) και *Thymus* (31) (Dimopoulos et al. 2013), τα οποία και απαρτίζουν τις εμπορικές ομάδες «Μέντα», «Ρίγανη», «Θυμάρι» και «Φασκόμηλο». Το «DNA barcoding» είναι μια μέθοδος μοριακής ταυτοποίησης οργανισμών που έχει χρησιμοποιηθεί στη διερεύνηση της γενετικής ποικιλότητας, την εύρεση νέων ειδών, και τον έλεγχο νοθείας προϊόντων που διακινούνται εμπορικά. Σκοπός της εργασίας είναι η παρουσίαση της σημερινής κατάστασης της γνώσης σχετικά με τη μοριακή ταυτοποίηση αυτοφύων φυτών της οικογένειας Lamiaceae στην Ελλάδα και συγκεκριμένα στα ΑΦ που αναφέρονται εμπορικά ως «Μέντα», «Ρίγανη», «Θυμάρι» και «Φασκόμηλο». Έγινε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας χρησιμοποιώντας τις βιβλιογραφικές βάσεις Scopus, Web-of-Science και Google-Scholar και τέθηκαν τα παρακάτω ερωτήματα: α) ποια μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση των παραπάνω ειδών και για ποιο σκοπό, β) πόσα και ποια είδη έχουν ταυτοποιηθεί και γ) σε ποια φυτογεωγραφικά διαμερίσματα (ΦΔ) ανήκουν. Στην Ελλάδα, τα είδη της οικογένειας Lamiaceae ταυτοποιήθηκαν κυρίως χρησιμοποιώντας RAPDs και «DNA barcoding». Τα πιο συχνά «barcodes» ήταν τα *matK*, *rbcL*, *ITS* και *trnH-psbA*. Συγκεκριμένα έχουν ταυτοποιηθεί 9, 12, 5 και 6 είδη που εντάσσονται αντίστοιχα στις ομάδες «Μέντα», «Ρίγανη», «Θυμάρι» και «Φασκόμηλο». Η πλειονότητα των ειδών που μελετήθηκαν προέρχονταν από τα ΦΔ, Νησιά Ανατολικού Αιγαίου (19 taxa) και Κρήτη-Κάρπαθος (7 taxa). Οι συγγραφείς ευχαριστούν για την οικονομική υποστήριξη το ΕΣΠΑ - Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο της Δράσης ΑΡΙΣΤΕΙΑ II (NATURAL AROMA-4204).

COULD THE GREEK AROMATIC PLANTS BE ENCODED? THE USE OF “DNA BARCODING” IN PLANTS OF LAMIACEAE FAMILY

Papantonaki Iliana¹, Kokkini Styliani^{1,3}, Vlachonasios Kostantinos^{1,2}

1/Postgraduate Studies Programme “Conservation of Biodiversity and Sustainable Exploitation of Native Plants”, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece
- 2/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece, - 3/Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece

Aromatic plants (AP) are species that produce volatile terpenes and widely used in the food, pharmaceutical and cosmetic industry. In Greece, the majority of native AP belongs to Lamiaceae and mainly in genera *Acinos* (7 taxa), *Calamintha* (9), *Clinopodium* (4), *Mentha* (7), *Origanum* (12), *Salvia* (24), *Satureja* (11), *Thymbra* (3) and *Thymus* (31) (Dimopoulos et al. 2013), which make up commercial groups “Mint”, “Oregano”, “Thyme” and “Sage”. “DNA barcoding” is a molecular-based method that aims to identify biological specimens. It has been used to investigate the genetic diversity, to find new species, and to control illegal trade. The purpose of this study was to present the current state of knowledge on the molecular identification of Lamiaceae plants in Greece and in particular on the species known commercially as “Mint”, “Oregano”, “Thyme” and “Sage”. Therefore, we reviewed the existing literature using bibliographic databases (Scopus, Web-of-Science and Google-Scholar) and raised the following questions: a) which method was used to identify Lamiaceae species and for what purpose, b) how many and which species have been identified and c) in which floristic regions they belong. In Greece, Lamiaceae species were identified mainly by using RAPDs and “DNA barcoding”. The most popular “barcodes” were the *matK*, *rbcL*, *ITS* and *trnH-psbA*. Specifically 9, 12, 5 and 6 taxa from “Mint”, “Oregano”, “Thyme” and “Sage” group have been identified, respectively. The most studied floristic regions were East Aegean Islands (19 taxa) and Kriti-Karpathos (7 taxa). The authors acknowledge the financial support of the National Strategic Reference Framework (NSRF), Research Funding Programme of the Action ARISTEIA II (NATURAL AROMA-4204).

ΠΟΛΥΦΑΣΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ ARTHROSPIRA (SPIRULINA) ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΕ ΕΜΠΟΡΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Παπαπαναγιώτου Γεωργία, Γκέλης Σπύρος

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ.
109, 541-24 Θεσσαλονίκη*

Τα κυανοβακτήρια του γένους *Arthrospira* (*Spirulina*) παρουσιάζουν ιδιαίτερο εμπορικό ενδιαφέρον εξαιτίας της ευρείας χρήσης τους ως συμπληρωμάτων διατροφής. Το πλαίσιο λειτουργίας, στο οποίο δραστηριοποιούνται οι υδατοκαλλιέργειες των κυανοβακτηρίων, επιβάλλει τον συνεχή έλεγχο για τη διασφάλιση της ποιότητας και της ασφάλειας των παραγομένων προϊόντων. Για το λόγο αυτό απαιτείται η εμπειριστατωμένη γνώση αφενός της βιολογίας, της χημικής σύνθεσης και της θρεπτικής αξίας των καλλιεργούμενων ειδών, και αφετέρου των πιθανών βιολογικών κινδύνων που ενέχουν τα κυανοβακτηριακά προϊόντα (π.χ. βιοτοξίνες). Στην παρούσα εργασία έγινε πολυφασικός χαρακτηρισμός (μορφολογική, φυλογενετική και τοξικολογική ανάλυση) δύο στελεχών *Arthrospira* τα οποία καλλιεργούνται εδώ και 17 χρόνια στην Ελλάδα από μία μονάδα παραγωγής που εδρεύει στα Θέρμα Νιγρίτας. Τα στελέχη αυτά καλλιεργήθηκαν και διατηρούνται στο εργαστήριο σε υγρό θρεπτικό μέσο Zarrouk κάτω από κατάλληλες συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας. Η μορφολογική ανάλυση των στελεχών έγινε με την χρήση οπτικού μικροσκοπίου και αποκάλυψε μεγάλη μορφολογική πλαστικότητα των στελεχών κατά την διάρκεια παραμονής τους στο εργαστήριο καθώς και ενδιαφέρουσες διαφοροποιήσεις σε σχέση με τα κύρια μορφολογικά γνωρίσματα του γένους. Για τη φυλογενετική ανάλυση αλληλουχήθηκαν περιοχές του γονιδίου 16S rRNA καθώς και των υπομονάδων *crcB* και *crcA* του οπερονίου φυκοκυανίνης. Για την προκαταρκτική εκτίμηση της τοξικότητας των στελεχών χρησιμοποιήθηκαν ζεύγη εκκινητών με σκοπό τον εντοπισμό περιοχών γονιδίων γνωστών για την εμπλοκή τους στη βιοσύνθεση μικροκυστινών, κυλινδροσπερμοψινών, σαξιτοξινών καθώς και ανατοξινών, και συζητείται η παρουσία τους στα δύο στελέχη.

POLYPHASIC CHARACTERIZATION OF ARTHROSPIRA (SPIRULINA) STRAINS USED IN COMMERCIAL CULTURES IN GREECE

Papapanagiotou Georgia, Gkelis Spyros

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124,
Thessaloniki, Greece*

Cyanobacteria of the genus *Arthrospira* (*Spirulina*) are of particular commercial interest because of their widespread use as dietary supplements. The framework, in which cyanobacteria aquaculture units operate, requires control and quality assurance in order to achieve high and stable quality of the end products, and the protection of public health. Consequently, a thorough and comprehensive knowledge of both the biological and chemical composition, and nutritive value of the cultivated species is needed, as well as the assessment of other potential biological hazards associated with cyanobacterial products (e.g. biotoxins). In this study we performed a polyphasic characterization (morphological, phylogenetic, and toxicological analysis) of two *Arthrospira* strains cultivated for more than 17 years in Greece by a *Spirulina* production unit located in Therma, Nigrita. The strains were cultivated in liquid Zarrouk growth medium in laboratory, under suitable temperature and light intensity conditions. Morphological analysis based on microscopy observations revealed great morphological plasticity during cultivation in the laboratory, and showed that some of the basic morphological features of the genus do not correspond in the morphology of our strains. For the phylogenetic analysis we sequenced the 16S rRNA gene and the *cpcB-cpcA* phycocyanin operon subunits. The preliminary assessment of the strains toxicity was performed by using primers to amplify regions in genes involved in the biosynthesis of microcystins, cylindrospermopsins, saxitoxins, and anatoxins and their presence in our strains is discussed.

TLR ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΝΟΣΟ ΤΟΥ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ΞΕΝΙΣΤΗ (GvHD): ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ TLR7,9

Παρασκευάς Βασίλειος^{1,2}, Ζώγας Νικόλαος^{1,2}, Γούναρη Ελένη^{1,2}, Αναγνωστόπουλος Αχιλλέας¹, Σκούρας Ζαχαρίας², Γιάγκου Μηνάς², Γιαννάκη Ευαγγελία¹

1/Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική - ΜΜΜΟ, Γ.Π.Ν. «Γ.Παπανικολάου», Θεσσαλονίκη - 2/Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

Οι τύπου Toll υποδοχείς (TLRs) ανήκουν στην έμφυτη ανοσία και εκφράζονται σε πληθώρα αιμοποιητικών και μη, κυττάρων. Αναγνωρίζουν εξωγενή μοριακά πρότυπα παθογόνων και ενδογενή αυτοαντιγόνα ρυθμίζοντας ανοσοαποκρίσεις σε συνθήκες φλεγμονής ή αυτοανοσίας, αντίστοιχα. Η GvHD αποτελεί τον κυριότερο, μη σχετιζόμενο με υποτροπή, παράγοντα θνητότητας και νοσηρότητας της αλλογενούς μεταμόσχευσης. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η έκφραση των υποδοχέων TLR7,9 σε ολικά μονοπύρρηνα κύτταρα (PBMCs) και σε καθαρούς T- και B- υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων, ασθενών με οξεία (aGvHD, n=14) και χρόνια GvHD (cGvHD, n=29). Ως ομάδα ελέγχου επιλέχθηκαν ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αλλογενή μεταμόσχευση και δεν εμφάνισαν GvHD ή αποθεραπεύτηκαν πλήρως από τη νόσο (No GvHD, n=20). Σε μεταγραφικό επίπεδο (qRT-PCR) ο TLR9 υπερεκφράζεται σε PBMCs ασθενών με aGvHD ενώ δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στην έκφραση του TLR7. Ανάλυση σε πρωτεϊνικό επίπεδο (FCM) επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα της qRT-PCR για τον TLR9, κυρίως στον B-κυτταρικό υποπληθυσμό των ασθενών με aGvHD, ενώ ο TLR7 βρέθηκε να υπερεκφράζεται σε PBMCs, B- και T-κύτταρα ασθενών με cGvHD και aGvHD. Ανάλυση σε PBMCs, 84 γονιδίων (PCR-Arrays) του TLR-σηματοδοτικού μονοπατιού, έδειξε ότι οι ασθενείς με GvHD κατέχουν ένα διακριτό μοτίβο έκφρασης γονιδίων διαμεσολάβησης, μεταγραφικών παραγόντων και κυτοκινών σε σχέση με την ομάδα No GvHD. Η ενεργοποίηση των TLR-σηματοδοτικών μονοπατιών με ειδικούς αγωνιστές σε καλλιέργεια PBMCs κατέδειξε εντυπωσιακή υποδραστικότητα των TLR7,9 στις δύο ομάδες ασθενών σε σύγκριση με την ομάδα No GvHD. Η υποδραστικότητα ελέγχθηκε με μέτρηση έκφρασης προφλεγμονωδών κυτοκινών στα PBMCs και σε υπερκείμενο καλλιιεργειών με qRT-PCR και ELISA, αντίστοιχα. Η κατανόηση των εμπλεκόμενων στην εμφάνιση GvHD κυττάρων, υποδοχέων τύπου Toll και σηματοδοτικών τους μονοπατιών σε συνδυασμό με επαγωγή ανοχής στους TLRs θα μπορούσε να αποτελέσει τη βάση για ανάπτυξη νέων και αποτελεσματικών εργαλείων πρόληψης και θεραπείας της νόσου.

TLR SIGNALING IN ACUTE AND CHRONIC GRAFT VS HOST DISEASE (GvHD): EXPRESSION AND ACTIVATION PROFILE OF TLR7,9

Paraskevas Vassilis^{1,2}, Zogas Nikolaos^{1,2}, Gounari Eleni^{1,2}, Anagnostopoulos Achilles¹, Skouras Zacharias², Yiangou Minas², Yannaki Evangelia¹

*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*

Toll-like receptors (TLRs) are innate immune receptors expressed on hematopoietic cells as well as on nonhematopoietic cells. They recognize pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and endogenous self antigens regulating immune responses during infection or autoimmunity, respectively. Graft-vs-host disease (GvHD) is the major, non-relapse associated, complication after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). In this work, we investigated TLR7,9 expression in PBMCs and in immunomagnetically separated T- and B- lymphocytes obtained from the peripheral blood of patients who underwent HSCT and were diagnosed with acute (aGvHD, n=14) or chronic GvHD (cGvHD, n=29). The control group consisted of patients post HSCT who fully recovered or did not develop GvHD (No GvHD, n=20). TLR9 was upregulated in PBMCs of aGvHD patients whereas no difference in TLR7 expression was detected by qRT-PCR. FCM analysis confirmed TLR9 overexpression at the protein level, especially, in B-cells of aGvHD patients whereas, TLR7 was upregulated in PBMCs, B-, T-cells both in aGvHD and cGvHD patients. PCR-arrays on PBMCs of 84 genes, involved in the TLR signaling pathway, demonstrate that GvHD patients produce a distinct expression pattern of mediation genes, transcriptional factors and cytokines compared to the No GvHD group. Interestingly, activation of the TLR signaling pathway through PBMCs stimulation, with special TLR agonists in cell cultures, resulted in TLR7,9 hyporesponsiveness in the aGvHD and cGvHD group compared to the control group. The hyporesponsiveness was evaluated by quantification of the expression of proinflammatory cytokines in cultured PBMCs and in culture supernatant by qRT-PCR and ELISA, respectively. The understanding of the cell types, TLRs and signaling pathways that are involved in GvHD development, in combination with the induction of TLR tolerance, could introduce novel and effective methods for the prevention and the cure of GvHD.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΡΕΟΝΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΤΗΣ ΛΕΚΑΝΗΣ ΑΠΟΡΡΟΗΣ ΤΗΣ ΜΥΓΔΟΝΙΑΣ (ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2013)

**Περιβολιώτη Τριανταφυλλιά¹, Ντισλίδου Χρυσούλα ¹, Πατσιά Αθήνα ^{1,2}, Χρόνης
Ιωάννης ¹, Λαζαρίδου Μαρία¹, Βουβαλίδης Κωνσταντίνος³**

*1 Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124, Θεσσαλονίκη /
2 Φορέας Διαχείρισης Λιμνών Κορώνειας-Βόλβης, Σωκράτη Τσακάλη 21, 57200,
Λαγκαδάς / 3 Τομέας Φυσικής και Περιβαλλοντικής Γεωγραφίας, Τμήμα Γεωλογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, TK 54124, Θεσσαλονίκη*

Σκοπός της εργασίας ήταν η εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας σε 9 σταθμούς από 7 ρέματα της λεκάνης απορροής της Μυγδονίας (Σεπτέμβριος 2013). Τα βενθικά μακροασπόνδυλα συλλέχθηκαν με την ημιποσοτική μέθοδο λακτίσματος – σάρωσης επί τρία λεπτά (συν 1 λεπτό, όπου υπήρχε βλάστηση). Παράλληλα, μετρήθηκαν οι φυσικοχημικές παράμετροι: διαλυμένο οξυγόνο (D.O., mg/l), pH, αγωγιμότητα (μS/cm), θερμοκρασία (oC), οι συγκεντρώσεις των ιόντων PO₄-3, NO₃-, Cl-, SO₄-2 και Ca+2 (ppm) στο νερό και προσδιορίστηκε η σύσταση του υποστρώματος. Τα βενθικά μακροασπόνδυλα ταξινομήθηκαν ως την κατώτερη δυνατή ταξινομική ομάδα και για την εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας χρησιμοποιήθηκαν το Ελληνικό Σύστημα Αξιολόγησης (Ε.Συ.Α) και ο πολυμετρικός δείκτης STAR_ICMi. Σύμφωνα με την Άσκηση Διαβαθμονόμησης οι σταθμοί ήταν τύπου R-M1 και R-M2. Συνολικά αναγνωρίστηκαν 22.074 άτομα βενθικών μακροασπονδύλων και ταξινομήθηκαν σε 55 ταξινομικές ομάδες. Βάσει του Ε.Συ.Α. και του πολυμετρικού δείκτη STAR_ICMi, η οικολογική ποιότητα σε έναν σταθμό κρίθηκε καλή και σε επτά σταθμούς, κατώτερη της καλής. Σύμφωνα με το Ε.Συ.Α. ο σταθμός Μελισσουργός-Μύλος παρουσιάζει μέτρια ποιότητα, ενώ με το δείκτη STAR_ICMi καλή. Από τη μη ιεραρχική ομαδοποίηση (FUZZY) προέκυψαν 6 ομάδες, με τους σταθμούς Σχολάρι-Ανάντη, Αρεθούσα, Απολλωνία-Συμβολή να ανήκουν στην ίδια ομάδα. Οι υπόλοιποι σταθμοί αποτέλεσαν από μία ομάδα έκαστος, με εξαίρεση τον σταθμό Μικροκώμη που δεν ανήκε σε κάποια ομάδα. Η ανάλυση BIO-ENV έδωσε ως σημαντικότερες μεταβλητές την αγωγιμότητα, το DO και τα χαλίκια (p = 0,350). Ο σταθμός Γερακαρού-Ανάντη διαφοροποιήθηκε (LINKTREE, B= 90%) λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης ιόντων NO₃-. Στην ανάλυση πλεονασμού (RDA) καμία μεταβλητή δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική (p<0,05 σύμφωνα με τη Monte-Carlo δοκιμασία). Η σημαντικότερη μεταβλητή στον πρώτο άξονα της RDA ήταν το pH, ενώ στον δεύτερο τα Cl-.

ASSESSMENT OF ECOLOGICAL QUALITY OF THE MYGDONIA'S BASIN'S STREAMS (SEPTEMBER 2013)

**Perivolioti Triantafyllia, Ntislidou Chrysoula, Patsia Athina, Chronis Ioannis, Lazaridou
Maria, Vouvalidiw Constantinos**

*1 Department of Zoology, Faculty of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124,
Thessaloniki / 2 Management Authority Lakes Koronia-Volvi, Socrates Tsakali 21, 57200, Lagadas /
3 Department of Physical and Environmental Geography, Faculty of Geology, Aristotle University
of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki*

The purpose of this study was to investigate the ecological quality of 9 stations from 7 streams, located in Mygdonia basin (September 2013). Benthic macroinvertebrates were collected with the 3 minutes kick-sweep method (plus one minute when vegetation was present). Furthermore, physicochemical parameters were measured: dissolved oxygen (D.O., mg/l), pH, conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$), temperature ($^{\circ}\text{C}$), $\text{PO}_4\text{-}3$, $\text{NO}_3\text{-}$, Cl- , $\text{SO}_4\text{-}2$ and $\text{Ca}+2$ concentrations (ppm); the substrate composition was determined. The benthic macroinvertebrates were identified at the lowest possible taxon level. For the ecological quality assessment, the Hellenic Evaluation System (HESY) and the polymetric index STAR ICMi were applied. All stations belonged to the types RM-1 and RM-2 (Intercalibration Exercise). Totally, 22.074 benthic macroinvertebrates have been identified and classified in 55 taxa. According to HESY and STAR_ICMi, the ecological quality was good for one station and lower than good for seven stations. In Melissourgos-Mylos station the ecological quality was estimated as moderate based on HESY, while with STAR_ICMi as good. The non-hierarchical FUZZY statistical analysis divided stations into six groups. The stations Sxolari-Ananti, Arethousa, Apollonia-Symvoli belonged to the same group. Each of the rest of the stations created a separate group, excluding Mikrokomi which did not belong to any of the groups. The BIO-ENV analysis showed as important variables conductivity, D.O. and pebbles ($p = 0,350$). The station Gerakarou-Ananti was differentiated from the other stations (LINKTREE, $B = 90\%$) due to high concentrations of $\text{NO}_3\text{-}$. Finally, the Redundancy analysis (RDA) showed that none of the studied environmental variables was statistically significant ($p < 0.05$ according to Monte-Carlo test). On the first axis pH was the most significant variable, while on the second axis Cl- .

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ H_2O_2 ΓΙΑ ΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑΣ ΑΠΟ ΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ

Πετρόπουλος Μιχάλης, Τσάκας Σωτήρης

Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η κυτταροφαγία στο ανθρώπινο αίμα, επιτελείται από τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα. Περιλαμβάνει αναγνώριση, εγκόλπωση και καταστροφή του παθογόνου, μετά από κατάλληλη σηματοδότηση. Το H_2O_2 ρυθμίζει την κυτταροφαγία με την προώθηση της φωσφορυλίωσης της κινάσης ERK. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε ο ρόλος των ιντεγκρινών, της έκκρισης και των MAP κινασών, ERK και JNK, στην παραγωγή H_2O_2 . Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχοι αναστολείς, SITS, RGD, U0126, SP600180, φθορίζοντα βακτήρια E.coli-FITC και διυδροροδαμίνη (DHR), η οποία οξειδώνεται παρουσία H_2O_2 στη φθορίζουσα ροδαμίνη. Απομονωμένα λευκά αιμοσφαίρια προεπώαστηκαν με κάθε έναν από τους τέσσερις αναστολείς και στη συνέχεια με E.coli-FITC. Η ανάλυση με κυτταρομετρία ροής έδειξε μείωση της κυτταροφαγίας σε όλες τις περιπτώσεις. Σε ανάλογα πειράματα παρουσία DHR για τη μελέτη της επίδρασης των παραπάνω αναστολέων στην παραγωγή του H_2O_2 κατά την κυτταροφαγία, φάνηκε μείωση της παραγωγής H_2O_2 μόνο παρουσία του αναστολέα έκκρισης (SITS), ενώ οι υπόλοιποι αναστολείς δεν προκάλεσαν αλλαγή στην παραγωγή του. Η φωσφορυλίωση της υπομονάδας p47, για την συγκρότηση της NADPH οξειδάσης και την παραγωγή του H_2O_2 , ελέγχθηκε με ανοσοαποτύπωση. Αυτό έγινε έμμεσα, με τη μελέτη της μείωσης της κυτταροπλασματικής p47, η οποία όταν φωσφορυλιώνεται, μετατοπίζεται στην μεμβράνη. Ανοσοαποτυπώματα για την p47 από εκχυλίσματα λευκών αιμοσφαιρίων που είχαν καλλιεργηθεί με E.coli παρουσία αναστολέων, έδειξαν ότι κατά το μπλοκάρισμα των ιντεγκρινών και την αναστολή της έκκρισης, η ποσότητα της p47 στο κυτταρόπλασμα δεν μεταβάλλεται, ενώ η αναστολή της JNK προκαλεί αύξηση της μετατόπισης της. Η φωσφορυλίωση της ERK δεν εμπλέκεται στη φωσφορυλίωση της p47. Συμπερασματικά, η έκκριση επάγει την συγκρότηση της NADPH οξειδάσης και την παραγωγή H_2O_2 , ενώ οι ιντεγκρίνες επάγουν τη φωσφορυλίωση της p47 αλλά όχι και την παραγωγή H_2O_2 . Η JNK προάγει την κυτταροφαγία αλλά ταυτόχρονα αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της p47.

REGULATION OF H₂O₂ SYNTHESIS THAT SIGNALS PHAGOCYTOSIS BY POLYMORPHONUCLEAR NEUTROPHILS

Petropoulos Michalis, Tsakas Sotiris

Laboratory of Biology, Departement of Biology, University of Patras, Greece

Phagocytosis, in the human blood, is performed by polymorphonuclear neutrophils. This includes recognition, engulfment and destruction of the pathogen, after the appropriate signalling. The H₂O₂ regulates phagocytosis by promoting ERK phosphorylation. In this study, the role of integrins, secretion and MAP kinases, ERK and JNK, in H₂O₂ synthesis, was investigated. Respective inhibitors, SITS, RGD, U0126, SP600180 fluorescent bacteria E.coli-FITC and dihydrorhodamine (DHR), which is oxidised to fluorescent rhodamine in the presense of H₂O₂, were used. Isolated white blood cells were pre-incubated with each one of the above inhibitors followed by the additon of E. coli-FITC. Flow cytometry showed decrease of phagocytosis in all samples. In a similar series of experiments in the presence of DHR, the effect of the same inhibitors in the H₂O₂ synthesis, during phagocytosis, was investigated and revealed reduced H₂O₂ synthesis only in the presence of the secretion inhibitor (SITS), while the others did not cause any change in its production. The phosphorylation of the p47 subunit for the assembly of NADPH oxidase and H₂O₂ synthesis was investigated with immunoblot analysis. That was processed indirectly, by studying the decrease of cytoplasmic subunit p47, due to its phosphorylation and translocation into the membrane. Protein extracts of white blood cells previously incubated in the presence of the above inhibitors and E.coli were immunoblotted for p47. It was shown that integrin blockade and secretion inhibition do not allow translocation of p47, while the inhibition of JNK MAP kinases evoke the increase of p47 translocation. The ERK phosphorylation is not involved in the p47 phosphorylation. In conclusion, secretion promotes the NADPH oxidase assempley and H₂O₂ synthesis, while integrins promote p47 phosphorylation but not H₂O₂ synthesis. JNK promotes phagocytosis and in parallel acts against p47 phosphorylation.

Η ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΘΕΙΟΡΕΔΟΞΙΝΗ Ή ΓΛΟΥΤΑΡΕΔΟΞΙΝΗ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΑΡΕΧΕΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

**Πούλιος Ευθύμιος, Λαγοπάτη Νεφέλη, Αστρεϊνίδης Αριστοτέλης, Γαλάρης Δημήτριος,
Σπύρου Γιάννης**

1) Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστημιούπολη, Τ.Κ. 45110, Ιωάννινα, Ελλάδα. 2) Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ), Σωρανού Εφεσίου 4, Τ.Κ. 11527 Αθήνα, Ελλάδα.

Η δημιουργία “ενδιάμεσων μορφών αναγωγής του οξυγόνου”, όπως O_2^- , H_2O_2 και $\cdot OH$ σε βιολογικά συστήματα, θεωρείται συνήθως αναγκαία παρενέργεια της αναγωγής του οξυγόνου, και έχει ενοχοποιηθεί για την πρόκληση σοβαρών παθολογικών καταστάσεων. Τα τελευταία χρόνια όμως, έγινε κατανοητό ότι η δημιουργία “ενδιάμεσων μορφών αναγωγής οξυγόνου” παίζει σημαντικό ρόλο και στη μεταγωγή ενδοκυττάρων σημάτων (redox signaling). Είναι γνωστό επίσης ότι η έκθεση κυττάρων σε H_2O_2 έχει σαν αποτέλεσμα την οξείδωση καταλοίπων κυστεΐνης σε πρωτεΐνες, και το σχηματισμό ενδομοριακών ή διαμοριακών δισουλφιδικών δεσμών. Στην εργασία αυτή, μελετήθηκε ο ρόλος των πρωτεϊνών θειορεδοξίνη και γλουταρεδοξίνη στην προστασία των κυττάρων που εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν την ικανότητα να ανάγουν δισουλφιδικούς δεσμούς σε διαφορετικές πρωτεΐνες των κυττάρων. Για το σκοπό αυτό, έγινε υπερέκφραση της θειορεδοξίνης ή της γλουταρεδοξίνης σε κύτταρα H1299 (καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα από πνεύμονα ανθρώπου) και μελετήθηκαν οι επιπτώσεις σε συνθήκες οξειδωτικού στρες (έκθεση σε H_2O_2). Σε προκαταρκτικά πειράματα, παρατηρήθηκε ότι το H_2O_2 επιδρά σε σημαντικό βαθμό στο ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων, και επάγει το θάνατο σε ένα μέρος του κυτταρικού πληθυσμού. Η υπερέκφραση τόσο της θειορεδοξίνης, όσο και της γλουταρεδοξίνης, φαίνεται να προσδίδει ανθεκτικότητα στη συγκεκριμένη κυτταρική σειρά, ενώ παράλληλα προστατεύει από τη πρόκληση σχάσεων στις αλυσίδες του DNA, όπως αυτές εκτιμήθηκαν με την ευαίσθητη τεχνική comet assay. Τα πειραματικά αυτά δεδομένα υποδηλώνουν ότι η αυξημένη δυνατότητα αναγωγής των δισουλφιδικών δεσμών οξειδωμένων πρωτεϊνών από τη θειορεδοξίνη και την γλουταρεδοξίνη, προσδίδει στα κύτταρα ανθεκτικότητα σε συνθήκες οξειδωτικού στρες. Η επίδραση της αποσιώπησης της θειορεδοξίνης και της γλουταρεδοξίνης με την τεχνική shRNA, καθώς και η μελέτη του ρόλου των πρωτεϊνών αυτών στη μεταγωγή αποπτωτικών σημάτων, αποτελεί τον επόμενο στόχο της ερευνητικής μας ομάδας.

OVEREXPRESSION OF THIOREDOXIN OR GLUTAREDOXIN PROTEINS IN HUMAN CELLS OFFERS PROTECTION AGAINST OXIDATIVE STRESS

Poulios E., Lagopati N., Astrinidis A., Galaris D., Spirou I.

1) Laboratory of Biological Chemistry, School of Medicine, University of Ioannina, 45110, Ioannina, Greece. 2) Basic Research Center, Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens (BRFAA), 4 Soranou Ephessiou Str., 11527 Athens, Greece.

Oxygen reduction intermediates, such as O_2^- , H_2O_2 and $\cdot OH$, are continuously generated in aerobic organisms and it has been proposed that they are involved in the initiation and development of many pathological conditions. Recently, it was proven experimentally that these reactive species play a crucial role in important intracellular signaling processes (redox signaling). However, the exact molecular mechanisms of these processes are poorly understood and need further investigation. It seems likely, that oxidation of sensitive cystein residues in specific proteins to respective sulfenic acids represents the initial step. Subsequently, sulfenic acid interacts with other sulfhydrylic groups (-SH) forming disulfide bonds either inter- or intra-molecularly. Thioredoxin and glutaredoxin are the two major enzymes that modulate the activity of different proteins, including enzymes, transcription factors and nuclear receptors via thiol redox control, by reducing disulfide bonds. This investigation was focused on the examination of the role of these enzymes in the protection against toxic effects induced after exposure of cultured cells to oxidative stress. Both thioredoxin and glutaredoxin were over-expressed in pulmonary cancer epithelial cells (H1299), and the effect of exposure to H_2O_2 was studied. Preliminary results showed that exposure of cells to increasing concentrations of H_2O_2 reduced their growth rate and induced apoptotic cell death. Over-expression of thioredoxin or glutaredoxin prevented these cells from DNA single-strand breaks formation (as detected by comet assay methodology) and reduced cell death. These results indicate that the capability of thioredoxin and glutaredoxin to reduce disulfide bonds protects cells against oxidative damage. Further studies, aiming at the investigation of the role of thioredoxin or glutaredoxin silencing (shRNA) in redox signaling, and the role of these proteins in apoptosis, are in progress.

ΤΟ ΠΕΠΤΙΔΙΟ CLV3 ΚΑΙ Η ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ GCN5 ΔΡΟΥΝ ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟΥ ΣΤΟ ARABIDOPSIS THALIANA

Πούλιος Στυλιανός, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα*

Το CLV3 είναι ένα μικρό γλυκο-πεπτίδιο 13 αμινοξέων που δρα ως προσδέτης για τον υποδοχέα CLV1 και πιθανώς και άλλους και συμμετέχει στη ρύθμιση του μεγέθους του κορυφαίου βλαστικού και ανθικού μεριστώματος. Η σύνδεση του στον CLV1 ξεκινάει ένα μονοπάτι μεταγωγής σήματος με τελικό αποτέλεσμα τον περιορισμό της έκφρασης του WUSCHEL, ενός μεταγραφικού παράγοντα που περιέχει ομοιοεπικράτεια. Η GCN5 είναι μια ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών, που ακετυλιώνει την ιστόνη H3 και δρα σε μεγάλα πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα όπως είναι το SAGA στη ζύμη. Μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας στο γονίδιο GCN5 έχουν ως αποτέλεσμα μια πληθώρα αναπτυξιακών φαινοτύπων όπως νανισμός, πτυχώσεις στα φύλλα, απώλεια κυριαρχίας της κορυφής, ανωμαλίες στα άνθη και μεγεθυμένο βλαστικό μερίστωμα. Αυτός ο φαινότυπος παρατηρείται και σε μεταλλάγματα του γονιδίου CLV3, οπότε για να μελετήσουμε πιθανές γενετικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του GCN5 και του CLV3 δημιουργήσαμε το διπλό μετάλλαγμα *clv3-2gcn5-1*. Σε αυτό παρατηρήθηκαν επιπλέον φαινότυποι που δεν εμφανίζουν τα απλά μεταλλάγματα όπως επίμηκες γυναικείο με αυξημένο μέγεθος στίγματος, στύλου και γυνοφόρου και περιορισμό των ωοθηκών, τερματικό άνθος και εντόνως ανώμαλη ανάπτυξη του μεριστώματος (fasciation). Ανάλυση της έκφρασης γονιδίων που συμμετέχουν στη βιοσύνθεση, μεταφορά και απόκριση στην αυξίνη, σημαντικά για την ανάπτυξη του γυναικείου, δείχνει πως αυτά υπερεκφράζονται στο διπλό μετάλλαγμα, υποδεικνύοντας ενεργοποίηση του μονοπατιού της αυξίνης. Γενετική ανάλυση του τριπλού μεταλλάγματος *spt-11clv3-2gcn5-1* δείχνει ότι τα CLV3 και GCN5 δρουν ανοδικά του SPT. Τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα CLV3 και GCN5 δρουν συνεργιστικά ως ρυθμιστές της ανάπτυξης του γυναικείου στο *Arabidopsis thaliana*.

CLV3 PEPTIDE AND GCN5 ACETYLTRANSFERASE ACT SYNERGISTICALLY IN THE DEVELOPMENT OF GYNOECIUM IN ARABIDOPSIS THALIANA

Poulios Stylianos, Vlachonasios Konstantinos

*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki,
54124 Thessaloniki, Greece*

CLV3 is a small glyco-peptide that acts as a ligand for the CLV1 and possibly other receptors and is involved in the regulation of shoot apical and floral meristem size. Binding of CLV3 to CLV1 starts a signal transduction pathway that restricts the expression domain of WUSCHEL, a homeodomain transcription factor. GCN5 is an acetyltransferase that acetylates histone H3 and is part of large multiprotein complexes like SAGA in yeast. Loss of function mutants of GCN5 have a plethora of developmental phenotypes like dwarfism, serrated leaves, loss of apical dominance, floral abnormalities and an enlarged shoot apical meristem. A similar shoot apical meristem phenotype is observed also in *clv3* mutants, so in order to investigate possible genetic interactions between CLV3 and GCN5 we created the *clv3-2gcn5-1* double mutant. The double mutant exhibits novel phenotypes, not present in the single mutants, like elongated gynoecium with an overproduction of stilar and stigmatic tissue, a longer gynophore, a reduction of ovaries, terminal flower and severely fasciated apical meristem. Expression analysis of genes involved in auxin biosynthesis, transport and response, important for the development of gynoecium, show that these genes are overexpressed in the double mutant, suggesting that the auxin pathway is activated. Genetic analysis of the triple mutant *spt-11clv3-2gcn5-1* shows that CLV3 and GCN5 act upstream of SPT. Our data suggest that CLV3 and GCN5 act synergistically as regulators of gynoecium development in *Arabidopsis thaliana*.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΣΤΕΡΗΣΗΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΣΤΗΝ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ ΤΗΣ ΤΑΥ

**Πρωτοψάλτης Παναγιώτης-Ορφέας, Μαστρολέων Ιωάννα, Μαυροειδή Παναγιώτα,
Μαυροφρύδη Όλγα, Χαραλάμπους Σύλβα1, Παπαζαφείρη Παναγιώτα, Ευθυμιόπουλος
Σπύρος**

*Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο της Αθήνας,
Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια 1Τμήμα Ανοσολογίας, Τμήμα Ζωικών Προτύπων Βιοϊατρικής
Έρευνας, Εργαστήριο Διαγονιδιακής Τεχνολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ*

Η νόσος Alzheimer (AD) χαρακτηρίζεται από την παρουσία εξωκυτταρικών αμυλοειδών πλάκων, αποτελούμενων από πεπτίδια β αμυλοειδούς (Αβ), και ενδοκυτταρικά νευροϊνιδιακά δεμάτια (NFTs), αποτελούμενα κυρίως από υπερ-φωσφορυλιωμένη tau. Η tau δεσμεύεται στους μικροσωληνίσκους και συμβάλλει στον πολυμερισμό και τη σταθεροποίησή τους. Η υπερφωσφορυλίωση της tau μειώνει τη συγγένεια με τους μικροσωληνίσκους, με αποτέλεσμα να συγκεντρώνεται στο κυτταρόπλασμα και να σχηματίζει NFTs. Ένας παράγοντας που πιθανώς συμμετέχει στην ανάπτυξη της σποραδικής μορφής AD είναι η ισχαιμία, κατά την οποία μειώνεται η παροχή θρεπτικών συστατικών (π.χ. γλυκόζης) και οξυγόνου στον εγκέφαλο. Στη συγκεκριμένη εργασία εστιάσαμε στη μελέτη της επίδρασης της υποξίας και της υπογλυκαιμίας στη φωσφορυλίωση της tau, χρησιμοποιώντας ένα σύστημα εμποτισμού σε τομές εγκεφάλου ποντικών C57Bl/6. Αρχικά, διερευνήσαμε την απόκριση των νευρώνων σε ακραίες συνθήκες υποξίας (2,5% O₂) και σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η μειωμένη παροχή οξυγόνου οδηγεί σε αποφωσφορυλίωση της πρωτεΐνης tau. Αντίθετα, η στέρηση γλυκόζης δεν φαίνεται να επιφέρει κάποια μεταβολή, ενώ ο συνδυασμός της με την υποξία οδηγεί σε περαιτέρω αποφωσφορυλίωση της tau. Όταν οι τομές επωάστηκαν σε ηπιότερες συνθήκες υποξίας (10% O₂) δεν παρατηρήσαμε μεταβολή στο πρότυπο φωσφορυλίωσης της tau. Τέλος, πειράματα σε APP-/- και διαγονιδιακά APPSwInd ποντίκια μας οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι οι ανωτέρω αποκρίσεις της tau δεν επηρεάζονται από την απουσία ή υπερέκφραση της APP (Amyloid Precursor Protein), αντίστοιχα. 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). ΑΡΙΣΤΕΙΑ-Ε.Κ.Π.Α. «Η επίδραση της στέρησης της γλυκόζης στην ανάπτυξη της νευροπαθολογίας της νόσου Alzheimer». Ίση συμμετοχή(ΠΠΟ-ΜΙ)

STUDY OF THE EFFECT OF OXYGEN AND GLUCOSE DEPRIVATION ON TAU PHOSPHORYLATION

Protopsaltis Panagiotis-Orfeas, Mastroleon Ioanna, Mavroeidi Panagiota, Mavrofrydi Olga, Haralambous Sylva¹, Papazafiri Panagiota, Efthimiopoulos Spiros

Department of Biology, Division of Human and Animal Physiology, University of Athens, Panepistimiopolis, Ilisia ¹Department of Immunology, Department of Experimental Animal Models, Transgenic Technology Laboratory, Hellenic Pasteur Institute

Alzheimer's Disease (AD) is characterized by the presence of extracellular amyloid plaques, consisting of amyloid β peptides ($A\beta$), intracellular neurofibrillary tangles (NFTs), consisting mainly of hyper-phosphorylated tau, and neurodegeneration. Tau binds to microtubules and promotes their polymerization and stabilization. Hyper-phosphorylation of tau reduces its affinity for the microtubules, thus resulting in accumulation of the protein and the formation of NFTs. There is evidence that cerebral blood hypoperfusion contributes to the development of sporadic AD by limiting the delivery of nutrients, such as glucose, and oxygen supply to neurons. The present study focuses on the effect of hypoxia and hypoglycemia on tau phosphorylation using a perfusion system of acute brain slices from C57Bl/6 mice. Firstly, we examined neuronal response to extreme hypoxic conditions (2,5% O₂) and low glucose levels. According to our results phosphorylated tau levels were reduced under hypoxic conditions, while hypoglycemia did not seem to affect tau phosphorylation. Interestingly, when glucose deprivation was combined with hypoxia, the dephosphorylation of tau was increased, compared to hypoxia alone. It is to notice, that the effect of hypoxia was abolished when oxygen supply was increased to 10% O₂. Finally, after a series of experiments conducted on APP^{-/-} and APPSwInd transgenic mice, we observed that the response of tau under hypoxic conditions was independent of absence or overexpression of APP, respectively. 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)-Research Funding Program: APIΣTEIA-UOA-The effect of glucose deprivation on the development of Alzheimer's disease neuropathology. Equal contribution.(PPO-MI)

ΕΚΤΙΜΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΟΡΟΥ «ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ» ΣΤΗΝ ΤΡΕΧΟΥΣΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑ

Ράμμου Δήμητρα-Λήδα^{1,2}, Γκέλης Σπύρος¹, Χιντήρογλου Σααλ Χαρίτων²

1/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124, Θεσσαλονίκη- 2/Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124, Θεσσαλονίκη

Από το 1992 η χρήση του όρου «βιοποικιλότητα» αυξάνεται με γρήγορους ρυθμούς σε πλήθος επιστημονικών κλάδων. Σε πολλές περιπτώσεις, όμως, η χρήση του όρου είναι διαφορετική, ανάλογα με τις έννοιες που ο κάθε ερευνητής του προσδίδει. Για να διαπιστωθούν οι ευρύτερες προσεγγίσεις των εννοιών που περιλαμβάνει ο όρος της βιοποικιλότητας, πραγματοποιήθηκε βιβλιομετρική ανάλυση του όρου στις βιβλιογραφικές βάσεις δεδομένων ISI Web of Science και Scopus. Αρχικά, διερευνήθηκαν οι τομείς που ασχολούνται με τη βιοποικιλότητα στο ISI Web of Science. Ο όρος αναζήτησης “biodiversity” χρησιμοποιήθηκε στο πεδίο αναζήτησης “topic” για τα έτη μεταξύ 1900 και 2012 και τα αποτελέσματα κατηγοριοποιήθηκαν στα διάφορα πεδία επιστημών. Τα αποτελέσματα έδειξαν κατά φθίνουσα σειρά την Οικολογία (32%), τις Περιβαλλοντικές Επιστήμες (19%) και τη Διατήρηση της Βιοποικιλότητας (13%). Το γεγονός αυτό φανερώνει την κύρια προτεραιότητα των ερευνητών για την προστασία και διαχείριση της βιοποικιλότητας. Τα χαμηλά ποσοστά (<7%) στους τομείς της μοριακής βιολογίας και γενετικής αποδίδονται τουλάχιστον προσωρινά, στην ανεπαρκή γνώση επίλυσης των πολύπλοκων ζητημάτων της βιοποικιλότητας. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε αναζήτηση του όρου “biodiversity” στη βάση Scopus για τα έτη μεταξύ 2004 και 2011. Από το σύνολο των άρθρων που εμφανίστηκαν επιλέχθηκαν τυχαία 235 εργασίες, ανακτήθηκαν και αναλύθηκαν 1336 λέξεις-κλειδιά. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ομοίως, ότι οι περισσότερες λέξεις-κλειδιά εστιάζονται σε ζητήματα της διατήρησης της βιοποικιλότητας. Η συχνή χρήση της έννοιας «αφθονία των ειδών» αποκαλύπτει την ευρεία χρήση της ως μέθοδο μέτρησης της βιοποικιλότητας. Τέλος, η πλειονότητα του δείγματος των λέξεων-κλειδιών (67,9%) εμφανίζονται μόνο μία φορά. Αυτό υποδηλώνει ότι το εύρος των επιστημονικών κλάδων που φαίνεται να ασχολούνται με τη βιοποικιλότητα είναι ιδιαίτερα μεγάλο αλλά και σχετικά απροσδιόριστο.

EVALUATION OF THE TERM “BIODIVERSITY” IN THE CURRENT SCIENTIFIC COMMUNITY

Rammou D.^{1,2}, Gkelis S.¹, Chintiroglou C.²

1/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124 Thessaloniki, Greece- 2/Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124 Thessaloniki, Greece

Since 1992 the use of the term “biodiversity” has rapidly increased in numerous scientific fields. In many cases, however, the term is being used differently, depending on the concepts which are attributed to the term by each researcher. In order to establish a broader approach of the concepts which the term biodiversity encompasses, we performed a bibliometric analysis of the term in the bibliographic databases ISI Web of Science and Scopus. At first, we investigated the scientific fields which are studying biodiversity in the ISI Web of Science. The search term “biodiversity” was used in the search field “topic” for the years between 1900 and 2012 and the results were categorized in miscellaneous scientific fields. The results showed in descending order Ecology (32%), Environmental Sciences (19%) and Biology Conservation (13%) indicating that the scientists’ highest priority is biodiversity conservation and management. The low percentage (< 7%) in the fields of molecular biology and genetics can, at least temporarily, be justified due to the fact that knowledge is not yet sufficient to solve the complex problems of biodiversity. Additionally, we performed the search of term “biodiversity” for the years between 2004 and 2011 in Scopus. Out of the total number of articles which appeared in our search results, we randomly selected 235 publications and analyzed 1336 keywords. The results showed that most of the keywords focused on issues regarding biodiversity conservation. The frequent use of the term “species richness” reveals its widespread use as a measuring method of biodiversity. Finally, the majority of the sample of keywords (67.9%) appears only once. This suggests that the range of scientific disciplines that seem to deal with biodiversity is particularly large but also undefined.

**Ο ANTI-CD26 ANΑΣΤΟΛΕΑΣ, DIPROTIN A, ENΙΣΧΥΕΙ ΤΗΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ
ΔΙΑΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΜΕ GFP-ΛΕΝΤΙ-ΠΚΟ ΦΟΡΕΑ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ
ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Ράντογλου Ε.^{1,2}, Σγουραμάλη Ε.^{1,2}, Γκουντής Α.Μ.^{1,2}, Κοτζιαλάμπου Α.^{1,2},
Αναγνωστόπουλος Α.¹, Γιάγκου Μ.², Γιαννάκη Ε.¹**

*1/Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική-ΜΜΜΟ,
Νοσοκομείο Γ. Παπανικολάου, Θεσσαλονίκη - 2/Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη*

Τα τελευταία χρόνια, στα πλαίσια βελτιστοποίησης της γονιδιακής θεραπείας, διερευνάται η ανεύρεση μεθόδων ενίσχυσης της μετανάστευσης και εγκατάστασης των γενετικά τροποποιημένων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCs) στο μυελό των οστών (ΜΟ). Το τριπεπτίδιο Diprotin A είναι ειδικός αναστολέας της διπεπτιδάσης CD26 που διασπά το χημειοτακτικό παράγοντα SDF-1, ο οποίος εκκρίνεται στο μικροπεριβάλλον του μυελού, ρυθμίζοντας την εγκατάσταση και εμφύτευση των HSCs. Για τον έλεγχο της επίδρασης του τριπεπτιδίου στην εμφύτευση διαμολυσμένων με GFP λεντι-μικό φορέα HSCs, πραγματοποιήθηκε σειρά *in vitro* και *in vivo* πειραμάτων. *In vitro*, διαμολυσμένα κύτταρα μυελού των οστών (ΜΟ) που καλλιιεργήθηκαν σε συστήματα transwell, μετά από επεξεργασία με τον αναστολέα, εμφάνισαν αυξημένη μεταναστευτική ικανότητα προς τον SDF-1, έναντι διαμολυσμένων κυττάρων χωρίς επεξεργασία με Diprotin A (72% vs 56%, $p=0.03$). Επιπλέον, διερευνήθηκε η *ex vivo* επίδραση του Diprotin A σε κύτταρα ΜΟ σε πειραματικό μοντέλο ποντικού που επιτρέπει την παρακολούθηση της εμφύτευσης των κυττάρων του δότη στον λήπτη (δότες: PepBoy CD45.1+, λήπτες: C57Bl/6 CD45.2+). Διαμολυσμένα κύτταρα ΜΟ, με και χωρίς *ex vivo* προεργασία με τον αναστολέα, μεταμοσχεύθηκαν σε μυελοκατεσταλμένους λήπτες με σκοπό την παρακολούθηση της εμφύτευσης των HSCs με κυτταρομετρία ροής (CD45.1/CD45.2) σε διάστημα 4 μηνών. Επαληθεύοντας τα ευρήματα του *in vitro* πειράματος, τα διαμολυσμένα HSCs που υπέστησαν προεργασία με Diprotin A, παρουσίασαν σταθερά υψηλότερα ποσοστά εμφύτευσης σε όλο το χρονικό φάσμα ελέγχου και ιδιαίτερα μετά τον 2ο μήνα σε σχέση με την ομάδα αναφοράς των διαμολυσμένων κυττάρων χωρίς προεργασία με Diprotin A (77.87 ± 1.39 vs 8.03 ± 3.4 $p=0.002$). Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η *ex vivo* επίδραση του τριπεπτιδίου στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, ενισχύει τη μεταναστευτική ικανότητα και εμφύτευσή τους στο μυελό των οστών, συμβάλλοντας στη βελτιστοποίηση της *in vivo* γονιδιακής μεταφοράς και ενισχύοντας την επιτυχή κλινική της εφαρμογή.

ANTI-CD26 INHIBITOR, DIPROTIN A, ENHANCES THE ENGRAFTMENT OF TRANSDUCED WITH A GFP LENTI-VIRAL VECTOR HEMATOPOIETIC STEM CELLS

**Rantoglou E.^{1,2}, Sgouramali E.^{1,2}, Gkountis A.M.^{1,2}, Kotzialampou A.^{1,2}, Anagnostopoulos A.¹,
Yiangou M.², Yannaki E.¹**

*1/Gene and Cell Therapy Center, Hematology Department-BMT Unit, George Papanicolaou
Hospital, Thessaloniki, Greece - 2/School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of
Thessaloniki, Thessaloniki.*

Optimization of gene therapy outcome has led the researchers to seek for methods aiming to enhance migration and engraftment of genetically-modified hemapoietic stem cells (HSCs) in the bone marrow (BM). Tripeptide Diprotin A is a specific inhibitor of dipeptidyl-peptidase IV (CD26) that cleaves the amino-terminal dipeptide from stromal-derived factor-1 (SDF-1). SDF-1 is expressed in bone marrow micro-environment, regulating homing, engraftment and mobilization of HSCs. To study the effect of Diprotin A on the engraftment of HSCs transduced with a GFP lenti-viral vector, a series of in vitro and in vivo experiments was made. In transwell systems, transduced BM cells after a pulse treatment with the inhibitor, presented increased chemotaxis towards SDF-1, compared to the non-treated BM cells (72% vs 56%, $p=0.03$). In a transplantation mouse model which allows to track donor cell's engraftment in the BM (donors: PepBoy CD45.1+, recipients: C57Bl/6 CD45.2+), the impact of the ex vivo Diprotin A pretreatment was tested on BM cells. Transduced BM cells, with or without pretreatment with Diprotin A, were transplanted into partially myeloablated recipients in order to measure donor's chimerism by Flow Cytometry (CD45.1/CD45.2) over 4 months period. In line with the in vitro data, transduced HSCs pretreated with Diprotin A, exhibited stably higher levels of engraftment during the observation period and especially after the 2nd month as compared to transduced non-Diprotin A-treated control group (77.87 ± 1.39 vs 8.03 ± 3.4 $p=0.002$). Our data suggest that the ex vivo treatment of transduced hemapoietic stem cells with Diprotin A improves migration ability and engraftment in bone marrow, thus potentially overcoming a major hurdle for successful clinical application of gene therapy.

ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ S3/K ΚΑΙ NB2 ΣΤΑ ΙΟΝΤΑ As(III) ΚΑΙ As(V)

Σάκουλα Δ.¹, Μήτρακας Μ.², Σκούρας Ζ.¹, Γιάγκου Μ.¹

*1/Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ 2/
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, ΑΠΘ*

Σε περιοχές με αυξημένη βιομηχανική δραστηριότητα, το έδαφος και οι υδάτινοι πόροι υφίστανται επιβάρυνση, από μέταλλα ή μεταλλοειδή, όπως το αρσενικό. Η ανίχνευση του Cr(VI) σε περιβαλλοντικά δείγματα συνήθως συνοδεύεται με την παρουσία αρσενικού. Τα τελευταία χρόνια υπάρχει ενδιαφέρον για το βιολογικό μετασχηματισμό των ιόντων αρσενικού, με μικροοργανισμούς ταυτόχρονα ανθεκτικούς σε πολλά μέταλλα και μεταλλοειδή. Τα βακτηριακά στελέχη S3/K και NB2 που έχουν την ικανότητα να ανέχονται και να αποτοξικοποιούν υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI) εξετάστηκαν ως προς την ικανότητά τους να ανέχονται ή/και να αποτοξικοποιούν ιόντα As(V) και As(III). Ανάπτυξη των βακτηριακών στελεχών παρουσία As(V) έδειξε ότι, τα δύο στελέχη είναι ικανά να ανέχονται έως και 100 mg/l As(V), ενώ προκαλούν τη μετατροπή του As(V) στο πιο ευκίνητο As(III), επηρεάζοντας την κινητικότητα και το βιογεωχημικό κύκλο του μεταλλοειδούς. Επιπλέον, ανάπτυξη των βακτηριακών στελεχών παρουσία As(III) έδειξε ότι, μικρές συγκεντρώσεις As(III) προκαλούν ισχυρή τοξικότητα στα βακτήρια. Επιπρόσθετα, τα στελέχη δεν εμφάνισαν ικανότητα αποτοξικοποίησης του As(III). Τέλος, στη συγκεκριμένη εργασία διερευνήθηκαν, στα στελέχη S3/K και NB2, οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας-αποτοξικοποίησης των ιόντων αρσενικού. Μοριακή ανάλυση στα δύο βακτήρια έδειξε: (α) την παρουσία του γονιδίου *acr3*, το οποίο συμμετέχει στο μηχανισμό εξωκυτταρικής απομάκρυνσης ιόντων As(III) και από τα δύο βακτηριακά στελέχη και (β) του γονιδίου *aoxB*, που συμμετέχει στον μηχανισμό οξείδωσης των ιόντων As(III) και του γονιδίου *arsB*, το οποίο συμμετέχει στον μηχανισμό εξωκυτταρικής απομάκρυνσης ιόντων As(III) μόνο από το στέλεχος NB2. Συμπερασματικά, τα στελέχη S3/K και NB2 εμφανίζουν ιδιαίτερη ανθεκτικότητα στα ιόντα αρσενικού, η οποία οφείλεται στην ύπαρξη μηχανισμών ανθεκτικότητας-αποτοξικοποίησης του μεταλλοειδούς. Ωστόσο, κανένα από τα δύο στελέχη δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αποτοξικοποίηση λυμάτων επιβαρυνμένων με As(V), καθώς η χρήση τους θα μπορούσε να προκαλέσει την απελευθέρωση τοξικών ιόντων As(III) στο περιβάλλον.

RESISTANCE OF THE BACTERIAL STRAINS NB2 AND S3/K TO As(III) AND As(V) IONS

Sakoula D.¹, Mitrakas M.², Skouras Z.¹, Yiangou M.¹

1/Dept. of Genetics, Dev. & Molecular Biology, School of Biology, AUTH, 2/Laboratory of Analytical Chemistry, School of Chemical Engineering, AUTH

In areas suffering from increased industrial activity, soil and water resources are burdened by metals or metalloids, such as arsenic. Detection of Cr(VI) in environmental samples is usually accompanied by the presence of arsenic. Recently interest has arisen for the biotransformation of arsenic ions, using microorganisms resistant to many metals and metalloids. Bacterial strains S3/K and NB2 having the capacity to tolerate and detoxify high concentrations of Cr(VI) were also tested for their ability to tolerate and/or detoxify As(V) and As(III) ions. Growth of the bacterial strains in the presence of As(V) depicted that the microorganisms were able to tolerate up to 100 mg/l As(V), while causing conversion of As(V) to As(III), affecting the mobility and biogeochemical cycle of the metalloid. Moreover, growth of bacterial strains in the presence of As(III) showed that low concentrations of As(III) are strongly toxic for the bacteria. Additionally, S3/K and NB2 strains exhibited no detoxification ability against As(III). Finally, in the present study, the resistance-detoxification mechanisms of S3/K and NB2 strains against arsenic ions were investigated. Molecular analysis showed: (a) the presence of *acr3* gene, which is involved in the mechanism of extracellular As(III) ion removal in both bacterial strains and (b) the presence of *aoxB* gene, involved in the mechanism of As(III) oxidation and *arsB* gene, which participates in the mechanism of extracellular As(III) ion removal only in the bacterial strain NB2. In conclusion, S3/K and NB2 strains are particularly resistant to arsenic ions, due to the existence of resistance-detoxification mechanisms. Nevertheless, none of the above mentioned bacterial strains can be used for the detoxification of As(V) polluted sewage, as they could cause release of toxic As(III) ions in the environment.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΑΠΟ ΥΠΕΡΠΑΡΑΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΤΡΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ ΙΚΑΝΟΥ ΝΑ ΑΝΑΓΕΙ ΤΟ Cr(VI)

Σακούλα Δ.¹, Φατούρος Δ.², Μπακανδρίτσος Α.³, Σκούρας Ζ.¹, Γιάγκου Μ.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 εξασθενές χρώμο αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους ρυπαντές του φυσικού περιβάλλοντος. Γι αυτό, τα τελευταία χρόνια υπήρξε ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον για τη βιολογική αποτοξικοποίησή του με τη μεσολάβηση μικροοργανισμών μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται και τα σιδηροβακτήρια. Από υπερπαράμαγνητικά νανოსωματίδια τριοξειδίου του σιδήρου απομονώθηκε το βακτηριακό στέλεχος NB2 που έχει την ικανότητα να ανέχεται και να ανάγει υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI). Το NB2 είναι ικανό να αναπτύσσεται σε τιμές pH 7-10 και παρουσία έως και 250 mg/l Cr(VI), ενώ παρουσιάζει MIC (Minimum Inhibitory Concentration) ίση με 500 mg/l Cr(VI). Πειράματα κινητικής έδειξαν ότι το NB2 είναι ικανό να προκαλεί αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) σε συγκεντρώσεις 1-125 mg/l Cr(VI) με ρυθμό 20 mg Cr(VI)/ημέρα. Τα κύτταρα του NB2 είναι κατά Gram αρνητικοί ράβδοι, οξειδάση και καταλάση θετικοί, μεγέθους μικρότερου του 1 μm, οι οποίοι διατάσσονται σε αλυσίδες. Τα παραπάνω σε συνδυασμό με βιοχημικές και μοριακές (16S rRNA) αναλύσεις κατατάσσουν το στέλεχος NB2 στο γένος *Stenotrophomonas*. Επιπρόσθετα, φυσικοχημική και μοριακή ανάλυση για τον προσδιορισμό των μηχανισμών ανοχής και αναγωγής του Cr(VI) από το NB2 έδειξε: (α) παρουσία των γονιδίων *recA* και *tunB*, τα οποία συμμετέχουν στο μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών του DNA των βακτηριακών κυττάρων από την ενδοκυτταρική παρουσία του Cr(VI) και (β) του γονιδίου *chrA*, το οποίο συμμετέχει στο μηχανισμό εξωκυτταρικής απομάκρυνσης ιόντων του Cr(VI). Επιπλέον, η παραγωγή εξωπολυσακχαριτών από το NB2 δείχθηκε ότι, δεν αποτελεί μηχανισμό ανθεκτικότητας ενάντια στο μέταλλο. Συμπερασματικά, η ικανότητα του NB2 να ανέχεται και να ανάγει υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI) το καθιστούν πιθανό βιοτεχνολογικό εργαλείο για τη διαχείριση και βιοαπορρύπανση λυμάτων επιβαρυνμένων με Cr(VI).

ISOLATION AND CHARACTERISATION OF A BACTERIAL STRAIN ISOLATED FROM SUPER-PARAMAGNETIC IRON NANOPARTICLES CAPABLE OF REDUCING Cr(VI)

Sakoula D.¹, Fatouros D.², Bakandritsos A.³, Skouras Z.¹, Yiangou M.¹

1/Dept. of Genetics, Dev. & Molecular Biology, School of Biology, AUTH 2/Dept. of Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, AUTH 3/Dept of Materials Science, University of Patras

Hexavalent chromium is one of environment's major pollutants. Therefore, in recent years there has been a particular research interest for its biological detoxification. Latest trends employ various bacterial strains including iron bacteria. NB2 bacterial strain was isolated from iron trioxide superparamagnetic nanoparticles and has the ability to tolerate and reduce high concentrations of Cr (VI). NB2 exhibits the ability to grow at 7-10 pH values and in the presence of up to 250 mg/l Cr (VI), while shows MIC (Minimum Inhibitory Concentration) equal to 500 mg/l Cr(VI). Kinetic experiments depicted that NB2 is capable of Cr(VI) reduction at concentrations of 1-125 mg/l Cr (VI) with a rate of 20 mg Cr(VI)/day. NB2's cells are Gram-negative rods, oxidase and catalase positive, with a size smaller than 1 μm , which are arranged in chains. The above characteristics in combination with biochemical and molecular (16S rRNA) analyzes classify NB2 strain within *Stenotrophomonas* genus. In addition in the present study, physico-chemical and molecular analysis were used for the determination of tolerance and Cr(VI) reduction mechanisms in NB2 bacterial strain. The above analyzes exhibited: (a) the presence of *recA* and *ruvB* genes, which participate in the DNA damage repair mechanism and (b) *chrA* gene, which takes place in extracellular Cr(VI) ion removal mechanism. Moreover it has been showed that, exopolysaccharides production by the bacterial strain NB2 does not constitute a resistance mechanism against Cr(VI) metal ions. Conclusively, bacterial strain NB2 due to its ability to tolerate and reduce high concentrations of Cr (VI) can be potentially considered as a biotechnological tool for managing and bioremediation of Cr (VI) contaminated wastewater.

ΤΑ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *SALVIA*: ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ ΑΠΟ ΕΛΛΑΔΙΚΑ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Σαμαρά Ευαγγελία¹, Κουκ Κατερίνα-Μαργαρίτα², Λαναράς Θωμάς³, Κοκκίνη Στέλλα³
*1/Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Διατήρηση της Βιοποικιλότητας και Αειφορική
Εκμετάλλευση Αυτοφύων Φυτών», Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη (ecsamara@bio.auth.gr) - 2/Κέντρο Γεωργικής Έρευνας
Βόρειας Ελλάδας, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός-«ΔΗΜΗΤΡΑ», Τ.Θ. 60458, 570 01
Θέρμη - 3/Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, 541 24 Θεσσαλονίκη*

Παρουσιάζεται ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για το γένος *Salvia*. Τα βιβλιογραφικά δεδομένα προέρχονται από τους Dimopoulos P., Raus Th., Bergmeier E., Constantinidis Th., Iatrou G., Kokkini S., Strid A. & Tzanoudakis D. 2013. Vascular plants of Greece: An annotated checklist. Berlin: Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem; Athens: Hellenic Botanical Society. [Englera 31] και επιστημονικές εργασίες που έχουν καταλογογραφηθεί στο Web-of-Science, Scopus ή Google-Scholar. Στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί 30 taxa (είδη και υποείδη) του γένους, με τα περισσότερα στο φυτογεωγραφικό διαμέρισμα Βόρεια Κεντρική Ελλάδα (76.7%) και τα λιγότερα στις Κυκλάδες (20%). Υπάρχουν δύο ενδημικά είδη, το *S. eichleriana* Heldr. ex Halacsy και το *S. teddii* Turrill, ενώ τα περισσότερα taxa (26.7%) είναι Ευρωπαϊκά με εξάπλωση μέχρι τη ΝΔ Ασία ή Μεσογειακά (20%). Τα ενδιαιτήματα που κυρίως συναντώνται τα taxa είναι λιβάδια (50%), αγροτικές περιοχές (26.7%) και φρυγανικά οικοσυστήματα (26.7%). Οι βιοτικές μορφές των taxa είναι: ημικρυπτόφυτα (70%), φανερόφυτα (23%), χαμαίφυτα (10%) και θερόφυτα (3.3%). Από τα taxa *Salvia* που φύονται στην Ελλάδα, έχουν μελετηθεί παγκοσμίως περισσότερα τα αιθέρια έλαια των *S. officinalis*, *S. fruticosa* και *S. sclarea* ενώ αντίστοιχα στην Ελλάδα των *S. fruticosa*, *S. pomifera* subsp. *calycina*, *S. pomifera* subsp. *pomifera* και *S. sclarea*. Συνολικά έχουν μελετηθεί τα αιθέρια έλαια 10 taxa από 72 Ελλαδικές τοποθεσίες που ανήκουν σε 11 διαφορετικά φυτογεωγραφικά διαμερίσματα. Η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο (υπέργειο τμήμα) παρουσιάζει διακύμανση μεταξύ των ατόμων διαφορετικών taxa, από 0.15 (*S. verbenaca*, από το Ακρωτήρι, Χανιά) έως 5.5 mL 100 g⁻¹ DW (*S. fruticosa*, από το Λίθινες, Κρήτη). Τα κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων που αναφέρονται συχνότερα σε ερευνητικά δημοσιεύματα είναι: η 1,8-κινεόλη, η καμφορά, η β-θουγιόνη, το α- και β-πινένιο και το (E)-καρυοφυλλένιο. Τα αιθέρια έλαια των taxa του γένους *Salvia* έχουν αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή, αντιοξειδωτική ή νυμφοκτόνο δράση. Οι συγγραφείς ευχαριστούν για οικονομική υποστήριξη το ΕΣΠΑ, Δράση ΑΡΙΣΤΕΙΑ II (NATURAL AROMA-4204).

THE ESSENTIAL OILS OF THE GENUS SALVIA: CURRENT KNOWLEDGE FOR GREEK ECOSYSTEMS

Samara Evangelia¹, Cook Catherine-Margaret², Lanaras Thomas³, Kokkini Stella³

1/Postgraduate Studies Programme “Conservation of Biodiversity and Sustainable Exploitation of Native Plants”, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-541 24 Thessaloniki, Greece (ecsamara@bio.auth.gr) - 2/Agricultural Research Centre of Northern Greece, Hellenic Agricultural Organization-“DEMETER”, P.O. Box 60458, GR-570 01 Thermi, Greece - 3/Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-541 24 Thessaloniki, Greece

A literature review for the genus *Salvia* is presented. Bibliographic data was collected from Dimopoulos P., Raus Th., Bergmeier E., Constantinidis Th., Iatrou G., Kokkini S., Strid A. & Tzanoudakis D. 2013. Vascular plants of Greece: An annotated checklist. Berlin: Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem; Athens: Hellenic Botanical Society. [Englera 31] and from scientific papers indexed by the Web-of-Science, Scopus or Google-Scholar. Thirty taxa (species and subspecies) of the genus *Salvia* grow wild in Greece. Most are found in the phytogeographical region of North Central Greece (76.7%) while least are found in the Cyclades (20%). There are two endemic species, *S. eichleriana* Heldr. ex Halacsy and *S. teddii* Turrill in Greece, while most of the taxa are either European with a distribution extending to SW Asia (26.7%), or Mediterranean (20%). The taxa grow mainly in temperate and sub Mediterranean grasslands (50%), agricultural and ruderal habitats (26.7%) and xeric Mediterranean phrygana and grasslands (26.7%). The life-forms of the taxa are: hemicryptophytes (70%), phanerophytes (23%), chamaephytes (10%) and therophytes (3.3%). The studies of the essential oil of taxa which grow in Greece worldwide have mainly been on *S. officinalis*, *S. fruticosa* and *S. sclarea*, while in Greece on *S. fruticosa*, *S. pomifera* subsp. *calycina*, *S. pomifera* subsp. *pomifera* and *S. sclarea*. Overall, the essential oils of 10 taxa from 72 sites belonging to 11 different phytogeographical regions have been studied in Greece. Essential oil content (aerial parts) varies between individuals of different taxa, from 0.15 (*S. verbenaca*, from Akrotiri, Chania) to 5.5 mL 100 g⁻¹ DW (*S. fruticosa*, location Lithines, Crete). The most frequently encountered main constituents of essential oils cited in research papers are: 1,8-cineole, camphor, β -thujone, α - and β -pinene and (E)-caryophyllene. Essential oils of taxa of the genus *Salvia* have demonstrated antimicrobial, antifungal, antioxidant and larvicidal activity. The authors acknowledge the financial support of the National Strategic Reference Framework (NSRF), Research Funding Programme of the Action ARISTEIA II (NATURAL AROMA-4204).

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ rs4950, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΑΛΗΨΗ ΗΓΕΤΙΚΩΝ ΘΕΣΕΩΝ

Σαρρόπουλος Ιωάννης, Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος, Κουβάτση Αναστασία
*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, 54124
Θεσσαλονίκη*

Ο rs4950 είναι ένας απλός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (SNP) που εντοπίζεται στην 5'-αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου της υπομονάδας β3 των νικοτινικών χολινεργικών υποδοχέων (CHRNΒ3). Ο πολυμορφισμός αυτός (G/A) συσχετίστηκε πρόσφατα με την πιθανότητα κατάληψης ηγετικών θέσεων (De Neve et al, 2013). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, άτομα ομόζυγα για το αλληλόμορφο A εμφανίζουν στατιστικά σημαντική αύξηση της πιθανότητας κατάληψης ηγετικών θέσεων έναντι εκείνων που έχουν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο G. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η εύρεση της συχνότητας του συγκεκριμένου πολυμορφισμού και η διερεύνηση της παραπάνω συσχέτισης στον ελληνικό πληθυσμό. Απομονώθηκε DNA από σταγόνες αίματος από τυχαίο δείγμα 104 ατόμων ηλικίας 20-24 ετών με τη μέθοδο φαινόλης-χλωροφορμίου. Η κατοχή ηγετικών θέσεων αξιολογήθηκε μέσω ενός ερωτηματολογίου. Έγινε ενίσχυση της αλληλουχίας εκατέρωθεν του πολυμορφισμού rs4950, συνολικού μήκους 226 bp, με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Από τον καθορισμό των γενοτύπων μέσω αλληλούχισης κατά Sanger προέκυψαν οι παρακάτω συχνότητες αλληλομόρφων και γενοτύπων: A:71,2%, G:28,8% και AA:51,9%, AG:38,5%, GG:9,6%. Οι συχνότητες δε διαφέρουν από τις αντίστοιχες της βιβλιογραφίας για τον αμερικανικό πληθυσμό. Για την ανάλυση συσχέτισης το δείγμα διαχωρίστηκε σε άτομα που δεν κατείχαν καμία ηγετική θέση (40) και σε άτομα με τουλάχιστον μία ηγετική θέση (64). Βρέθηκε ότι τα ομόζυγα για το αλληλόμορφο A άτομα παρουσίαζαν κατά 18% υψηλότερη συχνότητα κατάληψης ηγετικών θέσεων έναντι εκείνων με ένα τουλάχιστον αλληλόμορφο G. Έπειτα από μονόπλευρο έλεγχο για τη σύγκριση αναλογιών δυο πληθυσμών με το στατιστικό τεστ Z η διαφορά αυτή κρίθηκε στατιστικά σημαντική ($p=0,027$). Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνει τη συσχέτιση του πολυμορφισμού rs4950 με την πιθανότητα κατάληψης ηγετικών θέσεων σε άτομα νεαρής ηλικίας και στον ελληνικό πληθυσμό. Στη δεύτερη φάση της εργασίας, η οποία συνεχίζεται, γίνεται ανάλυση σε άτομα μεγαλύτερων ηλικιών.

PRELIMINARY RESULTS FROM THE ANALYSIS IN THE GREEK POPULATION OF THE rs4950 POLYMORPHISM, ASSOCIATED WITH LEADERSHIP ROLE OCCUPANCY

Sarropoulos Ioannis, Triantafyllidis Alexandros, Kouvatsi Anastasia

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

The single nucleotide polymorphism (SNP) rs4950 (G/A), located in the 5'-untranslated region of the CHRNA3 gene, was recently associated with the tendency to leadership role occupancy (De Neve et al, 2013). According to the literature, individuals with two A alleles are significantly more likely to occupy leadership positions as compared to individuals with at least one G allele. This study aims to determine the frequency of this particular polymorphism and to investigate the above mentioned association in the Greek population. DNA isolation was performed from blood droplets with phenol-chloroform protocol for a random sample of 104 individuals aged from 20 to 24 years old. Leadership role occupancy was evaluated through a self-report questionnaire. A 226 bp sequence including the rs4950 polymorphism was amplified with the polymerase chain reaction. The following allele and genotype frequencies were determined after Sanger-sequencing: A:71,2%, G: 28,8% and AA:51,9%, AG:38,5%, GG:9,6%. These frequencies don't differ significantly from the respective frequencies of the American population, reported in the literature. For the association study the sample was divided into groups of individuals without any leadership position (40) and with at least one leadership position (64). Homozygous individuals for the A allele were found to occupy leadership positions at a 18% higher frequency when compared to individuals with at least one G allele. After applying a one-tailed Z test for two proportions, the above difference was found to be statistically significant ($p=0.027$). This result confirms the association of the rs4950 polymorphism with leadership role occupancy for individuals of young age in the Greek population. The second stage of our study, which is currently ongoing, continues the analysis to individuals of older age.

ΡΥΘΜΟΣ ΕΞΑΦΑΝΙΣΗΣ ΕΙΔΩΝ ΣΕ ΜΙΑ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑ ΜΕ ΕΙΔΟΓΕΝΕΣΗ ΤΥΧΑΙΑΣ ΔΙΑΙΡΕΣΗΣ

Σγαροδέλη Βασιλική

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

Η απώλεια ενδιαιτήματος είναι σήμερα μια από τις κυριότερες αιτίες που οδηγεί πολλά είδη στην εξαφάνιση. Για αυτό το λόγο η πρόβλεψη της απόκρισης των πληθυσμών στην απώλεια ενδιαιτήματος είναι σημαντική στην προσπάθεια διατήρησης της βιοποικιλότητας. Τα τελευταία χρόνια η ανάπτυξη στοχαστικών μοντέλων οργάνωσης των βιοκοινοτήτων, όπως το ουδέτερο μοντέλο της βιοποικιλότητας, έχει δώσει τη δυνατότητα να προβλεφθεί η δυναμική των κοινοτήτων. Χρησιμοποιώντας το ουδέτερο μοντέλο βρήκαμε μια διαφορική εξίσωση που περιγράφει την μεταβολή του αριθμού των ειδών με τον χρόνο σε μια κοινότητα με ειδογένεση τυχαίας διαίρεσης. Δοθέντος ενός σεναρίου απώλειας ενδιαιτήματος η εξίσωση προβλέπει τον αριθμό των ειδών στην ισορροπία καθώς και χαρακτηριστικούς χρόνους επαναφοράς στην ισορροπία μετά από διαταραχή. Τα αποτελέσματα της εξίσωσης συμφωνούν με τα αποτελέσματα από προσομοιώσεις. Χρησιμοποιήσαμε την εξίσωση για να παραμετροποιήσουμε δεδομένα από κοινότητες πτηνών και συγκρίναμε με παρατηρήσεις όπως και με αποτελέσματα από άλλα συναφή μοντέλα. Το μοντέλο που χρησιμοποιήσαμε είναι πολύ απλό, ωστόσο περιέχει τους βασικούς παράγοντες που επηρεάζουν την εξέλιξη των βιοκοινοτήτων στο χρόνο, όπως η δημογραφική στοχαστικότητα σε συνδυασμό με την ειδογένεση τυχαίας διαίρεσης. Ένα τέτοιο μοντέλο μπορεί να συμβάλει στην αποκρυστάλλωση των γνώσεών μας και να αποτελέσει το παράδειγμα με βάση το οποίο θα αντιμετωπίζονται τα θέματα βιοποικιλότητας στο μέλλον.

EXTINCTION RATE IN A COMMUNITY WITH RANDOM FISSION SPECIATION

Sgardeli V.

*DEPARTMENT OF BIOLOGICAL APPLICATIONS AND TECHNOLOGY, UNIVERSITY OF
IOANNINA*

Habitat loss is one of the main causes of species going extinct today. Therefore predicting extinctions following an event of habitat loss is very important in biodiversity conservation. Recently the development of stochastic models of community assembly, like the neutral model of biodiversity, offered the opportunity to simulate the temporal dynamics of communities. Using the neutral model of biodiversity we found a differential equation that describes the change of species richness with time in a community in the presence of random fission speciation. The results of this equation agree well with simulation results. Given a habitat-loss scenario it predicts the number of species at the new equilibrium and characteristic times of relaxation. Using this equation we parameterized data of avian communities and compared the results with observations and with other models. Although there are many simplifications in this model causing it to deviate from reality, it incorporates basic mechanisms controlling the evolution of communities, like demographic stochasticity and random fission speciation. Such a model can help crystallize our ideas and form a basis for the thinking of biodiversity in the future.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΓΚΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ SET ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ-MONTELO ZEBRAFISH

Σερίφη Ηλιάννα¹, Τζίμα Ελένη¹, Καρέτσου Ζωή¹, Παπαμαρκάκη Θωμαΐς^{1,2}

1/Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα -

2/Τμήμα Βιοϊατρικών Ερευνών, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (IMBB), Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας (ITE), Ιωάννινα

Η ογκοπρωτεΐνη SET ανιχνεύθηκε ως τμήμα του γονιδίου σύντηξης set/can στην οξεία αδιαφοροποίητη λευχαιμία 1 και εκφράζεται σε διάφορους τύπους κυττάρων και ιστών. Η πρωτεΐνη αυτή εμπλέκεται σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες όπως η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η γονιδιακή έκφραση, η απόπτωση και η κυτταρική μετανάστευση². Η SET είναι υπομονάδα του συμπλόκου INHAT και μέσω αυτού δρα ως αναστολέας των ακετυλοτρανσφερασών. Επίσης έχει μελετηθεί συστηματικά η ανασταλτική της δράση έναντι των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών NM23-H1 και PP2A, ενώ πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει τη SET ως ένα νέο μόριο-στόχο για την θεραπεία του καρκίνου³. Προκειμένου να κατανοήσουμε το φυσιολογικό ρόλο της SET σε επίπεδο οργανισμού, μελετήσαμε την ορθόλογη πρωτεΐνη στο zebrafish. Πειράματα ανοσοφθορισμού σε έμβρυα zebrafish, έδειξαν ότι η πρωτεΐνη εντοπίζεται στο μελάγχρουν επιθήλιο του οφθαλμού, στα οσφρητικά βοθρία και στα νευροϊστία (neuromasts) της πλευρικής γραμμής. Για τη διερεύνηση του ρόλου της SET κατά την πρόωμη ανάπτυξη του zebrafish, πραγματοποιήθηκε αποσιώπηση της έκφρασης του γονιδίου set μετά από μικροέγχυση ειδικών ολιγονουκλεοτιδίων μορφολίνης σε έμβρυα. Τα set morphants παρουσίασαν φαινοτυπικές ανωμαλίες όπως μικρότερο κεφάλι, λυγισμένο κορμό, κουλουριασμένη ουρά και καθυστερημένη ανάπτυξη. Επίσης, ανιχνεύθηκαν μειωμένα επίπεδα κυτταρικού πολλαπλασιασμού και αυξημένος αριθμός αποπτωτικών κυττάρων στο κεφάλι και στον κορμό των εμβρύων αυτών. Επώαση των morphants με τη χρωστική DASPEI in vivo και ανάλυση με συνεστιακό μικροσκόπιο, έδειξαν ότι ο αριθμός και το μέγεθος των νευροϊστίων μειώνεται σημαντικά μετά την αποσιώπηση της έκφρασης του γονιδίου set. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η SET διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και λειτουργία του αισθητήριου συστήματος στο zebrafish. Βιβλιογραφία 1. Von Lindern et al (1992) Mol. Cell. Biol. 12, 3346-3355 2. Ten Klooster et al (2007) EMBO J. 26, 336-345 3. Switzer et al (2011) Oncogene 30, 2504-2513

FUNCTIONAL CHARACTERISATION OF THE ZEBRAFISH ONCOPROTEIN SET

Serifi Iliana¹, Tzima Eleni¹, Karetsoi Zoe¹, Papamarcaki Thomais^{1,2}

*1/Laboratory of Biological Chemistry, Medical School, University of Ioannina, Ioannina - 2/
Division of Biomedical Research, Foundation for Research and Technology-Hellas, Institute of
Molecular Biology and Biotechnology, Ioannina*

SET oncoprotein was originally identified as a component of the set/can fusion gene in acute undifferentiated leukaemia and is widely expressed in various human tissues¹. It is a multifunctional protein which is involved in a broad range of cellular processes such as cell cycle regulation, gene expression, apoptosis and cell migration². SET is a component of the INHAT complex through which it functions as an inhibitor of histone acetyltransferases. Moreover, SET is a potent inhibitor of the tumour suppressors NM23-H1 and PP2A, while recent studies identify SET as a new target-molecule in cancer therapy³. To gain more insight into the physiological role of SET, we studied the zebrafish SET ortholog. Whole-mount immunofluorescence analysis of zebrafish embryos revealed that the SET protein is localised in the retinal pigment epithelium (RPE), olfactory pit and lateral line neuromasts. To analyse the physiological role of SET during early development we knocked down set expression using specific antisense morpholino oligonucleotides. The set morphants exhibited phenotypic defects such as small head, bent trunk, curled tail and growth retardation. Knockdown of set also resulted in reduced proliferation and increased apoptosis mainly in the head and trunk of the morphants. In vivo analysis of the set morphants with the vital fluorescence dye DASPEI revealed a reduced number and size of the lateral line neuromasts. Taken together, our results suggest an important role of SET in the development and function of the sensory system during zebrafish embryogenesis. References 1. Von Lindern et al (1992) Mol. Cell. Biol. 12, 3346-3355 2. Ten Klooster et al (2007) EMBO J. 26, 336-345 3. Switzer et al (2011) Oncogene 30, 2504-2513

**ΣΤΕΛΕΧΗ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ: ΔΙΑΣΥΝΔΕΣΗ ΜΕ ΤΟ
ΕΙΚΟΝΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΕΡΕΥΝΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ
«SCRATCHPADS»**

Σιαμπούλη Κωσταντίνα, Γκέλης Σπύρος

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 124
Θεσσαλονίκη*

Η επιστημονική κοινότητα έχοντας κατανοήσει την ανάγκη για την πληρέστερη καταγραφή και κατανόηση της βιοποικιλότητας, επιχειρεί την συλλογή και διασύνδεση των στοιχείων της σε ανοιχτές, προσβάσιμες από το Διαδίκτυο πλατφόρμες δεδομένων. Για το σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί νέα εργαλεία που συνιστούν την αναδυόμενη επιστήμη της «πληροφορικής της βιοποικιλότητας» (biodiversity informatics). Η παρούσα εργασία έχει ως σκοπό την κατασκευή μας βάσης δεδομένων με στελέχη κυανοβακτηρίων που έχουν απομονωθεί από λίμνες της Ελλάδας και βρίσκονται στην συλλογή AUTH (Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ). Στη συλλογή περιλαμβάνονται 31 στελέχη κυανοβακτηρίων των τάξεων Chroccocales, Nostocales και Oscillatoriales. Η βάση δεδομένων περιλαμβάνει περιγραφές, φωτογραφίες, μορφομετρικά στοιχεία, καθώς και χάρτες της περιοχής που συλλέχθηκε το κάθε στέλεχος. Όλα αυτά εισάγονται, δομούνται και παρουσιάζονται στο διαδίκτυο με ένα πρόσφατο εργαλείο, το «Scratchpads». Το Scratchpads είναι μια ηλεκτρονική πλατφόρμα βιοποικιλότητας ανοιχτής πρόσβασης, όπου ερευνητές μπορούν να διαχειρίζονται, να δημοσιεύουν και να κοινοποιούν δεδομένα στην επιστημονική κοινότητα. Το Scratchpads των στελεχών κυανοβακτηρίων που κατασκευάστηκε προβλέπει την καταχώρηση επιπλέον πληροφοριών (όπως δεδομένα τοξικότητας), αλλά και τη διασύνδεση των πληροφοριών της με διαδικτυακές δημόσιες βάσεις βιοποικιλότητας (π.χ. GBIF, Encyclopedia of Life) και μοριακών δεδομένων (GenBank), προωθώντας με αυτό τον τρόπο την ανταλλαγή, την εξερεύνηση καθώς και την σύγκριση δεδομένων βιοποικιλότητας μεταξύ των ερευνητών.

CYANOBACTERIA STRAINS FROM GREECE: LINK TO THE VIRTUAL RESEARCH ENVIRONMENT FOR BIODIVERSITY DATA “SCRATCHPADS”

Siampouli Ch., Gelis S.

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54 124
Thessaloniki, Greece*

Having understood the need for more complete recording and understanding of biodiversity, the scientific community attempts to collect and link biodiversity data in open access online database platforms. To this end, new tools that constitute the emerging science of biodiversity informatics have been developed. This study aims to build a database of cyanobacterial strains isolated from lakes of Greece and are part of the AUTH culture collection (School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki). This collection is comprised of 31 strains classified to Chroococcales, Nostocales and Oscillatoriales. The database includes descriptions, microphotographs, morphometric data, and distribution maps. All those data are structured managed, and presented online with a recently developed tool, namely “Scratchpads”. Scratchpads, is an open access online platform for biodiversity data, where researchers can manage, publish and share data with the scientific community. The cyanobacteria culture collection Scratchpads we present here is built to host information such as strain toxicity, as well as, to link all its data with online global biodiversity databases (e.g. GBIF, Encyclopedia of Life), and sequence databases (GenBank), thereby promoting the exchange, exploration and comparison of biodiversity data between researchers.

ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥ ΦΟΡΕΑ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ HNF4α

**Σιούτας Γεώργιος, Βαλλιάνου Ιωάννα, Ντάφου Δήμητρα, Χατζοπούλου-Κλαδαρά
Μαργαρίτα**

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

Η κυριότερη μορφή πρωτογενούς καρκίνου του ήπατος είναι το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, δηλαδή καρκίνος του ηπατικού επιθηλίου, το οποίο φτάνει σε ποσοστό 90%. Ένας από τους κυριότερους ρυθμιστές του επιθηλιακού φαινοτύπου των ηπατικών κυττάρων είναι ο ηπατοειδικός μεταγραφικός παράγοντας 4α (HNF4α), ο οποίος ανήκει στην υπεροικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων. Έχει αποδειχθεί ότι ο HNF4α παίζει σπουδαίο ρόλο στη διαφοροποίηση του ήπατος κατά την εμβρυογένεση, ενώ έχει συσχετισθεί με την καρκινογένεση και την μετάσταση. Πρόσφατα, παρατηρήθηκε μειωμένη έκφρασή του σε ένα αυτοτροφοδοτούμενο κύκλωμα που περιλαμβάνει miRNAs και άλλες πρωτεΐνες σε κατάσταση φλεγμονής. Λόγω του σημαντικού ρόλου του HNF4α στην καρκινογένεση θεωρήθηκε απαραίτητη η κατασκευή φορέων επαγόμενης έκφρασής του και για το σκοπό αυτό επιλέχθηκε η τεχνολογία Gateway® της Invitrogen. Κατασκευάστηκε ένας πλασμιδιακός φορέας εισαγωγής (pENTR-1A) ο οποίος περιέχει το γονίδιο του HNF4α στον σωστό προσανατολισμό. Στη συνέχεια, χρησιμοποιώντας τις ιδιότητες του ειδικού ανασυνδυασμού του βακτηριοφάγου λ, έγινε η μεταφορά του γονιδίου σε δύο λεντιικούς πλασμιδιακούς φορείς (pINDUCER20 και pINDUCER21). Το γονίδιο βρίσκεται υπό τον έλεγχο του υποκινητή CMV2 με το στοιχείο TRE να ελέγχει τα επίπεδα της έκφρασής του (σύστημα Tet-On). Έτσι, η επαγόμενη έκφραση του γονιδίου γίνεται με τη χορήγηση τετρακυκλίνης ή του παραγώγου της, δοξυκυκλίνης. Οι πλασμιδιακοί φορείς επαγόμενης έκφρασης του HNF4α αποτελούν σημαντικό εργαλείο για την διαλεύκανση του ρόλου της μειωμένης έκφρασης του HNF-4α στην παρατηρούμενη αύξηση του ογκογονικού φαινοτύπου.

DEVELOPMENT OF AN INDUCIBLE PLASMID EXPRESSION VECTOR OF THE TRANSCRIPTION FACTOR HNF4 α

Sioutas Georgios, Vallianou Ioanna, Dafou Dimitra, Hadzopoulou-Cladaras Margarita

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

Hepatocellular Carcinoma (HCC) is the most common type (90%) of primary epithelial liver cancer. One of the most important phenotypic regulators of epithelial liver cells is the hepatic nuclear factor 4 α (HNF4 α), a member of the nuclear receptor superfamily. Several studies have shown that HNF4 α has a significant role in liver differentiation during development and has been linked to liver carcinogenesis and metastasis. Recently, reduced expression of HNF4 α has been observed in a molecular feedback loop network that includes microRNAs and other proteins involved in inflammation. The development of an inducible expression vector will allow further investigation in the established role of HNF4 α in liver carcinogenesis. For this purpose it was decided to utilize the Gateway® recombination cloning technology commercially available from Invitrogen. We constructed an inducible plasmid vector containing the gene of interest (HNF4 α) at the correct reading frame orientation. We employed recombination properties of bacteriophage λ to clone the gene of interest into two lentiviral based expression vectors pINDUCER20 and pINDUCER21. The gene is expressed under a CMV2 promoter containing a TRE element, and its overexpression is induced by a Tet-On cassette. Therefore, the induction of HNF4 α expression in cells is achieved by the addition of the antibiotic tetracycline or its synthetic analogue doxycycline. The mammalian inducible expression plasmid vectors of HNF4 α represent an important tool for further elucidation of the role of reduced HNF4 α in mediating an increase in the hepatic oncogenic phenotype.

Η ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΤΟΥΣ CB1 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΩΝ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ ΑΝΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΙΣ ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΚΟΚΑΙΝΗΣ ΣΤΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΗΣ ΕΞΑΡΤΗΜΕΝΗΣ ΠΡΟΤΙΜΗΣΗΣ ΘΕΣΗΣ

Σμαραγδή Ελένη¹, Δελή Φωτεινή¹, Πολυσιόδη Αλεξία^{1,2}, Μαρσέλος Μάριος¹, Αντωνίου Κατερίνα¹
*1/Τμήμα Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα,
Ελλάδα - 2/Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών, Ακαδημίας Αθηνών, 115 27 Αθήνα,
Ελλάδα*

Αρκετές επιστημονικές μελέτες δείχνουν την εμπλοκή του συστήματος των κανναβινοειδών στην δράση των ψυχοδιεγερτικών ουσιών καθώς και την πιθανή εμπλοκή τους στην θεραπεία της ουσιοεξάρτησης. Στην παρούσα εργασία, μελετήσαμε τον ρυθμιστικό ρόλο του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος στις ενισχυτικές ιδιότητες που προκαλεί η κοκαΐνη στο μοντέλο εξαρτημένης προτίμησης θέσης σε επίμυες. Κατά την πρώτη ημέρα του πειράματος προτίμησης θέσης για την κοκαΐνη, τα πειραματόζωα τοποθετούνται, για 15min, σε πειραματική συσκευή με τρία διαμερίσματα για να εξοικειωθούν με το χώρο. Τα πειραματόζωα, ανάλογα με την προτίμηση θέσης την πρώτη ημέρα, ισοκατανέμονται τόσο ως προς το φαρμακευτικό σχήμα χορήγησης όσο και ως προς το διαμέρισμα όπου θα συνδυαστεί η χορήγηση φαρμάκου [έκδοχο, SR141716A (1 ή 3mg/kg), κοκαΐνη (20 mg/kg), SR141716A και κοκαΐνη]. Τις επόμενες οκτώ ημέρες πραγματοποιούνται ενέσεις φαρμάκων και εκδόχου εναλλάξ και ακολουθεί τοποθέτηση των επίμυων είτε στο ένα είτε στο άλλο διαμέρισμα (30min). Στην τελική δοκιμασία ελέγχου (15min) τα πειραματόζωα επανατοποθετούνται στην πειραματική συσκευή όπου αφήνονται ελεύθερα να επιλέξουν το διαμέρισμα προτίμησης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ανταγωνιστής των CB1 υποδοχέων, SR141716A, αναστέλλει την έκφραση της προτίμησης θέσης στις δόσεις 1 και 3 mg/kg. Παρατηρήθηκε ακόμα ότι το SR141716A (3mg/kg) μειώνει την εγκατάσταση προτίμησης θέσης που προκαλεί η κοκαΐνη. Σημειώνεται ότι η χορήγηση SR141716A δεν προκαλεί από μόνη της προτίμηση θέσης ούτε αποστροφή. Έτσι, λόγω της εμπλοκής του συστήματος των ενδοκανναβινοειδών στις ενισχυτικές δράσεις της κοκαΐνης, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι ουσίες που επηρεάζουν το ενδοκανναβινοειδές σύστημα είναι πιθανό να αποδυναμώνουν τις ενισχυτικές ιδιότητες της κοκαΐνης, όπως αυτές εκφράζονται στο πρότυπο της εξαρτημένης προτίμησης θέσης.

CANNABINOID CB1 RECEPTOR ANTAGONISM BLOCKS THE EXPRESSION OF COCAINE CONDITIONED PLACE PREFERENCE

Smaragdi Eleni¹, Delis Foteini¹, Polissidis Alexia^{1,2}, Marselos Marios¹, Antoniou Katerina¹

1/Department of Pharmacology, Medical School, University of Ioannina, 451 10 Ioannina, Greece -

2/Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, 115 27 Athens, Greece

The potential of endocannabinoid modulation for the treatment of psychostimulant addiction has been recently suggested. Here we studied the modulatory role of the endocannabinoid system on the rewarding effects of cocaine, using the conditioned place preference (CPP) paradigm in the rat. We tested the potential of the cannabinoid CB1 antagonist SR141716A, (i) to affect the acquisition of cocaine CPP, by administering SR141716A during cocaine conditioning and (ii) to affect the expression of cocaine CPP, by administering SR141716A on Test Day. Cocaine (20mg/kg) CPP was performed with an unbiased design in a three-compartment apparatus, with 1 habituation day (15 min free exploration), 8 days of conditioning with alternating drug and vehicle injections (30 min in black or white chamber), and 1 test day (15 min free exploration). The results showed that the cannabinoid inverse agonist/antagonist SR 141716A blocked the expression of cocaine CPP at 1 and 3 mg/kg and decreased the acquisition of cocaine CPP at 3mg/kg. These effects were not due to direct effects of SR141716A on the conditioning procedure since SR141716A alone produced neither place reference nor aversion. Our findings show that the endocannabinoid system contributes to the primary rewarding properties of cocaine and, more so, to the expression of cocaine x environment associations. These results suggest that pharmacological intervention of the endocannabinoid system may be of value in the weakening of context-induced cocaine preference.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΤΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ (*Argyrosomus regius*)

**Σουμαλεύρης Αλέξανδρος¹, Χατζηγιαννίδου Ιωάννα¹, Φειδάντσης Κωνσταντίνος¹,
Χατζηφώτης Σταύρος², Αντωνοπούλου Ευθυμία¹**

*1/Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα 2/
Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Ιχθυοκαλλιέργειας, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.,
71003 Ηράκλειο, Ελλάδα*

Τα ψάρια αντιμετωπίζουν συχνά καταστάσεις κυμαινόμενης θερμοκρασίας και ασιτίας τόσο στο φυσικό τους περιβάλλον, όσο και σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας. Ο κρανιός (*Argyrosomus regius*) αποτελεί ένα νεοεισαγόμενο είδος στις υδατοκαλλιέργειες και ως εκ τούτου, υπάρχει ελάχιστη πληροφορία σχετικά με την επίδραση των περιβαλλοντικών μεταβολών στην κυτταρική απόκριση στο στρες. Μελετήθηκε η επίδραση διαφορετικών θερμοκρασιών (17, 20, 23, 26°C) υπό κανονικές συνθήκες σίτισης και η λήψη του ήπατος έγινε 3 μήνες μετά την έναρξη του πειράματος. Στο δεύτερο πείραμα επιβλήθηκαν οι παραπάνω θερμοκρασίες με ταυτόχρονη ασιτία και οι δειγματοληψίες του ήπατος πραγματοποιήθηκαν 15, 42 και 60 ημέρες από την έναρξη του πειράματος. Για τη διερεύνηση του αντίκτυπου των συνθηκών αυτών σε μοριακό επίπεδο, επικεντρωθήκαμε στην αξιολόγηση των επιπέδων έκφρασης της ουβικουιτίνης και της αντι-αποπτωτικής Bcl-2. Καθώς η ασιτία και η ταυτόχρονη αύξηση της θερμοκρασίας μπορούν να οδηγήσουν σε οξειδωτικό στρες λόγω υποξίας, μελετήθηκε η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων SOD, CAT και GR. Παρατηρήθηκαν διαφορετικά πρότυπα διακύμανσης των επιπέδων έκφρασης στους δείκτες που εξετάστηκαν μεταξύ των ατόμων που σιτίζονται κανονικά και αυτών που βρίσκονται σε συνθήκες ασιτίας. Στα άτομα που σιτίζονται κανονικά δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στα επίπεδα των μελετώμενων πρωτεϊνών και ενζύμων. Αντίθετα, στα ψάρια κάτω από συνθήκες ασιτίας, τα επίπεδα των ενζύμων ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε σχέση με αυτά που σιτιζόταν κανονικά. Τα αυξημένα επίπεδα της Bcl-2 υποδεικνύουν αντιαποπτωτική δράση και τα μειωμένα επίπεδα της ουβικουιτίνης, αντίστοιχα, φανερώνουν ελαττωμένη αποικοδόμηση πρωτεϊνών από το πρωτεάσωμα.

EFFECT OF STARVATION AND REARING TEMPERATURE ON ANTIOXIDANT AND APOPTOTIC PARTHWAYS IN THE LIVER OF MEAGRE (*Argyrosomus regius*)

Soumalevris Alexandros¹, Chatzigiannidou Ioanna¹, Feidantsis Konstantinos¹, Chatzifotis Stavros², Antonopoulou Efthimia¹

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

The fish often face situations of varying temperature and starvation both in the wild and in aquaculture. Meagre (*Argyrosomus regius*) is a newly introduced species in aquaculture and there is limited information available on the effect of environmental conditions on the cellular response to stress. In the first experiment we studied the effect of different temperatures (17, 20, 23, 26°C) under normal feeding conditions in the liver of the fish, three months after the start of the experiment. In the second experiment the same temperature regimes were applied in combination with starvation, while liver samples were taken after 15, 42 and 60 days. Our aim was to investigate the impact of nutritional status and water temperature on the molecular level, by assessing the levels of expression of ubiquitin and anti-apoptotic Bcl-2. Since starvation and concomitant temperature increase may lead to oxidative stress due to hypoxia, we studied the activity of the antioxidant enzymes SOD, CAT and GR. Different expression patterns of the examined molecular markers were found between fish under normal diet and starved ones. Fish subjected to normal feeding did not show changes in the levels of the examined proteins and enzymes. On the other hand, the enzymatic levels were significantly lower in starved fish in comparison to those fed normally. Elevated levels of Bcl-2 activity indicated antiapoptotic regulation, while reduced levels of ubiquitin conjugates suggested low activation of the protein degradation pathway through proteasome.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΙΜΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΓΕΓΟΝΟΤΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΞΟΔΟ ΤΟΥ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΑ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ΑΠΟ ΤΗ ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ

Σούρδη Θεοδώρα, Παπαγεωργίου Κυριακή, Μιχαηλίδης Θεολόγος

*1/ Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110
Ιωάννινα, 2/ Τμήμα Βιοϊατρικών Ερευνών, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας &
Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, 3/ Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και
Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Το μονοπάτι TOR είναι ένας εξαιρετικά συντηρημένος σηματοδοτικός μηχανισμός που συνδέεται με την επιβίωση του κυττάρου. Εμπλέκεται σε έναν μεγάλο αριθμό κυτταρικών διεργασιών όπως η μεταγραφή, η μετάφραση, η οργάνωση του κυτταροσκελετού και η αυτοφαγία. Το μονοπάτι είναι ενεργό όταν υπάρχουν υψηλά επίπεδα θρεπτικών συστατικών στο μέσο ανάπτυξης και καταστέλλεται όταν αυτά εξαντληθούν. Στον ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* η εξάντληση των θρεπτικών συστατικών και η αδρανοποίηση του μονοπατιού TOR οδηγεί το κύτταρο είτε σε απόπτωση είτε στην είσοδο σε μια στατική φάση, γνωστή ως G0. Τα κύτταρα της φάσης G0 παρουσιάζουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως παχιά κυτταρικά τοιχώματα, πυκνά κενοτόπια, αργό μεταβολικό ρυθμό, θερμο-/ωσμο-ανθεκτικότητα και αλλαγές στον κυτταρικό τους σκελετό. Η ανανέωση του θρεπτικού μέσου επιτρέπει στα κύτταρα αυτά να εισέρχονται ξανά στον κυτταρικό κύκλο. Απώτερος στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση των πρώιμων μορφολογικών και μοριακών γεγονότων τα οποία χαρακτηρίζουν τη μετάβαση του μύκητα από τη στατική φάση στον κυτταρικό κύκλο. Χρησιμοποιώντας μια μεθοδολογία εμπλουτισμού των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση G0 (κλασμάτωση Percoll) από καλλιέργειες μύκητα σε συνθήκες εξάντλησης των θρεπτικών συστατικών, αναλύσαμε τα πρότυπα έκφρασης χαρακτηριστικών πρωτεϊνών του κυτταρικού κύκλου με ανοσοαποτύπωση κατά Western και τις μεταβολές του κυτταρικού σκελετού με ειδικές χρώσεις και μικροσκοπία φθορισμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δέκα λεπτά μετά την ανανέωση των θρεπτικών συστατικών αυξάνονται τα πρωτεϊνικά επίπεδα της κυκλίνης Cln3 καθώς και του μεταγραφικού παράγοντα Gln3. Επιπλέον στο ίδιο χρονικό διάστημα τα κύτταρα παρουσιάζουν σημαντικές αλλαγές στην οργάνωση της ακτίνης του κυτταροσκελετού, οι οποίες είναι συμβατές με την έναρξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

INVESTIGATION OF THE EARLY CELLULAR EVENTS FOLLOWING EXIT OF THE YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE FROM THE STATIONARY PHASE

Sourdi Theodora, Papageorgiou Kyriaki, Michaelidis Theologos

*1/ Department of Biological Applications and Techniques, University of Ioannina, 45110 Ioannina,
2/ Foundation for Research and Technology-Hellas, Institute of Molecular Biology &
Biotechnology, Department of Biomedical Research, Ioannina. 3/ Department of Molecular Biology
and Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis*

The TOR pathway is a highly conserved signaling module associated with cell survival. It is involved in multiple cellular processes, such as transcription, translation, actin cytoskeleton organization and autophagy. The pathway is active in nutrient-rich conditions and it is inhibited when cells are cultured until depletion of growth factors. In the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, nutrient shortage and the consequent inactivation of the TOR pathway can induce apoptosis or entry into a stationary phase, known as G0. The quiescent cells display distinctive characteristics, such as thickened cell walls and dense vacuoles, low metabolic rate, cytoskeletal changes and heat- /osmo-resistance. The renewal of nutrients allows re-entry into the cell cycle. Our purpose is to investigate the early morphological and molecular events that characterize the transition of yeast cells from the stationary phase into normal cell cycle. We employed a method that separates the different cell populations of a stationary culture (percoll density-gradient centrifugation). We analyzed the expression profile of cell cycle specific proteins by Western blot analysis and monitored changes in the actin cytoskeleton by fluorescence microscopy. Our results showed that the protein levels of Cln3 cyclin and the transcription factor Gln3 are increased within the first ten minutes after inoculation of the G0 cells into nutrient-rich media. Moreover, the cells displayed changes in actin organization related to the onset of proliferation.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ ΜΑΣΤΙΧΑΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Pistacia lentiscus* VARIATION chia

**Σπυριδοπούλου Κατερίνα¹, Χασαμπαλιώτη Μαρία¹, Τιπιρή-Κουρπέτη Αγγελική¹,
Βασιλειάδης Σταύρος¹, Φίτσιου Ελένη¹, Μπαρδούκη Χάιδω², Γαλάνης Αλέξης¹, Παππά
Αγλαΐα¹, Χλίχλια Κατερίνα¹**

*1/Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη - 2/ΒΙΟΡΥΛ Α.Ε., Αφίδνες, Αττική*

Το ευρύ φάσμα των θεραπευτικών και φαρμακευτικών ιδιοτήτων διάφορων φυτοχημικών είναι γνωστό και μελετάται συστηματικά. Το αιθέριο έλαιο από το φυτό *Pistacia lentiscus* var. *chia* (Μαστιχέλαιο) είναι ένα φυτικό εκχύλισμα που χρησιμοποιείται σαν πρόσθετη ουσία τροφίμων προσδίδοντας τη χαρακτηριστική γεύση. Παρά το ότι η αντιμικροβιακή δράση του μαστιχέλαιου έχει μελετηθεί εκτενώς, οι πιθανές αντικαρκινικές του ιδιότητες δεν έχουν πλήρως διερευνηθεί. Διερευνήθηκε η αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου του φυτού *Pistacia lentiscus variation chia* καθώς και η *in vivo* και *in vitro* αντικαρκινική του ενεργότητα. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του ελαίου προσδιορίστηκε με τη μέθοδο DPPH. Καρκινικές σειρές παχέος εντέρου χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η *in vitro* αντικαρκινική του δράση. Επιπρόσθετα, ελέγχθηκε η ικανότητα του, από του στόματος χορηγούμενου, μαστιχέλαιου, να αναστέλλει *in vivo* την ανάπτυξη όγκου σε ένα συνγονικό μοντέλο καρκίνου παχέος εντέρου σε BALB/c ποντικούς. Παράλληλα έγινε συγκριτική ανάλυση της έκφρασης μεταγραφών γονιδίων που εμπλέκονται στην εξέλιξη του καρκίνου με τη μέθοδο της real-time PCR. Η παρούσα μελέτη αποδεικνύει τόσο την *in vivo* όσο και την *in vitro* αντικαρκινική δράση του μαστιχέλαιου και παρέχει πρώτες ενδείξεις για το μοριακό μηχανισμό. Απαιτείται περαιτέρω μελέτη προκειμένου να διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα αλλά και η ενεργότητά του σε μοριακό επίπεδο, ως αντικαρκινικός χημειοπροστατευτικός και χημειοθεραπευτικός παράγοντας. Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα «Συνεργασία 2011-Συμπράξεις παραγωγικών και ερευνητικών φορέων σε Εστιασμένους Ερευνητικούς και Τεχνολογικούς Τομείς» (Κωδ. έργου: 11ΣΥΝ_2_566)

BIOACTIVE PROPERTIES OF MASTIC OIL EXTRACTED FROM *Pistacia lentiscus* VARIATION chia

Spyridopoulou Katerina¹, Chasampalioti Maria¹, Tiptiri-Kourpeti Angeliki¹, Vasileiadis Stavros¹, Fitsiou Eleni¹, Bardouki Haido², Galanis Alexis¹, Pappa Aglaia¹, Chlichlia Katerina¹

*1/Dept. Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University Campus-
Dragana, Alexandroupolis, Greece - 2/Vioryl S.A., Afidnes, Greece*

Various phytochemicals are known to have a broad range of medicinal properties. Essential oil distilled from *Pistacia lentiscus* var. chia (Mastic oil), is a dietary plant extract that has been traditionally used as food additive and flavoring agent. Although mastic oil's antimicrobial activity has been extensively studied, little research has been done on its potential antitumor effect. We investigated the antioxidant and in vitro and in vivo anticancer activities of mastic oil. DPPH assay was employed to assay extract's antioxidant activity. In vitro anti-proliferative effect was evaluated on colon cancer cell lines, while an established syngeneic mouse model of colon cancer was used to address the in vivo anti-tumour potential of orally administered mastic oil. In order to study the molecular mechanism of the extract's activity, expression of cancer-related genes was comparatively analysed with real-time PCR. Conclusively, this study provides in vitro and in vivo evidence on the anti-tumour activity of the essential oil distilled from *Pistacia lentiscus* variation chia and gives insight on the molecular mechanism of its activity. Further research on the chemopreventive and chemotherapeutic role of this promising natural product is required to evaluate its effectiveness and clarify the involved molecular pathways. The present study was funded by a "Cooperation 2011-Partnerships of Production and Research Institutions in Focused Research and Technology Sectors" grant (Project 11SYN_2_566).

ΠΡΟΤΥΠΑ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗΣ ΔΙΑΚΡΙΤΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ ΖΩΟΠΛΑΓΚΤΟ ΛΙΜΝΑΙΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Στάμου Γεωργία¹, Μαζάρης Αντώνιος², Μιχαλούδη Ευαγγελία^{1*}

*1/Τομέας Ζωολογίας, 2/Τομέας Οικολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, */
tholi@bio.auth.gr*

Οι δείκτες ταξινομικής διακριτότητας βασίζονται στο βαθμό ταξινομικής (φυλογενετικής) συγγένειας μεταξύ των ειδών και δεν επηρεάζονται από την ένταση της δειγματοληπτικής προσπάθειας. Επιπλέον μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε δεδομένα παρουσίας/απουσίας κάνοντας εφικτή τη σύγκριση με ιστορικά δεδομένα περιοχών. Στην παρούσα έρευνα εφαρμόστηκαν οι δείκτες Δ+ Μέση Ταξινομική Διακριτότητα και Λ+ Διακύμανση Ταξινομικής Διακριτότητας σε δεδομένα παρουσίας/απουσίας των ειδών ζωοπλαγκτού 18 ελληνικών λιμνών. Τα δεδομένα προέρχονται από έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές χρονολογικές περιόδους από το 1987 μέχρι σήμερα. Επιπλέον κατασκευάστηκε η κύρια λίστα των ειδών ζωοπλαγκτού που έχουν καταγραφεί στις ελληνικές λίμνες και δημιουργήθηκαν οι χοάνες εμπιστοσύνης των αναμενόμενων τιμών ώστε να συγκριθούν οι τιμές της βιοποικιλότητας μεταξύ των διαφορετικών λιμνών και να εκτιμηθεί η απόκλισή τους από τις αναμενόμενες τιμές. Οι δείκτες εφαρμόστηκαν τόσο για τη συνολική ζωοπλαγκτική κοινωνία όσο και για τα τροχόζωα και τα καρκινοειδή (κλαδοκερωτά και κωπήποδα) ξεχωριστά. Βρέθηκε ότι οι τιμές των δεικτών επηρεάζονται από το βάθος της λίμνης, την αλατότητα και την οικολογική ποιότητα. Συγκεκριμένα για τη συνολική ζωοπλαγκτική κοινωνία το 80% των λιμνών που τοποθετήθηκαν εκτός των ορίων της χοάνης εμπιστοσύνης ήταν αβαθείς (μέγιστο βάθος 1-11 m), και οι τιμές των δεικτών παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση ($p < 0.05$) με το βάθος. Για την κοινωνία των τροχόζωων οι λίμνες που τοποθετήθηκαν εκτός των ορίων της χοάνης εμπιστοσύνης χαρακτηρίζονται από αυξημένες τιμές αλατότητας και έντονες διακυμάνσεις της στάθμης του νερού, και οι τιμές των δεικτών εμφάνισαν σημαντική συσχέτιση ($p < 0.05$) με την αλατότητα. Τέλος, για την κοινωνία των καρκινοειδών οι λίμνες Χειμαδίτιδα και Ζάζαρη που τοποθετήθηκαν εκτός των ορίων της χοάνης εμπιστοσύνης χαρακτηρίζονται από κακή οικολογική κατάσταση, ενώ και οι τιμές των δεικτών για τη συνολική ζωοπλαγκτική κοινωνία εμφάνισαν σημαντική συσχέτιση ($p < 0.05$) με την οικολογική κατάσταση των λιμνών που εξετάστηκαν.

TAXONOMIC DISTINCTNESS PATTERNS OF THE ZOOPLANKTON COMMUNITIES IN GREEK LAKES

Stamou Georgia, Mazaris Antonios, Michaloudi Evangelia

*1/Department of Zoology, 2/Department of Ecology, Aristotle University of Thessaloniki, */
tholi@bio.auth.gr*

The biodiversity indices of taxonomic distinctness measure the phylogenetic relatedness among species and are independent of the sampling effort. Furthermore, they can be used on presence/absence data making the comparison with historical data possible. In the present study we applied the indices $\Delta+$ Average Taxonomic Distinctness and $\Lambda+$ Variance in Taxonomic Distinctness to presence/absence data of zooplankton species from 18 Greek lakes. Data were assembled from studies conducted during different years from 1987 up to date. In addition based on the global list of zooplankton species that have been recorded in Greece we applied the randomization test in order to compare the zooplankton diversity of the lakes studied and evaluate their departure from the expected values depicted in the 95% confidence funnels. The indices were applied to the whole zooplankton community as well as the communities of rotifers and crustaceans (cladocera and copepods) separately. We found that the values of the indices were affected by depth, salinity as well as the ecological water quality of the lakes. In specific, for the whole zooplankton community 80% of the lakes placed outside the limits of the confidence funnels were shallow lakes (maximum depth 1-11 m), and the indices showed significant correlation ($p < 0.05$) with depth. For the rotifers community the lakes placed outside the limits of the confidence funnels were characterized by increased salinity and water level fluctuations, while the indices were significantly correlated ($p < 0.05$) with salinity categories. Finally for the crustacean community lakes Chimaditida and Zazari that were placed outside the limits of the confidence funnels are characterized by bad water quality, while the the indices for the whole zooplankton community were as well significantly correlated ($p < 0.05$) with the ecological water quality of the lakes examined.

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΒΕΝΘΙΚΗΣ ΜΑΚΡΟΠΑΝΙΔΑΣ ΤΟΥ ΚΟΛΠΟΥ ΗΓΟΥΜΕΝΙΤΣΑΣ

Σταμούλη Αικατερίνη, Νικολαΐδου Άρτεμις

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας

Οι ζωοβενθικοί οργανισμοί χρησιμοποιούνται ευρέως ως δείκτες παρακολούθησης της οικολογικής κατάστασης των οικοσυστημάτων, κυρίως λόγω της σχετικής σταθερότητας που εμφανίζουν. Ο κόλπος Ηγουμενίτσας, τα τελευταία χρόνια δέχεται πιέσεις, τόσο από τις δραστηριότητες της ναυσιπλοΐας αλλά και από την κατασκευή και λειτουργία μονάδας βιολογικού καθαρισμού στην είσοδο του. Στα πλαίσια προγράμματος εκτίμησης της οικολογικής κατάστασης του κόλπου, πραγματοποιήθηκε εποχική μελέτη της βενθικής μακροπανίδας σε ένα δίκτυο τεσσάρων σταθμών, από το Φεβρουάριο ως το Σεπτέμβριο του 2013. Σε κάθε σταθμό πραγματοποιήθηκε συλλογή δείγματος ιζήματος 0,05 m² με χρήση αρπάγης τύπου Ponar και συλλέχθηκαν όλοι οι ζωικοί οργανισμοί μεγέθους μεγαλύτερου του 1 mm. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα αναλυτικά αποτελέσματα της χειμερινής δειγματοληψίας, καθώς και οι εποχικές μεταβολές που παρατηρήθηκαν στις οικογένειες των Πολυχαίτων. Οι σταθμοί το χειμώνα παρουσίασαν διαφορές ως προς τη σύνθεση της πανίδας τους με επικράτηση των Μαλακίων στο Παλιό Λιμάνι, με ποσοστό 50%, των Καρκινοειδών στο Νέο Λιμάνι, με ποσοστό 47% και των Πολυχαίτων στους σταθμούς της Προστατευμένης περιοχής και του Βιολογικού καθαρισμού με ποσοστά 48% και 75% αντίστοιχα. Πολυπαραγοντικές αναλύσεις έδειξαν ότι οι σταθμοί ανά δύο – εσωτερικοί και εξωτερικοί- παρουσιάζουν ομοιότητα (δείκτης Bray- Curtis) περίπου 50% όσον αφορά την αφθονία των ειδών. Η ίδια χωρική ομαδοποίηση υποδηλώνεται και από τα δεδομένα αφθονίας των ατόμων των οικογενειών των Πολυχαίτων. Εποχιακά δε φαίνεται να ακολουθείται κάποιο συγκεκριμένο πρότυπο, με εξαίρεση την Άνοιξη που εμφανίζεται να διαφοροποιείται από τις υπόλοιπες εποχές στους τρεις από τους τέσσερις σταθμούς

PRELIMINARY STUDY OF THE BENTHIC MACROFAUNA OF IGOUMENITSA GULF

Stamouli Aikaterini, Nicolaidou Artemis

University of Athens, School of Biology, Department of Zoology and Marine Biology

The zoobenthic organisms are widely used as indicators for monitoring the ecological status of ecosystems, mainly due to their relative stability. Igoumenitsa Gulf in recent years is under pressure from both, shipping activities and construction of a biological waste-water treatment plant on its entrance. Within the program of assessment of the ecological status of the gulf, a seasonal study of the benthic macrofauna was undertaken in four stations from February to September 2013. At each station, 0,05 m² of sediment were collected using a Ponar grab sampler, and all the organisms, sized over 1 mm were collected. This paper presents the detailed results of the Winter sampling and the seasonal changes observed in the Polychaete families. The stations in winter showed differences in the composition of the fauna: in the Old Port the dominance group were the Mollusca forming the 50% of the population, in the New Port the Crustacea dominated accounting for 47% of the individuals and in the Protected and the Biological treatment plant the dominance group were the Polychaetes forming the 48% and 75% respectively. Multivariate analyses showed that the two outer and the two inner stations are similar (Brays Curtis index) at the 50% level in terms of species abundance. The same spatial similarity also applies to the abundance data of the of Polychaete families. There were no seasonal differences in the gulf, with only Spring differing from the rest of the seasons in three of the four stations.

ΑΝΑΦΟΡΑ ΣΤΗ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ERRANTIA POLYCHAETA ΤΗΣ ΦΑΣΗΣ ΤΟΥ *Cystoseira barbata* ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

Σταυρακίδης Ζάχου Ορέστης, Χιντήρογλου Σαρλ Χαρίτων

*Εργαστήριο Θαλάσσιας Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη*

Το αρχείο της πολυχαιτοπανίδας στις φάσεις της ευρύτερης βιοκοινότητας των Μαλακών Φωτόφιλων Φυκών στο Αιγαίο είναι ελλιπές. Ειδικότερα για τη φάση του *Cystoseira barbata* οι σχετικές πληροφορίες είναι ιδιαίτερα περιορισμένες, ενώ η μελέτη της κρίνεται ως επιτακτική καθώς οι πληθυσμοί του φαιοφύκους αυτού βρίσκονται σε διαρκή συρρίκνωση. Στην παρούσα εργασία ελέγχεται η υπόθεση χρήσης των ανώτερων ταξινομικών ομάδων όπως του γένους και της οικογένειας, ως υποκαταστατών για την εκτίμηση της βιοποικιλότητας μιας ευρύτερης περιοχής όπου αναπτύσσεται η φάση του *C. barbata* και μάλιστα σε αδιατάραχτη κατάσταση. Επιλέχθηκαν τρεις σταθμοί δειγματοληψίας σε μικρό όρμο της δυτικής ακτογραμμής του Κόλπου της Καβάλας με κριτήριο τις ελάχιστες ανθρωπογενείς πιέσεις προκειμένου να διαμορφωθεί αρχείο ενός σταθμού αναφοράς υψηλής ποιότητας. Η δειγματοληψία πεδίου πραγματοποιήθηκε τον Οκτώβριο του 2012 με αυτόνομη κατάδυση και χρήση πρότυπου δειγματολήπτη (400cm²). Συνολικά συλλέχθηκαν 3.933 άτομα που ταξινομήθηκαν σε 33 είδη που κατανέμονται σε 24 γένη και 8 οικογένειες. Από αυτά, τα 17 καταγράφονται για πρώτη φορά στην ευρύτερη περιοχή του Κόλπου της Καβάλας και μάλιστα η παρουσία τριών εξ αυτών (*Neanthes fucata*, *Syllides longocirrata* και *Sphaerodoridium claparedii*) πιστοποιείται για πρώτη φορά στο Βόρειο Αιγαίο. Η διερεύνηση της υπόθεσης των υποκαταστατών ανέδειξε ότι το ταξινομικό επίπεδο του γένους επαρκεί για την εκτίμηση της συνολικής βιοποικιλότητας της κοινότητας με σκοπό τη βιοπαρακολούθηση της ποιότητας των παράκτιων βιοκοινοτήτων της περιοχής, γεγονός που στηρίζεται από την ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ αριθμού ειδών και αριθμού γενών ($p=0,0001$, $R^2= 0,97$). Από την άλλη μεριά οι σχέσεις του αριθμού γενών-οικογενειών και ειδών-οικογενειών αποδείχθηκαν στατιστικά μη σημαντικές παρά την παρατηρούμενη ασθενή θετική συσχέτιση ($p=0,051$ και $p=0,09$ αντίστοιχα). Προτείνεται η παρούσα έρευνα να επεκταθεί και για τους Εδραίους πολύχαιτους.

REFERENCE TO THE BIODIVERSITY OF ERRANTIA POLYCHAETA OF *Cystoseira barbata* PHASE IN NORTH AEGEAN SEA

Stavrakidis Zachou Orestis, Chintiroglou Charls Chariton

Laboratory of Marine Biology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

The polychaete fauna record of study of Photophilic Soft Algae assemblages in North Aegean is fragmental. Particularly for the phase of *Cystoseira barbata*, studies are limited whereas the receding trend of its populations rear the necessity of further research. The present research examines the use of higher-taxa richness, such as genus or family, as surrogates for species richness in undisturbed areas where phases of *C. barbata* occur. Three sampling stations were set along the western coastline of Kavala Gulf in an area with minimum anthropogenic impact to ensure the use of data as high quality reference points. Samples were collected in October 2012 by scuba diving using a quadrat sampler (400cm²). Overall, 3933 individuals were collected and identified to 33 species of 24 genera which were classified to 8 families. Seventeen species were reported for the first time as elements of Kavala Gulf biota and three of them (*Neanthes fucata*, *Syllides longocirrata*, and *Sphaerodoridium claparedii*) were recorded for the first time in Northern Aegean Sea. Investigation on the use of higher-taxa richness as surrogates for species richness showed that genus, is a suitable surrogate for assessing biodiversity and therefore can be used as a tool in bio-monitoring studies since a strong positive correlation was indicated between the number of species and the number of genera ($p=0.0001$, $R^2= 0.97$). However, correlations between species-families and genera-families richness were not statistically important ($p=0.051$ και $p=0.09$ respectively) despite the weak positive correlation that was observed. It is suggested that the research be extended to Sedentaria polychetes as well.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΛΙΕΙΑ ΚΑΙ ΙΧΘΥΑΠΟΘΕΜΑΤΑ

Στεργίου Κωνσταντίνος Ι.

*Ινστιτούτο θαλάσσιων Βιολογικών Πόρων και Εσωτερικών Υδάτων, Ελληνικό Κέντρο
Θαλασσιών Ερευνών, Αναβύσσοι, Αττική Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ*

Τις τελευταίες δεκαετίες η αλιευτική δραστηριότητα επεκτείνεται οριζόντια και κατά βάθος, εντατικοποιείται και παγκοσμιοποιείται με σημαντικές επιπτώσεις σε όλα τα επίπεδα της οργάνωσης της θαλάσσιας ζωής. Οι επιπτώσεις αυτές είναι φανερές και στις ελληνικές θάλασσες: η ελληνική αλιεία έχει εισέλθει στη φάση της συρρίκνωσης και η συνολική βιομάζα που αφαιρούμε από τις θάλασσές μας (επαγγελματική αλιεία με τράτες και γρι-γρί, παράκτια αλιεία, ερασιτεχνική αλιεία, αλιεία επιβίωσης, απορριπτόμενα αλιεύματα) είναι σήμερα περίπου το μισό αυτής το 1994. Επιπλέον, το 65% των ελληνικών αποθεμάτων είναι υπεραλιευμένα ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι το μέγιστο μέγεθος διαφόρων ειδών έχει μειωθεί, γεγονός που επίσης ισχύει και για το μέσο τροφικό επίπεδο της αλιευτικής παραγωγής των υψηλού τροφικού επιπέδου ψαριών την περίοδο 1950-2005. Ταυτόχρονα, η μέση θερμοκρασία του αλιεύματος στις ελληνικές θάλασσες αυξήθηκε, γεγονός που δηλώνει ότι έχει αλλάξει η αναλογία θερμόφιλων προς ψυχρόφιλα είδη προς όφελος των θερμόφιλων ειδών. Για την ανάκαμψη των αλιευτικών αποθεμάτων και των οικοσυστημάτων που τα υποστηρίζουν απαιτούνται μια σειρά από δράσεις και μέτρα σε τεχνικό, πολιτικό και ατομικό/κοινωνικό επίπεδο, οι οποίες και συζητούνται στην παρουσίαση αυτή.

FISHERIES RESOURCES AND EXPLOITATION IN GREEK WATERS

Stergiou Konstantinos I

*Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters, Hellenic Centre for Marine Research,
46.7 km Athens - Sounio Avenue, PO Box 712, 190 13 Anavyssos Attiki Laboratory of Ichthyology,
Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24 Thessaloniki*

Fishing activities during the last decades have expanded, both horizontally and vertically, intensified and globalised with important effects on marine ecosystems. The effects of fishing on marine fisheries resources and ecosystems in the Greek Seas are eminent: the Greek fisheries are nowadays at the collapse phase and the total biomass (i.e. from industrial, coastal, recreational and subsistence fisheries as well as discards) removed from the Greek Seas is almost half of that in 1994. In addition, about 65% of the Greek fisheries stocks are overfished, the maximum size of various species has declined and the mean weighted trophic level of the landings of high trophic level fishes has declined during the last 50 years. In addition, the mean temperature of the catch has increased in recent years, a fact indicating that the proportion of thermophile species has increased. The various technical, political and social measures required for the recovery of Greek fisheries stocks and rebuilding of marine ecosystems are discussed.

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΟΞΕΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ- ΖΕΟΛΙΘΟΥ ΣΕ ΜΥΔΙΑ *Mytilus galloprovincialis*

Ταζέ Χρύσα, Καλογιάννης Σταύρος, Γάλλιος Γεώργιος, Καλογιάννη Μάρθα
*1Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσ/νίκη 541 24 2Εργαστήριο Γενικής και Ανόργανης
Χημικής Τεχνολογίας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσ/
νίκη 541 24 3Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Διατροφής και Διαιτολογίας, Σχολή
Τεχνολογίας τροφίμων και Διατροφής, Αλεξάνδρειο ΤΕΙ Θεσσαλονίκης*

Τα τελευταία χρόνια, τα νανοςωματίδια χρησιμοποιούνται τόσο στην βιομηχανική παραγωγή όσο και στην ιατρική, και έχουν ανιχνευτεί ακόμα και σε προϊόντα καθημερινής χρήσης. Τα πλεονεκτήματα των υλικών αυτής της νανοκλίμακας μεγέθους είναι πολλά, ωστόσο οι επιδράσεις των νανοςωματιδίων τόσο στο περιβάλλον όσο και στους οργανισμούς εγείρουν κινδύνους οι οποίοι χρήζουν διερεύνησης. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός των επιπέδων τοξικότητας που επάγουν τα νανοςωματίδια οξειδίων του σιδήρου- ζεόλιθου στα αιμοκύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*. Συγκεκριμένα, τα μύδια εκτέθηκαν για 1,3 και 7 ημέρες σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νανοςωματιδίων και προσδιορίστηκαν παράμετροι ενδεικτικοί του οξειδωτικού στρες. Στα απομονωμένα αιμοκύτταρα εκτιμήθηκαν ο αριθμός συμπλεγμάτων ουβικουιλίνης, η υπεροξειδωση των μεμβρανικών λιπιδίων μέσω προσδιορισμού των επιπέδων της μαλονδιαλδεύδης καθώς και ο βαθμός βλάβης του γενετικού υλικού με την μέθοδο Comet assay. Προκαταρκτικά αποτελέσματα έδειξαν ότι και οι δύο συγκεντρώσεις νανοςωματιδίων (50mg/L και 100mg/L) προκάλεσαν αύξηση όλων των παραμέτρων, με την υψηλότερη απόκριση να παρατηρείται την έβδομη ημέρα. Επιπλέον, εκτιμήθηκε η προοξειδωτική - αντιοξειδωτική ισορροπία σε αιμοκύτταρα μυδιών που είχαν εκτεθεί στα ίδια νανοςωματίδια. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντικές μεταβολές σε σχέση με τα μύδια ελέγχου. Συμπερασματικά, οι σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις νανοςωματιδίων που χρησιμοποιήθηκαν προκάλεσαν αύξηση σε όλες τις παραμέτρους που μελετήσαμε, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα νανοςωματίδια προκάλεσαν οξειδωτικό στρες στα αιμοκύτταρα μυδιού.

IRON OXIDES-ZEOLITE NANOPARTICLES TOXICITY IN MUSSELS *Mytilus galloprovincialis*

Taze Chrysa¹, Kalogiannis Stavros³, Gallios George², Kaloyianni Martha¹

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 3 Laboratory of Biochemistry, Department of Nutrition and Dietetics, Alexander Technological Educational Institution of Thessaloniki

Recently, nanoparticles are used in industry and medicine and have even been detected in products which are daily used. The advantages of the materials belonging in this size nanoscale are plenty, however, it is required further investigation for the effects of the nanoparticles on the environment as well as on the organisms. Thence, the aim of the present study was to determine the toxicity that the iron oxide-zeolite nanoparticles induce on *Mytilus galloprovincialis* hemocytes. In particular, the mussels were exposed to different concentrations of the nanoparticles for 1, 3 and 7 days and indicative parameters of oxidative stress were determined. Isolated hemocytes were used in order to estimate the ubiquitin units, the degree of lipid peroxidation by estimating malondialdehyde content, and the evaluation of DNA damage by the comet assay. Preliminary results showed that both of concentrations of the nanoparticles used (50mg/L and 100mg/L) induced an increase of all the parameters that we studied in relation to control animals and the highest response was observed at the seventh day. Moreover, evaluation of prooxidant-antioxidant balance in hemocytes of mussels exposed to nanoparticles was conducted. The results showed significant changes in exposed mussels compared to control mussels. To conclude, the relatively low concentrations of nanoparticles used caused oxidative stress on the mussels hemocytes.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΑΤΟΜΩΝ ZEBRAFISH ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΕΚΤΕΘΕΙ ΣΕ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΝΗ-LR

**Τζίμα Ελένη¹, Σερίφη Ηλιάνα¹, Σουψανά Κατερίνα¹, Λεονάρδος Ιωάννης², Πολίτου
Αναστασία^{1,3}, Παπαμαρκάκη Θωμάς^{1,3}**

1/Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα -

2/Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,

*Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα - 3/Τμήμα Βιοϊατρικών Ερευνών, Ινστιτούτο
Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (IMBB), Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας
(ITE), Ιωάννινα*

Οι μικροκυστίνες είναι κυκλικά επταπεπτίδια που ανήκουν σε οικογένεια τοξινών προερχόμενη από τα κυανοβακτήρια. Υπάρχουν περισσότερα από 80 παράγωγα μικροκυστινών από τα οποία η μικροκυστίνη-LR (MC-LR) είναι το πιο τοξικό παράγωγο. Η MC-LR είναι ένας ισχυρός αναστολέας της πρωτεϊνικής φωσφατάσης PP2A και επάγει ηπατοτοξικότητα αυξάνοντας το οξειδωτικό στρες και την απόπτωση¹. Ο μηχανισμός δράσης της μικροκυστίνης-LR δεν έχει διερευνηθεί πλήρως, αλλά υπάρχουν δεδομένα τα οποία συσχετίζουν τη λειτουργία της με αυτήν του ενδογενή αναστολέα της PP2A, την ογκοπρωτεΐνη SET/I2PP2A2. Ο στόχος της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη της επίδρασης της MC-LR κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και νευρογένεση στον οργανισμό-μοντέλο zebrafish. Η ανάλυση του προτύπου γονιδιακής έκφρασης εμβρύων zebrafish τα οποία εκτέθηκαν σε καθαρή MC-LR (0-500 µg/L) έγινε με μικροσυστοιχίες DNA και στη συνέχεια χαρακτηρίστηκαν τα βιοχημικά μονοπάτια που επηρεάζονται από τη μικροκυστίνη. Σύμφωνα με τα δεδομένα μας, η MC-LR επηρέασε γονίδια που εμπλέκονται στον μηχανισμό της όρασης και σύνθεσης των χρωστικών μορίων. Επίσης, προσδιορίστηκαν αλλαγές στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ηπατική λειτουργία. Τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων αυτών αξιολογήθηκαν περαιτέρω με ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου (real-time Q-PCR). Επιπλέον, βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα του mRNA της τουμπουλίνης α1, μιας πρωτεΐνης που εντοπίζεται στους μικροσωληνίσκους των νευρικών κυττάρων. Συνολικά, τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η μικροκυστίνη-LR επηρεάζει το αισθητήριο σύστημα και γενικότερα τη νευρογένεση κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη στο zebrafish. Βιβλιογραφία 1 Campos, A. and Vasconelos, V. (2010) Int.J.Mol.Sci, 11, 268-287 2 Li et al (1996) J. Biol. Chem., 271, 11059–11062

GENE EXPRESSION PROFILE OF ZEBRAFISH LARVAE EXPOSED TO MICROCYSTIN-LR

**Tzima Eleni¹, Serifi Iliana¹, Soupsana Katerina¹, Leonardos Ioannis², Politou Anastasia^{1,3},
Papamarcaki Thomais^{1,3}**

1/Laboratory of Biological Chemistry, Medical School, University of Ioannina, Ioannina, Greece -

*2/Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technologies, University of
Ioannina, Ioannina, Greece - 3/Division of Biomedical Research, Foundation for Research and*

Technology-Hellas, Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Ioannina, Greece

Microcystins are cyclic heptapeptides that constitute a family of cyanobacterial toxins with more than 80 variants. Microcystin-LR (MC-LR) is the most toxic form which inhibits protein phosphatase PP2A and triggers oxidative stress and apoptosis¹. Although the mechanism of action of MC-LR is still unclear, experimental evidence relates MC-LR function with that of SET/I2PP2A, an endogenous inhibitor of PP2A. The aim of our study is to investigate the effects of MC-LR in early embryogenesis and neurogenesis using zebrafish as a model-organism. A global gene expression approach was used to identify the biochemical pathways affected by MC-LR on zebrafish larvae. We exposed zebrafish larvae to purified MC-LR (0-500 µg/L) for 4 days and evaluated changes in gene expression using DNA microarray analysis. Gene expression data identified effects in the retinal visual cycle and pigmentation synthesis pathways that have not been previously associated with this toxin. Liver-related genes were also among the differentially expressed genes. The gene expression results were confirmed by quantitative real-time PCR. Moreover, α 1 tubulin, a neuron-specific microtubule protein whose expression is induced in the developing and regenerating central nervous system (CNS), showed increased mRNA levels in zebrafish larvae treated with MC-LR. Taken together, our results indicate that microcystin-LR affects the sensory system and generally has a neural effect in early zebrafish embryogenesis.

Η ΝΕΥΡΟΠΛΑΣΤΙΝΗ ΩΣ ΥΠΟΨΗΦΙΟΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

**Τιπιρή-Κουρπέτη Αγγελική¹, Αβδίκος Νικόλαος¹, Καραμανίδης Δημήτριος²,
Υψηλάντης Πέτρος³, Σιμόπουλος Κωνσταντίνος³, Χλίχλια Κατερίνα¹**

*1Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη, 2Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
Αλεξανδρούπολης, Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη, και 3Εργαστήριο Πειραματικής
Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερευνας, Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο
Θράκης, Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη*

Η μελέτη του καρκίνου του μαστού έχει αποκαλύψει ισχυρά καρκινικά αντιγόνα για την πρόγνωση και τη θεραπεία του. Η νευροπλαστίνη (NPTN) ταυτοποιήθηκε πρόσφατα σε πρωτεομική ανάλυση ογκοπρωτεϊνών ως νέο ογκο-σχετιζόμενο αντιγόνο. Είναι διαμεμβρανική πρωτεΐνη και ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών των προσκολλητικών μορίων που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετάσταση και τη διαφοροποίηση του νευρικού συστήματος. Η νευροπλαστίνη φυσιολογικά εκφράζεται στους εμβρυϊκούς ιστούς, ενώ στους ενήλικες εντοπίζεται κυρίως στον εγκέφαλο. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη εμφανίζει μεγάλη ομολογία με το CD147 μόριο που υπερεκφράζεται σε όγκους και κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού και διεγείρει την αγγειογένεση. Σκοπός της μελέτης ήταν να εξετάσουμε την έκφραση της νευροπλαστίνης σε όγκους και κυτταρικές σειρές αδеноκαρκινώματος του μαστού και να διερευνήσουμε την επίδραση της υπερέκφρασής της σε γονίδια που εμπλέκονται στο σηματοδοτικό μονοπάτι της αγγειογένεσης/μετάστασης. Τα DA3 και MCF7 καρκινικά κύτταρα μαστού διαμολύνθηκαν με φορέα έκφρασης που κωδικοποιεί τη νευροπλαστίνη. Η υπερέκφραση της νευροπλαστίνης οδήγησε σε τροποποίηση του προφίλ έκφρασης μιας σειράς γονιδίων, μεταξύ των οποίων ήταν η MMP9, ο VEGF και ο HIF-1a. Στους όγκους που σχηματίστηκαν μετά την υποδόρια έγχυση DA3 κυττάρων σε ανοσοποιημένους ή μη (μάρτυρες) μύες δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση των υπό εξέταση γονιδίων. Σημαντική όμως αύξηση στα επίπεδα έκφρασης της νευροπλαστίνης παρατηρήθηκε σε κακοήγη ανθρώπινα δείγματα καρκίνου του μαστού συγκριτικά με τα αντίστοιχα καλοήγη. Αξιοσημείωτο είναι ότι η υπερέκφραση της νευροπλαστίνης στους κακοήγη ανθρώπινους όγκους συνοδευόταν με αύξηση των επιπέδων έκφρασης των γονιδίων VEGF και HIF-1a, που σχετίζονται άμεσα με την αγγειογένεση και τη μετάσταση. Συμπερασματικά, η νευροπλαστίνη προτείνεται ως ένας νέος υποψήφιος καρκινικός δείκτης για το αδеноκαρκίνωμα του μαστού, και η υπερέκφρασή της φαίνεται να αποτελεί ένδειξη υψηλού μεταστατικού δυναμικού και κακής πρόγνωσης.

NEUROPLASTIN AS A CANDIDATE PROGNOSTIC BIOMARKER IN BREAST CANCER

**Tiptiri-Kourpeti Angeliki¹, Avdikos Nikolaos¹, Karamanidis Dimitrios², Ypsilantis Petros³,
Simopoulos Constantinos³, Chlichlia Katerina¹**

*1Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University
Campus-Dragana, Alexandroupolis, 2University General Hospital Alexandroupolis, Dragana,
Alexandroupolis 3Laboratory of Experimental Surgery and Surgical Research, Department of
Medicine, Democritus University of Thrace, University Campus-Dragana, Alexandroupolis*

The study of breast cancer has revealed strong tumor antigens for prognosis and therapy. Neuroplastin (NPTN) has recently been identified by proteomic analysis as a new tumor-associated antigen. It is a transmembrane protein belonging to the immunoglobulin superfamily of adhesion molecules involved in cell proliferation, metastasis and differentiation of the nervous system. Neuroplastin is normally expressed in fetal tissues, while in adults is mainly localized in the brain. The protein shows high homology to the CD147 molecule which is overexpressed in tumors and cell lines of breast cancer, and induces angiogenesis. In the present study we examined the expression of neuroplastin in tumors and cell lines of breast adenocarcinoma in order to investigate correlation of its overexpression with genes involved in the signaling pathway of angiogenesis/metastasis. DA3 and MCF7 breast cancer cells were transfected with an expression vector encoding neuroplastin. NPTN overexpression resulted in the modulation of the expression profiles of a series of genes, including MMP9, VEGF and HIF-1 α . No significant differences in the expression patterns were observed among transplanted tumors from immunized versus non-immunized mice. Significant increase in expression level of neuroplastin was observed in malignant human breast cancer samples compared to benign tumor samples. Noteworthy, overexpression of NPTN in malignant human samples was accompanied by an increased expression level of VEGF and HIF-1 α , genes highly associated with angiogenesis and metastasis. In conclusion, neuroplastin is proposed as a new tumor-associated candidate in breast adenocarcinoma, and its overexpression is linked to high metastatic potential and poor prognosis.

**ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ *Oreganum vulgare* ssp. *hirtum* ΚΑΙ ΚΥΡΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ:
ΑΝΤΙ-ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΑΡΚΙΝΟΥ
ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Τιπιρή-Κουρπέτη Αγγελική¹, Τομπουλίδου Ευγενία¹, Σπυριδοπούλου Κατερίνα¹,
Βασιλειάδης Σταύρος¹, Τσιμογιάννης Δημήτρης², Ωραιοπούλου Βασιλική², Γαλάνης
Αλέξης¹, Παππά Αγλαΐα¹, Χλίχλια Κατερίνα¹**

*1/Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Πανεπιστημιούπολη-Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη - 2/Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Εθνικό
Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, Αθήνα*

Η ελληνική ρίγανη *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* παρουσιάζει αποδεδειγμένα αντιβακτηριακή και αντιοξειδωτική δράση, ωστόσο οι αντικαρκινικές της ιδιότητες δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς. Βασικά συστατικά του αιθέριου ελαίου της ρίγανης είναι τα πτητικά έλαια θυμόλη και καρβακρόλη. Στην παρούσα μελέτη, αφού διαπιστώθηκε η *in vitro* αντιπολλαπλασιαστική δράση έναντι καρκινικού κυτταρικού πληθυσμού, του αιθέριου ελαίου του φυτού *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* και των βασικών συστατικών του, εξετάστηκε η αντι-νεοπλασματική τους ενεργότητα *in vivo*. Προκειμένου να μελετηθεί η χημειοπροφυλακτική τους δράση, μύες BALB/c λάμβαναν καθημερινά *per os* έλαιο, καρβακρόλη ή θυμόλη σε προσδιορισμένα δοσολογικά σχήματα. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε υποδόρια χορήγηση συνγονικών καρκινικών κυττάρων παχέος εντέρου και δέκα μέρες αργότερα παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους του όγκου στους μύες που χορηγήθηκαν οι υπό μελέτη ουσίες σε σχέση με τους μάρτυρες. Επιπρόσθετα, ο μοριακός μηχανισμός δράσης των παραπάνω ουσιών μελετήθηκε *in vitro* σε καρκινική σειρά παχέος εντέρου μέσω συγκριτικής ανάλυσης των επιπέδων mRNA για τα γονίδια COX-2, NF-κΒ, INOS, HIF-1α και VEGF. Η μεταγραφή των επιλεγμένων σχετιζόμενων με τον καρκίνο γονιδίων μειώθηκε σημαντικά 48 ώρες μετά την επίδραση του αιθέριου ελαίου αλλά και των συστατικών του, υποστηρίζοντας ένα μοντέλο αναστολής της καρκινικής ανάπτυξης. Μεταγενέστερο στόχο αποτελεί η περαιτέρω διερεύνηση της χημειοπροστατευτικής και ανοσορυθμιστικής δράσης αλλά και των κυτταρικών γεγονότων και σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στο μηχανισμό δράσης τους. Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτήθηκε από την Πράξη «Διμερής Ε&Τ Συνεργασία Ελλάδας-Κίνας 2013-2015» (Κωδ. έργου: 12CHN409)

ESSENTIAL OIL *Oreganum vulgare* ssp. *hirtum* AND MAJOR CONSTITUENTS: ANTI-NEOPLASTIC ACTIVITIES AGAINST AN EXPERIMENTAL MODEL OF COLON CANCER

Tiptiri-Kourpeti Angeliki¹, Tompoulidou Evgenia¹, Spyridopoulou Katerina¹, Vasileiadis Stavros¹, Tsimogiannis Dimitris², Oreopoulou Vassiliki², Galanis Alexis, Pappa Aglaia¹, Chlichlia Katerina

1/Department Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University Campus-Dragana, Alexandroupolis, Greece - 2/School of Chemical Engineering, National Technical University of Athens, Zografou Campus, Athens

The Greek oregano *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* has proven antibacterial and antioxidant action, but its anticancer properties have not yet been studied extensively. Key components of the essential oil of oregano are the volatile substances Thymol and Carvacrol. In the present study, an in vitro growth-inhibitory effect against a tumour cell line of the essential oil of the plant *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* as well as of two of its constituents, carvacrol and thymol, was confirmed. Moreover, the above substances were examined in vivo for their chemopreventive activity. BALB/c mice received daily per os oil, carvacrol or thymol in defined and acceptable prophylactic regimens. In order to develop tumors in vivo, syngeneic colon cancer cells were administered subcutaneously in mice. Noteworthy, after ten days tumor volume was decreased in mice that had been receiving the above substances as compared to control mice. The molecular basis was studied in vitro in colon cancer cells by comparative analysis of the mRNA levels of COX-2, NF-kB, INOS, HIF-1a and VEGF. Transcriptional activity of the cancer-related genes decreased significantly 48 hours following administration of oregano oil, thymol or carvacrol, indicating key cellular targets involved in tumour growth inhibition. Further studies are required to investigate the chemopreventive and immunoregulatory effect of these substances as well as the cellular events and signaling pathways involved in their mechanism of action. The present study was supported by a “Greece-China Bilateral R&D Cooperation 2013-2015” grant (Project 12CHN409).

Η ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ Zmpt1c ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ

**Τοκαμάνη Μαρία¹, Καραπέτσας Αθανάσιος¹, Σιναπίδου Ευαγγελία², Δόρδας Χρήστος³,
Παπαθανασίου Φωκίων⁴, Τοκατλίδης Ιωάννης², Σανδαλτζόπουλος Ραφαήλ¹**
**ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ, ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

1 Dep. of Molecular Biology and Genetics, Democritus Un. of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece 2 Dep. of Agricultural Development, Democritus University of Thrace, 68200 Orestiada, Greece 3 Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece 4 Technological and Educational Institute of Western Macedonia, 53100 Florina, Greece

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ταυτοποίηση γονιδίων των οποίων η έκφραση σχετίζεται με βελτιωμένη προσαρμοστικότητα του αραβοσίτου σε συνθήκες μειωμένης άρδευσης. Σε μια πειραματική καλλιέργεια 25 καθαρών σειρών, με εμπορικό ενδιαφέρον, και 6 πειραματικών, που δημιουργήθηκαν σύμφωνα με την υπόθεση καλλιέργειας χαμηλής πυκνότητας, επιλέχθηκαν τα 5 βέλτιστα και τα 5 κατώτερα φυτά σύμφωνα με την απόδοσή τους σε γραμμάρια καρπού σε συνθήκες ξηρασίας. Στη συνέχεια, εστιάζοντας στις δύο ομάδες αραβοσίτου, διερευνήσαμε τα επίπεδα έκφρασης ενός φάσματος γονιδίων, που ενδεχομένως επάγονται σε συνθήκες ξηρασίας, με ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου, σύμφωνα με την μέθοδο ΔΔCt. Η πιο ενδιαφέρουσα παρατήρηση ήταν τα επίπεδα έκφρασης μιας υποθετικής κινάσης σερίνης / θρεονίνης / τυροσίνης που επάγεται από την παρουσία άλατος (ZmPti1c). Χωρίς καμία εξαίρεση , σε όλες τις βέλτιστες σειρές, τα επίπεδα mRNA της ZmPti1c ήταν αυξημένα σε μειωμένες συνθήκες άρδευσης σε σχέση με τις κανονικές συνθήκες. Έτσι, τα δεδομένα μας έδειξαν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της ZmPti1c με την υψηλή προσαρμοστικότητα του αραβοσίτου στην ξηρασία. Η ZmPti1c είναι μια κινάση με πολλαπλούς ρόλους στις αποκρίσεις των φυτών σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις και φωσφορυλιώνεται in vitro από τη κινάση Pto. Έχει αναφερθεί ότι η Pto στη ντομάτα σχετίζεται με αποκρίσεις σε ασθένειες και επάγεται από αβιοτικούς παράγοντες. Ως εκ τούτου, η ανάλυση μας επεκτάθηκε για να καλύψει το προφίλ της γονιδιακής έκφρασης του ZmPto.

Zmpti1c OVEREXPRESSION CORRELATES WITH INCREASED ADAPTABILITY OF MAIZE IN DROUGHT TOLERANCE

**Tokamani Maria¹, Karapetsas Athanasios¹, Sinapidou Evaggelia², Dordas Christos³,
Papathanasiou Fokion⁴, Tokatlidis Ioannis², Sandaltzopoulos Raphael¹**

1 Dep. of Molecular Biology and Genetics, Democritus Un. of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece 2 Dep. of Agricultural Development, Democritus University of Thrace, 68200 Orestiada, Greece 3 Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece 4 Technological and Educational Institute of Western Macedonia, 53100 Florina, Greece

The aim of this study was the identification of genes whose expression levels correlate with improved adaptability in low irrigation conditions. In a field study, 25 inbred lines of commercial interest along with 6 experimental lines built on the ultra-low density hypothesis were granted at normal and water-stressed regimes for grain yield and physiological traits known to be associated with drought tolerance. The 5 best- and the 5 worst-performing lines were selected. Then, focusing on these two groups of maize lines, we investigated the expression levels of a spectrum of genes to be induced in drought conditions by quantitative PCR according to the $\Delta\Delta C_t$ method. Interestingly, we discovered that the expression levels of the salt inducible putative serine/threonine/tyrosine kinase (ZmPti1c) displayed a markedly different behavior between the two groups of maize lines. Without any exception, in all lines with high adaptability to drought, ZmPti1c mRNA levels were elevated under poor irrigation conditions relatively to normal conditions. Thus, our data showed a strong correlation of the ability to overexpress ZmPti1c with high adaptability to drought. ZmPti1c is a kinase with multiple roles in responses to biotic and abiotic stresses and is phosphorylated in vitro by another kinase, namely Pto. It has been reported that Pto is involved in disease responses in tomato and is induced by abiotic stress factors. Hence our analysis was expanded to cover the gene expression profile of ZmPto.

ΝΕΑ ΕΙΔΗ/ΣΤΕΛΕΧΗ ΑΡΧΑΙΩΝ ΚΑΙ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΑ ΙΖΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑΣ

**Τούκα Αναστασία¹, Βαρέλη Κατερίνα^{1,2}, Ιγγλέζου Μαρία¹, Μπριασούλης Ευάγγελος^{1,3},
Φριλίγγος Στάθης⁴, Σαΐνης Ιωάννης¹**

*1/Διεπιστημονικό Εργαστήριο Μοριακής Ογκολογίας, Βιοτράπεζα Καρκίνου,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110, Ελλάδα- 2/Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και
Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110, Ελλάδα- 3/ Τμήμα Αιματολογίας,
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45500, Ελλάδα- 4/Εργαστήριο
Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110, Ελλάδα*

Η λίμνη των Ιωαννίνων Παμβώτιδα, βρίσκεται 39ο40'N, 20ο53'E στα 470μ υψόμετρο και είναι η μεγαλύτερη φυσική λίμνη της Ηπείρου. Το μέσο βάθος της είναι 4.23μ και η επιφάνειά της 22.8 χλμ². Η Παμβώτιδα θεωρείται αρχαία λίμνη καθώς υπάρχει από την Πλειο-Πλειστόκαινο εποχή. Το δικό μας ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στη μελέτη των μικροβιακών κοινοτήτων στα ιζήματα της λίμνης. Η δειγματοληψία των ιζημάτων πραγματοποιήθηκε τις τέσσερις εποχές του χρόνου σε δυο σταθμούς, 7μ και 9μ βάθους αντίστοιχα. Η ποικιλοπλοκότητα των Αρχαίων και των Βακτηρίων, αποκαλύφθηκε μετά από ηλεκτροφόρηση διαβάθμισης αποδιατακτικών παραγόντων (DGGE) συγκεκριμένων τμημάτων του 16S rDNA τόσο των Αρχαίων όσο και των Βακτηρίων. Οι ζώνες που προέκυψαν κλωνοποιήθηκαν και ακολούθησε αλληλούχισή τους. Από τα αποτελέσματα της αλληλούχησης προέκυψαν 92 διαφορετικές αλληλουχίες ειδών/στελεχών Αρχαίων. Η φυλογενετική ανάλυση υποδεικνύει πως το 98% των απαντώμενων αλληλουχιών ανήκει στα Ευρυαρχαιωτά και μόνο το 2% ανήκει στα Κρεναρχαιωτά. Επιπλέον, το 80% των Ευρυαρχαιωτών ανήκει στα Μεθανογόνα. Με βάση τα αποτελέσματα του BLAST, το 22.82% των αλληλουχιών των Αρχαίων έχουν μικρή αμοιολογία με τις ήδη κατατεθειμένες αλληλουχίες στην GenBank (<97%). Επιπλέον, μόνο το 3% των αλληλουχιών σχετίζεται με γνωστά καλλιεργούμενα είδη. Στην περίπτωση των Βακτηρίων, απομονώθηκαν 68 διαφορετικές αλληλουχίες. Το 45.58% από αυτές έχουν χαμηλή ομοιολογία με τις ήδη κατατεθειμένες αλληλουχίες στην GenBank, ενώ το 63.77% δεν μοιάζουν με γνωστά καλλιεργούμενα είδη/στελέχη. Επιπλέον, με τη χρήση Real Time PCR ποσοτικοποιήθηκε ο αριθμός των Αρχαίων και των Βακτηρίων στα ιζήματα της λίμνης. Τα αντίγραφα του 16S rDNA των Αρχαίων κυμαίνονται από 2.08X10⁸ έως 8.60X10⁸/gr ιζήματος και τα αντίστοιχα αντίγραφα των Βακτηρίων κυμαίνονται από 3.16X10⁹ έως 5.68X10⁹/gr ιζήματος. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι τα Αρχαία στη λίμνη Παμβώτιδα αποτελούν μόνο το 6,17% - 14,098% της συνολικής μικροβιακής κοινότητας.

NEW SPECIES/STRAINS OF ARCHAEA AND BACTERIA IN LAKE PAMVOTIS SEDIMENTS

**Touka Anastasia¹, Vareli Katerina^{1,2}, Igglezou Maria¹, Briasoulis Evangelos^{1,3}, Frillingos
Stathis⁴, Sainis Ioannis¹**

*1/Interscience Molecular Oncology Laboratory, Human Cancer Biobank Center, University of
Ioannina, Ioannina 45110, Greece- 2/Department of Biological Applications and Technologies,
University of Ioannina, Ioannina 45110, Greece-3/Haematology Department, University Hospital of
Ioannina, Ioannina 45500, Greece- 4/Laboratory of Biological Chemistry, School of Medicine,
University of Ioannina, , Ioannina 45110, Greece*

The Lake of Ioannina, named Pamvotis, lies approximately at 39°40'N, 20°53'E at 470 meters above sea-level and is the largest natural lake in Epirus. Its mean depth is 4.23m and has a surface area of about 22.8 km². Lake Pamvotis is an ancient lake as it has been in continual existence throughout the Plio-Pleistocene period. We were interested to study microbial communities in the lake's sediments. Surface sediments were sampled during the four seasons from two stations, 7m and 9m depth, respectively. In order to reveal Archaea and Bacteria species/strains diversity, we used Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) of 16S rDNA specific fragments. DGGE bands were excised, cloned and sequenced. Based on sequencing results, 92 different sequences of Archaea species/strains were identified. Phylogenetic analysis indicates that the 98% of these sequences belongs to Euryarchaeota and only 2% to Crenarchaeota. Furthermore, 80% of Euryarchaeota sequences correspond to Methanogens. A BLAST search revealed that 22.82% of Pamvotis Archaeal sequences have low homologies to GenBank entries (<97%). Interestingly, only 3% of Archaeal sequences found to be related with known already cultured species. Concerning Bacterial species/strains composition in our samples, a total of 68 different sequences were identified. A 45.58% of these found to have low homologies to GenBank entries while a 63.77% found not to have a cultured counterpart. We also used Real Time PCR to quantify the number of Archaea and Bacteria in lake's sediments. The archaeal 16S rDNA copy numbers ranged from 2.08X10⁸ to 8.60X10⁸/gr sediment and the bacterial 16S rDNA copies ranged from 3.16X10⁹ to 5.68X10⁹/gr sediment. Our results indicate that Archaea in Lake Pamvotis constitute only for the 6, 17% - 14,098% of the total microbial community.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΟΤΟΞΙΝΗΣ Cu(II) ΣΤΙΣ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΕΣ ΝΕΥΡΙΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΟΥ ΕΠΙΜΥΟΣ. ΕΧ VIVO ΜΕΛΕΤΗ

Τσαβέ Όλγα ^{1,2}, Σαλίφογλου Αθανάσιος ², Θεοφιλίδης Γεώργιος ¹

*1 Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 54124 2 Τμήμα Χημικών
Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Θεσσαλονίκη 54124*

Ο χαλκός αποτελεί απαραίτητο μέταλλο για κάθε αερόβιο οργανισμό. Ως ιχνοστοιχείο, είναι υπεύθυνο για τη λειτουργία πολλών κυτταρικών ενζύμων και πρωτεϊνών με πολλαπλές δράσεις, όπως η σερουλοπλασμίνη και η σουπεροξειδική δισμουτάση. Ο χαλκός μπορεί να εμφανιστεί ως Cu(I) και Cu(II) ανάλογα με τον αριθμό οξείδωσης. Επιπλέον, συμβάλλει στην παραγωγή ελεύθερων ριζών και γενικά δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) μέσω αντιδράσεων Fenton και Fenton-Weiss καθώς θεωρείται οξειδοαναγωγικά ενεργό μεταλλοϊόν. Ωστόσο, οι ίδιες χημικές ιδιότητες που προσδίδουν στο χαλκό βιολογική αξία, ενδέχεται να συσχετίζονται με τοξικότητα. Έτσι, μεταβολές στην ομοιοστασία του χαλκού στον οργανισμό μπορεί να οδηγήσει σε χημική δραστηριότητα με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση του κυτταρικού θανάτου που οφείλεται σε οξειδωτικό stress. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν α) η αξιολόγηση της επίδρασης του cis-γλυκινικού χαλκού στις περιφερικές νευρικές ίνες, και β) η ενδεχόμενη νευροπροστατευτική δράση γνωστών χηλικοποιητικών και αντιοξειδωτικών μορίων (NAC, EDTA, QA) έναντι της τοξικότητάς του (Cu(II)). Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την διερεύνηση της δράσης αυτής βασίζεται στη συσχέτιση της βιωσιμότητας με τη γένεση δυναμικών δράσης από τις διεγερμένες περιφερικές νευρικές ίνες. Προκειμένου να επιτευχθεί άμεση έκθεση των ινών στην υπό μελέτη διαλυτή μορφή Cu(II), πραγματοποιείται αφαίρεση του επινευρίου. Η λήψη των βιοηλεκτρικών σημάτων επιτυγχάνεται με τοποθέτηση του νεύρου σε κατάλληλα διαμορφωμένο χώρο τριών διαμερισμάτων πλήρως απομονωμένων μεταξύ τους (διέγερση, εμποτισμός και καταγραφή). Τα συλλογικά αποτελέσματα υποδεικνύουν α) σαφή δοσο-εξαρτώμενη τοξικότητα του χαλκού σε συγκεντρώσεις από 25 έως 500μM, η οποία οφείλεται στην επαγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, β) σαφή νευροπροστατευτική δράση του μεταλλοχηλικοποιητικού μορίου EDTA (II), γ) νευροπροστατευτική δράση της Ν-ακετυλοκυστεΐνης (NAC) η οποία εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις του Cu, και δ) καμία νευροπροστατευτική δράση του κινικού οξέος (QA).

EVALUATION OF THE EFFECT OF Cu(II) METALLOTOXIN ON THE RAT SCIATIC NERVE. AN EX VIVO STYDY

Tsave O.^{1,2}, Salifoglou A.², Theophilidis G.¹

Laboratory of Animal Physiology, Department of Biology, School of Natural Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124. 2 Department of Chemical Engineering, School of Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124.

Copper is a transient metal, essential in a variety of aerobic organisms. As a metal ion, it is closely linked with many cellular enzymes and proteins of variable function(s), including ceruloplasmin and superoxide dismutase. Copper appears in two biologically relevant oxidation states, Cu(I) and Cu(II). Copper participates in fundamental redox reactions and thus, it contributes to the production of free radicals and Reactive Oxygen Species (ROS) through Fenton and Fenton-Weiss reactivity. The very same properties, however, that render copper a quintessential metal ion might also turn it into a metallotoxin. To this end, alterations in the cellular physiological levels of copper lead to chemical reactivity disrupting its homeostasis, and concomitantly increase cell death due to oxidative stress. The purpose of the present work was a) the assessment of the effect of the soluble form of cis-copper glycinate on the isolated sciatic nerve fibers, and b) to assess the potential neuroprotective action of knownchelators and antioxidant molecules (NAC, EDTA, QA) against Cu (II) toxicity, on rat sciatic nerve. The methodology employed in this investigation was based on the sciatic nerve of the rat isolated in a three-chamber recording bath which consists of stimulation, incubation and recording chamber. As an indication of the vitality of the nerve fibers the compound action potential (CAP) was recorded every second for over 24 h. To achieve direct contact of the nerve fibers with the specific form of soluble Cu(II), the epineurium was removed. The recording bioelectric response, CAP, was effected when the part of the nerve in the incubation chamber was exposed to various concentrations of Cu(II). The collective results indicate a) a clear concentration-dependent copper toxicity between 25 to 500 μ M, linked to the emerging ROS, b) clear neuroprotective action of the metal chelator molecule EDTA, c) neuroprotective effect of N-acetylcysteine (NAC) dependent on the concentration of Cu(II), and d) no neuroprotective effect by quinic acid (QA).

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΦΥΣΙΚΟ-ΧΗΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΙΣ ΕΞΟΔΟΥΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΤΑΘΜΩΝ ΚΑΙ ΜΟΝΑΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΛΕΚΑΝΗ ΤΗΣ ΜΥΤΔΟΝΙΑΣ

**Τσακούμης Εμμανουήλ ¹, Πατσιά Αθηνά ², Βαφειάδου Ανθούλα ², Κάρτα Ευαγγελία ²,
Μπόμπορη Δήμητρα ^{1,2}**

1/Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

2/Φορέας Διαχείρισης Λιμνών Κορώνειας Βόλβης.

Στο πλαίσιο του προγράμματος παρακολούθησης της ποιότητας των επιφανειακών υδάτων της περιοχής αρμοδιότητας του Φορέα Διαχείρισης λιμνών Κορώνειας-Βόλβης, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες νερού από τις εξόδους των Βιολογικών Σταθμών και Μονάδων Επεξεργασίας Λυμάτων, που βρίσκονται εντός της προστατευόμενης περιοχής, το καλοκαίρι του 2012. Πιο αναλυτικά, πραγματοποιήθηκαν συνολικά επτά δειγματοληψίες νερού, σε εβδομαδιαία βάση, στους Σταθμούς του Λαγκαδά και της Λητής και στις Μονάδες της Ξυλούπολης, της Μαδύτου και των Λουτρών Απολλωνίας, την περίοδο Ιουλίου-Αύγουστου 2012. Σε κάθε δειγματοληψία καταγράφηκαν οι τιμές φυσικών [(θερμοκρασία (T), θολερότητα (TURB)] και χημικών παραμέτρων [pH, αγωγιμότητα (COND), διαλυμένο οξυγόνο (DO), βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD5) και ολικών διαλυμένων στερεών (TSS)]. Επίσης πραγματοποιήθηκαν μικροβιακές αναλύσεις (Ολικά και Εντερικά Κολοβακτηρίδια) σε πέντε από τις επτά δειγματοληψίες. Οι μέσες τιμές των φυσικών και χημικών παραμέτρων που παρακολουθήθηκαν υπερέβησαν κατά περίπτωση τα όρια διάθεσης λυμάτων και βιομηχανικών αποβλήτων σε επιφανειακούς αποδέκτες (ΦΕΚ 1079/Β/15-7-2010), ενώ όλες οι τιμές των μικροβιακών παραμέτρων βρέθηκαν πολλές τάξεις μεγέθους πάνω από τα όρια. Επιπρόσθετα, σε μία από τις δειγματοληψίες του Αυγούστου, κατάντη της εξόδου του βιολογικού σταθμού του Λαγκαδά, στο ρέμα του Μπογδάνα, χρησιμοποιήθηκαν και τα βενθικά μακροασπόνδυλα για την εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας. Η ποιότητα του νερού του ρέματος στη συγκεκριμένη θέση εκτιμήθηκε ως «κακή», σύμφωνα με το Ελληνικό Σύστημα Αξιολόγησης (Ε.Συ.Α), συμφωνώντας με τα αποτελέσματα των φυσικοχημικών και μικροβιακών αναλύσεων. Συμπερασματικά, κρίνεται απαραίτητη η συνέχιση της παρακολούθησης στις εξόδους των Βιολογικών Σταθμών και Μονάδων Επεξεργασίας Λυμάτων και η λήψη πρόσθετων μέτρων για τη σωστή λειτουργία τους, ώστε να μην υπάρχει πρόσθετη επιβάρυνση των επιφανειακών αποδεκτών της ήδη επιβαρυνμένης λεκάνης της Μυτδονίας.

MONITORING OF PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIAL PARAMETERS AT THE OUTPUTS OF SEWAGE TREATMENT PLANTS IN MYGDONIA AREA

**Tsakoumis Emmanouil ¹, Patsia Athina ², Vafeiadou Anthoula ², Karta Evaggelia ², Bobori
Dimitra ^{1,2}**

*1/Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki. 2/Management
Authority of Lakes Koronia-Volvi*

During the monitoring program of the surface water's quality in the protected area of the Management Authority of Lakes Koroneia-Volvi, samples were taken at the outputs of the wastewater treatment plants (WWTP), located within the concerned area, during summer of 2012. More specifically, seven samplings were realized on a weekly basis, from the WWTPs of Lagadas, Liti, Xyloupoli, Madytos and Apollonian Thermal Baths, during July-August 2012. In each sampling, physical [(temperature (T), turbidity (TURB)] and chemical [pH, conductivity (COND), dissolved oxygen (DO), biochemical oxygen demand (BOD5) and total suspended solids (TSS)] parameters were recorded. Microbial parameters (total coliforms and *Escherichia coli*) were also analyzed in five out of the seven samplings. Generally, the mean values of the physical and chemical parameters recorded were exceeded the acceptable limits proposed for the protected area (FEK 1079/B/15-7-2010). Moreover, the mean values of the microbial parameters were extremely higher, compared to the above mentioned limits. Additionally, during August, benthic macroinvertebrates were also used for assessing the ecological quality of water at the sampling station downstream of the output of Lagada's WWTP, in the Bogdanas stream. According to the Hellenic Evaluation System (HESY) used, the water quality was evaluated as «bad», and it was in agreement to the results of physico-chemical and microbial parameters. In conclusion, it is necessary the monitoring program of the WWTP's outputs to be continued in order to additional measures to be proposed and applied for improving the WWTP's function. Thus, the pollution loads of the surface waters in Mygdonia basin will be prevented.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΙΟΝΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ bmimBF₄ & omimBF₄ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ/Η ΑΚΕΤΟΝΗΣ, ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΥΔΡΟΒΙΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Τσαρπαλή Βασιλική, Νταϊλιάνης Στέφανος

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

Τα ιοντικά υγρά είναι μια νέα κατηγορία χημικών ενώσεων και χρησιμοποιούνται ευρέως σε ένα πλήθος εφαρμογών. Παρότι έχουν χαρακτηριστεί ως «πράσινοι διαλύτες», η πιθανή παρουσία τους στο περιβάλλον σε συνδυασμό με μια ευρεία γκάμα ουσιών, όπως το νερό και διάφοροι οργανικοί διαλύτες, όπως η ακετόνη, καθιστά επιτακτική την ανάγκη διερεύνησης των περιβαλλοντικών του επιπτώσεων. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της ικανότητας των ιοντικών υγρών bmimBF₄ και omimBF₄, καθώς και του μίγματός τους (bmimBF₄-omimBF₄ 1:1) να επάγουν τοξικές επιπτώσεις σε υδρόβιους οργανισμούς, όπως ο μονοκύτταρος φυτοπλαγκτονικός οργανισμός *Scenedesmus rubescens*, τα καρκινοειδή *Thamnocephalus platyurus* και *Artemia franciscana* και τα τροχόζωα *Brachionus plicatilis* και *Brachionus calyciflorus*, καθώς επίσης και η μελέτη της επίδρασης της ακετόνης στα επαγόμενα φαινόμενα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, στην περίπτωση των omimBF₄/ακετόνη και bmimBF₄-omimBF₄/ακετόνη οι τιμές LC₅₀ είναι σημαντικά υψηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές omimBF₄/νερό και bmimBF₄-omimBF₄/νερό, σε όλες τις περιπτώσεις, ενώ αντίθετα ήταν τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν στην περίπτωση bmimBF₄/νερό και bmimBF₄/ακετόνη. Τα αποτελέσματα της μελέτης αναδεικνύουν για πρώτη φορά την ικανότητα των ιοντικών υγρών να προκαλούν τοξικές επιπτώσεις στους εκτιθέμενους οργανισμούς με διαφορετικό τρόπο, ο οποίος σχετίζεται με την ανάμειξή τους με νερό ή ακετόνη, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην διαφορετική επίδραση του νερού και/ή της ακετόνης στην αλκαλική αλυσίδα των ιοντικών υγρών και/ή στην υδρόλυση των ανιόντων BF₄⁻. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναμένεται να συμβάλλουν όχι μόνο στην εκτίμηση του περιβαλλοντικού κινδύνου από τα ιοντικά υγρά, αλλά και στην ορθή περιβαλλοντική τους διαχείριση.

INVESTIGATION OF THE IONIC LIQUIDS bmimBF₄ & omimBF₄ TOXIC EFFECTS ON A BATTERY OF AQUATIC ORGANISMS: THE ROLE OF WATER AND/OR ACETONE IN THE INDUCED TOXICITY

Tsarpali Vasiliki, Dailianis stefanos

Section of Animal Biology, Department of Biology, School of Natural Sciences, University of Patras, 26500, Patra, Greece

Ionic liquids (ILs) are a novel class of salts, characterized by unique physicochemical properties. Although the application of ionic liquids (ILs) as “green” solvents is increasing rapidly nowadays, mixtures of ILs with water and/or other organic solvents, such as acetone, are commonly used, thus following by a concomitant dilution with effluents/wastewaters after their use. According to the latter, since the environmental impact of these compounds is now under question, the aim of the present study was to investigate the toxic profile of 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate (bmimBF₄), 1-methyl-3-ocylimidazolium tetrafluoroborate (omimBF₄) and their binary mixture (1:1), with the use of a battery of aquatic organisms, such as the unicellular algae *Scenedesmus rubencens*, the crustaceans *Thamnocephalus platyurus* and *Artemia franciscana* and the rotifers *Brachionus calyciflorus* and *B. plicatilis*, as well as the role of water and/or acetone to the obtained ILs toxic behavior. According to the obtained results, omimBF₄/ acetone and bmimBF₄-omimBF₄/ acetone showed higher LC₅₀ values than omimBF₄/ water and bmimBF₄-omimBF₄/water, in all species tested, while in the case of bmimBF₄, it was observed the opposite. Hence, the present study showed for the first time that the water and/or acetone could mediate the toxic potency of imidazolium-based ILs, such as bmimBF₄ and omimBF₄, which in turn could affect their environmental risk. Since there is evidence that both ILs alkyl chain length as well as BF₄⁻ anion could play a key role in the obtained ILs toxicity, their interaction with water and/or acetone seemed to play fundamental role in alterations occurred in both their physicochemical profile and their toxic behavior as well.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΙΟΝΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ bmimBF₄ & omimBF₄ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΣΥΜΒΑΤΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ, ΣΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS.

Τσαρπαλή Βασιλική, Σαϊτή Ευαγγελία, Διαμάντη Χριστίνα, Νταϊλιάνης Στέφανος
*Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 26500, Πάτρα*

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης διερευνήθηκαν οι τοξικές επιπτώσεις των ιοντικών υγρών bmimBF₄ και omimBF₄, παρουσία συμβατικών διαλυτών, όπως το νερό και η ακετόνη, στο δίθυρο μαλάκιο *Mytilus galloprovincialis*. Το test θνησιμότητας (96h), που πραγματοποιήθηκε αρχικά, έδειξε αυξημένα επίπεδα θνησιμότητας στα άτομα που εκτέθηκαν σε bmimBF₄/νερό (96h LC₅₀ = 134.536 mg L⁻¹) και/ή bmimBF₄/ακετόνη (96h LC₅₀ = 74.524 mg L⁻¹), ενώ στην περίπτωση του bmimBF₄-omimBF₄/νερό και/ή bmimBF₄-omimBF₄/ακετόνη αυξημένα επίπεδα θνησιμότητας παρατηρήθηκαν μόνο έπειτα από έκθεση των ατόμων σε συγκεντρώσει μεγαλύτερες του 1 mg L⁻¹ (96h LC₅₀ = 5.841 και 6.852 mg L⁻¹, αντίστοιχα). Παράλληλα, τα αποτελέσματα της τεχνικής NRRT, η οποία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση αιμολέμφου από άτομα που εκτέθηκαν σε υποθανατογόνες συγκεντρώσεις των επιλεγμένων ιοντικών υγρών, *in vivo* και *in vitro*, έδειξαν παρόμοια τάση όσον αφορά τη βιωσιμότητα των κυττάρων. Συγκεκριμένα, οι τιμές της NRRT που προσδιορίστηκαν στα αιμοκύτταρα των ατόμων που εκτέθηκαν σε bmimBF₄/νερό και/ή bmimBF₄/ακετόνη ήταν σημαντικά χαμηλότερες από τις τιμές των αντίστοιχων controls (control νερού και control ακετόνης). Επιπλέον, οι τιμές της NRRT που προσδιορίστηκαν στα αιμοκύτταρα των ατόμων που εκτέθηκαν σε omimBF₄/νερό ήταν σημαντικά χαμηλότερες και από τα δύο controls και από τις αντίστοιχες τιμές που μετρήθηκαν έπειτα από έκθεση των αιμοκυττάρων και/ή των ατόμων σε omimBF₄/ακετόνη. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναδεικνύουν για πρώτη φορά τη διαφορά στις τοξικές επιπτώσεις που προκαλούνται στους εκτιθέμενους οργανισμούς, λόγω της παρουσίας νερού ή ακετόνης, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην διαφορετική επίδραση του νερού και/ή της ακετόνης στην αλκαλική αλυσίδα των ιοντικών υγρών και/ή στην υδρόλυση των ανιόντων BF₄⁻. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναμένεται να συμβάλλουν τόσο στην εκτίμηση του περιβαλλοντικού κινδύνου από τα ιοντικά υγρά, όσο και στην ορθή περιβαλλοντική τους διαχείριση.

INVESTIGATION OF THE TOXIC EFFECTS OF IONIC LIQUIDS bmimBF₄ & omimBF₄ IN COMBINATION WITH CONVENTIONAL SOLVENTS ON THE VIABILITY OF THE BIVALVE MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

Tsarpali Vasiliki, Saiti Evaggelia, Diamanti Christina, Dailianis Stefanos

Section of Animal Biology, Department of Biology, School of Natural Sciences, University of Patras, 26500, Patra, Greece

The present study investigated the impact of ionic liquids (ILs), such as bmimBF₄ and omimBF₄, in the presence of water and/or acetone on mussel *Mytilus galloprovincialis*. The mortality test (96h), firstly performed, revealed increased levels of mortality in bmimBF₄/water (96h LC₅₀ = 134.536 mg L⁻¹) and/or acetone - (96h LC₅₀ = 74.524 mg L⁻¹) exposed mussels. In case of bmimBF₄-omimBF₄/water and/or acetone, increased levels of mortality were observed after mussel exposure to concentrations higher than 1 mg L⁻¹ in both cases (96h LC₅₀ = 5.841 and 6.852 mg L⁻¹, respectively). Similarly, the NRRT assay currently performed both in vivo and in vitro in hemolymph of mussels exposed to sublethal concentrations of ILs showed almost similar trend of IL-specific lethal endpoints (in terms of cell death). NRRT values measured in hemocytes of mussels exposed to bmimBF₄/water were significantly lower than those measured in control mussels. Moreover, NRRT values measured in cells of mussels exposed to bmimBF₄/acetone were significantly lower than both control (acetone-treated group of mussels). On the other hand, NRRT values measured in omimBF₄/water-exposed cells were significantly lower than both control and the respective values in omimBF₄/acetone-exposed cells or mussels. Hence, the present study showed for the first time that the water and/or acetone could mediate the toxic potency of imidazolium-based ILs, such as bmimBF₄ and omimBF₄, which in turn could affect their environmental risk. Since there is evidence that both ILs alkyl chain length as well as BF₄⁻ anion could play a key role in the obtained ILs toxicity, their interaction with water and/or acetone seemed to play fundamental role in alterations occurred in both their physicochemical profile and their toxic behavior as well.

ΣΥΣΤΗΜΙΚΗ ΚΟΚΚΙΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΟΝ ΚΡΑΝΙΟ (Argyrosomus regius): ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

**Τσέρτου Μαρία-Ιωάννα¹, Φειδάντσης Κωνσταντίνος¹, Χατζηφώτης Σταύρος²,
Καθάριος Παντελής², Αντωνοπούλου Ευθυμία¹**

*1/Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα 2/
Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιέργειών, ΕΛΚΕΘΕ,
71003, Ηράκλειο, Ελλάδα*

Ο κρανιός (*Argyrosomus regius*), αποτελεί ιδανικό υποψήφιο για τη διαφοροποίηση των ελληνικών και ευρωπαϊκών υδατοκαλλιέργειών, καθώς παρουσιάζει ελκυστικά και ανταγωνιστικά χαρακτηριστικά. Το σημαντικότερο εμπόδιο στην καλλιέργεια του κρανιού, αποτελεί η συστηματική κοκκιωμάτωση, μια παθολογική κατάσταση που επηρεάζει την πλειοψηφία του εκτρεφόμενου πληθυσμού. Η συστηματική κοκκιωμάτωση χαρακτηρίζεται από διάχυτα σπλαχνικά κοκκιώματα σε όλους τους μαλακούς ιστούς, που σταδιακά οδηγούν σε ασβέσωση και νέκρωση. Μέχρι στιγμής, η αιτιολογία της συστηματικής κοκκιωμάτωσης δεν είναι γνωστή, ωστόσο έχουν αποκλειστεί διάφοροι παράγοντες, ενώ οι ομοιότητες που παρουσιάζει με αντίστοιχες ασθένειες σε άλλα είδη ψαριών, οδήγησαν στην υπόθεση πως πρόκειται για μεταβολική ασθένεια ή μεταβολικό σύνδρομο με διατροφική αιτιολογία. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ιστολογική περιγραφή των κοκκιωμάτων και η διερεύνηση της πιθανής επίδρασης πειραματικών σιτηρεσίων, που δημιουργήθηκαν από μερική αντικατάσταση ιχθυαλεύρου (Fish Meals, FM) από φυτικά άλευρα (Plant Proteins, PP) με παράλληλη χορήγηση βιταμίνης C (Vit C), στην συστηματική κοκκιωμάτωση και τη φυσιολογία καταπόνησης του κρανιού. Συγκεκριμένα μετά από περίοδο σίτισης 12 εβδομάδων με τις διαφορετικές δίαιτες, έγινε μακροσκοπική παρατήρηση και ιστολογική εξέταση δειγμάτων σε διαφορετικούς ιστούς (ήπαρ, νεφρός, έντερο και λευκός μυς) και ανάλυση κατά Western και Dot Blot πρωτεϊνικών δεικτών καταπόνησης όπως η αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη Bcl-2 και η ουβικουιτίνη. Στα πρώτα στάδια της ασθένειας, οι ιστοί παρουσίασαν πολλαπλά κοκκιώματα που ιστολογικά χαρακτηρίζονται από έκκεντρη διαστρωμάτωση και κεντρική νέκρωση, ενώ σε πιο προχωρημένα στάδια παρατηρήθηκαν τμήματα ιστών με δυστροφική ασβεστοποίηση. Τα κοκκιώματα ήταν ορατά σε όλα τα ψάρια ανεξάρτητα από τα σιτηρέσια, ωστόσο η οξύτητα της ασθένειας, εκτιμήθηκε με τον αριθμό των κοκκιωμάτων ανά ιστό, συσχετίστηκε με τα σιτηρέσια, με το FM+Vit C να έχει την καλύτερη δράση και το PP την χειρότερη. Τέλος, παρατηρήθηκε αυξητική τάση της έκφρασης των πρωτεϊνών παρουσία κοκκιωμάτων.

SYSTEMIC GRANULOMATOSIS IN FARMED MEAGRE (*Argyrosomus regius*): HISTOLOGICAL AND MOLECULAR APPROACH

**Tsertou Maria-Ioanna¹, Feidantsis Konstantinos¹, Chatzifotis Stavros², Katharios Pantelis²,
Antonopoulou Efthimia¹**

*1/Department of Zoology, School of Biology, A.U.Th., 54124, Thessaloniki, Greece 2/Institute of
Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, HCMR, 71003 Heraklion, Greece*

Meagre (*Argyrosomus regius*) is a new promising candidate for the diversification of the Greek and European aquaculture due to its attractive and competitive attributes. The most important bottleneck of meagre production is systemic granulomatosis, a pathological condition affecting the majority of cultured populations. Systemic granulomatosis is characterized by multiple granulomas observed in all soft tissues which progressively become calcified and necrotic. The aetiology of this disease is still unknown, but factors like viral, parasitic and bacterial agents have been excluded. The similarities of systemic granulomatosis with relevant diseases in other fish species together with the exclusion of infectious agents has led to the hypothesis that it is a dietary metabolic disorder or syndrome. The aim of this study was to investigate the possible effect of partial replacement of fishmeal (FM) by plant proteins (PP), with concomitant enhancement of vitamin C, in the systemic granulomatosis and the stress physiology of meagre. We performed macroscopic and histological examination of liver, kidney, intestine, white muscle of fish coupled with Western and Dot Blot analysis of stress-indicator proteins (anti-apoptotic Bcl-2 protein and ubiquitin). At the early stages of the disease the majority of the organs contained multiple granulomas histologically characterized by a concentric lamellation with central necrosis. In more progressed stages of the disease the affected areas were mainly characterized by dystrophic calcification. Granulomas were present in all fish independently of the diet. The severity of the disease, estimated by the number of granulomas in the assessed tissues, can be statistically correlated to the diet with FM+Vit C being the best diet and PP the worst, while the effect of the diets on the protein levels showed increasing trends, in the presence of granulomas.

ΕΚΚΡΙΤΙΚΕΣ ΤΡΙΧΕΣ ΚΑΙ ΡΙΖΙΚΑ ΤΡΙΧΙΔΙΑ ΣΕ ΕΠΙΓΕΝΕΙΣ ΡΙΖΕΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Kalanchoe daigremontiana*

Τσιλιμαντού Αναστασία, Μποζαμπαλίδης Αρτέμιος, Παντερός Εμμανουήλ
*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη*

Το φυτό *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae) αναπαράγεται αγενώς, δημιουργώντας φυτάρια στο περιθώριο των φύλλων του. Οι ρίζες των φυταρίων φέρουν σχηματισμούς που έχουν χαρακτηριστεί από κάποιους ερευνητές ως εκκριτικές τρίχες ενώ από άλλους ως ριζικά τριχίδια. Μέσω οπτικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, διαπιστώθηκε ότι πρόκειται για πολυκύτταρες εκκριτικές τρίχες με τυχαία κατανομή και λιπόφιλο έκκριμα, που εμφανίζονται μόνο όσο οι ρίζες βρίσκονται μακριά από νερό. Αντίθετα, σε επαφή με νερό αναπτύσσονται σε αυτές τυπικά μονοκύτταρα ριζικά τριχίδια και σταματά μη αντιστρεπτά η εμφάνιση εκκριτικών τριχών. Τα ριζικά τριχίδια αυτά εμφανίζονται όχι μόνο στη ζώνη διαφοροποίησης αλλά ακόμα και στη ζώνη επιμήκυνσης της ρίζας και συχνά από το κέντρο και όχι την άκρη του τριχοβλάστη. Μελέτη με έμμεσο ανοσοφθορισμό σωληνίνης και συνεστιακή μικροσκοπία laser φανέρωσε ότι οι περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι διατηρούν εγκάρσιο προσανατολισμό σε επιμηκυνόμενους τριχοβλάστες, εκτός από τη θέση εκβλάστησης του τριχιδίου. Μετά από σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων με επίδραση ταξόλης, αναπτύχθηκαν ριζικά τριχίδια με διαταραγμένη μορφή. Συμπεραίνεται ότι οι εκκριτικές τρίχες στις επιγενείς ρίζες σχετίζονται αποκλειστικά με την απουσία νερού, πιθανά προστατεύοντάς τις από αφυδάτωση ή βοηθώντας την προσκόλλησή τους στο έδαφος, μέσω του λιπώδους εκκριμάτος τους. Επίσης, υποστηρίζεται ότι η αναδιάταξη των περιφερειακών μικροσωληνίσκων είναι απαραίτητη για τη μορφογένεση αλλά όχι για την εκβλάστηση των ριζικών τριχιδίων.

GLANDULAR HAIRS AND ROOT HAIRS IN ADVENTITIOUS ROOTS OF THE PLANT *Kalanchoe daigremontiana*

Tsilimantou Anastasia, Bosabalidis Artemios, Panteris Emmanuel

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124
Thessaloniki, Greece*

The plant *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae) propagates asexually by plantlets emerging at its leaf margin. The plantlet roots bear structures, which by certain researchers were considered as glandular hairs, while by others as root hairs. Observations by light and electron microscopy revealed that they are randomly distributed multicellular glandular hairs secreting a lipophilic secretion. These glandular hairs are present only in roots growing in the absence of water. On the contrary, after the roots contact with water, they develop typical unicellular root hairs, while emergence of glandular hairs ceases irreversibly. The above root hairs emerge not only in the differentiation zone but also in the elongation zone of the root, even from the middle of the trichoblasts. Confocal laser scanning microscopy observations after tubulin immunolabeling revealed that cortical microtubules maintain their transverse orientation in elongating trichoblasts, becoming random only at the point of root hair emergence. Microtubule stabilization with taxol resulted in the development of abnormally shaped root hairs. It is concluded that the glandular hairs of adventitious roots are a response to the lack of water, probably offering some kind of protection from dehydration or facilitating root adherence on the ground by their lipid secretion. In addition, it is supported that cortical microtubule reorientation is necessary for root hair morphogenesis but not for their emergence.

ΣΧΕΣΗ ΕΜΠΟΡΙΚΗΣ ΤΙΜΗΣ ΚΑΙ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΜΗΚΟΥΣ ΓΙΑ ΤΑ ΑΚΤΙΝΟΠΤΕΡΥΓΙΑ ΨΑΡΙΑ ΤΟΥ ΒΟΡΕΙΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ

Τσίρος Β.-Ζ.¹, Πολύμερος Κ.², Στεργίου Κ.Ι.^{1,3}, Τσίκληρας Α.¹

*1/Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη-2/Τμήμα Γεωπονίας
Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος-3/Ινστιτούτο
Θαλάσσιων Βιολογικών Πόρων και Εσωτερικών Υδάτων, Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων
Ερευνών, Άγιος Κοσμάς, Αθήνα*

Η τιμή των ψαριών επηρεάζεται από τη διαθεσιμότητα τους στο περιβάλλον, την αλιευόμενη ποσότητα και το σωματικό τους μέγεθος. Από την άλλη μεριά, η τιμή των ψαριών επηρεάζει την επιλογή των ειδών στόχων. Σκοπός της παρούσας εργασίας, είναι να διερευνηθεί για τα ψάρια του Β. Αιγαίου (α) η σχέση της εμπορικής τιμής (ευρώ/κιλό) με το μήκος σώματος (cm), το τροφικό επίπεδο, την αφθονία (t) και την ευαισθησία στην αλιεία και (β) η υπόθεση ότι τα μεγαλόσωμα ψάρια αποτελούν επιλεκτικό στόχο εξαιτίας της υψηλότερης τιμής τους. Για να εξεταστεί λοιπόν, η σχέση της εμπορικής τιμής και του μήκους σώματος, χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες ετήσιες εμπορικές τιμές 49 ειδών ακτινοπερύγιων ψαριών, από τις ιχθυόσκαλες Θεσσαλονίκης, Καβάλας και Αλεξανδρούπολης, έτσι όπως καταγράφονται από τον Οργανισμό Κεντρικών Αγορών και Αλιείας (ΟΚΑΑ), για την περίοδο 2003-2012. Παράλληλα, συγκεντρώθηκε η αντίστοιχη πληροφορία από τη Fishbase (www.fishbase.org) για αυτά τα είδη, όσον αφορά το μέγιστο και το κοινό τους μήκος, το τροφικό τους επίπεδο και την ευαισθησία τους στην αλιεία. Ως δείκτης αφθονίας, χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των εκφορτώσεων ανά είδος, από τις 3 ιχθυόσκαλες (περίοδος 2003-2012). Η μέση ετήσια εμπορική τιμή των ψαριών συσχετίστηκε θετικά, με το μέγιστο ($r^2=0,20$, $n=49$, $P=0,0015$) και το κοινό μήκος ($r^2=0,15$, $n=49$, $P=0,0052$), την ευαισθησία στην αλιεία ($r^2=0,27$, $n=49$, $P=0,0001$) και το τροφικό επίπεδο ($r^2=0,10$, $n=49$, $P=0,0279$). Αντίθετα, η εμπορική τιμή των ψαριών σχετίστηκε αρνητικά με την αφθονία ($r^2=0,08$, $n=49$, $P=0,0487$). Επίσης, η απλή παλινδρόμηση έδειξε θετική συσχέτιση του μέγιστου μήκους σώματος των ψαριών και του τροφικού επιπέδου τους ($r^2=0,17$, $n=49$, $P=0,0029$). Η επιλεκτική στόχευση των μεγαλόσωμων και υψηλού τροφικού επιπέδου ειδών, εξαιτίας της υψηλότερης τιμής τους, μπορεί να οδηγήσει στην υπεραλίευση τους.

RELATIONSHIP BETWEEN FISH MARKET PRICE AND BODY LENGTH FOR THE FINFISHES OF THE NORTHERN AEGEAN SEA

Tsiros V.-Z.¹, Polymeros K.², Stergiou K.I.^{1,3}, Tsikliras A.¹

*1/Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
Thessaloniki-2/Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly,
Volos-3/Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters, Hellenic Centre for Marine
Research, Aghios Kosmas, Athens*

The relationship between fish market price and body length has not been extensively studied. Fish market price is affected by fish density, the quantity of landings and body length, and in turn it determines the selection of target species. The aim of this work is to examine the relationship between the fish market price (euros/kg) and body length (cm), trophic level, abundance (t) and vulnerability to fishing for the N. Aegean Sea finfishes, and test the hypothesis that large fish are being selectively targeted because of their higher price. In order to examine the relationship between fish market price and body size, the mean annual prices of 49 fish species were used, from the fishing port markets of Thessaloniki, Kavala and Alexandroupolis, as recorded by Central Markets and Fishery Organization (CMFO), for 2003-2012. In addition, for these species, the corresponding information regarding maximum and common length, trophic level and vulnerability to fishing was collected from Fishbase (www.fishbase.org). The average landings from 3 fishing port markets per species (2003-2012) were used as an index of abundance. Mean annual fish market price was positively related to maximum length ($r^2=0.20$, $n=49$, $P=0.0015$), common length ($r^2=0.15$, $n=49$, $P=0.0052$), vulnerability to fishing ($r^2=0.27$, $n=49$, $P=0.0001$) and trophic level ($r^2=0.10$, $n=49$, $P=0.0279$). In contrast, fish market price was negatively correlated with abundance ($r^2=0.08$, $n=49$, $P=0.0487$). In addition, simple linear regression showed a positive correlation between the maximum body length of the fish and trophic level ($r^2=0.17$, $n=49$, $P=0.0029$). The selective removal of the large and high trophic level species, which is driven by market price, may contribute to their overfishing.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ rs699 ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ AGT ΚΑΙ rs17602729 ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ AMPD1 ΜΕ ΤΗΝ ΑΘΛΗΤΙΚΗ ΕΠΙΔΟΣΗ

Τσιτουρίδου Μαρία, Παπαδημητρίου Ιωάννης, Κουβάτση Αναστασία

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

Η ικανότητα επίτευξης υψηλών αθλητικών επιδόσεων είναι ένας φαινότυπος που προκύπτει από την αλληλεπίδραση ποικίλων περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων. Τα τελευταία χρόνια σημαντικός αριθμός πολυμορφισμών έχει συσχετιστεί με την αθλητική επίδοση. Στην παρούσα εργασία διερευνάται η συσχέτιση των πολυμορφισμών rs699 (M235T ή T4072C) του γονιδίου AGT, και rs17602729 (C34T) του γονιδίου AMPD1 με την αθλητική επίδοση στον ελληνικό πληθυσμό. Το προϊόν του γονιδίου AGT επηρεάζει την απόκριση της αρτηριακής πίεσης σε δυναμική άσκηση, ενώ το προϊόν του γονιδίου AMPD1 είναι σημαντικός ρυθμιστής του μυϊκού μεταβολισμού κατά την άσκηση. Απομονώθηκε DNA από το περιφερικό αίμα 108 Ελλήνων αθλητών (80 αθλητές ισχύος και 28 αθλητές αντοχής) παγκοσμίου επιπέδου, και 185 τυχαίων ατόμων (μάρτυρες) του ελληνικού πληθυσμού. Έγινε ενίσχυση των περιοχών των πολυμορφισμών με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης και οι γενότυποι των ατόμων ταυτοποιήθηκαν μετά από πέψη των προϊόντων της PCR με τα ένζυμα περιορισμού SfaI και HpyCH4IV. Η κατανομή των γενοτύπων και των αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs699 (T>C) του γονιδίου AGT διέφερε στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στους αθλητές αντοχής και τους μάρτυρες ($p=0,027$ και $p=0,029$, αντίστοιχα), καθώς και ανάμεσα στους αθλητές ισχύος και αντοχής ($p=0,006$ και $p=0,008$, αντίστοιχα). Η συχνότητα του γενότυπου CC και του αλληλόμορφου C είναι μεγαλύτερη στην ομάδα των αθλητών αντοχής. Το αποτέλεσμα δείχνει πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού με την υψηλή επίδοση αντοχής. Στην περίπτωση του πολυμορφισμού rs17602729 (C>T) του γονιδίου AMPD1, η κατανομή των γενοτύπων και των αλληλομόρφων διέφερε στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στους αθλητές και τους μάρτυρες ($p=0,013$ και $p=0,017$, αντίστοιχα), καθώς και ανάμεσα στους αθλητές αντοχής και τους μάρτυρες ($p=0,012$ και $p=0,020$, αντίστοιχα). Η συχνότητα του αλληλόμορφου T είναι χαμηλότερη στην ομάδα των αθλητών και ιδιαίτερα των αθλητών αντοχής. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν πιθανή αρνητική επίδραση του αλληλόμορφου T στην υψηλή αθλητική επίδοση γενικά και ιδιαίτερα στην επίδοση αντοχής.

ASSOCIATION OF THE AGT rs699 AND AMPD1 rs17602729 POLYMORPHISMS WITH ATHLETIC PERFORMANCE

Tsitouridou Maria, Papadimitriou Ioannis, Kouvatsi Anastasia

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

Achieving high athletic performance is a complicated phenotype influenced by various environmental and genetic factors. Recently many polymorphisms have been associated with the athletic ability. The aim of the present study is to investigate a potential association of the rs699 (M235T or T4072C) polymorphism in the AGT gene and the rs17602729 (C34T) polymorphism in the AMPD1 gene with athletic performance in the Greek population. The AGT gene product affects the blood pressure's response to dynamic exercise, while the product of AMPD1 gene plays an important role in the regulation of muscle metabolism during exercise. Genomic DNA was extracted from peripheral blood from 108 Greek elite athletes (80 power and 28 endurance athletes) and 185 random Greek non-athletes. The amplification of the particular areas was performed by the polymerase chain reaction. Genotypes were determined after digestion of the PCR products with SfaI and HpyCH4IV restriction enzymes. The rs699 polymorphism (T>C) genotype and allele distributions differed significantly between endurance athletes and controls ($p=0,027$ and $p=0,029$, respectively) and between power and endurance athletes ($p=0,006$ and $p=0,008$, respectively). The frequencies of CC genotype and C allele was higher in endurance group. The results suggest that the rs699 polymorphism is associated with endurance athlete status. Concerning the rs17602729 polymorphism (C>T), the genotype and allele distributions differed significantly between athletes and controls ($p=0,013$ and $p=0,017$, respectively), and between endurance athletes and controls ($p=0,012$ and $p=0,020$, respectively). The frequency of T allele is lower in the group of athletes and furthermore in the endurance athletes group. The results suggest a potential negative effect of the T allele on high athletic performance status, especially on endurance status.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΤΟΠΙΚΗΣ ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΤΟΞΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ S-(+) ΚΑΙ R-(-)-ΚΑΡΒΟΝΗΣ ΣΤΟ ΙΣΧΙΑΚΟ ΝΕΥΡΟ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ: EX VIVO ΜΕΛΕΤΗ

Φαλιάγκας Λεωνίδας¹, Βώκου Δέσποινα², Θεοφιλίδης Γεώργιος¹

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας (1) και Τομέας Οικολογίας (2), Τμήμα
Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη 541 24

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοπική αναισθητική δράση και η νευροτοξικότητα της S-(+)-καρβόνης και της R-(-)-καρβόνης, κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων των *Carum carvi* (αγριοκύμνο) 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 απομονωμένο σε φυσιολογικό ορό ισχιακό νεύρο του βατράχου *Rana ridibunda*. Η σύγκριση της δραστηριότητας των δύο εναντιομερών έγινε με βάση τον χρόνο που απαιτείται ώστε να μειωθεί το ΣΔΕ στο μισό της αρχικής του τιμής (IT50), μετά από βραχύχρονη έκθεση (<10 min) στις υπό εξέταση χημικές ενώσεις. Τα δύο εναντιομερή της καρβόνης προκάλεσαν αναστολή του ΣΔΕ, η οποία αποδείχθηκε αναστρέψιμη σε ποσοστό 80-90% της αρχικής τιμής, ενώ διατηρήθηκε πλήρης βιωσιμότητα του νεύρου σε διάρκεια 24 ωρών. Για συγκέντρωση 10 mM, οι τιμές IT50 ήταν 3.64 min για την S-(+)-καρβόνη και 3.68 min για την R-(-)-καρβόνη, ενώ για συγκέντρωση των 20 mM οι τιμές IT50 ήταν 2.15 min και 1.84 min αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν τοπική αναισθητική δράση χωρίς ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των δύο ουσιών. Η νευροτοξικότητα αξιολογήθηκε με βάση την ικανότητα επαναφοράς και διατήρησης του ύψους του ΣΔΕ σε υψηλά επίπεδα (80-90% του αρχικού ΣΔΕ), μετά από μακρά έκθεση, διάρκειας μίας ώρας. Για τη σύγκριση χρησιμοποιήθηκαν η λιδοκαΐνη, κλασικό τοπικό αναισθητικό, και η 2-επτανόνη, χημική ένωση φυσικής προέλευσης με χαρακτηριστικά τοπικού αναισθητικού. Προέκυψε ιδιαίτερη νευροτοξική δράση των δύο εναντιομερών της καρβόνης, δεδομένου ότι ήταν οι μόνες ενώσεις που δεν επέτρεψαν την επαναφορά του ΣΔΕ. Λόγω της ιδιαιτερότητας αυτής, οι δύο καρβόνες δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τοπικά αναισθητικά.

ASSESSMENT OF THE LOCAL ANAESTHETIC AND NEUROTOXIC ACTION OF S-(+) AND R-(-)-CARVONE ON THE FROG'S SCIATIC NERVE: AN EX VIVO STUDY

Faliagkas Leonidas¹, Vokou Despoina², Theophilidis George¹

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology (1) and Department of Ecology (2),
School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki 541 24, Greece*

We assessed the local anaesthetic activity and neurotoxicity of S-(+)-carvone and R-(-)-carvone, which are constituents of the essential oils of *Carum carvi* (caraway) and *Mentha spicata* (spearmint), respectively. To assess the local anesthetic activity, we used an ex vivo neurophysiological method that is based on recordings of the nerve compound action potential (nCAP) from the isolated in saline sciatic nerve of the frog *Rana ridibunda*. In order to compare the potency of the two carvone enantiomers, we used the parameter IT50, which is the time required for the nCAP amplitude to reach half of its initial value. IT50 was 2.32 min for S-(+)-carvone and 2.45 min for R-(-)-carvone, when these compounds were applied for a short time (<10 min) at 10 mM; when they were applied at 20 mM, the IT50 values were 2.15 min and 1.84 min, respectively. In all cases, after the immediate washout of the nerve preparation, we recorded an almost complete recovery of the nCAP to 80-90% of its initial levels, at which it remained for 24h. Our results show that both enantiomers are able to inhibit the nCAP of frog's sciatic nerve with almost the same potency. For the assessment of neurotoxicity we tested the ability of nCAP to recover and maintain its height after long exposure (one hour). Results were compared to those of lidocaine, a classic local anesthetic, and 2-heptanone, a natural compound with local anesthetic action. After the one-hour exposure, both carvone enantiomers caused an irreversible elimination of nCAP indicating severe neurotoxicity. In contrast, there was an almost full recovery for nerves exposed to lidocaine and 2-heptanone. This severe neurotoxicity is an indication that carvones can not be used as local anaesthetics.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΣΤΟΧΩΝ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΣΥΣΤΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Φίλιου Μιχαέλα Δ.

Max Planck Institute of Psychiatry, Μόναχο, Γερμανία

Λόγω της έλλειψης διευκρινισμένων μοριακών μηχανισμών που σχετίζονται με εγκεφαλικές διαταραχές, οι προσεγγίσεις συστημικής βιολογίας είναι κεφαλαιώδους σημασίας για τον προσδιορισμό υπεύθυνων μοριακών μονοπατιών και την ταυτοποίηση πιθανών θεραπευτικών στόχων για αυτές τις διαταραχές. Αναπτύξαμε μια μεθοδολογία συστημικής βιολογίας βασισμένη σε μεθόδους ποσοτικής πρωτεωμικής, μεταβολωμικής και βιοπληροφορικής και την εφαρμόσαμε για να συγκρίνουμε ποντίκια με υψηλό (HAB) και χαμηλό (LAB) άγχος. Οι αναλύσεις μας έδειξαν πως ο κοινός παρονομαστής των αλλαγών που παρατηρήθηκαν μεταξύ των HAB και LAB ποντικών είναι τα μιτοχόνδρια. Για να διερευνήσουμε εάν η φαρμακολογική στόχευση των μιτοχονδρίων έχει αγχολυτική επίδραση στο υψηλό άγχος, χορηγήσαμε σε HAB ποντίκια MitoQ, ένα αντιοξειδωτικό που στοχεύει επιλεκτικά τα μιτοχόνδρια. Η χορήγηση του MitoQ είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του υψηλού άγχους στα HAB ποντίκια. Στη συνέχεια εξετάσαμε τους μοριακούς μηχανισμούς της αγχολυτικής επίδρασης του MitoQ με βιοχημικές αναλύσεις και πειράματα στοχευμένης μεταβολωμικής. Για πρώτη φορά, μία προσέγγιση βασισμένη σε μοριακούς μηχανισμούς και όχι στη σχετική συμπτωματολογία χρησιμοποιείται για τη φαρμακολογική ρύθμιση ενός συμπεριφορικού φαινοτύπου. Οι μελέτες μας υπογραμμίζουν τη σημασία των μεθοδολογιών συστημικής βιολογίας για την ταυτοποίηση μοριακών μηχανισμών και τη φαρμακολογική στόχευση μιτοχονδρίων ως πιθανή στρατηγική για τη θεραπεία εγκεφαλικών διαταραχών.

IDENTIFYING THERAPEUTIC TARGETS WITH SYSTEMS BIOLOGY

Filiou Michaela D.

Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany

As the molecular underpinnings of brain disorders remain largely elusive, systems biology approaches are pivotal for unraveling the underlying molecular disease mechanisms and identifying candidate therapeutic targets. We established a systems biology platform based on quantitative proteomics, metabolomics and bioinformatics and applied it to compare mice selectively bred for high (HAB) and low (LAB) anxiety-related behavior in a hypothesis-free manner. Our data revealed mitochondria as the common denominator of the observed changes between HAB and LAB mice. To investigate whether pharmacological targeting of mitochondria exerts an anxiolytic effect on high anxiety, we treated HAB mice with MitoQ, a mitochondria-targeted antioxidant. MitoQ treatment resulted in decreased anxiety-related behavior in HAB mice. We then analyzed the molecular correlates of this anxiolytic effect with biochemical assays and targeted metabolomics. This is the first time that a mechanism- rather than a symptom-based approach is used to pharmacologically manipulate a behavioral phenotype. Our findings emphasize the importance of hypothesis-free, systems biology methodologies for identifying drug targets and the therapeutic potential of mitochondrial targeting for treating brain disorders.

ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* ΚΑΙ ΤΩΝ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

**Φίτσιου Ελένη¹, Σαξάμη Γεωργία¹, Τσιμογιάννης Δημήτρης², Ωραιοπούλου Βασιλική²,
Γαλάνης Αλέξης¹, Χλίχλια Κατερίνα¹, Παππά Αγλαΐα¹**

*1/Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100,
Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα, 2/Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβειο
Πολυτεχνείο, Αθήνα, Ελλάδα*

Το φυτό *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (γνωστό και ως ελληνική ρίγανη) είναι ένα κοινό είδος του γένους *Origanum*, το οποίο απαντάται σε περιοχές γύρω από τη Μεσόγειο και κυρίως στη νοτιοανατολική Ευρώπη. Στην Ελλάδα το είδος αυτό είναι ευρέως διαδεδομένο και χρησιμοποιείται ως μπαχαρικό αλλά και για την αντιμετώπιση κάποιων κοινών διαταραχών της υγείας. Στην παρούσα μελέτη, ερευνήθηκαν οι *in vitro* αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου του φυτού *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* και των δυο κυριότερων συστατικών του, καρβακρόλη και θυμόλη. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την τεχνική DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι το αιθέριο έλαιο και τα κυριότερα συστατικά του, καρβακρόλη και θυμόλη, διαθέτουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση. Για τον προσδιορισμό των κυτταροτοξικών τους ιδιοτήτων, χρησιμοποιήσαμε τέσσερις ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές, συμπεριλαμβανομένων του αδеноκαρκινώματος μαστού MCF-7, ηπατικού αδеноκαρκινώματος HepG2 και των καρκινωμάτων του κόλον CaCo2 και HT-29 για να αποκαλύψουμε διαφορές στην ευαισθησία των κυτταρικών σειρών στη δράση του αιθέριου ελαίου του *Origanum vulgare*. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν πως το αιθέριο έλαιο είναι ένας εξαιρετικά ισχυρός αντικαρκινικός παράγοντας *in vitro*, καθώς ήταν αποτελεσματικός σε χαμηλές συγκεντρώσεις έναντι σε όλα τα καρκινικά μοντέλα που μελετήθηκαν, σημειώνοντας μεγαλύτερη -αν και όχι σημαντικά διαφορετική- δραστηριότητα εναντίον των κυτταρικών σειρών του κόλον. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν για την καρβακρόλη και τη θυμόλη, συσχετίζοντας την αντιπολλαπλασιαστική ικανότητα με επαγωγή της απόπτωσης. Συμπερασματικά, το αιθέριο έλαιο του ελληνικού αρωματικού φυτού *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* και των κύριων συστατικών του καρβακρόλη και θυμόλη, επέδειξαν σημαντική και πολλά υποσχόμενη αντιοξειδωτική και αντικαρκινική δράση *in vitro* και θεωρούνται κατάλληλες υποψήφιες ουσίες για περαιτέρω μελέτη. Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτήθηκε από την Πράξη «Διμερής E&T Συνεργασία Ελλάδας-Κίνας 2013-2015».

ESSENTIAL OIL OF *Origanum vulgare* L. ssp.hirtum AND MAJOR CONSTITUENTS: ANTIOXIDANT AND ANTICANCER EFFECTS

Fitsiou Eleni¹, Saxami Georgia¹, Tsimogiannis Dimitris ², Oreopoulou Vassiliki², Galanis Alexis¹, Chlichlia Katerina¹, Pappa Aglaia¹

1/Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece, 2/School of Chemical Engineering, National Technical University of Athens, Athens, Greece

Origanum vulgare L. ssp.hirtum (also known as Greek oregano) is a common species of *Origanum* found in regions around the Mediterranean and especially southeastern Europe. Greece is abundant in this aromatic plant which is extensively used as herbal agent in food flavoring and folk remedies. In this study, the antioxidant and anticancer properties of the essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp.hirtum from Greece was investigated in vitro together with its two major constituents, carvacrol and thymol. The antioxidant capacity was determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay. The results indicated that the essential oil, as well as its major constituents, carvacrol and thymol possess significant antioxidant activity. For the determination of their anti-proliferative properties, we used a panel of four human cancer cell lines, including mammary adenocarcinoma MCF-7, liver hepatocellular carcinoma HepG2 and colon adenocarcinomas CaCo2 and HT-29 in order to reveal any differences in sensitivity across the various cancer cell lines to the activity of the *Origanum vulgare* essential oil. Our results showed that the *Origanum vulgare* extract is a very potent anticancer agent in vitro as it was very efficient at low concentrations against all four experimental cancer models, exhibiting greater, but not significantly different, potency against the colon adenocarcinoma. Similar results were observed for carvacrol and thymol associating the anti-proliferative activity with induction of apoptosis. Taken together, the essential oil of the Greek aromatic plant *Origanum vulgare* L. ssp.hirtum and its major constituents, carvacrol and thymol, showed to possess significant and promising antioxidant and anticancer activity in vitro, making them suitable candidate compounds for further research. The present study was supported by a "Greece-China Bilateral & RD Cooperation 2013-2015" grant.

ΤΑ ΑΥΞΗΜΕΝΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α ΕΠΑΓΟΥΝ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΛΑΝΩΜΑΤΟΣ ΠΟΝΤΙΚΟΥ

Φόρτης Σωτήριος, Σαμαρά Πηνελόπη, Βουτσάς Ιωάννης, Μπαξεβάνης Κωνσταντίνος, Τσιτσιλώνη Ουρανία

1/Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 2/Κέντρο Ανοσολογίας και Ανοσοθεραπείας του Καρκίνου, Π.Α.Ο.Ν.Α. «Ο Άγιος Σάββας», Αθήνα

Η προθυμοσίνη α (προΤα) είναι πολυπεπτίδιο με διττό ρόλο. Εξωκυτταρικά ασκεί πλειοτροπική ανοσοενισχυτική δράση, ενώ ενδοκυτταρικά σχετίζεται με τον πολλαπλασιασμό και την κυτταρική επιβίωση δρώντας αντι-αποπτωτικά. Κύτταρα με έντονο πολλαπλασιαστικό δυναμικό (πχ από νεαρούς ή καρκινικούς ιστούς) εκφράζουν αυξημένα επίπεδα προΤα. Σκοπός μας ήταν να συσχετίσουμε, *in vitro* και *in vivo*, τα αυξημένα επίπεδα προΤα με την επιθετικότητα καρκινικών κυττάρων μελανώματος ποντικού. Με περιοριστική αραίωση, απομονώσαμε κυτταρικούς κλώνους από τις σειρές μελανώματος ποντικού B16.F1 και B16.F10 και ελέγξαμε την έκφραση της προΤα με ανοσοσύτρωμα κατά Western, χρησιμοποιώντας αντίσωμα έναντι του καρβοξυτελικού τμήματος της προΤα. Απομονώσαμε 22 κλώνους από τα B16.F1 και 20 κλώνους από τα B16.F10, με αυξημένη, μέτρια ή χαμηλή έκφραση προΤα. Επιλέξαμε τέσσερις κλώνους ανά σειρά με τα υψηλότερα και τα χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης προΤα και ελέγξαμε την ικανότητα πολλαπλασιασμού τους *in vitro*. Μετά από συγχρονισμό των κυττάρων μέσω στέρησης ορού, χρώση τους με τη φθορίζουσα χρωστική Vybrant-DyeCycle και ανάλυση του κυτταρικού κύκλου με κυτταρομετρία ροής, παρατηρήσαμε ότι σημαντικό ποσοστό κυττάρων (19,24%) από τον κλώνο 22 των B16.F1 με υψηλή έκφραση προΤα, εντοπίστηκε στη φάση G2 του κυτταρικού κύκλου. Με τη δοκιμασία ενσωμάτωσης ραδιενεργού θυμιδίνης, ο ίδιος κλώνος παρουσίασε και αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού. Τα κύτταρα των υπόλοιπων κλώνων παρέμειναν κυρίως στη G1 φάση και εμφάνισαν χαμηλότερη πολλαπλασιαστική ικανότητα. Κύτταρα του κλώνου 22.F1, ενός κλώνου χαμηλής έκφρασης (13.F1), καθώς και της μητρικής σειράς B16.F1 ενοφθαλμίστηκαν υποδόρια σε συγγενικά ποντίκια C57/BL6 και καταγράφηκε ο χρόνος εμφάνισης και η πορεία ανάπτυξης των όγκων. Παρατηρήσαμε ότι ο κλώνος 22.F1 οδήγησε σε πρόωμη εμφάνιση όγκων με αυξημένο ρυθμό ανάπτυξης. Συμπερασματικά, η αυξημένη έκφραση προΤα σε κύτταρα μελανώματος ποντικού ενισχύει τον πολλαπλασιασμό τους *in vitro* και προάγει το σχηματισμό επιθετικότερων όγκων *in vivo*. Χρηματοδότηση: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INSPiRE

INCREASED LEVELS OF PROTHYMOSIN α PROMOTE THE PROLIFERATION OF MURINE MELANOMA CELLS

Fortis Sotirios ^{1,2}, Samara Pinelopi ¹, Voutsas Ioannis ², Baxevanis Constantinos ², Tsitsilonis Ourania ¹

1/Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, NKUA, 2/Cancer Immunology and Immunotherapy Center, "Saint Savas" Anticancer Hospital, Athens

Prothymosin α (proT α) is a polypeptide with dual role. Extracellularly, proT α exerts pleiotropic immunoenhancing activity, while intracellularly is associated with cell proliferation and survival, acting as anti-apoptotic agent. Highly proliferating cells (e.g from young or cancer tissues) express high levels of proT α . Our aim was to correlate, in vitro and in vivo, the increased levels of proT α with the aggressiveness of murine melanoma tumor cells. Cell clones were isolated from the B16.F1 and B16.F10 murine melanoma cell lines by limiting dilution and assessed for proT α expression by Western blot, using an antibody against its C-terminal fragment. We isolated 22 clones from B16.F1 and 20 clones from B16.F10, with high, medium and low expression of proT α . We selected four clones from each line, with the highest and lowest expression levels of proT α , and tested their proliferation capacity in vitro. After cell synchronization following serum starvation, staining with the fluorescent dye Vybrant-DyeCycle and cell-cycle analysis by flow cytometry, we observed that a significant percentage of cells (19.24%) of B16.F1 clone 22 with high proT α expression, was detected in the G2 phase of the cell-cycle. The aforementioned clone showed increased proliferation, as determined by thymidine incorporation assay. Cells from the remaining clones were mainly detected in the G1 phase, showing reduced proliferation rates. The clone 22.F1, a clone of low proT α expression (13.F1) and the parental B16.F1 cells were inoculated subcutaneously into syngeneic C57/BL6 mice and tumor formation and development were recorded. We observed that clone 22.F1 elicited the early onset of tumors, characterized by increased growth rates. In conclusion, increased expression of proT α in murine melanoma cells enhances their proliferation in vitro and promotes the formation of more aggressive tumors in vivo. Funding: European Union FP7 Capacities grant REGPOT-CT-2011-284460, INsPiRE

ΠΡΩΤΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΧΘΥΟΠΑΝΙΔΑΣ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΗΤΗ ΛΙΜΝΗ ΚΑΡΛΑ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΗΣ

Χαμόγλου Μαρία¹, Κάγκαλου Ιφιγένεια^{1,2}

1/Φορέας Διαχείρισης Περιοχής Οικοανάπτυξης Κάρλας- Μαυροβουνίου-Κεφαλοβρύσου-Βελεστίνου, Στεφανοβίκειο Μαγνησίας 2/ Πολυτεχνική Σχολή, ΔΠΘ, 67100 Ξάνθη

Η ιχθυοπανίδα (σύνθεση, αφθονία και ηλικιακή κατανομή) είναι ένα από τα βιολογικά στοιχεία που προτείνονται από την Οδηγία Πλαίσιο για τα Ύδατα 2000/60/ΕΚ για τον προσδιορισμό της οικολογικής κατάστασης των υδάτινων οικοσυστημάτων αποσκοπώντας στη προστασία και διατήρηση του υδάτινου περιβάλλοντος. Η «νέα» Λίμνη Κάρλα είναι ένα ανθρωπογενές οικοσύστημα, υβρίδιο της άλλοτε φυσικής Λίμνης Κάρλας, ρηχό, με συμπτώματα ευτροφισμού. Τον Απρίλιο του 2013 πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία ψαριών στον ταμειυτήρα της Κάρλας με βενθικά απλάδια δίκτυα τύπου Nordic με πολλαπλά διαμετρήματα ματιών (5-55 mm, από κόμπο σε κόμπο) όπως προτείνεται από το Ευρωπαϊκό Πρότυπο Προδιαγραφών CEN (2005). Συμπληρωματικά, περιμετρικά του ταμειυτήρα διενεργήθηκε ηλεκτραλιεία σε 5 σταθμούς. Συνολικά, αλιεύθηκαν 3.033 άτομα, που ανήκαν σε 9 είδη και σε 5 οικογένειες και είχαν βάρος 63,85 kg. Η οικογένεια των Cyprinidae ήταν τόσο αριθμητικά όσο και κατά βάρος η πιο άφθονη στο συνολικό αλίευμα (75,83% και 76,34% αντίστοιχα). Το πιο άφθονο αριθμητικά και κατά βάρος είδος ήταν το *Alburnus thessalicus* (66,17% και 41,94% αντίστοιχα). Η σύλληψη ανά μονάδα αλιευτικής προσπάθειας (με δίκτυα) ως προς τον αριθμό (NPUE) και το βάρος (WPUE) των ατόμων κάθε είδους κυμάνθηκε από 1,420-0,001 άτομα/m² και 20,566-0,002 g/m² αντίστοιχα. Το είδος με τη μεγαλύτερη NPUE και WPUE ήταν το *Alburnus thessalicus* ενώ οι μικρότερες τιμές υπολογίστηκαν για το *Knipowitschia thessala*. Η αξιολόγηση της σύνθεσης της ιχθυοπανίδας γίνεται σε συνδυασμό με το προφίλ της τροφικής κατάστασης του ταμειυτήρα και γενικότερα με την υδρο-οικολογία του συστήματος. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης-ΕΤΠΑ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΑΕΙΦΟΡΟΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗ» 2007-2013 του Άξονα Προτεραιότητας «Προστασία Φυσικού Περιβάλλοντος και Βιοποικιλότητας».

FIRST ESTIMATION OF FISH FAUNA IN THE RESTORED ARTIFICIAL LAKE KARLA

Chamoglou Maria¹, Kagalou Ifigenia^{1,2}

1/Management Body of Ecodevelopment Area of Karla - Mavrovouni – Kefalovriso – Velestino, Stephanovikio, Greece 2/ School of Engineering, DUTH, 67100 Xanthi, Greece

The fish fauna (species composition, abundance and age structure) is one of the biological elements proposed by the Framework Directive 2000/60/EC to determine the ecological status of aquatic ecosystems aiming at the protection and the conservation of the aquatic environment. The «new» Lake Karla is a manmade ecosystem, hybrid of the former Lake Karla, shallow, with symptoms of eutrophication. During April 2013 fish sampling was conducted at the Karlas reservoir using benthic gillnets type with multiple mesh-size (5-55 mm, knot to knot) as proposed by the European community for standardization (CEN, 2005). Complementary, at five stations, around the reservoir was conducted electrofishing. A total of 3.033 specimens, weighting 63,85 Kg and belonging to nine species and five families were caught. The most abundant family in the total catch, both in terms of number (75,83%) and weight (76,34%) was Cyprinidae. *Alburnus thessalicus* was the most abundant species in the total catch, both in terms of number (66,17%) and weight (41,94%). The catch per unit effort in terms of number (NPUE) and weight (WPUE) calculated for each species was 1,420-0,001 individuals/m² and 20,566-0,002 g/m² respectively. The higher NPUE and WPUE values were calculated for the species *Alburnus thessalicus*, while the lower ones for *Knipowitschia thessala*. The evaluation of the fish fauna composition is discussed also taking into consideration the trophic state of the reservoir and further the ecohydrological conditions. This research has been co-financed by the European Union (ERDF: European Regional Development Fund- ERDF) and Greek national funds through the Operational Program «Environment and Sustainable Development» 2007-2013 - Priority Axis «Protecting Nature and Biodiversity».

ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ *Pachychilon macedonicum* (Steindachner, 1892) ΣΤΗ ΛΙΜΝΗ ΒΕΓΟΡΙΤΙΔΑ

Χαρισιάδου Στεφάνια, Πετρίκη Όλγα, Μπόμπορη Χ. Δήμητρα

*Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θ. 134, ΤΚ. 54124, Θεσσαλονίκη*

Το *Pachychilon macedonicum* (Steindachner, 1892), με κοινό όνομα Μαυροτσιρώνι, αποτελεί ενδημικό είδος των εσωτερικών υδάτων της Βόρειας Ελλάδας και της ΠΓΔΜ. Για τη βιολογία και οικολογία του είδους υπάρχουν ελάχιστες διαθέσιμες πληροφορίες που αφορούν μόνο στη διατροφή του. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο προσδιορισμός της σχέσης μήκους – βάρους ($W = a \cdot TL^b$) και των παραμέτρων αύξησης (L_∞ , K , t_0 με τη χρήση της μη γραμμικής μεθόδου), του είδους από τη Λίμνη Βεγορίτιδα. Εκτιμήθηκε επίσης, ο δείκτης αύξησης ϕ' . Το δείγμα 241 ατόμων προήλθε από δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε τον Οκτώβριο του 2012, με βενθικά και πελαγικά απλάδια δίχτυα τύπου Nordic. Το εύρος μηκών (TL , cm) των ατόμων που συλλέχθηκαν, κυμάνθηκε από 3,5 ως 8,9 cm. Η σχέση μήκους – βάρους έδειξε ότι η αύξηση του είδους είναι θετική αλλομετρική ($b = 3,24$, t-test: $P < 0,05$). Η ηλικία εκτιμήθηκε από μετρήσεις των ετήσιων δακτυλίων σε λέπια 198 ατόμων, εύρους TL από 4,0 ως 8,9 cm. Η μέγιστη ηλικία που προσδιορίστηκε ήταν 4 έτη. Οι τιμές των παραμέτρων αύξησης που υπολογίστηκαν ήταν: $L_\infty = 11,34$ cm, $K = 0,21/\text{έτος}$, $t_0 = -1,67$ και ο δείκτης αύξησης $\phi' = 1,43$. Το είδος φαίνεται να έχει αναπτύξει πληθυσμό στη λίμνη όπου πιθανότατα έχει εισαχθεί καθώς δεν υπάρχουν παλαιότερες αναφορές για την παρουσία του στο σύστημα.

AGE AND GROWTH OF *Pachychilon macedonicum* (Steindachner, 1892) IN LAKE VEGORITIDA

Charisiadou Stefania, Petriki Olga, Bobori C. Dimitra

Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, P.O. Box 134, 54124, Thessaloniki

Pachychilon macedonicum (Steindachner, 1892), is a freshwater endemic fish of North Greece and FYROM. The biology and ecology of the species are very little known, since the only available information concerns its diet. The aim of the present study was the estimation of the weight – length relationship ($W = a \cdot TL^b$) and the calculation of growth parameters (L_∞ , K , t_0 using the non-linear regression) of *Pachychilon macedonicum* in Lake Vegoritida. The growth index ϕ' was also estimated. Fish sampling was conducted in October 2012, using Nordic type, benthic and pelagic gill nets. A total of 241 fishes were caught with total length (TL, cm) ranging from 3.5 to 8.9 cm. The weight – length relationship revealed that the species growth was positively allometric ($b = 3.24$, t-test: $P < 0.05$). For the age determination, the scales of 198 specimens were used, with TL ranging from 4.0 to 8.9 cm. The highest age determined was 4 years. The estimated growth parameters were: $L_\infty = 11.34$ cm, $K = 0.21/\epsilon\tau\omicron\varsigma$, $t_0 = -1.67$ and the growth index was $\phi' = 1.43$. The species has managed to establish a sustainable population in the lake, where it has been introduced as there are no previous reports of its presence.

ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ CuO ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ II ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΟ ΦΑΝΕΡΟΓΑΜΟ *Cymodocea nodosa*

Χαριτωνίδου Κατερίνα, Μαλέα Παρασκευή, Σπερδούλη Ηλέκτρα, Μουστάκας Μιχάλης
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124
Θεσσαλονίκη

Τα νανοσωματίδια CuO ταξινομήθηκαν το έτος 2006 ως “πολύ τοξικά” για τους υδρόβιους οργανισμούς από την επιτροπή της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τις χημικές ουσίες γιατί αποδείχθηκε ότι είναι τοξικά σε εξαιρετικά μικρές συγκεντρώσεις. Στην εργασία αυτή μελετήσαμε την επίδραση 5 mg/L νανο-CuO (<50 nm) για χρονικό διάστημα 4, 24, 48 και 72h, στη λειτουργία του φωτοσυστήματος II (PS II) στο θαλάσσιο φανερόγαμο *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, με τη μέθοδο της απεικόνισης του φθορισμού της χλωροφύλλης. Η χρονική διάρκεια επίδρασης 4 h είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της απόδοσης φωτονίων του PS II (ΦPSII) με παράλληλη αύξηση της ρυθμιζόμενης μη φωτοχημικής απόσβεσης ενέργειας υπό τη μορφή θερμότητας (ΦNPQ), χωρίς σημαντική μεταβολή της μη-ρυθμιζόμενης αποβολής ενέργειας που χάνεται για άλλες μη φωτοχημικές διαδικασίες (ΦNO). Ωστόσο η αποβολή υπό μορφή θερμότητας της πλεονάζουσας ενέργειας που δεν χρησιμοποιείται για φωτοχημεία, δηλαδή η μη φωτοχημική απόσβεση (NPQ), που θεωρείται ένας σημαντικός μηχανισμός φωτοπροστασίας, δεν ήταν επαρκής για να διατηρήσει ανοικτά τα κέντρα αντίδρασης του PS II στο ίδιο επίπεδο με τον μάρτυρα. Η διάρκεια επίδρασης 24 h δεν προκάλεσε μείωση ΦPSII αλλά προκάλεσε μείωση ΦNPQ με παράλληλη αύξηση ΦNO διατηρώντας όμως ανοικτά τα κέντρα αντίδρασης του PS II όπως στον μάρτυρα. Μεγαλύτερη διάρκεια επίδρασης (48 και 72 h) είχε σαν αποτέλεσμα να διατηρήσει ανοικτά τον ίδιο σχεδόν αριθμό κέντρων αντίδρασης του PS II με τον μάρτυρα, με παράλληλη αύξηση της κατανομής της ενέργειας στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, συγκριτικά με την επίδραση των 4 h. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η μικρή διάρκεια επίδρασης (4h) των νανο-CuO είχε μεγαλύτερες επιπτώσεις στη λειτουργία του PS II της *Cymodocea nodosa*, ενώ στη μεγαλύτερη διάρκεια επίδρασης υπήρξε εγγληματισμός της λειτουργίας του PS II στην επίδραση των νανο-CuO.

EFFECTS OF CuO NANOPARTICLES ON PHOTOSYSTEM II FUNCTIONING IN THE SEAGRASS *Cymodocea nodosa*

Haritonidou Katerina, Malea Paraskevi, Sperdouli Ilektra, Moustakas Michael

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

CuO nanoparticles (NPs) have been classified as “very toxic” to aquatic organisms by the European Chemicals Bureau on 2006, since they have been shown to be toxic at remarkably low concentrations. An imaging pulse amplitude modulated chlorophyll fluorometer (Imaging-PAM) was applied as an effect detector of photosystem II (PS II) functionality after treatment with 5 mg/L CuO-NPs (<50 nm particle size) of the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, for a period of 4, 24, 48 and 72 h. Four h treatment resulted in a decreased quantum yield of photosystem II photochemistry (Φ_{PSII}) with a parallel increase in the regulated non-photochemical energy loss in PSII (Φ_{NPQ}), without any change in the quantum yield of non-regulated energy loss in PSII (Φ_{NO}). However, the dissipation of excess absorbed light energy in PSII as heat, through a process known as non-photochemical quenching (NPQ), that is considered to be an important photoprotection process preventing photodamage to the reaction centers, did not result to maintain open the reaction centers as in control seagrasses. Twenty-four h treatment had no effect on Φ_{PSII} , but decreased Φ_{NPQ} with a concomitant increase of Φ_{NO} , retaining in parallel the same number of reaction centers open as in controls. Longer duration treatment (48 and 72 h) resulted to retain open almost the same number of reaction centers as in controls, with a parallel increase in the allocation of energy to electron transport, than in 4 h treated seagrasses. From our results it is concluded that short duration treatment (4 h) had significant effects on *Cymodocea nodosa* PS II functioning, while in longer duration treatment acclimation of PS II functioning to CuO-NPs was observed.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΟΥ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟΝΙΚΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ DUNALIELLA TERTIOLECTA ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ, ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΥΜΒΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ

Χαρμπή Κασσιανή, Τσαρπαλή Βασιλική, Νταϊλιάνης Στέφανος

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

Τα ιοντικά υγρά είναι μια νέα ομάδα υγρών αλάτων, που χάρη στις μοναδικές ιδιότητές τους, αντικαθιστούν τα τελευταία χρόνια τους παραδοσιακούς διαλύτες σε πλήθος εφαρμογών. Παρόλο που θεωρούνται «πράσινοι διαλύτες», είναι αναγκαίο να μελετηθούν εκτενέστερα οι πιθανές περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους. Η παρούσα εργασία εστιάζει στη μελέτη των φυσιολογικών αποκρίσεων που μπορεί να επιφέρουν τα ιοντικά υγρά bmimBF₄ και omimBF₄, καθώς και το μείγμα τους (bmimBF₄-omimBF₄ 1:1), παρουσία νερού και/ή ακετόνης, στον φυτοπλαγκτονικό οργανισμό *Dunaliella tertiolecta*. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκαν α) ο ρυθμός αύξησης, β) η συγκέντρωση της χλωροφύλλης-α και γ) η συγκέντρωση των ολικών καροτενοειδών, μετά από έκθεση του φυτοπλαγκτονικού οργανισμού για 96h σε διαφορετικές συγκεντρώσεις κάθε ουσίας (1, 10, 100, 200 mg L⁻¹). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, στις περιπτώσεις των omimBF₄/νερό και omimBF₄/ακετόνη, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του ρυθμού αύξησης από την πρώτη μέρα έκθεσης (24h), ενώ αντίθετα στην περίπτωση των bmimBF₄/νερό και bmimBF₄/ακετόνη, παρατηρήθηκε αναστολή της αύξησης των κυττάρων στις 24h, η οποία εξασθένησε σημαντικά με το πέρασ του χρόνου. Τα επίπεδα των καροτενοειδών και της χλωροφύλλης α, τα οποία είναι σημαντικά για την ανάπτυξη και επιβίωση των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών, παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές με το πέρασ του χρόνου στα εκτιθέμενα μικροφύκη. Η παρούσα μελέτη καταδεικνύει ότι τα ιοντικά υγρά, όπως το bmimBF₄ και το omimBF₄, μπορούν να μεταβάλουν τον φυσιολογικό ρυθμό αύξησης των μικροφυκών, επηρεάζοντας την παραγωγή του συνόλου των καροτενοειδών και κατ' επέκταση την προστασία του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Λαμβάνοντας υπόψη πως τόσο το μέγεθος της αλκαλικής αλυσίδας όσο και το ανιόν BF₄⁻ διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην τοξικότητα των ιοντικών υγρών, φαίνεται πως η αλληλεπίδρασή τους με το νερό ή/και την ακετόνη παίζει θεμελιώδη ρόλο στις μεταβολές τόσο του φυσικοχημικού τους προφίλ όσο και της φυτοτοξικής τους δράσης.

PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF THE UNICELLULAR ALGAE DUNALIELLA TERTIOLECTA AFTER EXPOSURE TO IONIC LIQUIDS, IN THE PRESENCE OF CONVENTIONAL SOLVENTS

Charmpi Kassiani, Tsarpali Vasiliki, Dailianis Stefanos

Section of Animal Biology, Department of Biology, School of Natural Sciences, University of Patras, 26500, Patra, Greece

Ionic liquids (ILs) are a novel class of liquid salts, which due to their unique properties, are commonly used in numerous applications. Although they are considered as «green solvents», the potential environmental impact posed by these compounds needs further investigation. This paper focuses on the study of physiological responses of the unicellular algae *Dunaliella tertiolecta*, after exposure for 96h to different concentrations (1, 10, 100, 200 mg L⁻¹) of ILs, such as bmimBF₄ and omimBF₄, as well as their binary mixture (bmimBF₄-omimBF₄ 1:1), prior diluted in either water or acetone. According to the results, algae exposed for 24h to omimBF₄/water and/or omimBF₄/acetone showed decreased levels of growth rate (24h), while in the case of bmimBF₄/water and bmimBF₄/acetone, the obtained results were attenuated with time. Additionally, the levels of total carotenoids and chlorophyll-a content, which are useful indicators of algal growth and survival, showed significant alterations over time in exposed algae, in all cases. In overall, the present study showed that imidazolium-based ILs, such as bmimBF₄ and omimBF₄, could alter the physiological growth rate of unicellular algae, thus affecting the production of total carotenoids and the concomitant protection of the photosynthetic apparatus over time. Since there is evidence that both ILs alkyl chain length as well as BF₄⁻ anion could play a key role in the obtained ILs toxicity, their interaction with water and/or acetone seemed to play fundamental role in alterations occurred in both their physicochemical profile and their phytotoxic behavior as well.

ΤΟ ΜΕΓΑΛΟ ΜΗ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΤΙΚΟ RNA WNTRLINC1 ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ, ΤΙΣ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΑΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΕΠΙΘΗΛΙΟ

Χατζής Παντελής

Division of Molecular Biology & Genetics, Biomedical Sciences Research Center 'Alexander Fleming', 34 Fleming Street, 16672 Vari, Greece

Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt παίζει κεντρικό ρόλο στη συντήρηση των βλαστικών κυττάρων, στη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό στο εντερικό επιθήλιο. Μεταλλάξεις στις πρωτεΐνες APC, AXIN ή β-catenin προκαλούν ανώμαλη μεταγραφική ενεργοποίηση του συμπλόκου TCF4/β-catenin -του τελικού σηματοδοτικού αποδέκτη του Wnt- και είναι ο κύριος παράγοντας καρκινικού μετασχηματισμού στο εντερικό επιθήλιο. Προηγούμενη έρευνά μας στους μηχανισμούς μεταγραφικής ενεργοποίησης από Wnt αποκάλυψε την ύπαρξη μεγάλων μη κωδικοποιητικών RNA (lincRNAs) που αποτελούν νέους μεταγραφικούς στόχους του μονοπατιού. Ένα από αυτά, το WNTRLINC1, ρυθμίζει θετικά παράγοντες απαραίτητους για τη συντήρηση των εντερικών βλαστικών κυττάρων και καταστέλλει γονίδια που απαιτούνται για την εντερική διαφοροποίηση. Είναι απαραίτητο για το συνεχιζόμενο πολλαπλασιασμό των εντερικών καρκινικών κυττάρων και υπερκεφράζεται σημαντικά σε καρκινικά δείγματα ασθενών. Ασκει τις δράσεις του διαμορφώνοντας τη προσβασιμότητα στη χρωματίνη των μεταγραφικών ρυθμιστικών παραγόντων με τα οποία αλληλεπιδρά. Το WNTRLINC1 αντιπροσωπεύει ένα νέο παράγοντα που ενέχεται στην φυσιολογική και μη εντερική λειτουργία και αποτελεί πιθανό διαγνωστικό και θεραπευτικό εργαλείο στον καρκίνο του εντέρου.

THE LONG NON-CODING RNA WNTRLINC1 REGULATES TRANSCRIPTION, STEMNESS AND CARCINOGENESIS IN THE INTESTINAL EPITHELIUM

Hatzis Pantelis

Division of Molecular Biology & Genetics, Biomedical Sciences Research Center 'Alexander Fleming', 34 Fleming Street, 16672 Vari, Greece

The canonical Wnt pathway plays a central role in stem cell maintenance, differentiation and proliferation in the intestinal epithelium. Mutations in pathway components APC, AXIN or β -catenin lead to aberrant transcriptional activity of the TCF4/ β -catenin complex, the endpoint of the Wnt pathway, and are the primary transforming factor in colorectal cancer. Our research on Wnt-mediated transcriptional regulation has identified long intergenic non-coding RNAs (lincRNAs) as novel targets of the Wnt pathway. One of these, termed WNTRLINC1, positively regulates factors required for intestinal stem cell maintenance and represses pro-differentiation genes. It is required for continued proliferation of colorectal carcinoma cells and is significantly upregulated in colorectal cancer patient samples. It exerts its impacts by modulating the chromatin accessibility of transcription regulatory factors with which it interacts. WNTRLINC1 represents thus a new player involved in normal and abnormal intestine physiology and a putative novel diagnostic and therapeutic target in colorectal cancer.

ΜΙΑ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΦΟΡΗΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΟΥ

Χονδρογιάννης Χρήστος, Γραμματικόπουλος Γεώργιος

Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Ρίο

Ο φθορισμός της χλωροφύλλης αποτελεί ένα γρήγορο, μη καταστρεπτικό τρόπο εκτίμησης της φυσιολογικής κατάστασης της φωτοσυνθετικής συσκευής. Η ανάλυση της ταχείας φάσης ανόδου του φθορισμού της χλωροφύλλης (JIP-test) παρέχει μεγάλη ποσότητα πληροφορίας σχετικά με τη ροή ενέργειας μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων. Οι μετρήσεις και οι παράμετροι που εξάγονται από το JIP-test εκφράζονται είτε ανά δραστικό ενεργό κέντρο (RC), είτε ως αναλογίες (αποδόσεις). Ωστόσο, η έκφρασή τους ανά διατομή του μετρούμενου δείγματος (CS) παρέχει πιο ουσιαστική πληροφορία όταν τα ερωτήματα είναι οικοφυσιολογικού τύπου. Σε αυτή την περίπτωση είναι απαραίτητη η γνώση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης στο μετρούμενο δείγμα. Όταν πραγματοποιούνται μετρήσεις στο πεδίο, η άμεση και γρήγορη εκτίμηση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης με το ίδιο όργανο και ταυτόχρονα με την καταγραφή του φθορισμού θα ήταν η ιδανική προσέγγιση. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η συσχέτιση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης, όταν αυτή υπολογίζεται φωτομετρικά, με παραμέτρους που εξάγονται από το JIP-test. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *Capparis spinosa*, *Eucalyptus globulus* και *Populus tremula*. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν πως τόσο ο ελάχιστος (F0), όσο και ο μέγιστος (FM) μετρούμενος φθορισμός δεν εμφανίζει κάποια συσχέτιση με το ποσό της χλωροφύλλης όπως προτείνεται στη βιβλιογραφία. Αντίθετα, ο δείκτης Sm, που σχετίζεται με το απόθεμα των πλαστοκινονών (PQ pool) στην αναγωγική πλευρά του φωτοσυστήματος I, εμφανίζει καλή συσχέτιση με τη συγκέντρωση των χλωροφυλλών.

AN ALTERNATIVE METHOD TO EVALUATE CHLOROPHYLL CONCENTRATION WITH THE USE OF A PORTABLE FLUOROMETER

Chondrogiannis Ch., Grammatikopoulos G.

Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, University of Patras, 26504, Rio

Chlorophyll fluorescence is a fast, non-destructive way to evaluate the physiological status of the photosynthetic apparatus. The analysis of the fast phase of chlorophyll fluorescence induction (JIP-test) provides detailed information regarding the energy flow around the two photosystems. The measurements and the parameters that are extracted from the JIP-test, are expressed either per reaction center (RC), or as ratios (yields). However, their expression per cross-section of measured sample (CS), would provide more substantial information, when the questions are ecophysiological. In this case, the knowledge of chlorophyll concentration of the measured sample is necessary. When measurements are conducted in the field, the fast evaluation of chlorophyll concentration with the same instrument and concurrently with the fluorescence recording would be an ideal approach. In the current study the correlation between the chlorophyll concentration, as calculated photometrically, with parameters extracted from JIP-test, has been examined. In these experiments, *Capparis spinosa*, *Eucalyptus globulus* and *Populus tremula* have been used. The results show that neither the minimum (F₀) nor the maximum (F_M) fluorescence show a significant correlation with the amount of chlorophyll as proposed in the literature. On the other hand Sm index, which is related with the plastoquinone pool (PQ pool) at the reduction side of photosystem I, shows a good relationship with chlorophylls concentration.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ ΔΕΥΔΡΟΓΕΝΑΣΗΣ LDH-5 ΣΤΗΝ ΑΚΤΙΝΟΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

**Χόνδρου Παναγιώτα, Πουλίου Σταματία, Γιατρομανωλάκη Αλεξάνδρα, Κουκουράκης
Ι. Μιχαήλ**

*Κλινική Ακτινοθεραπευτικής Ογκολογίας – Μονάδα Ραδιοβιολογίας και
Ραδιοπαθολογίας. Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής – Μονάδα Ανοσοϊστοχημείας
και Ανοσοβιολογίας. Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα*

Τα καρκινικά κύτταρα ακολουθούν συνήθως το μονοπάτι του αναερόβιου μεταβολισμού. Η γαλακτική δευδρογενάση (LDH) αποτελεί ένζυμο κλειδί σε αυτό το μονοπάτι. Μεταξύ των 5 ισοενζύμων της LDH, η LDH-5, η οποία κωδικοποιείται από το γονίδιο LDH-A, καταλύει ισχυρά τη μετατροπή πυροσταφυλικού σε γαλακτικό. Η μελέτη του ενζύμου αυτού θεωρήθηκε κομβική εφόσον είναι υπερεκφρασμένη εκλεκτικά στα καρκινικά έναντι των φυσιολογικών. Επιλέξαμε λοιπόν την LDH5 προκειμένου να διαπιστωθεί η σχέση του αναερόβιου μεταβολισμού με την ευπάθεια του νεοπλασματικού κυττάρου έναντι στην ακτινοβολία. Για το σκοπό αυτό διενεργήθηκαν πειράματα αποσιώπησης του ενζύμου και στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση στην ακτινευσαισθησία καρκινικών κυττάρων προστάτη (DU-145, PC-3). Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί τη συχνότερη μορφή καρκίνου στους άνδρες. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές όπως ανοσοαποτύπωση κατά Western για ανίχνευση του ενζύμου και η χρήση της AlamarBlue® Assay σε πειράματα βιωσιμότητας και ακτινευσαισθητοποίησης, ενώ τα πειράματα αποσιώπησης έγιναν με χρήση si-RNA της LDH-5. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τις υποθέσεις για άμεση συσχέτιση του αναερόβιου μεταβολισμού και της ακτινευσαισθησίας των καρκινικών κυττάρων προστάτη, αφού απέδειξαν ότι η αποσιώπηση του ενζύμου, που έχει ως επακόλουθο την αναστολή του μονοπατιού της αναερόβιας γλυκόλυσης, μειώνει την αντοχή των συγκεκριμένων κυτταρικών σειρών στην ακτινοβολία.

THE ROLE OF LACTATE DEHYDROGENASE LDH-5 IN THE RESISTANCE OF PROSTATE CANCER CELLS TO RADIOTHERAPY.

Chondrou B., Pouliliou S., Giatromanolaki A., Koukourakis M.

Department of Radiotherapy and Oncology – Radiobiology and Radiopathology Unit. Department of Pathology – Immunohistochemistry and Immunobiology Unit. Medical School, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece

Cancer cells are addicted to anaerobic glycolysis. Lactate dehydrogenase is a key enzyme in this pathway. Among its five isoenzymes, LDH-5 is the most potent for the conversion of pyruvate to lactate and is encoded by the LDH-A gene. The study of this enzyme is important in cancer research as this is selectively up-regulated in cancer cells compared to normal cells. In the current study we investigated the relationship between anaerobic metabolism and radiosensitivity. We, therefore, performed experiments based on the LDH-5 silencing in prostate cancer cell lines, a cancer that is common in men. In the context of this project we used western blot analysis in order to detect the enzyme and its silencing, as well as the AlamarBlue® assay for the assessment of the viability and radiosensitivity of cancer cells. The silencing was achieved by a pool of si-RNAs specific for the LDHA gene. The results confirmed the hypothesis that anaerobic glycolysis is a major pathway defining prostate cancer cell radio-resistance. Indeed, silencing of the LDHA gene, that inhibits the anaerobic pathway, reduced the resistance of these cancer cell lines to radiation.

ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΗΣ ΤΥΤΩ, ΤΥΤΟ ALBA (SCOPOLI, 1769), ΠΟΙΚΙΛΩΝ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΠΡΟ

Χρίστου Μαρία¹, Γκούτνερ Βασίλειος¹, Κασίνης Νίκος²

*¹Εργαστήριο Ζωολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα- ²Υπηρεσία Θήρας και
Πανίδας, Υπουργείο Εσωτερικών, 1453, Λευκωσία, Κύπρος*

Η διαίτα του είδους *Tyto alba* στη Κύπρο, ενός νυκτόβιου αρπακτικού της τάξης των Strigiformes, μελετήθηκε εκτεταμένα μέσω εμεσμάτων (pellets). Η ανάλυση των εμεσμάτων παραμένει η πιο κατάλληλη μέθοδος για τη μελέτη της διατροφής των Strigiformes μέχρι σήμερα και η γνώση των διατροφικών συνηθειών τους αποσκοπεί στην κατανόηση της οικολογίας τους, της συμπεριφοράς τους και εμμέσως των οικοτόπων τους. Συγκεκριμένα συλλέχθηκαν υπολείμματα της διατροφής του είδους από 20 περιοχές στις Επαρχίες Λεμεσού, Λευκωσίας και Λάρνακας, είτε από τεχνητές (nest boxes) είτε από φυσικές φωλιές. Οι δειγματοληψίες έγιναν τον τελευταίο μήνα κάθε εποχής, την περίοδο 2013-2014 και εξετάστηκε η παρουσία διακυμάνσεων στην διαίτα του ανά εποχή. Μέχρι στιγμής συγκεντρώθηκαν 643 pellets (1488 άτομα, $\bar{x} = 2,31$ άτομα ανά pellet) και αναμένεται μια τελευταία δειγματοληψία τον μήνα Μάιο για να ολοκληρωθεί ένας ετήσιος κύκλος δειγματοληψιών. Το εύρος τιμών της μέσης βιομάζας της λείας κυμαινόταν από 14,9 g (καλοκαίρι 2013) μέχρι 17,7 g (φθινόπωρο 2013). Οι τιμές αυτές δείχνουν ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των εποχών που μελετήθηκαν (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 3,00$, $df = 2$, $p = 0,22$). Στην εργασία αυτή, διερευνάται επίσης η συσχέτιση της λείας του αρπακτικού αυτού με το ενδιαίτημά του, σε ποικίλα χερσαία οικοσυστήματα. Εξέχοντα ρόλο στη λεία του, διαδραματίζουν τα μικρά θηλαστικά και δευτερεύοντα τα πτηνά και τα έντομα (ποσοστό αντιπροσώπευσης 96,28%, 2,06% και 1,66% αντίστοιχα). Τα είδη με την μεγαλύτερη αφθονία, τα οποία συνιστούν κυρίως την λεία της Τυτώ είναι τα θηλαστικά *Mus* spp., *Rattus rattus*, *Crocidura suaveolens cypria*. Η μελέτη αυτή αποτελεί την πιο ολοκληρωμένη έρευνα που αφορά τη διατροφική οικολογία της Τυτώ στη Κύπρο.

ECOLOGICAL ANALYSIS OF BARN OWL (TYTO ALBA) DIET IN DIVERSE TERRESTRIAL ECOSYSTEMS, IN CYPRUS

Christou Maria¹, Goutner Vassilis¹, Kassinis Nikos²

*¹Laboratory of Zoology, Department of Zoology, School of Biology Aristotle University of
Thessaloniki, Thessaloniki 541 242, Greece-²Game & Fauna Service, Ministry of the Interior,
Nicosia, 1453, Cyprus*

The diet of the Barn Owl (*Tyto alba*) in Cyprus, a nocturnal raptor of the order Strigiformes, was extensively examined through pellet analysis. Available evidence indicates that pellet analysis is still the most suitable method of studying the diet of owls. Species' food consumption has contributed to enhance our knowledge about their ecology and behavior, and thus has become a valuable tool in the research for the management and protection of important habitats. Specifically remnants of food were collected from 20 locations, in both natural and artificial nests (nests boxes), in three districts of Cyprus: Limassol, Nicosia, Larnaca. Samples were taken the last month of each season during the period 2013-2014, to investigate if any fluctuations occur in the diet seasonally. Up to this moment, a total of 643 pellets (1488 prey items, $x = 2.31$ prey per pellet) were collected and to complete an annual cycle, a last visit in May is scheduled. Mean prey biomass ranged from 14.9 g (summer 2013) to 17.7 g (autumn 2013). Overall, there weren't statistically significant differences between the seasons (Kruskal -Wallis $\chi^2 = 3.00$, $df = 2$, $p = 0.22$). In addition, this study examines the correlation of Barn Owl's diet and its habitat, in diverse terrestrial ecosystems. This predator captures mainly small mammal species; while birds and insects are less common prey species (the proportion in the diet of each group was 96.28%, 2.06% and 1.66% respectively). Species more abundant were the mammals *Mus* spp., *Rattus rattus* and, *Crocidura suaveolens* cypria. This study represents the most complete feeding habits analyses for the Barn owl in Cyprus up to this day.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΕΤΟΥΙΝΗΣ ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ, ΣΕ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΣΠΙΝΘΗΡΟΓΡΑΦΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ

**Ψωμιάδου Αγγελική², Τσαρτσάρης Αντώνιος¹, Μπαλόκα Λουκία², Βάτσιου Σοφία²,
Φασουλή Ειρήνη-Σοφία², Μπάρμπα Ευγενία-Μαρία², Τσαϊρίδης Δημήτριος¹,
Γιαμουστάρης Αθανάσιος¹, Καραθάνος Ενάγγελος¹, Ζησιμόπουλος Αθανάσιος¹**
*1. Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής, Ιατρικής Σχολής Δημοκριτείου Πανεπιστημίου
Θράκης. 2 Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ. Η φετουΐνη-Α παράγεται από το ήπαρ και είναι μία όξινη γλυκοπρωτεΐνη με λειτουργικότητα αναστολέα κυστεϊνικών πρωτεασών. Το γονίδιό της εδράζεται στο χρωμόσωμα 3 (3q27). Μελέτες σε ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα έδειξαν ότι πολύ χαμηλά επίπεδα φετουΐνης-Α σχετίζονται με τη στεφανιαία αρτηριακή κυκλοφορία. **ΣΚΟΠΟΣ.** Με την παρούσα μελέτη εκτιμώνται οι τιμές της φετουΐνης-Α, στον ορό ασθενών με στεφανιαία νόσο, ως προγνωστικός παράγοντας της νόσου, σε συσχέτιση με την σπινθηρογραφική απεικόνιση αιμάτωσης του μυοκαρδίου σε ηρεμία και κόπωση. **ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .** Μελετήσαμε 30 ασθενείς, 19 άνδρες και 11 γυναίκες μέσης ηλικίας 43 ετών (36 ± 8 έτη) που έπασχαν από στεφανιαία νόσο, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε λειτουργικό έλεγχο μυοκαρδίου στο εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής του Δημοκριτείου Πανεπιστημίου Θράκης στο ΠΓΝΑ, με ταυτόχρονη αιμοληψία για τον προσδιορισμό της φετουΐνης-Α (τεχνική ELISA). **ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.** Η στατιστική ανάλυση έγινε με το χ^2 -test (student test). **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.** Οι φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται από 140-297 mg/L. 18 ασθενείς με μη αναστρέψιμη ισχαιμία εμφάνισαν χαμηλές τιμές (45- 178 mg/L) , εκ των οποίων 6 απεβίωσαν στους προσεχείς 6 μήνες, ενώ οι υπόλοιποι εμφάνιζαν επιβεβαρυμμένη κλινική εικόνα ($p<0,005$) . 8 ασθενείς με αναστρέψιμη ισχαιμία εμφάνισαν σχετικά χαμηλές τιμές (115- 302 mg/L) ($p<0,005$) . 4 ασθενείς με φυσιολογικό σπινθηρογραφικό έλεγχο μυοκαρδίου εμφάνιζαν φυσιολογικές τιμές φετουΐνης (145- 308 mg/L) ($p<0,005$). **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .** Ασθενείς με μη αναστρέψιμη ισχαιμία παρουσιάζουν πολύ χαμηλές τιμές φετουΐνης-Α. Ασθενείς με αναστρέψιμη ισχαιμία παρουσιάζουν στο σύνολο χαμηλές τιμές σε μεγάλο ποσοστό, ενώ ασθενείς με αρνητικό σπινθηρογράφημα εμφανίζουν τιμές εντός ορίων. Οι 6 ασθενείς που απεβίωσαν σε διάστημα 6 μηνών είχαν πολύ χαμηλές τιμές φετουΐνης-Α και επιβεβαρυμμένη κλινική και σπινθηρογραφική εικόνα. Η φετουΐνη-Α αξιολογείται ως αξιόλογος προγνωστικός δείκτης στην παρακολούθηση ασθενών με στεφανιαία νόσο

THE ROLE OF FETUINE AS A PROGNOSTIC FACTOR IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE IN CORRELATION WITH THE SCINTIGRAPHIC IMAGING OF MYOCARDIAL PERFUSION

Psomiadou Aggeliki², Tsartsarakis Antonios¹, Baloka Loukia², Vatsiou Sofia², Fasouli Eirini-Sofia², Barmpa Evgenia-Maria², Tsairidis Dimitrios¹, Giamustaris Athanasios¹, Karathanos Euaggelos¹, Zissimopoulos Athanasios¹

1. Nuclear Medicine Laboratory, Medical School of Democritus University of Thrace 2 Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace

Introduction Fetuin-A an acidic glycoprotein is produced in the liver, as an inhibitor for cysteine protease. The gene is founded in chromosome 3 (3q27). Studies on individuals with clinical cardiovascular illnesses supported that lower levels of fetuin-A are released with coronary artery circulation. **Aim** The evaluation of Fetuin-A values of the patients with coronary heart disease, as a prognostic factor of the illness, in correlation with the scintigraphic imaging of myocardial perfusion during relaxation and exercise. **Methods** 30 participants, 19 male and 11 female, with an average age of 43 (36 ± 8), with coronary heart disease, which were subjected to functional testing of the myocardium, in the Nuclear Medicine Laboratory of Democritus University, in the University Hospital of Alexandroupolis. At the same time blood samples were drawn for the determination of Fetuin-A (ELISA technic). **Statistical Analysis** The x2 student test used for statistical analysis. **Results** The average values of Fetuin-A range between 140-297 mg/L. 18 patients with irreversible ischemia showed low values (45-178mg/l), 6 of them passing away within 6 months, while the rest of them were showing an encumbered clinical condition ($p < 0.005$). 8 patients with reversible ischemia showed relatively low values (115-302mg/L) ($p < 0.005$). 4 patients with a normal myocardiac scintigraphic imaging showed normal values of Fetuin-A (145-308mg/L) ($p < 0.005$). **Conclusions** Patients with irreversible ischemia demonstrated very low values of Fetuin-A. Patients with reversible ischemia show low amounts while patients with a negative Scintigram for ischemia showed normal results of Fetuin-A. The 6 patients that passed away in 6 months showed very low amounts of Fetuin-A and degraded clinical and scintigraphic image. Fetuin-A is supported to be a reliable prognostic factor in monitoring patients with coronary heart disease.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ

A		Βλάικου Α.-Μ.	36	
Αβδίκος Ν.	346	Βλαστός Δ.	88, 178	
Αγγελίδης Χ.		Βλαχονάσιος Κ.	38, 76, 146, 228, 290,	
	44, 128		302	
Αδαμάκης Ι.-Δ.	2, 230, 240	Βλαχονικόλα Ε.	40	
Αδαμοπούλου Μ.	4	Βογιατζόγλου Α.	172	
Αλατάκη Α.	52	Βοργιάς Κ.Ε.	248	
Αλίβερτης Δ.	90	Βουβαλίδης Κ.	296	
Αλιφέρη Α.-Π.	6	Βουδαντά Ε.	42	
Αλφαντάκη Σ.	208	Βουτσάς Ι .	34, 68, 152, 286, 376	
Αμανετίδου Ε.	8	Βουτσελά Α.	118, 164	
Αμπατζόπουλος Θ.	60	Βραζέλη Π.	44, 128	
Αναγνωστόπουλος Α.	66, 72, 276, 294, 308	Βρέκα Μ.	116	
Αναγνωστόπουλος Γ.	84	Βώκου Δ.	46, 234, 370	
Αναγνωστοπούλου Μ.	178	Βογιατζόγλου Α.	172	
Αναστασιάδου Χ .	10, 168	Βοργιάς Κ.Ε.	248	
Αναστασοπούλου Ε.	12, 14, 16, 136, 140	Βουβαλίδης Κ.	296	
Αναστοπούλου Ι.	96, 256	Βουδαντά Ε.	42	
Ανδρέου Α.	20	Βουτσάς Ι .	34, 68, 152, 286, 376	
Ανδρουτσοπούλου Β.	20	Βουτσελά Α.	118, 164	
Ανεστόπουλος Ι.	22	Βραζέλη Π.	44, 128	
Αντωνίου Κ.	326	Βρέκα Μ.	116	
Αντωνοπούλου Ε.	174, 254, 328, 362	Βώκου Δ.	46, 234, 370	
Αποστολάκος Π.	188	Βογιατζόγλου Α.	172	
Αραμπατζή Α.	24	Βοργιάς Κ.Ε.	248	
Αργυρίου Α.	228	Βουβαλίδης Κ.	296	
Αστρεινίδης Α.	300	Βουδαντά Ε.	42	
B		Βουτσάς Ι .	34, 68, 152, 286, 376	
Βαγγοπούλου Χ.	166, 250	Βουτσελά Α.	118, 164	
Βαλάκος Ε.Δ.	74, 164	Βραζέλη Π.	44, 128	
Βαλασάκη Χ.	26	Βρέκα Μ.	116	
Βαλλιάνου Ι.	190, 268, 324	Βώκου Δ.	46, 234, 370	
Βανταράκης Α.	158	Βογιατζόγλου Α.	172	
Βαρέλη Κ.	102, 212	Βοργιάς Κ.Ε.	248	
Βαρθολομάτος Γ.	62, 100, 150, 266	Γ		
Βασιλειάδης Σ.	28, 332, 348		Γαβριηλίδης Μ.	178
Βασιλοπούλου Αί.	162		Γαλάνη Β.	150
Βασιλοπούλου-Καμπίτση Μ.	118		Γαλάνης Α.	28, 260, 332, 348, 374
Βάτσιου Σ.	30, 394		Γαλάνης Χ.	48
Βαφειάδου Α.	356		Γαλάρης Δ.	50, 148, 300
Βαφειάδου Κ.	276		Γαλάτης Β.	188
Βεκιάρη Σ.	28		Γαλή Μ.-Α.	52
Βελισσαράτου Μ.	30		Γάλλιος Γ.Π.	342
Βελτσίστας Π.	64, 70		Γαρεφαλάκη Μ.-Ε.	54
Βερβερίδης Φ.	228		Γερμενής Α.	264
Βεργής Γ.	32		Γερογιάννη Π.	148
Βερίλλης Π.	252		Γεωργιάδης Θ.	160
Βίτσος Π.	34			

Γεωργιόπουλος Ν.	12,14,16,136,138,140	Δρούζας Α.	210
Γεωργίου Γ.	102	Ε	
Γεωργίου Έ.	70	Ελευθερίου Ε.	2,82,230,240
Γεωργίου Ι.	62,150,208	Εμποριάδου Μ.	52
Γιάγκου Μ.	66,72,154,258,276,29 6,308,310,312	Ευαγγελινός Μ.	84
Γιαλελή Α.	56	Ευαγγελόπουλος Α.	86
Γιαμουστάρης Α.	30,394	Ευαγγέλου Χ.	120
Γιαννάκη Ε.	66,72,276,294,308	Ευθυμίοπουλος Σ.	56,304
Γιαννάκη Μ.	58	Ευθυμίου Ι.	88
Γιαννακοπούλου Μ.	64	Ευσταθιάδου Ε.	90
Γιαννουρή Δ.	204	Ζ	
Γιαρμά Ε.	8	Ζαρκάδας Ι.	110
Γιατρομανωλάκη Α.	106,236,390	Ζηκίδου Χ.	92
Γιομπρές Π.	166,250	Ζηκόπουλος Κ.	150
Γκαγκαβούζης Κ.	60	Ζησιμόπουλος Α.	30,394
Γκαδρής Θ.	172	Ζιώγα Μ.	94
Γκάρτζιου Φ.	62,100	Ζορμπά Ε.	96,256
Γκέλης Σ.	32,272,292,306,322	Ζώγας Ν.	72,294
Γκιούλη Μ.	64	Η	
Γκιώκας Σ.	164	Ηλιόπουλος Η.	20
Γκουντής Α.Μ.	66,308	Θ	
Γκούτνερ Β.	392	Θεοφανίδου Θ.Α.	98
Γκραίκου Θ.	68	Θεοφιλίδης Γ.	354,370
Γκρίτζαλης Κ.	12,14,16,136,138,140	Θρασυβούλου Σ.	62,100,266
Γλαβά Μ.	70	Θυφρονίτης Γ.	206
Γούναρη Ε.	72,294	Ι	
Γουρνής Δ.	156	Ιατρού Γρ.	172
Γραμματικόπουλος Γ.	388	Ιγγλέζου Μ.	102,352
Γρηγορούδης Α.	262	Ιλεμόσογλου Μ.	106
Δ		Ιμσιρίδου Α.	220
Δαγκωνάκη Α.	74	Κ	
Δαδάρου Δ.	76	Καβροχωριανού Ν.	206
Δάρας Γ.	240	Κάγκαλου Ι.	378
Δαρσινού Μ.	36	Καζίλα Ε.	104
Δελή Φ.	326	Καθάριος Π.	362
Δήμα Ι.	64	Καϊτετζίδου Ε.	174
Δημητρέλλος Γ.	160	Κακουράτος Χ.	106
Διαλλινάς Γ.	84	Καλαμίδα Δ.	224,236
Διαμαντή Ε.	180	Καλαμποκίδη Α.	108
Διαμάντη Χ.	360	Καλδής Α.	146
Διαμαντίδης Γ.	230	Καλδής Φ.	110
Δογραμματζής Χ.	78	Καλλιαμπάκου Κ.	246
Δόκαλης Ν.	80	Καλλονιάτη Χ.	246
Δόρδας Χ.	350	Καλογήρου Χ.	114
Δρόλια Μ.	102	Καλογιάννη Μ.	176,342
Δροσοπούλου Ε.	88,178	Καλογιάννης Σ.	342

Καλογιαννίδης Π.	72	Κλεισιάρη Ε.	154
Καλπαξής Δ.Α.	170	Κόγκα Ε.	156
Καμπά Δ.	158	Κοκκίνη Σ.	24,216,290,314
Κανελάκη Κ.	108	Κόκκινος Π.	158
Καπλανιάν Ε.Α.	172	Κόκκορης Ι.	160
Καπόλας Γ.	132	Κοκκόσης Α.Γ.	162,172
Καραγιάννη Ή.	158,214	Κολιάκος Γ.	176
Καραγιάννη Μ.	116	Κοντογιάννη Β.	134
Καραθάνος Ε.	394	Κοντοπίδης Γ.	262
Καραϊσκού Ν.	54,60,222	Κορμάς Κ.Α.	42,214
Καραλιάς Γ.	246	Κοτζιαλάμπου Α.	308
Καραμανίδης Δ.	346	Κοτσακιόζη Π.	118,164
Καραμπάτσου Α.	118	Κοτσιλίτη Ε.	270
Καραούζας Ι.	12,138,140	Κουβάτση Α.	316,368
Καραπαναγιωτίδης Ι.Θ.	252	Κούβελας Η.	166,250
Καραπάντζου Ι.	106	Κούγια Έ.	158
Καραπέτσας Α.	120,350	Κουκ Κ.-Μ.	24,314
Καρβελά-Καλογεράκη Η.	84	Κουκλής Π.-	198
Καρενά Α.	122,182	Κουκουράκης Μ.	98,106,224,236,390
Καρέτσου Ζ.	320	Κουμάση Δ.	212
Καριπίδου Σ.	124	Κουνουγέρη Α.	264
Καρκαμπούνας Σ.	64,70	Κουπουρτίδου Χ.	166,250
Καρλή Χ.-Ε.	126	Κουρέας Δ.	216
Καρούσου Ρ.	24,216	Κουρκουτάς Ι.	226,260
Καρπώνη Γ.	276	Κουρμουλή Έ.-Χ.	168
Κάρτα Ε.	356	Κουρνούτου Γ.Γ.	170
Καρυοφύλλης Κ.	258	Κουτσούμπας Δ.	86
Κασίνης Ν.	392	Κρίγκας Ν.	234
Κασιούμη Π.	44,128	Κροντηρά Α.	172
Καταπόδης Π.	58,90,110,156,202	Κυριάκης Δ.	174
Κατράκη-Παύλου Σ.	130	Κυριζάκη Π.	178
Κάτσαβου Ε.	132	Κυρίτσης Α.	62
Κατσάνος Δ.	114	Κύρκα Κ.	176
Κατσιάρας Ν.	86	Κωλέττας Ε.	266
Κατσικούδη Α.	134	Κωνσταντακόπουλος Κ.	160
Κατσόγιαννου Ι.	12,14,16,136,138,140	Κωνσταντή Μ.	36
Κατσούρα Μ.	90,156,202	Κωνσταντινίδης Κ.	218
Κατσούρας Χ.	128	Κωνσταντίνου Α.	100
Κατάν Φ.-Γ.	144	Κωστόπουλος Ν.Π.	170
Κατωπόδη Θ.	60	Κωστούλας Χ.	150
Κετίκογλου Μ.-Χ.	146	Κωτσοπούλου Ε.	180
Κητσιούλη Ε.	232	Κωφίδου Δ.	178
Κιτσάτη Ν.	148	Λ	
Κίτσιου Π.	180	Λαγοπάτη Ν.	180,300
Κίτσου Χ.	150	Λαζαρίδου Μ.	296
Κλάγκου Ε.	152,264	Λάζαρος Λ.	150

Λάζου Α.	80	Μερτζανίδου Μ.	218
Λάζου Π.	182	Μηλιώνη Δ.	132
Λάμαρη Φ.Ν.	172	Μηνά Α.	220
Λαμπρακάκης Χ.	48	Μηνούδη Σ.	222
Λαμπριανίδου Α.	232	Μητράκας Α.Γ.	224,236,310
Λαμπρόπουλος Α.	52	Μητροπούλου Γ.	28,226
Λαναράς Θ.	24,314	Μητσάκου Α.	166,250
Λεγάκη Α.	184	Μητσιώνη Α.	208,280
Λέκκα Μ.-Ε.	232	Μίνος Γ.	220
Λεονάρδος Ι.	60,168,186,344	Μίντζας Α.	270
Λεοτσινίδης Μ.	170	Μιχαηλίδης Β.	40,258
Λεωνίδας Δ.	262	Μιχαηλίδης Θ.	36,274,330
Λιάσκο Ρ.	168	Μιχαλούδη Ε.	334
Λιβανός Π.	188	Μονοκρούσος Ν.	196
Λιούλια Ε.	190,268	Μούγιου Ν.	228
Λισγάρας Χ.	192	Μουζάκη Α.	280
Λούρος Ν.Ν.	194,244	Μουστάκα Ι.	230
Λύτη Ε.	196	Μουστάκα Κ.	232
Μ		Μουστάκας Μ.	230,382
Μαγκίνα Ν.	264	Μπάγκου Ε.	234
Μάζαρης Α.	334	Μπακανδρίτσος Α.	312
Μακρής Α.Μ.	228	Μπαλανίκα Κ.	118
Μαλέα Π.	382	Μπαλόκα Λ.	30,394
Μαλταμπέ Β.Α.	198	Μπαμπαλή Ζ.	236
Μάντζιου Σ.	266	Μπαντοτάκη Ε.	240
Μανώλη Μ.	200	Μπαξεβάνης Κ.	376
Μαργαρίτη Μ.	162,172	Μπαρδούκη Χ.	332
Μαργιολάκη Α.	202	Μπάρμπα Ε.-Μ.	30,394
Μαρινάκης Ν.	204	Μπάρου Β.	242
Μαρκογιαννάκη Μ.	206	Μπέης Δ.	6
Μαρκογιάννη Β.	16,138	Μπέκας Ν.	134
Μαρκόπουλος Γ.	266	Μπέλλου Σ.	134,150
Μαρκούλα Σ.	62	Μπερή Δ.	132
Μαρμαρά Κ.	208	Μπιμπίλας Α.	226
Μαρσέλος Μ.	326	Μπάρου Β.	242
Μαστρογιάννη Α.	210	Μπλιάτκα Δ.	240
Μαστρολέων Ι.	304	Μποζαμπαλίδης Α.	364
Μαυραγάνη-Τσιπιδου Π.	88,178	Μπόλας Γ.Μ.	244
Μαυρογιώργου Μ.-Χ.	212	Μπόμπορη Δ.Χ.	356,380
Μαυροειδή Π.	304	Μπότου Μ.	182,246,288
Μαυροθαλασσίτη Η.	74	Μπουκουβάλα Σ.	204
Μαυροφρύδη Ο.	304	Μπούλακα Α.	70
Μεζίτη Α.	158,214	Μπουλάκη Β.Κ.	248
Μελιδώνη Α.	198	Μπούρμπουλα Μ.-Θ.	166,250
Μελλίδης Κ.	80	Μπουρσιάκη Β.	252
Μερτζανίδης Δ.	216		

Μπούσδρας Θ.	254	Παπαϊωάννου Ν.	34,286
Μπριασούλης Ε.	44,102,212,352	Παπακώστας Κ.	182,246,288
Μυριαγκού Β.	152	Παπαμαρκάκη Θ.	320,344
Μωραΐτης Κ.	96,256	Παπανδρέου Ν.Χ	194,248
Ν		Παπαντωνάκη Η.	290
Ναθαναηλίδης Κ.	40	Παπαπαναγιώτου Γ.	292
Νάκος-Μπίμπος Μ.	258	Παπαροδόπουλος Σ.	158
Νιζάμης Κ.	154	Παπασιδέρη Ιωα.	144
Νικάκου Μ.	260	Παπαχριστοφή Β.	150
Νικολαΐδου Α.	184,336	Παππά Α.	22,28,332,348,374
Νικολάου Α.	226,260	Παρασκευάς Β.	72,294
Νικολόπουλος Β.	262	Παρμακέλης Α.	118,164
Νίκου Σ.	152,264	Πατήλα Μ.	156,202
Νουτσόπουλος Δ.	100,266	Πατσιά Α.	296,356
Νταϊλιάνης Σ.	358,360,384	Παφίλης Π.	94,104
Ντάκης Α.	10,168	Περιβολιώτη Τ.	296
Ντάφου Δ.	190,268,324	Πετράκης Σ.	176
Ντίνα Ο.	190,268	Πετρίκη Ο.	380
Ντισλίδου Χ.	296	Πετρόπουλος Μ.	298
Ξ	40	Πηλίδης Γ.	110
Ξαγαρά Α.	36	Πολίτου Α.	344
Ο	170	Πολύδερρα Α.	90,156,202
Οικονομίδου Β.Α.	194,244	Πολύμερος Κ.	366
Οικονόμου Κ.	270	Πολυσσίδη Α.	326
Π		Πορλού Δ.	40
Πάλλη Ε.	154	Πουϊκλή Α.	176
Παναγιωτίδης Μ.	22	Πουλιλιού Σ.	390
Παναγιωτόπουλος Ν.Θ.	252	Πούλιος Ε.	300
Πάνου Μ.	272	Πούλιος Σ.	38,76,146,302
Παντερής Ε.	2,230,240,364	Πρωτοψάλτης Π.Ο.	304
Παπαγεωργίου Κ.	274,330	Ρ	306
Παπαγιάννη Π.	72,276	Ράμμου Δ.-Λ.	306
Παπαδημητρίου Ι.	368	Ράντογλου Ε.-	66,308
Παπαδόδημα Σ.	256	Ρειζοπούλου Σ.	184
Παπαδοπούλου Αθ.	90	Ρήγας Σ.	240
Παπαδοπούλου Α.	58,72,202	Ρουμπάτης Λ.	64
Παπαδοπούλου-Αλατάκη Ε.	52	Ρούσσης Α.	26,132
Παπαδοπούλου Ε.	58,278	Σ	376
Παπαδοπούλου Ζ.	280	Σαγώνας Κ.	74
Παπαζαφείρη Π.	56,304	Σαϊνης Ι .	102,196,212,352
Παπαζήση Ε.	86	Σαΐτη Ε.	150
Παπαθανασίου Μ.	266	Σακάλογλου Π.	150
Παπαθανασίου Π.	70	Σακούλα Δ.	218,310,312
Παπαθανασίου Φ.	350	Σαλίφογλου Α.	354
Παπαϊωάννου Ι.Α.	282,284	Σαμαρά Ε.	314

Σαμαρά Π.	34,68,152,264,376		
Σανδαλτζόπουλος Ρ.	120,350	Τερζοπούλου Σ.	118
Σαξάμη Γ.	28,374	Τζαβάρας Θ.	62,100,150,266
Σαραφίδου Γ.	108	Τζάκος Α.	134
Σαρρόπουλος Ι.	316	Τζίμα Ε.	320,344
Σγαρδέλη Β.	318	Τηνιακού Α.	160
Σγουραμάλη Ε.	308	Τιπτιρή-Κουρπέτη Α.	28,332,346,348
Σερίφη Η.	320,344	Τοκαμάνη Μ.	120,350
Σιαμέτη Α.	66	Τοκατλίδης Ι.	350
Σιαμοπούλου-Μαυρίδου Α.	208	Τομπουλίδου Ε.	348
Σιαμπούλη Κ.	322	Τούκα Α.	196,352
Σιβροπούλου Α.	238	Τούκλη Δ.	68
ΣιγάλαΚ.	184	Τουράκη Μ.	8
Σιμόπουλος Κ.	30,346,394	Τουφεξή Α.	8
Σίμος Γ.	148	Τράγκα Θ.	232
Σιναπίδου Ε.	350	Τρακατέλλη Χ.	52
Σιούτας Γ.	324	Τραντάς Ε.	228
Σκούρας Ζ.	218,294,310,312	Τραχανά Β.	176
Σμαραγδή Ε.	326	Τριανταφυλλίδης Α.	54,60,174,222,316
Σουμαλεύρης Α.	328	Τσαβέ Ό.-	354
Σούρδη Θ.	330	Τσαϊρίδης Δ.	394
Σουψανά Κ.	344	Τσάκας Σ.	298
Σπέλλα Μ.	116	Τσακούμης Ε.	356
Σπερδούλη Η.	382	Τσαλίκη Ε.	64
Σπηλιοπούλου Χ.	256	Τσαμαδού Σ.	178
Σπυριδοπούλου Κ.	28,332,348	Τσαπάρα Γ.	172
Σπύρου Γ.	300	Τσαρπαλή Β.	358,360,384
Σταθόπουλος Γ.Θ.	116	Τσαρτσαράκης Α.	30
Σταθοπούλου Π.	84	Τσέρτου Μ.Ι.	362
Στάικου Α.	54,258	Τσίγκας Ι.	274
Σταματάκης Α.	166,250	Τσίκληρας Α.	92,124,366
Σταμάτης Χ.	58,90,134,156,202,240	Τσιλιμαντού Α.	364
Στάμου Γ.	334	Τσιλιμπάρη Ε.	180
Σταμούλη Αικ.	336	Τσιμογιάννης Δ.	226,348,374
Σταυρακίδης-Ζάχου Ο.	338	Τσιολάκη Π.Α.	194,244
Στεργίου Κ.Ι.-	340,366	Τσιριπίδης Ι.	210
Στυλιανοπούλου Φ.	166,250	Τσίρκα Θ.	204
Σύρρου Μ.	36,280	Τσίρος Β.-Ζ.	366
Σφακιανός Α.	22	Τσιρούκης Α.	210
Σωτηρόπουλος Α.	54	Τσιτουρίδου Μ.	368
Σωτηρόπουλος Κ.	126	Τσιτσάμη Ε.	264
Τ		Τσιτσιλώνη Ο.	34,68,152,264,286,376
Ταζέ Χ.	342	Τύπας Μ.Α.	282,284
Τάνου Γ.	230	Υ	
Τελώνης Α.Γ.-	162	Υψηλάντης Π.	346

Φ		Ψ	56,304
Φακής Γ.	204	Ψαθά Ν.	66
Φαλάρας Π.	180	Ψαρροπούλου Α.	144,192
Φαλιάγκας Λ.	370	Ψωμιάδου Α.	394
Φασουλή Ε.-Σ.	30,394	Ω	
Φατούρος Δ.	312	Ωραιοπούλου Β.	226,348,374
Φειδάκη Ρ.	158		
Φειδάντσης Κ.	40,174,254,258,328,300	Bodai L.	38
Φίρμπας Π.	164	Boros I.	38
Φίτσιου Ε.	28,332,374	Doonan J.	76
Φλεμετάκης Ε.	246	Espeso E.A.	200
Φλυτζάνης Κ.	114,242	Fet V.	118
Φόρτης Σ.	68,376	Fišer C.	10
Φριλίγγος Ε.	122,182,212,246,288,000	Gasco L.	254
Χ		Greber U.F.	78
Χάλλευ Τ.	196	Halley J.M.	
Χαμόγλου Μ.	378	Hark A.	76
Χαμόδρακας Σ.Ι.	194,244	Iwasa Y.	
Χανλίδου Ε.	24,216	Roulin P.S.	78
Χαραλαμπίδης Κ.	26,132	Sabbagh A.	204
Χαραλάμπους Σ.	206,304	Scazzocchio C.	84
Χαρισιάδου Σ.	380	Soleglad M.E.5	118
Χαριτωνίδου Κ.	108,382	Yağmur E.A.	118
Χαρμπή Κ.	384	Zakšek V.	10
Χασαμπαλιώτη Μ.	332		
Χατζηαθανασιάδου Μ.	134		
Χατζηγιαννίδου Ι.	328		
Χατζηιωάννου Μ.	258		
Χατζηκακού Σ.	70		
Χατζηκωνσταντίνου Α.	134,202		
Χατζησταυράκη Μ.	56		
Χατζηφώτης Σ.	254,328,356		
Χατζόπουλος Π.	240		
Χατζοπούλου-Κλαδαρά Μ.	190,268,324		
Χιντήρογλου Σ.-Χ.	108,306,338		
Χλίχλια Κ.	28,332		
Χονδρογιάννης Χ.	388		
Χόνδρου Π.	106,390		
Χρίστου Μ.			
Χρόνης Ι.	296		
Χρυσούλη Μ.	148		
Χυτίρογλου Π.	190,268		

Βιβλιοθήκη Βιολογικών Επιστημών των Εκδόσεων **Utopia**

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΠΟ ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΑ



Leland Hartwell
*Fred Hutchinson Cancer
Research Center, University of
Washington, Nobel Prize in
Physiology or Medicine 2001*
Leroy Hood
*The Institute for Systems
Biology*
Michael L. Goldberg
Cornell University
Ann Reynolds
*Fred Hutchinson Cancer
Research Center*
Lee M. Silver
Princeton University

160 €

Το σύγγραμμα **Γενετική: Από τα Γονίδια στα Γονιδιώματα** είναι ένα εισαγωγικό κείμενο αιχμής το οποίο έχει συνταχθεί από μία απaráμιλλη ομάδα συγγραφέων, συμπεριλαμβανομένου του κατόχου του βραβείου Nobel, *Leland Hartwell*. Η 4η έκδοση συνεχίζει την προσέγγιση ενοποίησης των αρχών της Μεντελικής και της Μοριακής Γενετικής που υιοθέτησαν οι συγγραφείς από την πρώτη έκδοση, παρέχοντας στους φοιτητές μία εικόνα συνέχειας των αρχικών ανακαλύψεων της γενετικής με τις νέες μοριακές ανακαλύψεις που έχουν αλλάξει τον τρόπο με τον οποίο αντιμετωπίζεται το επιστημονικό πεδίο της Γενετικής. Αυτή η προσέγγιση έχει καταστήσει τη **Γενετική: Από τα Γονίδια στα Γονιδιώματα**, ένα από τα πλέον πετυχημένα συγγράμματα πανεπιστημιακής διδασκαλίας της γενετικής σε όλο τον κόσμο.

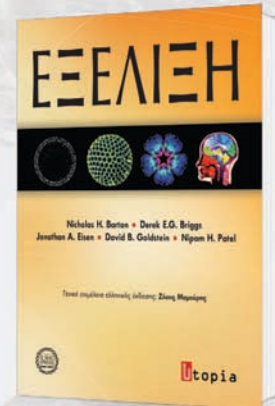
Utopia

Αγίου Ιωάννου 63 και Ελευθερίας 1
15342, Αγία Παρασκευή
Τ.: 210 6997706
email: info@utopiapublishing.gr
www.utopiapublishing.gr

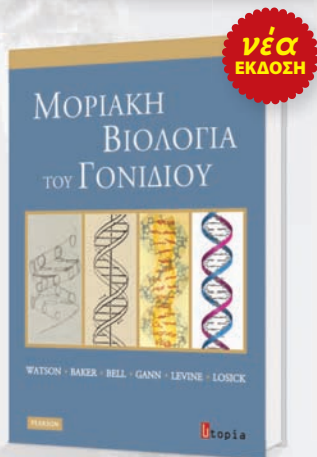
Βιβλιοθήκη Βιολογικών Επιστημών των Εκδόσεων **Utopia**

ΕΞΕΛΙΞΗ

**Barton • Briggs • Eisen
Goldstein • Patel**



210 €



ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ

**Watson • Baker • Bell Gann
Levine • Losick**

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΦΥΤΩΝ

Taiz • Zeiger



200 €

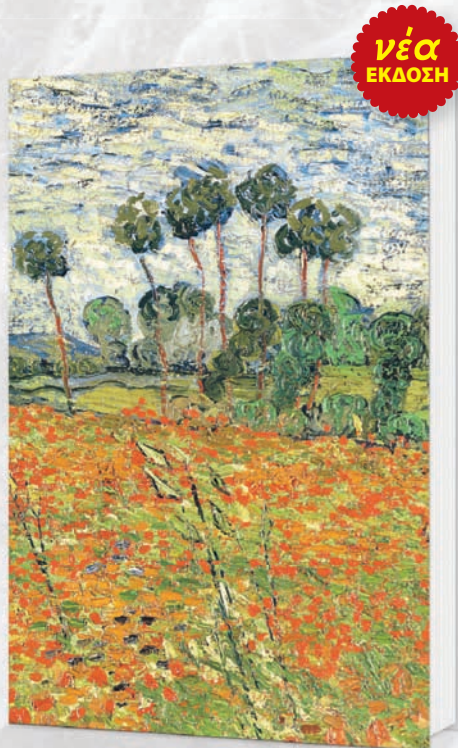


ΖΩΟΛΟΓΙΑ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΕΣ ΑΡΧΕΣ

**Hickman • Roberts • Keen
Larson • Anson • Eisenhour**

Βιβλιοθήκη Βιολογικών Επιστημών των Εκδόσεων **Utopia**

RAVEN ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ



Peter H. Raven
Ray F. Evert
*University of Wisconsin,
Madison*
Susan E. Eichhorn
*University of Wisconsin,
Madison*

Η όγδοη έκδοση (2014) της **Βιολογίας των Φυτών** του *Peter Raven*, σε επιμέλεια των Καθηγητών *Ray F. Evert* και *Susan E. Eichhorn* αποτελεί την πιο σημαντική αναθεώρηση στην ιστορία του βιβλίου. Η **Βιολογία των Φυτών** παρουσιάζει με τρόπο emphatic τις αλληλεξαρτήσεις αύξησης και ανάπτυξης, δομής και λειτουργίας, εξέλιξης και οικολογίας. Η ελληνική έκδοση, προϊόν εργασίας 18 Καθηγητών Πανεπιστημίου από 6 διαφορετικά Τμήματα έρχεται να συμπληρώσει τη βιβλιογραφία με ένα σύγγραμμα που κατά γενική ομολογία θεωρείται κορυφαίο διεθνώς.

Utopia

Αγίου Ιωάννου 63 και Ελευθερίας 1
15342, Αγία Παρασκευή
Τ.: 210 6997706
email: info@utopiapublishing.gr
www.utopiapublishing.gr

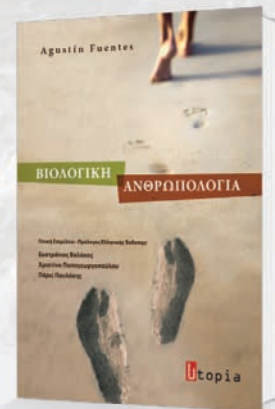
Βιβλιοθήκη Βιολογικών Επιστημών των Εκδόσεων **Utopia**

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΙΑ

Fuentes



νέα
έκδοση



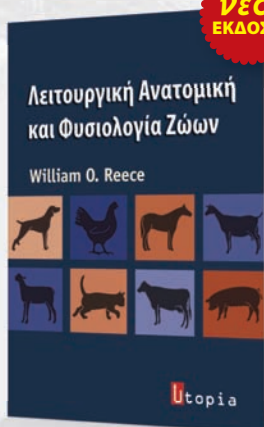
85 €

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ

Starr • Evers • Starr

ΘΡΕΨΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΦΥΤΩΝ

Hawkesford • Barraclough



νέα
έκδοση



νέα
έκδοση

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΖΩΩΝ

Reece

Η σελίδα αυτή δεν τυπώνεται



ΔΙΟΦΑΡ Α.Ε., ΑΓ. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ 166, 115 26 ΚΑΛΑΜΑΡΙ, ΑΘΗΝΑ



ALMI TANKERS S.A.
Committed to operational integrity

Επιμέλεια: Ε. Δ. Βαλάκος, Σ. Παπαβασιλείου

Παραγωγή: MATZENTA (www.magenta.gr)

Σχεδιασμός Εξωφύλλου: **U**topia

© Ε.Ε.Β.Ε