

Ελληνική Εταιρεία  
Βιολογικών Επιστημών

# 41<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο

9 -11 Μαΐου 2019  
Συνεδριακό Κέντρο Εκάβη  
Κατερίνη

**ΠΡΑΚΤΙΚΑ  
PROCEEDINGS**

ΥΠΟ ΤΗΝ ΑΙΓΙΔΑ ΤΩΝ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΩΝ ΑΘΗΝΩΝ, ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ,  
ΘΡΑΚΗΣ, ΠΑΤΡΩΝ, ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ & ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΥΝΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ:

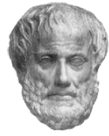


ΔΗΜΟΣ  
ΚΑΤΕΡΙΝΗΣ



ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΗ  
ΕΝΟΤΗΤΑ  
ΠΙΕΡΙΑΣ

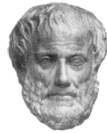
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ



**Ελληνική Εταιρεία  
Βιολογικών Επιστημών**

**Πρακτικά  
του  
41<sup>ου</sup> Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρείας  
Βιολογικών Επιστημών**

**ΔΗΜΟΤΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΑΚΟ ΚΕΝΤΡΟ "ΕΚΑΒΗ"  
Κατερίνη, Μάϊος, 2019**



**Ελληνική Εταιρεία  
Βιολογικών Επιστημών**

**Proceedings of  
41<sup>st</sup> Conference of Hellenic Society for  
Biological Sciences (E.E.B.E.),  
May 9-11, 2019**

**MUNICIPAL CONFERENCE CENTRE "EKAVI"  
Katerini, May, 2019**

**Πρακτικά του  
41<sup>ου</sup> Συνεδρίου της Ελληνικής  
Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών  
Κατερίνη, 9-11 Μαΐου 2019**

**Διοικητικό Συμβούλιο ΕΕΒΕ (2019-2021)**

Πρόεδρος: Βασίλης Μιχαϊλίδης ([michaeli@bio.auth.gr](mailto:michaeli@bio.auth.gr))  
Αντιπρόεδρος: Αντιγόνη Λάζου ([lazou@bio.auth.gr](mailto:lazou@bio.auth.gr))  
Γεν. Γραμματέας: Παναγιώτης Παφίλης  
([ppafil@biol.uoa.gr](mailto:ppafil@biol.uoa.gr))  
Ειδ. Γραμματέας: Αλέξης Γαλάνης  
([agalanis@mbg.duth.gr](mailto:agalanis@mbg.duth.gr))  
Ταμίας: Κώστας Βλαχονάσιος ([kvlachon@bio.auth.gr](mailto:kvlachon@bio.auth.gr))  
Μέλη: Σωτήρης Κ. Μανώλης ([smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr))  
Πέτρος Μαραγκός ([pmaragos@uoi.gr](mailto:pmaragos@uoi.gr))  
Διεύθυνση: Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 157 84  
Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου Αθήνα.  
Τηλ. 2107274544, FAX: 2107274622

Ιστοσελίδα: <http://www.eebe.gr>

**Γραμματεία Συνεδρίου**

e-mail: [info@eebe.gr](mailto:info@eebe.gr)  
<http://conference2019.eebe.gr>

**Οργανωτική Επιτροπή 41<sup>ου</sup> Συνεδρίου  
Προεδρείο**

Ισ. Μπέης, Επίτιμος Πρόεδρος  
Βασίλης Μιχαϊλίδης – ΑΠΘ, Πρόεδρος

**Μέλη**

Γρηγόριος Αμούτζιας – Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας  
Ευστράτιος Δ. Βαλάκος – ΕΚΠΑ  
Κώνσταντίνος Βλαχονάσιος – ΑΠΘ  
Αλέξης Γαλάνης – ΔΠΘ  
Αντιγόνη Λάζου – ΑΠΘ  
Σωτήρης Μανώλης – ΕΚΠΑ  
Παναγιώτης Παφίλης – ΕΚΠΑ  
Πέτρος Μαραγκός- Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων  
Α. Πολύζος- Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση, Κατερίνη

**Πνευματικά δικαιώματα**

Copyright © Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών (Ε.Ε.Β.Ε.), 2019.  
Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Παρότι γίνεται έλεγχος πριν από την επιλογή των άρθρων που παρουσιάζονται στα Πρακτικά αυτά, το περιεχόμενο τους αποτελεί καθαρά ευθύνη του εκάστοτε συγγραφέα και δεν εκφράζουν κατ' ανάγκην τις απόψεις της Ε.Ε.Β.Ε.

Επιμέλεια Πρακτικών: Ε. Δ. Βαλάκος  
Ηλεκτρονική Μετατροπή: Αντ. Κοκολάκης ([akokolak@hotmail.com](mailto:akokolak@hotmail.com))

**ΧΟΡΗΓΟΙ – SPONSORS**

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ  
ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ Ε.Π.Ε.  
Ε.Λ.Κ.Ε. ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ  
LAB SUPPLIES SCIENTIFIC  
SCIENTACT

**Proceedings of  
41<sup>th</sup> Conference of Hellenic Society  
for Biological Sciences  
Katerini, Greece 9-11 May 2019**

**ΕΕΒΕ Board of Trustees (2019-2021)**

President: Vassilis Michailides ([michaeli@bio.auth.gr](mailto:michaeli@bio.auth.gr))  
Vice-President: Antigoni Lazou ([lazou@bio.auth.gr](mailto:lazou@bio.auth.gr))  
Secretary: Panagiotis Pafilis ([ppafil@biol.uoa.gr](mailto:ppafil@biol.uoa.gr))  
Special Secretary: Alexis Galanis  
([agalanis@mbg.duth.gr](mailto:agalanis@mbg.duth.gr))  
Treasurer: Kostas Vlachonassios  
([kvlachon@bio.auth.gr](mailto:kvlachon@bio.auth.gr))  
Members: Sotiris K. Manolis ([smanol@biol.uoa.gr](mailto:smanol@biol.uoa.gr))  
Petros Maragos ([pmaragos@uoi.gr](mailto:pmaragos@uoi.gr))  
Address: Dept. of Biology, Univ. of Athens, 157 84  
University Campus, Zografou, Athens, Greece.  
Tel. (+30) 2107274544, FAX: (+30) 2107274622

Website: <http://www.eebe.gr>

**Conference Secretariat**

e-mail: [info@eebe.gr](mailto:info@eebe.gr)  
<http://conference2019.eebe.gr>

**Organizing Committee of 41<sup>st</sup> Conference  
President**

Isidoros Beis, Honorary President  
Vassilis Michaelides – AUTH, President

**Members**

Grigorios Amoutzias – UThessaly  
Efstratios D. Valakos – UoA  
Konstantinos Vlachonassios – AUTH  
Alexis Galanis – DUTH  
Antigoni Lazou – AUTH  
Sotiris Manolis – UoA  
Panagiotis Pafilis – UoA  
Petros Maragos – Uoi  
A. Polyzos – Secondary Education, Katerini

## ΧΑΙΡΕΤΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Με ιδιαίτερη χαρά σας καλωσορίζουμε στο **41<sup>ο</sup> Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών** που διοργανώνεται φέτος στην Κατερίνη, από τις 9 μέχρι τις 11 Μαΐου 2019. Το συνέδριο αποτελεί χώρο συνάντησης και ανταλλαγής απόψεων μεταξύ επιστημόνων που δραστηριοποιούνται σε όλο των φάσμα των Βιολογικών Επιστημών αλλά και φοιτητών (προ- και μεταπτυχιακών) από όλα τα συναφή Πανεπιστημιακά Τμήματα. Διακεκριμένοι ερευνητές από την Ελλάδα και το εξωτερικό θα αναπτύξουν ένα ευρύ φάσμα θεμάτων που άπτονται όλων των πεδίων της Βιολογίας. Όπως πάντα, το Συνέδριο δίνει ιδιαίτερη σημασία στην ανάδειξη των ερευνητικών προσπαθειών των νεότερων μελών της επιστημονικής κοινότητας, και αποτελεί βήμα για την παρουσίαση των εργασιών που πραγματοποιούνται στα διάφορα συναφή με την Βιολογία Πανεπιστημιακά Τμήματα αλλά και Ερευνητικά Κέντρα από μεταπτυχιακούς αλλά και προπτυχιακούς φοιτητές. Επίσης, όπως έχει καθιερωθεί τα τελευταία χρόνια, θα υπάρξει ένα στρογγυλό τραπέζι με συζήτηση για τις περαιτέρω σπουδές των αποφοίτων των Τμημάτων Βιολογικών Επιστημών, το οποίο θα έχει θέμα «Προοπτικές χρηματοδότησης για μεταπτυχιακές σπουδές και μεταδιδακτορική έρευνα».

Η Οργανωτική Επιτροπή θα ήθελε να ευχαριστήσει το Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, το Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, το Πανεπιστήμιο Πατρών, το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, το Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης και το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, υπό την αιγίδα των οποίων διεξάγεται το συνέδριο, καθώς επίσης τους Χορηγούς που στήριξαν οικονομικά αυτή την προσπάθεια. Ιδιαίτερα ευχαριστούμε τον Δήμο Κατερίνης και την Περιφερειακή Ενότητα του Νομού Πιερίας για την αμέριστη βοήθεια, η οποία συνέβαλε καθοριστικά στη διοργάνωση του συνεδρίου.

Είμαστε βέβαιοι ότι και το 41<sup>ο</sup> Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών θα συγκεντρώσει για άλλη μία φορά το ενδιαφέρον και τη συμμετοχή όλων σας και θα αναδείξει το υψηλό επίπεδο των ερευνητικών προσπαθειών στη χώρα μας. Σας ευχόμαστε καλή διαμονή στη Κατερίνη και καλή επιτυχία σε όλους όσοι θα παρουσιάσουν τη δουλειά τους.

Με συναδελφικούς χαιρετισμούς

Η Οργανωτική Επιτροπή

## ΤΙΤΛΟΙ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

«ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ» ΤΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΨΑΡΙΩΝ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΗΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ .....	13
ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΔΕΙΞΗ ΑΛΥΣΙΔΩΝ ΑΞΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ .....	15
RFAMΙΔΙΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΑΞΟΝΑ ΥΠΟΘΑΛΛΑΜΟΣ – ΥΠΟΦΥΣΗ – ΓΟΝΑΔΕΣ .....	17
ΕΙΜΑΣΤΕ ΔΕΣΜΙΟΙ ΤΟΥ DNA ΜΑΣ; ΣΕ ΤΙ ΒΑΘΜΟ ΜΠΟΡΟΥΜΕ ΝΑ ΠΡΟΒΛΕΨΟΥΜΕ ΤΗ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΜΑΣ ΥΓΕΙΑ; .....	19
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ .....	21
ΟΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ RNPS ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΩΣ ΚΙΝΗΤΗΡΙΕΣ ΔΥΝΑΜΕΙΣ ΓΙΑ ΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΥ ΜΑΤΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ .....	23
ΟΙ ΘΑΛΑΣΣΙΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΩΣ ΠΗΓΗ ΝΕΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ .....	25
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ tRNA-ΞΕΑΡΤΩΜΕΝΩΝ ΡΙΒΟΔΙΑΚΟΠΤΩΝ ΣΤΗΝ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ .....	27
ΑΝΘΡΩΠΟΚΑΙΝΟ, ΕΞΑΦΑΝΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΟΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ .....	29
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΣΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΚΠΟΛΩΣΗ .....	31
ΕΠΙΤΥΧΗΣ ΕΚΠΤΥΞΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ SMALL MOLECULES .....	33
ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΧΩΡΟΧΡΟΝΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ NR4A3 ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ .....	35
ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΝΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΩΝ ΤΗΣ TRNASE Z ΣΤΗΝ ΒΙΟΓΕΝΕΣΗ ΜΗ-ΚΩΔΙΚΩΝ RNAS ΜΕΣΩ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ CRISPR ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ .....	37
ΜΙΚΡΟΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΤΙΣ ΑΚΤΕΣ ΤΗΣ ΑΛΟΝΝΗΣΟΥ .....	39
ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>GAMBIERDISCUS</i> ΣΤΗΝ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ ΘΑΛΑΣΣΑ .....	41
Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΑΛΟΠΟΙΗΣΗΣ/ΚΑΤΑΨΥΞΗΣ ΚΑΙ ΑΠΩΨΞΗΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΤΟΥ DNA ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΤΟΥ SPERM CHROMATIN DISPERSION (SCD, HALOSPERM) ΚΑΙ ΤΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ .....	43
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ HSRC280 ΜΕ ΤΟΥΣ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΝΑΝΟΣΩΛΗΝΙΣΚΟΥΣ .....	45
ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΒΟΡΤΕΖΟΜΙΜΠΗ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ .....	47
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΦΡΑΚΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΚΑΤΑΝΙΝΗΣ FRA2 ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L. ....	49
Η ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΜΕΣΟΛΑΒΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΧΡΩΜΑΤΙΝΙΚΗ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ .....	51
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΡΑΓΧΙΑΚΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΟΥ ΕΜΠΟΡΙΚΟΥ ΚΕΦΑΛΟΠΟΔΟΥ <i>SERIA OFFICINALIS</i> (LINNAEUS 1758) .....	53
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΟΥΣ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ A3 (HNRNP A3) ΚΑΤΑ ΤΙΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ .....	55
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ CYLD ΣΤΗΝ ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ .....	57
ΠΟΛΥΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΟΧΗ (ΠΦΑ): ΠΡΟΤΥΠΟ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΘΟΔΙΚΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ABCB1 ΚΑΙ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΣΕ ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΤΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΠΑΧΕΩΣ ΕΝΤΕΡΟΥ .....	59
ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΒΙΟΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ .....	61
Meth-Phos PROMETHEUS: ΕΝΑΣ WEBSERVER ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΘΕΣΕΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ, ΦΩΣΦΟΥΡΥΛΙΩΣΗΣ ΚΑΙ ΜΙΚΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΙΑΚΟΠΤΩΝ ΚΑΙ ΡΕΟΣΤΑΤΩΝ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΝΤΑΙ .....	63
ΦΑΡΜΑΚΟΓΕΝΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΕΣ ΥΠΟΓΡΑΦΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΝΕΩΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΩΣ ΕΝΤΕΡΟΥ .....	65
ΑΦΘΟΝΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΝΥΔΡΕΙΟΠΟΝΙΑΣ ΣΕ ΔΥΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ 20 PPT ΚΑΙ 8 PPT .....	67
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΣΤΗΝ ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>ZEA MAYS</i> .....	69
ΑΝΘΙΣΕΙΣ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟΥ ΚΑΙ ΕΡΥΘΡΕΣ ΠΑΛΙΡΡΟΙΕΣ ΣΤΟΝ ΟΡΜΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ: ΜΕΤΑΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΓΝΩΣΤΗΣ ΚΑΙ ΑΝΕΞΕΡΕΥΝΗΤΗΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ .....	71
ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΥΤΟΣΥΓΚΡΟΤΗΣΗΣ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ-ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΩΝ ΙΝΙΔΙΩΝ ΤΥΠΟΥ I ΤΗΣ <i>E. COLI</i> .....	73
ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ («HAEDRNING») ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> ...	75
ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΖΩΝΗ ΤΗΣ ΑΛΟΝΝΗΣΟΥ .....	77
Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΛΕΙΜΩΝΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ .....	79
ΥΠΟ-ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΕΣ ΚΑΙ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ ΣΕ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΑ ΕΜΒΡΥΑ ZEBRAFISH .....	81
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ GA3, ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΗΝ IN VITRO ΦΥΤΡΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΤΗΣ <i>PRIMULA VERIS</i> L. ....	83
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΣΥΣΤΑΛΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ ΑΟΡΤΗΣ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ .....	85
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΔΕΣΜΕΥΟΥΝ ΣΕΛΗΝΙΟ (SELENIUM BINDING PROTEINS, SBPS) ΜΕ ΤΙΣ ΓΛΟΥΤΑΡΕΔΟΞΙΝΕΣ ATGRXS14 ΚΑΙ ATGRXS16 .....	87
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΝΗΣ BNN-20 ΣΤΗ ΝΕΥΡΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ «WEAVER» .....	89

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΣΤΟΝ ΙΟ ΒΕΤΑΝΟΔΑΥΙΡΟΣ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΑΠΟΚΡΙΣΕΩΝ ΤΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ.....	91
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΑΝΤΛΙΩΝ ΕΚΡΟΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ .....	93
ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΜΕ ΣΤΑΘΕΡΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΟΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (PCNA) ΣΥΝΗΤΗΓΜΕΝΟ ΜΕ ΤΗΝ ΚΟΚΚΙΝΗ ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗ (RFP).....	95
ΜΙΚΡΟΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΤΑ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΥΔΑΤΑ ΤΗΣ ΑΛΟΝΝΗΣΟΥ .....	97
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΦΑΣΚΟΜΗΛΟΥ .....	99
ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ HSPS ΣΤΟ ΧΕΡΣΑΙΟ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙ ΕΟΒΑΝΙΑ VERMICULATA ΑΠΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ .....	101
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΜΒΡΥΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΣΕ ΛΑΡΒΕΣ ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α (BISPHENOL A-BPA) .....	103
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ.....	105
Η TRNA-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΑΠΟ ΤΟ GLYS T-BOX ΡΙΒΟΔΙΑΚΟΠΤΗ ΣΤΟΥΣ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΥΣ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΕΙΔΟ-ΕΙΔΙΚΕΣ RNA ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ.....	107
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS ΣΤΗΝ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ.....	109
IN VITRO ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ AGZNO ΣΕ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS.....	111
ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ TiO <sub>2</sub> ΣΕ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ZEBRAFISH (DANIO RERIO).....	113
ΑΠΟ ΤΙΣ ΜΟΥΣΣΕΙΑΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ ΣΤΙΣ ΠΗΓΕΣ: ΤΑ TRUNCATELLOIDEA ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ .....	115
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ CD34+ ΟΜΦΑΛΙΟΠΛΑΚΟΥΝΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΜΑΤΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ .....	117
Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΡΙΖΙΚΩΝ ΤΡΙΧΙΔΙΩΝ ΣΕ ΕΠΙΓΕΝΕΙΣ ΡΙΖΕΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΚΑΛΑΝΧΟΕ DAIGREMONΤΙΑΝΑ.....	119
ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΞΩΣΚΕΛΕΤΟΥ ΚΑΒΟΥΡΙΩΝ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	121
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗΣ - Α (BPA) ΜΕ ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΙ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΤΗΣ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑΣ ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ (ONCORHYNCHUS MYKISS) .....	123
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΠΝΟΥ ΤΟΥ ΤΣΙΓΑΡΟΥ ΣΤΗΝ ΑΓΧΩΔΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΜΥΩΝ.....	125
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΔΕΙΚΤΩΝ STRESS ΣΤΟ ΔΙΘΥΡΟ ΜΑΛΑΚΙΟ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΔΙΚΛΟΦΕΝΑΚΗ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΣΤΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ (ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ TISOCHRYSIS LUTEA).....	127
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΔΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.....	129
ΒΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΣΟΥΠΙΑΣ, SERIA OFFICINALIS, ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΙΚΟ ΚΟΛΠΟ .....	131
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΛΡΗΛΑΝ ΕΠΙ ΤΗΣ ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΟΣ .....	133
ΣΥΝΕΡΓΑΤΙΚΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΣΥΜΒΑΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ A22 HYDROCHLORIDE ΣΕ ΠΟΛΥ- ΑΝΘΕΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ .....	135
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΠΟΛΥΣΤΥΡΕΝΙΟΥ ΣΕ ΛΑΡΒΕΣ ZEBRAFISH (DANIO RERIO, HAMILTON 1822).....	137
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΦΙΛΕΤΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ.....	139
ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ZNO-AG ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	141
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΑΥ .....	143
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΝΤΑΣ ΚΛΙΜΑΤΙΚΑ ΚΑΤΑΦΥΓΙΑ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ .....	145
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΠΟΥ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ-Α ΑΠΟ ΤΡΙΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ.....	147
ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΛΥΜΑΝΤΙΚΩΝ ΔΡΑΣΕΩΝ ΘΥΜΟΛΗΣ ΚΑΙ ΧΛΩΡΙΟΥΧΟΥ ΒΕΝΖΑΛΚΟΝΙΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΜΕΝΩΝ, ΠΑΝΩ ΣΕ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΑΝΟΞΕΙΔΩΤΟΥ ΧΑΛΥΒΑ, ΚΥΤΤΑΡΩΝ LISTERIA MONOCYTOGENES.....	149
ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΜΕΛΩΝ ΤΩΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΩΝ ΤΩΝ HSPS ΚΑΙ ΜΑΡΚΣ ΣΤΑ ΕΙΔΗ SPARUS AURATA ΚΑΙ DICENTRARCHUS LABRAX ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΩΝ ΝΕΡΟΥ .....	151
ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΔΙΘΥΡΑ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS ΚΑΙ VENUS VERRUCOSA ΑΠΟ ΤΟΝ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	153
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΟΔΡΟΜΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ .....	155
ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ TRNA DERIVED FRAGMENTS (TRFS) ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΩΝ ΩΘΗΚΩΝ.....	157
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ, ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C, ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΛΙΠΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΗΝ ΑΓΧΩΔΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΜΥΩΝ ΣΤΟ ΕΠΙΛΗΠΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΗΣ ΠΕΝΤΥΛΕΝΟΤΕΤΡΑΖΟΛΗΣ.....	159
ΕΠΟΧΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟ ΦΟΡΤΙΟ ΤΟΥ ΛΕΥΚΟΥ ΜΥΟΣ ΤΗΣ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (SPARUS AURATA) .....	161
ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΜΥΔΙ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΚΘΕΣΗ ΤΟΥ ΣΕ ΑΥΞΑΝΟΜΕΝΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ.....	163
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΗΣ YARROWIA LIPOLYTICA ΣΕ ΤΡΟΦΙΚΕΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΞΕΙΣ.....	165

ΒΙΟΓΕΩΓΡΑΦΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΕ ΕΙΔΗ ΚΑΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΟΞΙΑΣ ( <i>FAGUS SP.</i> ) ΜΕΣΑ ΑΠΟ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΙΚΟΥ DNA .....	167
Η ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΝΔΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΒΑΛΚΑΝΙΑ : Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ ΩΣ ΔΥΝΗΤΙΚΟΙ ΔΙΑΔΡΟΜΟΙ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ.....	169
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΟΥ ΙΚΤΕΡΟΥ ΣΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΦΡΑΓΜΟ .....	171
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΟΥΡΟΠΟΙΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΑΝΔΡΩΝ .....	173
ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ ΜΕΓΑΚΥΤΤΑΡΩΝ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑΝΙΝΗΣ FRA2 ΤΟΥ <i>ARABIDOPSIS THALIANA L.</i> ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΩΝ .....	175
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΙΘΑΝΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΩΛΗΝΑ ΤΟΥ ΕΔΩΔΙΜΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ <i>Cornu aspersum</i> (Müller, 1774).....	177
ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΝΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΖΥΜΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΕΡΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΟΣΙΝΗΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΥΛΛΑΝΙΝΗΣ.....	179
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΠΕΔΙΝΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ ( <i>PERDIX PERDIX</i> ) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	181
ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ MIR-145 ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ ΜΕΣΩ ΠΥΡΟΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗΣ.....	183
ΤΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ P38/MK2 ΚΑΘΟΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ HUR ΜΕ ΤΗΝ TTP ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΟΛΩΣΗ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	185
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ HUR ΚΑΙ TIA-1 ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ.....	187
ΣΥΝΑΘΡΟΙΣΕΙΣ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΧΘΙΑ ΖΩΝΗ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΒΟΛΒΗ.....	189
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΕΛΑΤΗΣ ( <i>ABIES SP.</i> ) ΣΕ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ.....	191
ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΟΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ ΛΑΚΤΟΒΑΚΙΛΛΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΟΥ ΑΠΟ ΑΛΛΑΝΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ RAPD- PCR .....	193
ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΤΗΣ MAJOR FACILITATOR SUPERFAMILY ΣΤΑ ΦΥΤΑ.....	195
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΖΑΖΑΡΗ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΤΗΣ ΠΑΡΟΧΘΙΑΣ ΖΩΝΗΣ .....	197
ΕΓΚΑΘΙΔΡΥΣΗ ΕΝΟΣ ΜΕΤΑΦΕΡΟΜΕΝΟΥ LENTI-ΙΟΥ ΤΗΣ mCHERRY- ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΗΣ 22RV1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ ΣΕ SCID MOUSE MODEL, ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟ IVIS-ΚΙΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ.....	199
ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΜΕΤΑΞΥ GPCRS ΚΑΙ RAMPS.....	201
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΝΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ CRISPR-CAS9 ΓΙΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΔΙΕΥΡΥΝΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΜΕ ΑΝΤΙΓΟΝΟ-ΕΙΔΙΚΑ T-ΚΥΤΤΑΡΑ.....	203
ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΚΚΡΙΤΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ <i>LACTOCOCCUS LACTIS</i> ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΣΕΙΡΑ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ RKO.....	205
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΙΟΥΛΙΚΩΝ ΣΕ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΛΕΜΦΟ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ <i>CORNU ASPERSUM</i> .....	207
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΔΕΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΟΜΕΝΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΜΕΣΩ ΠΟΤΑΜΙΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΟΧΘΙΩΝ ΔΙΑΔΡΟΜΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΒΑΛΚΑΝΙΩΝ .....	209
ΤΟ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΕΝΖΥΜΟ ALDH2 ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΕΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ PRARB/Δ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΙΣΧΑΙΜΙΑ/ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ .....	211
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ TMEM154 ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ ΣΤΟΥΣ LENTI- ΙΟΥΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ (SRLVS) .....	213
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΦΡΑΚΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΚΑΤΑΝΙΝΗΣ BOTERO 1 ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>ARABIDOPSIS THALIANA L.</i> .....	215
ΝΕΑ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΓΝΩΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ .....	217
Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΛΓΗΤΙΚΟΥ ΦΑΡΜΑΚΟΥ DICLOFENAC ΣΤΗΝ ΡΙΖΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>ARABIDOPSIS THALIANA L.</i> .....	219
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ IRINOTECAN ΕΠΙ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΩΟΘΗΚΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	221
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΩΝ, ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΔΙΚΛΟΦΕΝΑΚΗΣ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> , ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ/Η ΑΠΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ <i>TETRASELMIS SUECICA</i> ΩΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΗΓΗ.....	223
ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΑΝΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΜΒΡΥΪΚΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΤΙΣ Β-ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΕΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΥΠΟ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ .....	225
ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>SIDERITIS L.</i> ΠΟΥ ΠΩΛΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΓΟΡΑ ΤΗΣ ΚΑΒΑΛΑΣ ΜΕ ΤΕΧΝΙΚΗ DNA BARCODING .....	227
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙ-TNF ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΜΕ ΟΛΕΟΚΑΝΘΑΛΗ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΠΟΛΥΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΠΟΝΤΙΚΩΝ .....	229
ΕΞΕΡΕΥΝΩΝΤΑΣ ΤΙΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΟΝΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ-ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΩΝ .....	231
ΧΕΙΜΕΡΙΝΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΝΥΧΤΕΡΙΔΩΝ (ΧΕΙΡΟΠΤΕΡΩΝ) ΣΕ ΕΝΑ ΑΣΤΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ.....	233
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΔΑΤΙΚΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>HELLEBORUS ODORUS</i> WALDST. SUBSP. <i>CYCLOPHYLLUS</i> (A. BRAUN ) MAIRE & PETITM.....	235
<i>IN VITRO</i> ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ <i>SATUREJA THYMUBRA L.</i> ( <i>LAMIACEAE</i> ): ΕΝΑ ΠΟΛΥΤΙΜΟ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ-ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟ ΑΥΤΟΦΥΕΣ ΦΥΤΟ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ .....	237
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ <i>IN VITRO</i> ΚΑΙ <i>IN VIVO</i> ΦΥΤΡΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ <i>SILENE FABARIA</i> SUBSP. <i>DOMOKINA</i> ( <i>CARYOPHYLLACEAE</i> ) .....	239

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΡΥΘΡΩΝ ΚΑΙ ΛΕΥΚΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΣΤΟ ΑΙΜΑ ΤΙΛΑΠΙΑΣ .....	241
ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ΣΕ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ CARASSIUS GIBELIO .....	243
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΝΟΣ ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΛΟΓΗ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΖΟΥΝ ΤΗ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΗΣ Α-ΣΥΝΟΥΚΛΕΙΝΗΣ .....	245
ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΑ ΑΣΠΟΝΔΥΛΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΑΛΙΕΙΑ ΤΗΣ ΣΟΥΠΙΑΣ ΣΤΟΝ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ .....	247
ΜΕΛΕΤΗ ΚΙΝΗΣΗΣ ΑΤΟΜΩΝ ΚΑΦΕ ΑΡΚΟΥΔΑΣ ΣΤΟΥΣ ΝΟΜΟΥΣ ΓΡΕΒΕΝΩΝ ΤΡΙΚΑΛΩΝ ΦΛΩΡΙΝΗΣ .....	249
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΚΕΤΑΜΟΛΗΣ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΕΜΒΡΥΩΝ ΚΑΙ ΛΑΡΒΩΝ ZEBRAFISH ( <i>DANIO RERIO</i> ) .....	251
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΕΛΑΤΗΣ ( <i>ABIES SP.</i> ) ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΔΕΙΚΤΗ PCR-RFLP ΣΤΟ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΙΚΟ DNA .....	253
Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΕΩΝ ΤΩΝ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ NAT/NCS2.....	255
ΝΕΑ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΑ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΕΤΩΝ p-COUMARIC ACID ΚΑΙ trans-RESVERATROL.....	257
ΒΙΟΓΕΝΗ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΑΠΟ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟ-ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΩΝ ΔΡΑΣΕΩΝ ΣΕ ΚΟΛΟΝΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ.....	259
ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΔΟΜΗΤΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ (IDRS) ΚΑΙ ΒΡΑΧΕΩΝ ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ ΜΟΤΙΒΩΝ (SLIMS) ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ZNF217 .....	261
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ GCN5 ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΗΣ ΑΥΞΙΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> .....	263
ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΚΑΡΠΟΥ ΣΕ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΤΗΣ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ-ΘΡΑΚΗΣ.....	265
ELIXIR-GR: ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΑΠΟ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΕΥΡΟΥΣ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ.....	267
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ TiO <sub>2</sub> ΣΕ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΨΑΡΙΟΥ CARASSIUS GIBELIO .....	269
ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΤΗ ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗ ΣΕ ΠΡΟΚΛΙΝΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ .....	271
Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΛΔΕΥΔΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ 1A1 ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΥΣ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΣΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΣΤΟΥ.....	273
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>SEPIA OFFICINALIS</i> (LINNAEUS, 1758) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ .....	275
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>VENUS VERRUCOSA</i> (LINNAEUS, 1758) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ.....	277
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>HOLOTHURIA TUBULOSA</i> (GMELIN, 1791) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ .....	279
ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>CALLINECTES SAPIDUS</i> (RATHBUN, 1896) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ .....	281
ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΖΜΡΤ11C ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ, ΚΡΙΣΙΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ ΜΕ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ .....	283
ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ LIPPIA CITRIODORA ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΥΡΙΟΤΕΡΗΣ ΕΝΩΣΗΣ ΤΟΥ, ΤΗΣ ΚΙΤΡΑΛΗΣ, ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ .....	285
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ TP53 ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΣΤΑ ΛΕΜΦΩΜΑΤΑ .....	287
ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΕΙΔΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ HNRNP33 ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗΣ .....	289
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΕ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΜΙΚΡΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ (ΤΕΧΝΗΤΟΙ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΙ) ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΑΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	291
ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ GSK3B ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ: ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ .....	293
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΣΑΡΩΤΗ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΟΜΩΝ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ.....	295
ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ZNO-AG ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΧΟΥΜΙΚΩΝ.....	297
ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΝΟΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ <i>L. PARACASEI</i> ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ .....	299
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΒΟΛΗΣ ΤΟΥ RNA EDITING ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ALS .....	301
ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΓΟΝΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΝΕΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΔΙΣΘΕΝΟΥΣ ΧΑΛΚΟΥ-ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ.....	303
Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ ADA2B ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΓΙΒΒΕΡΕΛΛΙΝΩΝ ΣΤΟ ΑΝΘΟΣ ΤΟΥ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> .....	305
ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΦΥΚΟΥΣ <i>CHLORELLA VULGARIS</i> ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΗΣ FRRF ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ .....	307

## ABSTRACTS

CONSERVATION PHYSIOLOGY OF MARINE FISHES: INTEGRATING PHYSIOLOGY INTO MODELS .....	14
EXPLOITING BIG BIO-DATA TO VALORIZE VALUE CHAINS IN AGRI-FOOD.....	16
RFAMIDES AND THEIR ROLE ON THE HYPOTHALAMUS – PITUITARY – GONADAL AXIS.....	18
IS OUR DNA OUR DESTINY? TO WHAT EXTENT CAN WE PREDICT OUR FUTURE HEALTH? .....	20
BIOTECHNOLOGICAL APPLICATION IN THE PREVENTION AND DIAGNOSIS OF DISEASES IN AQUACULTURE .....	22
INTERACTIONS BETWEEN NUCLEAR RNPS AND SCAFFOLD PROTEINS AS DRIVING FORCES FOR ALTERNATIVE SPLICING PATTERN CHANGES IN CANCER .....	24
MARINE ORGANISMS AS A SOURCE OF NEW PHARMACEUTICALS AND THEIR ROLE IN THE PROTECTION OF HUMAN HEALTH.....	26
THE ROLE OF tRNAs-DEPENDENT RIBOSWITCHES IN BACTERIAL GENE EXPRESSION REGULATION .....	28
ANTHROPOCENE, DISTINCTIONS AND PROTECTED AREAS.....	30
THE ROLE OF GLUCOSE IN SIGNALING MECHANISMS DURING DEPOLARIZATION.....	32
EFFICIENT EXPANSION OF IMMUNOPHENOTYPICALLY PRIMITIVE, GENETICALLY MODIFIED HEMATOPOIETIC STEM CELLS DERIVED FROM MOBILIZED PERIPHERAL BLOOD, USING SMALL MOLECULES.....	34
ANALYSIS OF SPATIOTEMPORAL EXPRESSION OF NR4A3 IN EMBRYONIC BRAIN DEVELOPMENT .....	36
NOVEL TRNASE Z CELLULAR FUNCTIONS IN NON-CODING RNA BIOGENESIS REVEALED VIA COMBINED CRISPR EDITING AND INTERFERING APPROACHES.....	38
MICROPLASTICS ALONG THE COASTS OF ALONISSOS ISLAND .....	40
DIVERSITY AND DISTRIBUTION OF THE GENUS <i>GAMBIERDISCUS</i> IN THE EASTERN MEDITERRANEAN SEA .....	42
THE EFFECT OF CRYOPRESERVATION ON SPERM MOTILITY AND DNA FRAGMENTATION BY SPERM CHROMATIN DISPERSION (SCD) AND SPERM CHROMATIN STRUCTURE ASSAY (SCSA) TESTS .....	44
CORRELATION OF HSPC280 EXPRESSION WITH TUNNELING NANOTUBES .....	46
STUDY OF THE MECHANISMS OF ACQUIRED RESISTANCE TO BROTEZOMIB THE ROLE OF THE PROTEASOME .....	48
A MORPHOLOGICAL STUDY OF THE GUARD CELLS OF THE ARABIDOPSIS THALIANA L. FRA2 KATANIN MUTANT .....	50
DISRUPTION OF CENTRAL PROCESSES IN CHROMATIN CONFORMATION AND ALTERATION OF KEY EPIGENETIC ENZYMES MEDIATE THE ANTICANCER POTENTIAL OF SILIBININ IN PROSTATE CANCER .....	52
HISTOLOGICAL STUDY OF THE BRACHIAL HEARTS OF THE SEPIA OFFICINALIS (LINNAEUS 1758).....	54
FUNCTIONAL ANALYSIS OF HETEROGENEOUS NUCLEAR RIBONUCLEOPROTEIN A3 (HNRNP A3) DURING MACROPHAGE ACTIVATION.....	56
THE ROLE OF THE TUMOR SUPPRESSOR CYLD IN DNA MICROSATELLITE INSTABILITY .....	58
MULTIDRUG RESISTANCE (MDR): METHYLATION PROFILE ANALYSIS OF ABCB1 DOWNSTREAM PROMOTER AND PROMOTER ACTIVITY IN MULTIDRUG-RESISTANT AND SENSITIVE COLORECTAL CANCER CELLS .....	60
ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL EFFECTS OF PERSISTANT ORGANIC POLLUTANTS (POPS) ON PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS.....	62
Meth-Phos PROMETHEUS: A WEBSERVER FOR THE PREDICTION OF PROTEIN METHYLATION AND PHOSPHORYLATION SITES, THEIR MIXED SWITCHES AND RHEOSTATS/CLUSTERS.....	64
SIGNATURE-AIDED PHARMACOGENOMIC ANALYSIS FOR THE IDENTIFICATION OF NEW THERAPEUTIC TARGETS FOR COLORECTAL CANCER.....	66
BACTERIAL ABUNDANCE IN AQUAPONICS UNDER TWO SALINITIES 20 PPT AND 8 PPT.....	68
STUDY ON THE IMPACT OF SUGARS SOLUTIONS ON THE ONTOGENESIS OF THE STOMATAL COMPLEXES OF <i>ZEA MAYS</i> .....	70
PHYTOPLANKTON BLOOMS AND RED TIDES IN THESSALONIKI BAY: METAGENOMIC CHARACTERIZATION OF THE KNOWN AND UNEXPLORED BIODIVERSITY.....	72
SELF-AGGREGATION STUDIES ON PEPTIDE-ANALOGUES OF E. COLI TYPE I FIMBRIAE.....	74
MOLECULAR MECHANISMS FOR ENHANCING THE HEAT RESISTANCE («HARDENING») OF THE MARINE SPIECES <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> .....	76
WATER QUALITY IN THE COASTAL MARINE AREA OF ALONISSOS ISLAND.....	78
THE CONTRIBUTION OF MEADOWS TO THE CONSERVATION OF BIODIVERSITY .....	80
SUB-LETHAL AND LETHAL EFFECTS OF COPPER ON DEVELOPING ZEBRAFISH EMBRYOS .....	82
EFFECT OF GA3, LIGHT AND STORAGE TIME ON IN VITRO GERMINATION OF PRIMULA VERIS L. SEEDS .....	84
IMPACT OF ISCHEMIC PRECONDITIONING ON RAT AORTIC WALL CONTRACTILITY DURING PROLONGED ISCHEMIA FOLLOWED BY REPERFUSION .....	86
INTERACTION OF SELENIUM BINDING PROTEINS (SBPS) WITH GLUTAREDOXINS ATGRXS14 AND ATGRXS16.....	88
EFFECTS OF THE ADMINISTRATION OF NEUROTROPHIN BDNF IN NEUROGENESIS IN THE «WEAVER» MOUSE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE .....	90
DEVELOPMENT OF AN ANTIBODY DETECTION METHOD FOR BETANODAVIRUS AND REPORT OF BIOCHEMICAL RESPONSE FOR FISH IN AQUACULTURE .....	92

THE ROLE OF NANOPARTICLES AS EFFLUX PUMP INHIBITORS TO TACKLE ANTIMICROBIAL RESISTANCE.....	94
CONSTRUCTION OF A CELL LINE STABLY EXPRESSING THE PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTIGEN FUSED WITH THE RED FLUORESCENT PROTEIN .....	96
MICROPLASTICS IN THE COASTAL WATERS OF ALONISSOS ISLAND .....	98
DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC COMPONENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT GREEK SAGE VARIETIES.....	100
STUDY OF ANTI-OXIDAND ENZYMES AND HSPS IN THE TERRESTRIAL SNAIL EOBANIA VERMICULATA FROM POPULATIONS OF DIFFERENT GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION.....	102
TOXICITY ASSESSMENT AND BEHAVIORAL ANALYSIS IN ZEBRAFISH (DANIO RERIO) EMBRYOS AND LARVAE AFTER EXPOSURE TO BISPHENOL A (BPA).....	104
EFFECTS OF HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS EXTRACT ON HUMAN POLYMORPHONUCLEAR NEUTROPHILS AND LYMPHOCYTES .....	106
THE TRNA-DEPENDENT GLYS T-BOX RIBOSWITCH-REGULATED TRANSCRIPTION IN STAPHYLOCOCCI DEPENDS ON SPECIES- SPECIFIC RNA CONFORMATIONS .....	108
STUDY OF THE EFFECT OF HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS IN PHAGOCYTOSIS AND ENDOCYTOSIS .....	110
INVESTIGATION OF CYTOTOXIC AND OXIDATIVE EFFECTS OF NOVEL AGZNO NANOPARTICLES ON HEMOCYTES OF MUSSEL MYTILUS GALLOPROVINCIALIS .....	112
EFFECTS OF TiO <sub>2</sub> NANOPARTICLES ON OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN TISSUES OF ZEBRAFISH (DANIO RERIO).....	114
FROM MUSEUM COLLECTIONS TO SPRINGS: TRUNCATELLOIDEA OF GREECE.....	116
STUDY OF THE EFFECT OF UMBILICAL CORD BLOOD CD34+ MICROPARTICLES IN APOPTOSIS.....	118
MICROTUBULE ORGANIZATION DURING ROOT HAIR EMERGENCE IN ADVENTITIOUS ROOTS OF KALANCHOE DAIGREMONTIANA.....	120
STUDY OF CRAB EXOSKELETONS BY MEANS OF SPECTROSCOPIC TECHNIQUES .....	122
BISPHENOL-A INTERACTIONS WITH THE GUT AND FECES MICROBIOME OF RAINBOW TROUT ( <i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i> ).....	124
EFFECT OF CIGARETTE SMOKE ON THE ANXIETY AND ON ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY OF ADULT MALE MICE.....	126
INVESTIGATION OF STRESS INDICES IN HEMOLYMPH OF MUSSEL <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> , AFTER EXPOSURE TO DICLOFENAC: THE ROLE OF STARVATION AND/OR NUTRITION (FEEDING WITH <i>TISOCHRYSIS LUTEA</i> ).....	128
STUDY OF THE ANTIPROLIFERATIVE EFFECT OF POTENTIALLY PROBIOTIC MICROORGANISMS IN HUMAN COLON CANCER CELLS .....	130
BIOMETRIC ANALYSIS AND BIOLOGY OF THE CUTTLEFISH <i>SEPIA OFFICINALIS</i> IN THERMAIKOS GULF.....	132
EFFECT OF MELPHALAN ON THE VITALITY OF GLOBLASTOMA.....	134
SYNERGISTIC EFFECTS BETWEEN CONVENTIONAL ANTIBIOTICS AND A22 HYDROCHLORIDE AGAINST MULTI-DRUG RESISTANT PATHOGENS.....	136
STUDY OF DISTRIBUTION OF POLYSTYRENE NANOPARTICLES IN ZEBRAFISH LARVAE ( <i>DANIO RERIO</i> , HAMILTON 1822) .....	138
EFFECT OF THERMAL TREATMENT ON HISTOLOGICAL STRUCTURE OF SNAIL FILLETS .....	140
GENOTOXIC AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF NOVEL ZNO-AG NANOPARTICLES IN HUMAN LYMPHOCYTES .....	142
STUDY OF TAU PHOSPHORYLATION.....	144
IDENTIFYING POTENTIAL CLIMATIC REFUGIA IN THE MEDITERRANEAN SEA.....	146
DEGRADATION OF BISPHENOL-A BY THREE PROBIOTIC STRAINS.....	148
COMPARATIVE ASSESSMENT OF DISINFECTANT ACTIONS OF THYMOL AND BENZALKONIUM CHLORIDE AGAINST <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> CELLS ADHERED TO STAINLESS STEEL SURFACE .....	150
RESPONSE OF THE HSPS AND MAPKS FAMILY MEMBERS TO DIFFERENT SALINITIES IN <i>SPARUS AURATA</i> AND <i>DICENTRARCHUS LABRAX</i> .....	152
THE GUT MICROBIOTA OF THE MARINE BIVALVES <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> AND <i>VENUS VERRUCOSA</i> FROM THERMAIKOS GULF: PRELIMINARY RESULTS.....	154
THE ROLE OF AMYLOID PRECURSOR PROTEIN IN NERVE CELL DIFFERENTIATION AND SIGNALING .....	156
TRNA DERIVED FRAGMENTS (TRFS) EXPRESSION ANALYSIS AND CLINICAL EVALUATION IN OVARIAN CANCER.....	158
INVESTIGATION OF THE EFFECT OF N-ACETYLCYSTEIN, VITAMIN C, MELATONIN AND LIPOIC ACID IN ANXIETY BEHAVIOR OF ADULT MALE MICE IN THE EPILEPTIC MODEL OF PENTYLENATETRAZOL (PTZ).....	160
SEASONAL CHANGES ON THE ENERGY CHARGE OF WHITE MUSCLE OF FARMED GILTHEAD SEA BREAM ( <i>SPARUS AURATA</i> ).....	162
EXPRESSION LEVELS OF THERMAL AND OXIDATIVE STRESS RELATED GENES IN THE MEDITERRANEAN MUSSEL <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> EXPOSED TO INCREASED SEAWATER TEMPERATURES .....	164
PHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL RESPONSES OF <i>YARROWIA LIPOLYTICA</i> UPON TROPHIC AND GENETIC PERTURBATIONS .....	166
BIOGEOGRAPHICAL PATTERNS IN SPECIES AND POPULATIONS OF BEECH ( <i>FAGUS</i> SP.) USING SEQUENCES OF CHLOROPLAST DNA FRAGMENTS.....	168
ECOLOGICAL CONNECTIVITY IN THE BALKAN PENINSULA: RIVERS AS POTENTIAL CORRIDORS.....	170
STUDY OF THE OBSTRUCTIVE JAUNDICE IMPACT ON THE INTESTINAL AND BLOOD BRAIN BARRIER.....	172
DETECTION AND GENOTYPING OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS IN THE UROGENITAL SYSTEM OF ASYMPTOMATIC MEN.....	174
CELL WALL MODIFICATIONS OF GIANT CELLS IN FRA2 KATANIN MUTANTS OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L. AFTER ROOTKNOT NEMATODE INFECTION.....	176

EXAMINATION OF POTENTIAL PROBIOTICS BACTERIA ISOLATED FROM THE EDIBLE LAND SNAIL <i>Cornu aspersum</i> (Müller, 1774) GASTROINTESTINAL TRACT.....	178
DEVELOPMENT OF NOVEL YEAST STRAINS FOR THE OVERPRODUCTION OF TYROSINE AND PHENYLALANINE.....	180
GENETIC ANALYSIS OF GREEK POPULATIONS OF GREY PARTRIDGE ( <i>PERDIX PERDIX</i> ) BASED ON MICROSATELLITE ANALYSIS.....	182
DNA METHYLATION ANALYSIS OF MIR-145 GENE PROMOTER IN BLADDER CANCER USING PYROSEQUENCING.....	184
A P38/MK2 INDUCED INTERPLAY BETWEEN HUR AND TTP GOVERNS MACROPHAGES POLARIZATION.....	186
ADDITIVE EFFECTS OF THE ARE-BINDING PROTEINS HUR AND TIA-1 IN INFLAMMATION CONTROL.....	188
LITTORAL BENTHIC MACROINVERTEBRATE ASSEMBLAGES IN LAKE VOLVI.....	190
DIFFERENTIATION OF FIR POPULATIONS ( <i>ABIES</i> SP.) BASED ON MORPHOLOGICAL TRAITS.....	192
MOLECULAR DETECTION OF A PROBIOTIC LACTOBACILLUS STRAIN ISOLATED FROM MEAT PRODUCTS BY RAPD-PCR.....	194
BIOINFORMATIC & EVOLUTIONARY ANALYSIS OF THE MAJOR FACILITATOR SUPERFAMILY SUGAR TRANSPORTERS IN PLANTS.....	196
ASSESSING THE ECOLOGICAL QUALITY OF LAKE ZAZARI USING LITTORAL BENTHIC MACROINVERTEBRATES.....	198
ESTABLISHMENT OF A LENTIVIRUS-TRANSFECTED mCHERRY- EXPRESSING 22RV1 PROSTATE CANCER CELL LINE AND MONITORING OF ITS GROWTH IN A SCID MOUSE MODEL, USING THE IVIS-KINETIC IMAGING SYSTEM.....	200
COMPUTATIONAL STUDIES OF INTERACTIONS BETWEEN GPCRS AND RAMPS.....	202
DEVELOPING A CRISPR-CAS9 TOOL TO INACTIVATE THE GLUCOCORTICOID RECEPTOR AND BROADEN THE APPLICABILITY OF ANTIGEN-SPECIFIC T-CELL IMMUNOTHERAPY.....	204
SELECTIVE CYTOTOXICITY OF <i>LACTOCOCCUS LACTIS</i> SECRETOME ON HUMAN COLORECTAL CANCER CELL LINE RKO.....	206
BIOMATERIALS EFFECT ON PARAMETERS RELATED TO OXIDATIVE STRESS IN HEMOLYMPH OF SNAIL <i>CORNU ASPERSUM</i> .....	208
ASSESSING THE CONNECTIVITY OF PROTECTED AREAS USING RIVERINE AND RIPARIAN CORRIDORS IN THE BALKAN REGION.....	210
ANTIOXIDANT ENZYME ALDH2 MEDIATES THE PROTECTIVE EFFECTS OF NUCLEAR RECEPTOR PPARB/ $\Delta$ AFTER CARDIAC ISCHEMIA/REPERFUSION.....	212
CORRELATION OF TRANSMEMBRANE PROTEIN TMEM154 GENE POLYMORPHISMS WITH RESISTANCE OF CHIOS BREED SHEEP TO SMALL RUMINANT LENTIVIRUSES INFECTION.....	214
THE GUARD CELLS MORPHOLOGY OF THE STOMATAL COMPLEXES IN THE KATANIN MUTANT BOTERO 1 OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L. PLANTS.....	216
NOVEL DIVERSITY OF CYANOBACTERIA FROM UNDEREXPLORED ENVIRONMENTS IN GREECE.....	218
THE EFFECTS OF THE ANALGESIC DICLOFENAC ON THE ROOT OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L.....	220
EFFECTS OF IRINOTECAN ON THE CELL NUMBER AND VIABILITY OF OVARIAN CANCER CELLS.....	222
INVESTIGATION OF CYTOTOXIC, OXIDATIVE AND GENOTOXIC EFFECTS OF DICLOFENAC ON NON-FED MUSSELS AND/OR MUSSELS FEEDING WITH <i>TETRASELMIS SUECICA</i> .....	224
EPIGENETIC REGULATION OF THE EMBRYONIC HEMOGLOBIN INDUCTION IN B-HEMOGLOBINOPATHIES AND MDS PATIENTS UNDER TREATMENT.....	226
IDENTIFICATION OF PLANTS OF THE GENUS <i>SIDERITIS</i> L. WHICH ARE SOLD IN KAVALA'S MARKET USING DNA BARCODING.....	228
STUDY OF THE COMBINATIONAL THERAPEUTIC EFFECT OF ANTI- TNF AGENT WITH OLEOCANTHAL IN CHRONIC POLYARTHRITIS USING TRANSGENIC MICE.....	230
EXPLORING INTERACTIONS OF AMYLOIDOGENIC PEPTIDE- ANALOGUES OF SILKMOTH CHORION PROTEINS.....	232
WINTER ACTIVITY OF BATS ( <i>CHIROPTERA</i> ) IN AN URBAN CENTRE.....	234
STUDY OF THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF THE <i>HELLEBORUS ODORUS</i> WALDST. SUBSP. <i>CYCLOPHYLLUS</i> (A. BRAUN) MAIRE & PETITM. EXTRACT ..	236
<i>IN VITRO</i> PROPAGATION OF <i>SATUREJA THYMBRA</i> L. ( <i>LAMIACEAE</i> ): A VALUABLE AROMATIC-MEDICINAL NATIVE PLANT OF THE MEDITERRANEAN REGION.....	238
EFFECT OF STORAGE LIFE ON <i>IN VITRO</i> AND <i>IN VIVO</i> SEED GERMINATION ABILITY OF <i>SILENE FABARIA</i> SUBSP. <i>DOMOKINA</i> ( <i>CARYOPHYLLACEAE</i> ) ..	240
ERYTHROCYTES AND LEUCOCYTES MORPHOLOGY IN TILAPIA BLOOD.....	242
EFFECTS OF Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NANOPARTICLES ON OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN TISSUES OF <i>CARASSIUS GIBELIO</i> FISH.....	244
DEVELOPMENT OF A BIOSENSOR FOR TESTING AND SCREENING OF CANDIDATE MOLECULES INHIBITING A-SYNUCLEIN AGGREGATION.....	246
INVERTEBRATE DISCARDS IN COASTAL SMALL-SCALE FISHERY OF CUTTLEFISH IN THERMAIKOS GULF.....	248
MOVEMENT RESEARCH OF INDIVIDUAL BROWN BEARS IN THE REGIONAL UNITS OF TRIKALA, GREVENA, FLORINA.....	250
MORPHOLOGY AND BEHAVIOR ALTERATIONS OF ZEBRAFISH ( <i>DANIO RERIO</i> ) EMBRYOS AND LARVAE AFTER EXPOSURE TO PARACETAMOL.....	252
GENETIC VARIABILITY OF FIR POPULATIONS ( <i>ABIES</i> SP.) FROM CENTRAL GREECE IN A CHLOROPLAST DNA PCR-RFLP MARKER.....	254
EVOLUTION OF SUBSTRATE SPECIFICITIES IN MEMBRANE TRANSPORTERS OF THE NAT/NCS2 FAMILY.....	256
CRYSTAL POLYMORPHISM OF HUMAN INSULIN INDUCED BY p- COUMARIC ACID AND trans-RESVERATROL.....	258
BIOGENIC SELENIUM NANOPARTICLES ISOLATED FROM A PROBIOTIC STRAIN: INVESTIGATION OF PRO-APOPTOTIC EFFECTS INDUCED IN COLON CARCINOMA CELLS.....	260

IDENTIFICATION OF INTRINSICALLY DISORDERED REGIONS AND SHORT LINEAR MOTIFS (SLIMS) IN THE HUMAN TRANSCRIPTION FACTOR ZNF217 .....	262
THE EFFECT OF THE HISTONE ACETYLTRANSFERASE GCN5 ON AUXIN SIGNALING AND TRANSPORT AT THE ROOT GROWTH OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> .....	264
MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE GRAPE MICROBIOME IN VINICULTURE VARIETIES OF EASTERN MACEDONIA-THRACE .....	266
ELIXIR-GR: ESTIMATING SNP-BASED GENETIC CORRELATION AND HERITABILITY IN GWAS .....	268
EFFECTS OF TiO <sub>2</sub> NANOPARTICLES ON PARAMETERS RELATED TO OXIDATIVE STRESS IN THE TISSUES OF PRUSSIAN CARP ( <i>CARASSIUS GIBELIO</i> ) .....	270
SILIBININ DOWNREGULATES CANCER STEM CELL MARKERS IN HUMAN NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA CELLS .....	272
EXPRESSION OF ALDEHYDE DEHYDROGENASE 1A1 INFLUENCES MAJOR CELL GROWTH REGULATORY MECHANISMS IN HUMAN BREAST CANCER CELLS .....	274
ANTIOXIDANT DEFENSE OF THE SPECIES <i>SEPIA OFFICINALIS</i> (LINNAEUS, 1758) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA .....	276
METABOLIC RESPONSES OF THE SPECIES <i>VENUS VERRUCOSA</i> (LINNAEUS, 1758) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA .....	278
ANTIOXIDANT DEFENSE OF THE SPECIES <i>HOLOTHURIA TUBULOSA</i> (GMELIN, 1791) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA .....	280
METABOLIC RESPONSES OF THE SPECIES <i>CALLINECTES SAPIDUS</i> (RATHBUN, 1896) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA .....	282
ZMPT11C DIFFERENTIAL EXPRESSION IS RELATED WITH REGULATORY PATHWAYS CRITICAL FOR THE ADAPTATION AND HIGH CROP PRODUCTION UNDER LOW IRRIGATION CONDITIONS .....	284
CYTOTOXIC EFFECTS AND MODE OF ACTION OF LIPPIA CITRIODORA ESSENTIAL OIL AND ITS MAJOR COMPONENT, CITRAL, ON HUMAN COLON CARCINOMA CELLS .....	286
STUDY OF THE EFFECT OF THE TP53 ACTIVATION ON CELLULAR MECHANISMS OF SENESCENCE IN LYMPHOMAS .....	288
THE SPECIFICITY OF RIBONUCLEOPROTEIN HNRNPA3'S EXPRESSION AS REVEALED VIA A TRANSGENIC REPORTER APPROACH .....	290
ESTIMATION OF SEWAGE TREATMENT IN SMALL-SCALE CONSTRUCTIONS (CONSTRUCTED WETLANDS) USING ABIOTIC AND BIOLOGICAL DATA .....	292
EXPRESSION OF THE GENE GSK3B IN COLORECTAL CANCER: ASSOCIATION WITH CLINICOPATHOLOGICAL CHARACTERISTICS .....	294
APPLYING SLIDE SCANNER TO MICROSCOPIC ANALYSIS OF FISH REPRODUCTIVE TISSUE .....	296
GENOTOXIC AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF NOVEL ZNO-AG NANOPARTICLES IN HUMAN LYMPHOCYTES IN THE PRESENCE OF HUMIC ACIDS ...	298
EVALUATION OF THE IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF A PROBIOTIC <i>LACTOBACILLUS</i> STRAIN ON A COLORECTAL CANCER CELL LINE .....	300
INVESTIGATING THE ROLE OF RNA EDITING IN ALS PATHOGENESIS .....	302
INDUCED GENOTOXICITY PRODUCED BY FLAVONOIDS AND NOVEL Cu(II)-FLAVONOID COMPLEXES IN HUMAN LYMPHOCYTES .....	304
THE EFFECT OF TRANSCRIPTIONAL COACTIVATOR ADA2B ON THE EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN GIBBERELLIN BIOSYNTHESIS AND SIGNALLING IN THE FLOWER OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> .....	306
PHOTOSYNTHETIC CHANGES IN <i>CHLORELLA VULGARIS</i> CULTURES WHEN SUPPLEMENTED WITH GLUCOSE AND ASSESSMENT OF FRRF PARAMETERS .....	308

## **«ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ» ΤΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΨΑΡΙΩΝ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΗΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ**

**McKenzie J. David**

*Κέντρο Έρευνας και Διατήρησης της Θαλάσσιας Βιοποικιλότητας, Πανεπιστήμιο Montpellier, Γαλλία*

Η κλιματική αλλαγή έχει γίνει ανησυχητικά ταχεία και η επιστημονική κοινότητα έχει την ευθύνη να παρέχει στην κοινωνία έγκυρες και αξιόπιστες πληροφορίες σχετικά με πιθανές συνέπειες της. Για έναν πλανήτη, η επιφάνεια του οποίου καλύπτεται από ωκεανούς, η κατάσταση για τα θαλάσσια οικοσυστήματα και ψάρια είναι ιδιαίτερα ανησυχητική. Οι ωκεανοί αναμένεται να είναι θερμότεροι και να παρουσιάζουν πιο ακραία γεγονότα όπως υψηλές θερινές θερμοκρασίες και επεισόδια υποξυγόνωσης. Αυτοί οι στρεσογόνοι παράγοντες έχουν αρνητικές επιπτώσεις στη φυσιολογία των ψαριών και, ως εκ τούτου, η φυσιολογία θα πρέπει να είναι σε θέση να παρέχει μια μηχανιστική, αιτία και αποτέλεσμα, κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα ψάρια θα μπορούσαν να ανταποκριθούν σε ένα μεταβαλλόμενο περιβάλλον. Η ρόλος των γνώσεων φυσιολογικών διαδικασιών στην δημιουργία οικολογικών μοντέλων είναι σημαντικός και θα πρέπει, θεωρητικά, να ενισχυθεί για την ορθότερη προβολή των επιπτώσεων της παγκόσμιας κλιματικής αλλαγής στα θαλάσσια ψάρια. Έχει υπάρξει μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον στο πώς οι επιπτώσεις της θερμοκρασίας και της υποξυγόνωσης μπορούν να μετριάζονται μέσω της ικανότητας των ψαριών να παρέχουν οξυγόνο στους ιστούς τους και του μεταβολισμού τους. Μια σημαντική επίδραση της υπερθέρμανσης είναι οι μεταβολές στη κατανομή των ψαριών. Έχουν αναπτυχθεί μοντέλα που προσπαθούν να κατανοήσουν και να προβάλουν αυτά τα αποτελέσματα καθορίζοντας την καταλληλότητα των οικοτόπων με βάση την ικανότητα των ψαριών να διατηρούν την αερόβια κατάσταση οξειδωσης ή την Δυναμική ενός Ενεργειακού Φορτίου. Ένα άλλο φαινόμενο που παρατηρείται στα ψάρια είναι η μείωση του μεγέθους του σώματος, που φαίνεται να συσχετίζεται με τη συνεχιζόμενη θέρμανση των ωκεανών και έχει προταθεί ένα μοντέλο που εξηγεί πως επίκειται συρρίκνωση του σώματός τους σε έναν θερμότερο περιβάλλον. Παρόλο που τα αποτελέσματα αυτών των μοντέλων έχουν γίνει αποδεκτά, οι φυσιολόγοι πρέπει να αναλάβουν πιο ενεργό ρόλο ώστε ό,τι παραδείγματα στα οποία βασίζονται τα οικολογικά μοντέλα να βασίζονται σε ορθές φυσιολογικές γνώσεις και δεδομένα.

## **CONSERVATION PHYSIOLOGY OF MARINE FISHES: INTEGRATING PHYSIOLOGY INTO MODELS**

**McKenzie J. David**

*Centre for Marine Biodiversity Exploitation and Conservation, Montpellier, France*

Global change has become alarmingly rapid and the scientific community has a responsibility to provide society with valid and reliable information about potential consequences. For a planet whose surface is overwhelmingly oceans, the situation for marine ecosystems is particularly worrying and effects on marine fishes could become of pressing importance to humans. Future seas are expected to be warmer and to have more extreme events such as high summer temperatures and episodes of hypoxia. These stressors have effects on the physiology of individuals and, therefore, physiology should be able to provide a mechanistic, cause and effect, understanding of how fishes might respond to a changing environment. Integration of physiological knowledge into models should, in theory, improve confidence in projecting effects of global change. There has been a major focus upon how the impacts of warming and hypoxia might be mediated through the ability of fishes to provide oxygen to their tissues and, in general, through effects on their energetics. One major effect of global warming has been shifts in the distribution of marine fishes. Mechanistic models have been developed that attempt to understand and project these effects by defining habitat suitability based upon the capacity to deliver oxygen (aerobic scope) or the outputs of a Dynamic Energy Budget. Another major effect that is being observed in fishes is a decline in final body size, which appears to be correlated with ongoing ocean warming. A model, based upon the ability of fishes to provide oxygen to their tissues, has been proposed to explain why they would shrink in a warmer world. Although the outputs of these models may be captivating, and some have been very influential, physiologists need to take a more active role in ensuring that the paradigms that underpin the models are in fact based upon sound physiological knowledge and data.

## **ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΔΕΙΞΗ ΑΛΥΣΙΔΩΝ ΑΞΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ**

**Αργυρίου Αναγνώστης**

*Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών, ΕΚΕΤΑ, 6<sup>ο</sup>χλμ Χαριλάου- Θέρμης, 57001 Θέρμη, Θεσσαλονίκη*

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δέκα ετών, τα "Μεγάλου Όγκου και Πολυπλοκότητας Δεδομένα" (Big-Data) ως όρος έχουν εμφανιστεί στο ραγδαία εξελισσόμενο παγκόσμιο τοπίο. Πολλοί αναρωτιούνται εάν τα μεγάλα δεδομένα είναι μια τάση ή αν πράγματι έχουν την δυνατότητα να «αναδιατάξουν» την αγροτική παραγωγή και τα διατροφικά συστήματα. Μεταξύ των τεχνολογιών που συμβάλλουν στα παραγωγή μεγάλου όγκου δεδομένων, η γονιδιωματική φαίνεται να είναι μία από τις ταχύτερα εξελισσόμενες. Η γονιδιωματική έχει φέρει επανάσταση στις επιστήμες της ζωής και επηρεάζει την ανάπτυξη της βιοοικονομίας παγκοσμίως. Βασική αιτία της γρήγορης εξέλιξης της είναι η ανάπτυξη των τεχνολογιών αλληλούχησης και των επιστημών των υπολογιστών που επιτάχυναν την παραγωγή και αξιοποίησή των λεγόμενων Μεγάλων Δεδομένων και στα Αγρο-Διατροφικά συστήματα. Τα δεδομένα που παράγονται στα πρώτα στάδια της παραγωγής τροφίμων γίνονται ολόένα και πιο πολύτιμα στην υπόλοιπη αλυσίδα αξίας και οδηγεί σε νέα επιχειρηματικά μοντέλα και καταναλωτικές αγορές. Σε αυτό το πλαίσιο, ο εθνικός αγρο-διατροφικός τομέας θα μπορούσε να ωφεληθεί από την υιοθέτηση της γονιδιωματικής και της ανάλυσης των μεγάλων δεδομένων στις διάφορες αλυσίδες αξίας. Παραδείγματα θα παρουσιαστούν που θα αναδεικνύουν πώς η γονιδιωματική και τα δεδομένα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αποτίμηση, αξιοποίηση, προστασία και ακόμη τη δημιουργία τοπικών αλυσίδων αξίας διατροφικών προϊόντων με βάση την πλούσια εγχώρια βιοποικιλότητα.

## **EXPLOITING BIG BIO-DATA TO VALORIZE VALUE CHAINS IN AGRIFOOD**

**Argiriou Anagnostis**

*Institute of Applied BioSciences, CERTH, 57001 Thessaloniki, Greece*

Over the course of the past ten years, “big data” as a term has adapted to the rapidly evolving global landscape. Many wonder if big data is a trend or if indeed it does have the power to “disrupt” agriculture and nutrition systems. Big data is often conflated with a slew of other concepts, such as open data, precision agriculture and personalized nutrition. Among the technologies contributing to big data, genomics is one of the most rapidly evolving. Genomics is revolutionizing life sciences and influences the growth of the bio-economy worldwide. Main reasons of its rapid adoption are the developments on sequencing technologies and computer sciences that propelled the phenomenon of what is called Big Data in Agrifood also. Data produced in the first steps of food production also becomes increasingly valuable in the rest of the value chain leading to new business models and consumer markets. In such a context the national agri-food sector could benefit by the adoption of genomics and big-data analytics applied in the different value chains. Examples will be presented demonstrating how genomics and data could be used to assess, valorize, protect and even create local food value chains based on the rich indigenous biodiversity.

## **RFAMΙΔΙΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΑΞΟΝΑ ΥΠΟΘΑΛΑΜΟΣ – ΥΠΟΦΥΣΗ – ΓΟΝΑΔΕΣ**

**Ασημακόπουλος Βύρων**

*Εργαστήριο Φυσιολογίας & Εργαστηρίου Φυσιολογίας Αναπαραγωγής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Κάθε φοιτητής βιοϊατρικών επιστημών μαθαίνει ότι η αναπαραγωγή καθορίζεται από τον άξονα Υποθαλάμου – Υπόφυσης – Γονάδων (ΥΥΓ). Εν περιλήψει, ο υποθάλαμος εκκρίνει την εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών (GnRH) η οποία διεγείρει τα γοναδοτρόπα κύτταρα της υπόφυσης να εκκρίνουν γοναδοτροπίνες και οι οποίες στη συνέχεια ρυθμίζουν την ενδοκρινή και εξωκρινή λειτουργία των γονάδων. Η εικόνα συμπληρώνεται από παλίνδρομους μηχανισμούς στους οποίους συμμετέχουν τα στεροειδή του φύλου, ανασταλτίνες και ακτιβίνες. Επίσης είναι γνωστό ότι μια σειρά άλλα μόρια μπορούν να επηρεάσουν σε κάποιο βαθμό τη λειτουργία του άξονα ΥΥΓ. Ωστόσο, σύμφωνα με την καθιερωμένη άποψη που όλοι μας διδαχθήκαμε, οι κύριοι ρυθμιστές του άξονα ΥΥΓ είναι οι: GnRH, γοναδοτροπίνες, ανδρογόνα και οιστρογόνα. Ειδικότερα, η GnRH αναγνωρίζεται ως νευροορμόνη έχουσα κεντρικό ρόλο στη λειτουργία του άξονα ΥΥΓ. Ωστόσο πρόσφατα, η ανακάλυψη των RFαμιδίων, δηλαδή πεπτιδίων που έχουν στο καρβοξυτελικό άκρο τη χαρακτηριστική αλληλουχία Arg-Phe-NH<sub>2</sub>, καθώς και η επακόλουθη έρευνα σχετικά με τις δράσεις τους ανέτρεψαν εν πολλοίς την καθιερωμένη αντίληψη για τη δομή και λειτουργία του άξονα ΥΥΓ. Σε αυτήν την παρουσίαση επιχειρείται μια σύντομη αναφορά στο ρόλο των RFαμιδίων στον άξονα ΥΥΓ, με έμφαση στις πρώτες κλινικές εφαρμογές τους.

## **RFAMIDES AND THEIR ROLE ON THE HYPOTHALAMUS – PITUITARY – GONADAL AXIS**

**Asimakopoulos Viron**

*Laboratory of Physiology & Physiology of Reproduction, , Faculty of Medicine, Dimokrition University of Thrace, Alexandroupolis, Greece*

Every biomedical student learns that the hypothalamus – pituitary – gonadal (HPG) axis drives reproduction. Hypothalamus secretes Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH), GnRH stimulates the gonadotrophe cells of pituitary to secrete follicular stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) and in turn, these two hormones regulate the gonadal function in both sexes. Steroid hormones as well as inhibins and activins, produced by gonads, influence the secretion of gonadotrophins. It is also well known that other internal and external cues influence the HPG axis. However, it has become obvious that GnRH, FSH and LH, androgens, and oestrogens are the main players in this classical schema and until recently, GnRH was recognized as the neurohormone having the pivotal role in the physiology of reproduction. Recently, the discovery of RFamide peptides (peptides possessing the motif Arg-Phe-NH<sub>2</sub> at C-terminus) and the subsequent research on their actions have challenged the classical knowledge on the structure and function of HPG axis. This presentation focuses on the role of RFamides in HPG axis, placing emphasis on their clinical applications.

## **ΕΙΜΑΣΤΕ ΔΕΣΜΙΟΙ ΤΟΥ DNA ΜΑΣ; ΣΕ ΤΙ ΒΑΘΜΟ ΜΠΟΡΟΥΜΕ ΝΑ ΠΡΟΒΛΕΨΟΥΜΕ ΤΗ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΜΑΣ ΥΓΕΙΑ;**

### **Δήμα Αντιγόνη**

*Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών (Ε.ΚΕ.Β.Ε.) Αλέξανδρος Φλέμινγκ*

Η γενετική ποικιλομορφία διαμορφώνει τους σύνθετους φαινοτύπους στον άνθρωπο και επηρεάζει τον κίνδυνο νόσου (disease risk). Οι άμεσες συνέπειες της γενετικής ποικιλότητας στον κίνδυνο νόσου για τον κληρονομικό καρκίνο του μαστού στον ελληνικό πληθυσμό, διερευνήθηκαν μέσω πλήρους αλληλούχησης εξωνίων (whole exome sequencing). Μελετήθηκαν 52 άτομα τα οποία ήταν αρνητικά για μεταλλάξεις στα γνωστά γονίδια κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων των BRCA1 και BRCA2. Ύστερα από αξιολόγηση των γενετικών παραλλαγών που εντοπίστηκαν και μετά από επανεξέταση σε ανεξάρτητες ομάδες ασθενών, αποκαλύψαμε δύο υποψήφια γονίδια που πιθανώς αυξάνουν τον κίνδυνο νόσου. Οι έμμεσες αλλά εξίσου σημαντικές συνέπειες της γενετικής ποικιλότητας έχουν διερευνηθεί μέσω της μελέτης GreekMetabo η οποία στοχεύει στην αποσαφήνιση της γονιδιακής ρύθμισης στον λιπώδη ιστό. Μελετήθηκαν 100 άτομα απ' όλο το φάσμα του Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) με καταγωγή από την Κεντρική και τη Νότια Ελλάδα. Η γενετική ποικιλομορφία αξιολογήθηκε μέσω γονοτύπησης (από DNA αίματος) ενώ η γονιδιακή έκφραση ποσοτικοποιήθηκε μέσω RNA-Seq σε υποδόριο και σπλαχνικό λίπος. Μελετήθηκαν επίσης και οι περιοχές ανοιχτής χρωματίνης στους δύο ιστούς μέσω ATAC-Seq. Η σύνθεση των μοριακών δεδομένων αποκάλυψε βιολογικά μονοπάτια μέσω των οποίων η γονιδιακή ρύθμιση στον λιπώδη ιστό επηρεάζει τον κίνδυνο νόσου σε ασθένειες που συνδέονται με την παχυσαρκία (π.χ. διαβήτης τύπου 2, καρδιαγγειακά νοσήματα, καρκίνος). Συγκεκριμένα στο σπλαχνικό λίπος τα βιολογικά μονοπάτια που συνδέονται με την ανάπτυξη και με νευρολογικές διεργασίες συνδέθηκαν με κίνδυνο νόσου. Στο υποδόριο λίπος διαδικασίες που συνδέονται με τον μεταβολισμό φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση του κινδύνου νόσου. Στο πιο πρόσφατο ερευνητικό έργο μας, το οποίο αποτελεί μελέτη βιολογίας συστημάτων, διερευνώνται οι συνέπειες της γενετικής ποικιλομορφίας στα μεταβολικά μονοπάτια στον άνθρωπο και οι μοριακές συνέπειες της διατροφικής πρόσληψης.

## **IS OUR DNA OUR DESTINY? TO WHAT EXTENT CAN WE PREDICT OUR FUTURE HEALTH?**

**Dima Antigoni**

*Biological Sciences Research Center (BSRC) Alexander Fleming*

Human genetic variation shapes complex phenotypes and influences disease risk. We have explored the direct impact of population-specific genetic variation in shaping risk for hereditary breast cancer in Greek families. We performed whole exome sequencing in 52 individuals from Greece who were negative for known risk variants including *BRCA1* and *BRCA2*. Following prioritization of genetic variants and validation in independent patient groups, we have uncovered two candidate genes that likely increase risk for hereditary breast cancer. We have also explored less direct, but equally important effects of human genetic variation on disease risk. The Greek Metabo study comprises 100 individuals, spanning the body mass index (BMI) range from central and southern Greece. We have performed genotyping (on blood), RNA-Seq and ATAC-Seq on subcutaneous and visceral fat, to address how gene regulation in these two tissues influences the risk for obesity-linked diseases, such as type 2 diabetes, cardiovascular disease and cancer. We uncover developmental and neurological processes in visceral fat that are linked to disease, but also point out that processes in subcutaneous fat seem to play an underappreciated, but important role. Finally, our work investigates the impact of genetic variation on metabolic processes through a human systems biology project that addresses the molecular impact of dietary intake.

## **ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

**Καθάριος Παντελής**

*Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιέργειών, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών, Κρήτη*

Οι υδατοκαλλιέργειες είναι ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος κλάδος ζωικής παραγωγής στο κόσμο με ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης που κυμαίνεται μεταξύ 6 και 8% τα τελευταία χρόνια. Ήδη η συνολική παραγωγή ιχθυηρών από τις ιχθυοκαλλιέργειες έχει φτάσει αυτήν της αλιείας. Ένας από τους βασικούς παράγοντες κινδύνου στην ιχθυοκαλλιέργεια είναι οι ασθένειες. Το κόστος διαχείρισης ασθενειών σε παγκόσμιο επίπεδο υπερβαίνει τα 6 δις δολάρια το χρόνο. Λόγω αυτού ακριβώς του κόστους, γίνεται εύκολα αντιληπτό πως οι εξελίξεις στη βιοτεχνολογία που αφορούν στην ανθρώπινη ιατρική τόσο σε επίπεδο διάγνωσης ασθενειών όσο και σε επίπεδο διαχείρισης, υιοθετούνται ταχύτατα και από τις υδατοκαλλιέργειες. Εφαρμογές που έχουν βάση τη γονιδιωματική έχουν ενσωματωθεί στην έρευνα που αφορά τις ασθένειες καλλιεργούμενων ψαριών και ασπονδύλων. Μεταγονιδιωματικές αναλύσεις έχουν ήδη βρει εφαρμογή στη μελέτη αλλά και τη ρύθμιση του μικροβιώματος των ψαριών έχοντας ως στόχο την παραγωγή υγιών πληθυσμών, ανθεκτικών στις μολυσματικές ασθένειες. Βασικό στοίχημα πλέον στις υδατοκαλλιέργειες είναι αυτό της ποιότητας. Ένας από τους πιο σημαντικούς στόχους είναι η μείωση της χρήσης αντιβιοτικών. Νέες εναλλακτικές θεραπείες αλλά και μεθοδολογίες πρόληψης των ασθενειών βρίσκονται πλέον στο επίκεντρο της έρευνας. Το ΕΛΚΕΘΕ έχει θέσει τους στόχους αυτούς ως βασική ερευνητική προτεραιότητα. Οι νέες εξελίξεις στην έρευνα που αφορά στη διαχείριση των ασθενειών στην υδατοκαλλιέργεια είναι το επίκεντρο της παρουσίασης με έμφαση στην ανάπτυξη εμβολίων και στην πρόληψη βακτηριακών μολύνσεων με χρήση βακτηριοφάγων καθώς επίσης και στα νέα διαγνωστικά εργαλεία.

## **BIOTECHNOLOGICAL APPLICATION IN THE PREVENTION AND DIAGNOSIS OF DISEASES IN AQUACULTURE**

**Katharios Pantelis**

*Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Hellenic Centre for Marine Research, Crete, Greece*

Aquaculture is the fastest growing sector of animal production worldwide with an annual growth rate ranging between 6 and 8% over the past years. The total aquaculture production has already reached that of fisheries. One of the main risk factors for the sustainability of aquaculture is that of diseases. The annual cost of disease in aquaculture has been estimated to be approximately 6 billion dollars. Because of this high cost, it can be easily understood that the biotechnological developments in medicine, both at the level of disease diagnosis and management, are rapidly adopted by the aquaculture industry. Applications based on the genomic science have already been incorporated in the research of disease of cultured fish and invertebrates. Metagenomic analyses are already being applied for the study and modulation of fish microbiome aiming to the production of healthier populations resistant to infectious diseases. The new bet for aquaculture is now the bet of quality. A basic target is the reduction of the use of antibiotics. New alternative treatments and methodologies for disease prevention are now in the focus of research. In HCMR these targets are among the highest research priorities for the sustainable development of aquaculture. The recent advances in the research for the management of fish diseases is the topic of this presentation with special emphasis in the development of vaccines, the prevention of bacterial diseases with the use of bacteriophages and the modern diagnostic tools.

## **ΟΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ RNPS ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΩΣ ΚΙΝΗΤΗΡΙΕΣ ΔΥΝΑΜΕΙΣ ΓΙΑ ΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΥ ΜΑΤΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ**

**Καφάσλα Π., Ερπαπάζογλου Ζ., Birladeanu A.**

*Ε.ΚΕ.Β.Ε. «Αλ. Φλέμινγκ», Ινστιτούτο Βασικής Έρευνας*

Το εναλλακτικό μάτισμα (AS) είναι μια πυρηνική μετα-μεταγραφική διεργασία ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης που μπορεί να μεταβάλει την κωδικοποιούσα αλληλουχία του προϊόντος mRNA ή κάποια *cis*-ρυθμιστικά στοιχεία που ελέγχουν τη σταθερότητα ή τη μετάφραση του mRNA. Ένας μεγάλος αριθμός ανθρώπινων ασθενειών οφείλεται σε μεταλλάξεις ή απορρύθμιση στη διαδικασία του ματίσματος. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι το AS συμπεριλήφθηκε πρόσφατα στα "χαρακτηριστικά του καρκίνου", καθώς κάθε ένα από αυτά συνδέεται με αλλαγές του ματίσματος που οδηγούν σε πιο επιθετικούς και επεμβατικούς φαινοτύπους καρκίνου. Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο το μάτισμα συμβάλλει σε διάφορα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που αποκτώνται από τους όγκους καθώς αυτοί εξελίσσονται και πραγματοποιούν μεταστάσεις και ειδικότερα του πώς το μάτισμα οργανώνεται σε απόκριση σε σήματα που σχετίζονται με τη νόσο, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη μιας νέας κατηγορίας αντικαρκινικών θεραπειών. Οι τρέχουσες γνώσεις σχετικά με τους μηχανισμούς με τους οποίους τα σηματοδοτικά μονοπάτια οδηγούν σε επαγωγίμες αλλαγές στο AS είναι σημαντικά περιορισμένες. Προσπαθώντας να εντοπίσουμε μια τέτοια σύνδεση σε καρκινικά κύτταρα, εντοπίσαμε την αλληλεπίδραση μιας πρωτεΐνης ικριώματος (IQGAP1) με ρυθμιστές ματίσματος στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων. Οι πρωτεΐνες ικριώματος είναι γνωστές για τη δράση τους στο κυτταρόπλασμα ως ολοκληρωτές σηματοδότησης σε διακριτά σηματοδοτικά μονοπάτια. Η παρουσία και ο ρόλος του IQGAP1 στον πυρήνα είναι εντελώς ανεξερεύνητοι. Παρουσιάζουμε στοιχεία σχετικά με την παρουσία της *Iqgap1* στον πυρήνα των φυσιολογικών και των καρκινικών κυττάρων. Μελετούμε την αλληλεπίδρασή της με πυρηνικές πρωτεΐνες ικανές να προσδέουν RNA (RBPs) και εξετάζουμε το ρόλο αυτών των αλληλεπιδράσεων στο εναλλακτικό μάτισμα σε φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν μια πυρηνική λειτουργία για το *Iqgap1*, όχι λιγότερο σημαντική από την κυτταροπλασματική του.

## **INTERACTIONS BETWEEN NUCLEAR RNPS AND SCAFFOLD PROTEINS AS DRIVING FORCES FOR ALTERNATIVE SPLICING PATTERN CHANGES IN CANCER**

**Kafasla Panagiota, Erpapazoglou Zoi, Birladeanu Andrada**

*BSRC "Al. Fleming", Institute of Basic Research*

Alternative splicing (AS) is a nuclear post-transcriptional regulatory process of gene expression that can alter the protein encoding sequence of the resultant mRNA or alter cis-regulatory elements that control mRNA stability or translation. A large number of human diseases result from mutations or deregulation in the splicing process. Interestingly, AS has been recently included in the "hallmarks of cancer", as each of them is associated with a switch in splicing towards more aggressive and invasive cancer phenotypes. Understanding how splicing contributes to various phenotypic traits acquired by tumours as they progress and metastasize and in particular how AS is coordinated in response to disease related signals, can lead to the development of a new class of anti-cancer therapeutics. Current knowledge on the mechanisms by which signalling pathways lead to inducible changes in alternative splicing is significantly limited. Trying to identify such a link in cancer cells, we have detected an interaction of a scaffold protein (IQGAP1) with splicing regulators in the nucleus of cancer cells. Scaffold proteins are known for their action in the cytoplasm as signaling integrators in distinct key signaling pathways. The presence and role of IQGAP1 in the nucleus are completely unexplored. We present evidence on the presence of Iqgap1 in the nucleus of normal and cancer cells. We show its interaction with certain nuclear RNA-binding proteins (RBPs) and assay the role of these interactions in AS events in normal and cancer cells. Our results indicate a nuclear function for Iqgap1, no less important than its cytoplasmic one.

## ΟΙ ΘΑΛΑΣΣΙΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΩΣ ΠΗΓΗ ΝΕΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

**Ρούσσης Βασίλειος**

Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
email: [roussis@pharm.uoa.gr](mailto:roussis@pharm.uoa.gr)

Η βιοποικιλότητα του οικοσυστήματος της Μεσογείου θαλάσσης περιλαμβάνει ένα πολύ μεγάλο αριθμό ενδημικών ειδών όπως και οργανισμούς εισβολείς που έχουν μεταναστεύσει από τον Ατλαντικό Ωκεανό, την Ερυθρά και Μαύρη θάλασσα. Η λεκάνη της Μεσογείου παρά το γεγονός ότι καταλαμβάνει μόνο το 0.8% της συνολικής επιφάνειας των ωκεανών και θαλασσών φιλοξενεί το 7.5% όλων των καταγεγραμμένων θαλάσσιων οργανισμών. Ένας σημαντικός αριθμός από τους οργανισμούς αυτούς έχει αποδειχθεί ως πλούσια πηγή χημικών μορίων με ευρεία βιολογική δράση. Στα πλαίσια των ερευνητικών ενδιαφερόντων της ομάδας μας έχει μελετηθεί η χημική σύσταση και έχει αξιολογηθεί η βιολογική δράση ενός σημαντικού αριθμού βενθικών οργανισμών ευρέως φάσματος από τις Ελληνικές θάλασσες. Στοχεύοντας στην ταχεία και αξιόπιστη αξιολόγηση των χημικών προφίλ των εκχυλισμάτων από θαλασσίους οργανισμούς, πριν υποβληθούν σε εκτενή χημική ανάλυση, αναπτύχθηκε μεθοδολογία μεταβολομικής ανάλυσης με την συνδυαστική εφαρμογή Φασματοσκοπίας NMR και Φασματομετρίας Μάζας υψηλής ευκρίνειας. Η πλατφόρμα αυτή εφαρμόσθηκε στην προκαταρκτική αξιολόγηση εκχυλισμάτων ειδών του ροδοφύκου *Laurencia* με μεγάλη επιτυχία στην απομόνωση νέων φυσικών προϊόντων αλλά και στον στοχευμένο εντοπισμό βιοδραστικών μορίων. Επίσης πλούσια πηγή αλογονομένων μεταβολιτών με ενδιαφέρουσα χημική δομή έχει αποδειχθεί το ροδοφύκος *Sphaerococcus coronopifolius* το οποίο συλλέχθηκε από διάφορες περιοχές των Ιονίων νήσων και απέδωσε μετά από χρωματογραφικούς διαχωρισμούς και φασματοσκοπική μελέτη ένα μεγάλο αριθμό νέων μεταβολιτών που επέδειξαν κυτταροτοξική και αντιβακτηριακή δράση. Οι θεϊικοί πολυσακχαρίτες ουλβάνη που απομονώθηκαν από το χλωροφύκος *Ulvarigida* αυτούσιοι ή σε συνδυασμό με άλλα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή με την τεχνική της ηλεκτροινοποίησης χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή ικριωμάτων από νανοΐνες με ιατροτεχνολογικές εφαρμογές όπως η παραγωγή επιθεμάτων ή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης δραστικών συστατικών.

## MARINE ORGANISMS AS A SOURCE OF NEW PHARMACEUTICALS AND THEIR ROLE IN THE PROTECTION OF HUMAN HEALTH

**Roussis Vassilios**

*Division of Pharmacognosy and Chemistry of Natural Products, Department of Pharmacy, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis Zografou, Athens 15771, Greece*  
email: [roussis@pharm.uoa.gr](mailto:roussis@pharm.uoa.gr)

The biodiversity of the Mediterranean ecosystem hosts an immense number of indigenous species, as well as organisms that have migrated from the Atlantic Ocean, the Red and the Black Sea. The Mediterranean basin although it occupies only 0.8% of the world's ocean area, it accounts for 7.5% of all described marine species. Many of these organisms have been proven a prolific source of interesting metabolites with a broad spectrum of bioactivities. As part of our interest towards the isolation of marine bioactive natural products our group has investigated a significant number of diverse marine organisms species found along the Greek coastline and has isolated a high number of new metabolites with biological activity. In search of a fast and reliable screening tool for the chemical profiling of *Laurencia* algal extracts and the detection of new secondary metabolites, we have developed a high throughput fingerprinting methodology based on the complementary application of LC-HRMS-DAD and 2D NMR. The preliminary results of this study point out the potential for the direct screening of crude algal extracts in order to detect new compounds, as well as to trace biomarkers and /or monitor the presence of targeted metabolites. Another rich source of halogenated metabolites is the red alga *Sphaerococcus coronopifolius* that has been collected from various sites in the Ionian Sea and has yielded a panel of brominated diterpenes that have been evaluated for their cytotoxic and antibacterial activity displaying significant levels of activity. Additionally novel fibrous biocomposites comprising ulvan, a sulfated polysaccharide extracted from the green seaweed *Ulva rigida*, and a number of copolymers were successfully prepared using the electrospinning technique. Such nanofibrous matrices represent potentially useful materials in the biomedical sector as tissue engineering scaffolds, wound dressings, or drug delivery systems.

## **Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ tRNA-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΩΝ ΡΙΒΟΔΙΑΚΟΠΤΩΝ ΣΤΗΝ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ**

**Σταθόπουλος Κωνσταντίνος**

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Οι ριβοδιακόπτες αντιπροσωπεύουν μια νέα κατηγορία ρυθμιστικών μη-κωδικών μορίων RNA που αυξομειώνουν την μεταγραφή ή τη μετάφραση εξαιρετικά σημαντικών και δυναμικών γονιδιακών δικτύων, τόσο σε παθογόνα βακτήρια όσο και στο ανθρώπινο μικροβίωμα. Μια ιδιαίτερη οικογένεια ριβοδιακοπών που ονομάζονται T-boxes, επιτελούν τον σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο τους, δεσμεύοντας μόρια tRNA μέσω αλληλεπιδράσεων κωδικωνίου-αντικωδικωνίου, αντί για μικρούς μεταβολίτες που δεσμεύει η πλειοψηφία των ριβοδιακοπών. Οι T-box ριβοδιακόπτες θεωρούνται από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα του ρυθμιστικού ρόλου των μορίων tRNA πέραν της πρωτεϊνοσύνθεσης και πρόσφατες μελέτες μας έχουν αποκαλύψει την πολύ σημαντική δομική και λειτουργική ποικιλομορφία τους σε παθογόνα βακτήρια που τους καθιστούν σημαντικούς μοριακούς στόχους νέων αντιβιοτικών. Πρόσφατα προσδιορίσαμε σε συνεργασία την πρώτη τρισδιάστατη δομή ενός πλήρους μήκους T-box ριβοδιακόπτη σε σύμπλοκο με το tRNA προσδέτη του, που αποκάλυψε έναν εκλεπτυσμένο tRNA-εξαρτώμενο ρυθμιστικό μηχανισμό που βασίζεται σε απλά αλλά εξελικτικά συντηρημένα δομικά στοιχεία.

# **THE ROLE OF tRNAS-DEPENDENT RIBOSWITCHES IN BACTERIAL GENE EXPRESSION REGULATION**

**Stathopoulos Constantinos**

*Department of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras*

Riboswitches represent a new class of regulatory non-coding RNAs that modulate the transcription or translation of highly important and dynamic gene networks in both pathogenic bacteria and the human microbe. A particular family of riboswitches termed T-boxes perform their important regulatory role by binding tRNA molecules through anticodon-codon interactions, rather than small metabolites, which are ligands for the majority of the riboswitches. T-box riboswitches are considered among the most prominent examples of the regulatory role of tRNA molecules beyond protein synthesis and our recent studies have revealed a remarkable structural and functional diversity in pathogenic bacteria that signifies them as important molecular targets for novel antibiotics. Finally, we have recently determined in collaboration, the first 3D structure of a full-length T-box riboswitch in complex with its tRNA ligand which revealed an elegant tRNA-dependent regulatory mechanism which relies in simple but evolutionary conserved structural elements.

## **ΑΝΘΡΩΠΟΚΑΙΝΟ, ΕΞΑΦΑΝΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΟΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ**

**Κωνσταντίνος Τριάντης**

*Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Ε.Κ.Π.Α.)*

Το ανθρώπινο είδος επηρεάζει ευρύτατα και με ταχύ ρυθμό τη λειτουργία της Βιόσφαιρας, σε τέτοιο βαθμό που δικαιολογείται η εισαγωγή μιας νέας γεωλογικής περιόδου- Ανθρωπόκαινο. Ο άνθρωπος: α) έχει τροποποιήσει το 50% της ξηράς, β) καταναλώνει το 40% της ετήσιας πρωτογενούς παραγωγής, γ) έχει αυξήσει το CO<sub>2</sub> και άλλα αέρια του θερμοκηπίου σε τέτοιο βαθμό, που μια μικρή αύξηση της παγκόσμιας θερμοκρασίας θα επισκιάσει την κανονική διακύμανση σε βάθος χιλιετιών, δ) λόγω θήρευσης και της υπεραλίευσης έχει οδηγήσει τους θηρευτές, τόσο στην ξηρά όσο και στη θάλασσα, σε κίνδυνο εξαφάνισης ή εξαφάνιση. Το Ανθρωπόκαινο χαρακτηρίζεται από πρωτοφανή ρυθμό παγκόσμιων εξαφανίσεων. Οι σημερινοί ρυθμοί εξαφάνισης είναι 1000 φορές υψηλότεροι σχέση με το παρελθόν και σχεδόν όλες οι πρόσφατες εξαφανίσεις αποδίδονται στις ανθρώπινες δραστηριότητες. Στην ομιλία μου θα εστιάσω στα απειλούμενα είδη της Ελλάδας και την αποτελεσματικότητα των προστατευόμενων περιοχών του δικτύου Nature 2000.

## **ANTHROPOCENE, DISTINCTIONS AND PROTECTED AREAS**

**Konstantinos Triantis**

*Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens*

The human species is vastly and rapidly affecting the Biosphere to such an extent as warrant the naming of a new geological epoch, the Anthropocene. Humans have: a) modified as much as 50% of the land surface cover; b) consumed roughly 40% of the Earth's primary productivity every year; c) increased the concentrations of CO<sub>2</sub> and other greenhouse gases so that short-term increases in global temperature will overshadow normal annual- to millennial-scale variation, d) hunted and fished to such a degree that dominant top predators and a plethora of other species are endangered if not absent on land and sea. Current extinction rates are 1000 times higher than the background extinction rate (i.e., the natural species extinction rate, excluding mass extinction events). In my talk I will focus on the threatened species of Greece and the efficiency of the Natura 2000 protected areas.

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΣΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΚΠΟΛΩΣΗ**

**Βλάχου Μαρία Ευαγγελία, Καλιθινού Μαρίνα, Μαυροειδή Παναγιώτα, Ευθυμιόπουλος Σπύρος, Παπαζαφείρη Παναγιώτα**

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

Στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, η ισχαιμία προκαλεί ποικίλες δυσλειτουργίες, οι οποίες οφείλονται σε ανισορροπία των διεγερτικών και των ανασταλτικών μηχανισμών διαβίβασης, οδηγώντας τελικά σε διεγερσιμοτοξικότητα. Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η συναπτική δραστηριότητα κατά την εκπόλωση των νευρώνων σε συνθήκες ελαττωματικής ρύθμισης της συγκέντρωσης της γλυκόζης. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων γλυκόζης στην ενεργοποίηση των ERKs και της CAMKII καθώς, μεταξύ άλλων, αυτή αποτελεί δείκτη εκπόλωσης. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε τομές φλοιού εγκεφάλου C57BL/6 μυών, οι οποίες εμποτίστηκαν με κατάλληλα διαλύματα τεχνητού εγκεφαλονωτιαίου υγρού πριν από την προκαλούμενη από KCl εκπόλωση. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι οι πρωτεΐνες CAMKII και ERKs, κατά την εκπόλωση σε υπεργλυκαιμικές συνθήκες, δεν ενεργοποιούνται τόσο όσο στα δείγματα ελέγχου. Η επίδραση αυτή μπορεί να οφείλεται σε αύξηση της ωσμωμοριακότητας του διαλύματος εμποτισμού, καθώς, τα ίδια αποτελέσματα καταγράφηκαν παρουσία μαννιτόλης. Αντιθέτως, σε υπογλυκαιμικές συνθήκες δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα των πρωτεϊνών αυτών σε σύγκριση με τις συνθήκες φυσιολογικής συγκέντρωσης γλυκόζης. Ακόμα, διερευνήθηκε η πιθανή νευροπροστατευτική δράση παραγόντων, όπως της κρεατίνης και αλλοπρεγνανολόνης. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα της pCAMKII επηρεάζονται περισσότερο από την κρεατίνη ενώ η αλλοπρεγνανολόνη προκαλεί αύξηση των pERKs. Τέλος, πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη της επίδρασης της αλλοπρεγνανολόνης σε αρσενικούς και θηλυκούς μύες, η οποία έδειξε ακόμα πιο σημαντική αύξηση στα επίπεδα των pERKs σε συνθήκες υπογλυκαιμίας μόνο στα θηλυκά. Συμπερασματικά, τα παραπάνω αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης που οδηγεί σε υπεργλυκαιμία, συνδέεται άμεσα με αλλοίωση της συναπτικής λειτουργίας γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε νευροεκφυλισμό.

## **THE ROLE OF GLUCOSE IN SIGNALING MECHANISMS DURING DEPOLARIZATION**

**Vlachou Maria-Evangelia, Kalithinou Marina, Mavroeidi Panagiota, Efthimiopoulos Spyros, Papazafiri Panagiota**

*Division of Animal and Human Physiology, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, 15784, Ilissia, Athens, Greece*

In the Central Nervous System, ischemia causes a variety of dysfunctions, due to an imbalance of stimulatory and inhibitory mechanisms of transmission, ultimately leading to excitotoxicity. In the present study, the synaptic activity was evaluated in conditions of dysregulated glucose levels during depolarization. In particular, the effect of different glucose concentrations on the activation of ERKs and CAMKII has been studied since, it is considered as an indicator of effective depolarization. For this, acute brain slices of C57BL/6 mice were perfused with artificial cerebrospinal fluid that contained diverse glucose concentrations before depolarization in the presence of KCl. Our results showed that CAMKII and ERKs, are less activated when depolarization takes place in hyperglycemic conditions. This effect could be the result of the increase in osmolality of the perfusion solution, as the same effects were recorded in the presence of mannitol. On the contrary, in hypoglycemic conditions no significant difference on the activated protein levels is noticed. In addition, the potential neuroprotective effect of agents, such as creatine and allopregnanolone, has been investigated. It was found that pCAMKII levels are most affected by creatine while allopregnanolone causes an increase in pERKs. Finally, a comparative study of the effect of allopregnanolone on male and female mice was carried out, which showed a more significant increase in pERKs in hypoglycemic conditions, only in females. In conclusion, the above results suggest that a disorder of glucose metabolism leading to hyperglycemia is directly associated with alteration of synaptic function which could ultimately lead to neurodegeneration.

## ΕΠΙΤΥΧΗΣ ΕΚΠΤΥΞΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ SMALL MOLECULES

**Βαρβαράκη Α.<sup>1,2</sup>, Βαλλιάνου Ι.<sup>1</sup>, Χριστοφή Π.<sup>1,2</sup>, Αναγνωστόπουλος Α.<sup>1</sup>, Γιάγκου Μ.<sup>1,2</sup>, Γιαννάκη Ε.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική-Μ.Μ.Μ.Ο., Γ.Ν.Θ. «Γ. Παπανικολάου»

<sup>2</sup> Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Η ex-vivo γονιδιακή θεραπεία αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCs) με λεντιϊκούς φορείς, έχει επιδείξει σημαντικές κλινικές επιτυχίες. Ωστόσο, παραμένουν περιορισμοί, όπως τα σχετικά χαμηλά ποσοστά γονιδιακής μεταφοράς και εμφύτευσης των γενετικά τροποποιημένων HSCs, λόγω της αρνητικής επίδρασης των συνθηκών καλλιέργειας. Η δυνατότητα έκπτυξης και βελτίωσης της ποιότητας των γενετικά τροποποιημένων HSCs παραμένει μη εκπληρωμένη ανάγκη. Πρόσφατα, ανακαλύφθηκαν μικρά μόρια (small molecules-SMs), ικανά να προάγουν την έκπτυξη HSCs ομφαλιοπλακουντικού ή κινητοποιημένου περιφερικού αίματος (ΚΠΑ). Ωστόσο, η επίδραση των SMs σε γενετικά τροποποιημένα HSCs έχει μελετηθεί ελάχιστα. Διερευνήθηκε η επίδραση των LY, UM171, SR1, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, στην έκπτυξη CD34+ ΚΠΑ, κατόπιν γενετικής τροποποίησης με λεντιϊκό φορέα. Τα CD34+ απομονώθηκαν με ανοσομαγνητικό διαχωρισμό, διαμολύνθηκαν με λεντιϊκό φορέα- GFP και καλλιεργήθηκαν παρουσία SMs σε μέσο χωρίς ορό, παρουσία κυτοκινών (Fit- 3, SCF, TPO) για 7 ημέρες. Μελετήθηκε η επίδραση των SMs στην έκπτυξη και στον ανοσοφαινότυπο με κυτταρομετρία ροής, την κλωνογενή ικανότητα και την ικανότητα διαμόλυνσης των HSCs. Τα SMs δεν επηρέασαν την έκπτυξη του συνολικού αριθμού των CD34+ ως προς την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο, το UM171 και ο συνδυασμός LY, UM171 και SR1 (X3) οδήγησαν σε σημαντικό εμπλουτισμό και έκπτυξη υποπληθυσμών HSCs αρχέγονου φαινοτύπου (%Cd34+cD38-, CD34+CD38- CD90+, CD34+CD45RA-CD133+,  $p<0.02$ ) καθώς και αυξημένη έκφραση GFP στους αρχέγονους υποπληθυσμούς ( $p<0.01$ ) και σε ερυθροειδική υγρή καλλιέργεια. Το UM και ο συνδυασμός X3 δεν επηρέασαν την κλωνογενή ικανότητα, αλλά οδήγησαν σε σημαντική αύξηση των ιικών αντιγράφων ανά κύτταρο σε αποικίες μεθυλοκυτταρίνης. Συνολικά, καταδεικνύεται σημαντική έκπτυξη αρχέγονων υποπληθυσμών γενετικά τροποποιημένων HSCs. Η δυνατότητα έκπτυξης των διαμολυσμένων HSCs με διατήρηση του αρχέγονου χαρακτήρα τους, αναμένεται να βελτιώσει την κλινική έκβαση της γονιδιακής θεραπείας

## **EFFICIENT EXPANSION OF IMMUNOPHENOTYPICALLY PRIMITIVE, GENETICALLY MODIFIED HEMATOPOIETIC STEM CELLS DERIVED FROM MOBILIZED PERIPHERAL BLOOD, USING SMALL MOLECULES**

**Varvaraki A.<sup>1,2</sup>, Vallianou I.<sup>1</sup>, Christofi P.<sup>1,2</sup>, Anagnostopoulos A.<sup>1</sup>, Yiangou M.<sup>2</sup>, Yannaki E.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Gene and Cell Therapy Centre, Hematology-BMT Unit, George Papanikolaou Hospital, Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup> *Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*

Lentiviral vector (LV) ex-vivo gene therapy of hematopoietic stem cells (HSCs) has shown tremendous therapeutic potential for various genetic disorders. However, the need of obtaining high yields of engraftable HSCs under culture conditions generates the challenge for further process optimization. Certain small molecules (SMs) have been identified that improve the expansion of unmanipulated cord blood or mobilized peripheral blood (mpB) derived HSCs, while retaining self-renewal and inhibiting differentiation. Nevertheless, the expansion capacity of SMs on genetically-modified, HSCs remains largely unexplored. We investigated whether LY (LY2228820), pyrimidoindole derivative UM171 or SR1 (Stem-Reginin), alone or in combination (X3), can sufficiently expand mobilized CD34+ cells transduced with a LV-GFP vector. CD34+ cells were isolated by immunomagnetic separation, transduced and cultured in the presence of SMs for 7 days in serum free medium supplemented with cytokines (FLT-3, SCF and TPO). The effect of SMs on expansion and immunophenotype of primitive CD34+ sub-populations was assessed by flow cytometry. Transduction efficiency and clonogenicity of SM-expanded HSCs were also determined. SMs exhibited no quantitative differences in expansion of total CD34+ compared to vehicle (DMSO)-treated cells. Importantly however, UM171 and X3 expanded those HSCs bearing a primitive phenotype (% CD34+CD38-, CD34+CD38-CD90+ and CD34+CD45RA-CD133+,  $p \leq 0.02$ ) and expressing higher GFP levels over control ( $p \leq 0.01$ ). In methylcellulose and erythroid cell differentiation cultures, UM171 and X3 combination led to increased transduction efficiency and GFP expression levels. We here provide evidence for significant expansion of phenotypically primitive, genetically- modified HSCs derived from mobilized peripheral blood. The incorporation of UM171 or X3 in cell manufacturing is expected to advance the ex-vivo genetic engineering of HSCs and the overall outcome of gene therapy.

## **ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΧΩΡΟΧΡΟΝΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ NR4A3 ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ**

**Αγόρου Γεωργία, Σίσκος Νικήστρατος, Φυσέκης Ιωάννης, Σκάβδης Γεώργιος, Γρηγορίου Μαρία Ε.**

*Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας Ανάπτυξης & Μοριακής Νευροβιολογίας, Εργαστήριο Μοριακής Ρύθμισης & Ανάπτυξης Διαγνωστικής Τεχνολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Το γονίδιο NR4A3 κωδικοποιεί για ένα μέλος της οικογένειας NR4A η οποία εντάσσεται στην υπεροικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων, των οποίων η δράση εξαρτάται από τη σύνδεση τους με ένα προσδέτη και ασκείται μέσω της πρόσδεσης τους σε ειδικές αλληλουχίες στο DNA όπου ελέγχουν τη γονιδιακή έκφραση. Ο παράγοντας NR4A3 ανήκει στους λεγόμενους "ορφανούς" υποδοχείς, καθώς οι προσδέτες του δεν έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι στιγμής, ενώ για το ρόλο του στο νευρικό σύστημα είναι μόνο γνωστό ότι αποτελεί ένα από τα γονίδια που επάγονται ταχύτατα κατά τη διαφοροποίηση νευρικών βλαστοκυττάρων *in vitro*. Ως πρώτο βήμα για την μελέτη του ρόλου του NR4A3 στην ανάπτυξη, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της έκφρασής του κατά την εμβρυογένεση του ποντικού. Τα πειράματα αυτά έδειξαν ότι, στο αναπτυσσόμενο νευρικό σύστημα το γονίδιο NR4A3 εκφράζεται με ένα χαρακτηριστικό πρότυπο από την E14.5 σε συγκεκριμένες περιοχές του τελικού εγκεφάλου και συγκεκριμένα στον φλοιό του προσαγωγίου, στον ιππόκαμπο και την αμυγδαλή.

## **ANALYSIS OF SPATIOTEMPORAL EXPRESSION OF NR4A3 IN EMBRYONIC BRAIN DEVELOPMENT**

**Agorou Georgia, Siskos Nikistratos, Fysekis Ioannis, Skavdis George, Grigoriou Maria E.**

*Laboratory of Developmental Biology & Molecular Neurobiology, Laboratory of Molecular Regulation & Development of Diagnostic Technology, Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace*

Nuclear receptors are ligand-dependent transcriptional factors that bind to specific DNA response elements and recruit the basal transcriptional machinery, chromatin remodeling factors and other transcriptional factors in order to regulate gene expression. NR4A3 encodes for a member of the NR4A subfamily of the superfamily of nuclear receptors. NR4A3 is an orphan receptor as its ligands have not been identified yet. Moreover, relatively little is known about its role in the nervous system; except for its rapid induction upon in vitro differentiation of neural stem cells. As a first step in the study of the role of NR4A3 in brain development we performed an expression analysis during mouse embryogenesis. These experiments showed that in the developing brain NR4A3 gene is expressed by a characteristic pattern from E14.5 in specific areas of the telencephalon, namely the cingulate cortex, the hippocampus and the amygdala.

## **ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΝΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΩΝ ΤΗΣ TRNASE Z ΣΤΗΝ ΒΙΟΓΕΝΕΣΗ ΜΗ-ΚΩΔΙΚΩΝ RNAS ΜΕΣΩ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ CRISPR ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ**

**Αλεξίου Αργύρης, Σόκατ Αθανάσιος-Νασίρ, Καλιάτση Ελένη, Κατσιούλας Χρήστος, Σκεπαρνιας Ηλίας, Σταθόπουλος Κωνσταντίνος**

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26 504 Πάτρα, Ελλάδα*

Η ριβονουκλεάση Z (tRNase Z) είναι η ενδονουκλεάση που απομακρύνει την 3' ακόλουθη αλληλουχία των πρόδρομων tRNAs, ένα σημαντικό βήμα στην βιογένεση των tRNAs. Το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιεί δύο μορφές RNase Z: την RNase ZL (92,2 kDa), η οποία κωδικοποιείται από το γονίδιο ELAC2 και την RNase ZS (40 kDa), η οποία κωδικοποιείται από το γονίδιο ELAC1. Η RNase ZL εντοπίζεται στον πυρήνα και τα μιτοχόνδρια και είναι υπεύθυνη για την ωρίμανση των πυρηνικών και μιτοχονδριακών tRNAs, την παραγωγή tRFs τύπου 1 και την ωρίμανση lncRNAs όπως το MALAT1. Επιπλέον, έχουν παρατηρηθεί και μη καταλυτικές δράσεις της RNase ZL. Αντίθετα η RNase ZS εντοπίζεται αποκλειστικά στο κυτταρόπλασμα και ο βιολογικός ρόλος της παραμένει άγνωστος. Προηγούμενες μελέτες εμπλέκουν και τις δύο μορφές, κάθε μία με διαφορετικό τρόπο, στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, στην βιογένεση lncRNAs, στην ρύθμιση του μονοπατιού RNAi και στην παραγωγή tRFs κάτω από stress. Για την περαιτέρω μελέτη του φυσιολογικού ρόλου των RNase ZL και RNase ZS επιστρατεύτηκε η τεχνική γονιδιωματικής επεξεργασίας CRISPR-Cas9 σε κύτταρα HEK-293T. Τα πειράματα αυτά έδειξαν πως η RNase ZS δεν είναι απαραίτητη για την επιβίωση των κυττάρων, εν αντιθέσει με την RNase ZL όπου υπάρχουν ενδείξεις πως η απουσία της είναι θνησιγόνα αφού επιβίωσαν και απομονώθηκαν μόνο κύτταρα που δεν είχαν τροποποιηθεί πλήρως. Το παραπάνω συμφωνεί με πρόσφατες αναφορές ότι η απαλοιφή του ELAC2 δημιουργεί μη βιώσιμα έμβρυα στα ποντίκια. Για να μελετηθούν οι επιπτώσεις της έλλειψης του ELAC2 μακροπρόθεσμα, αλλά και για να δημιουργηθεί ένα πιο δυναμικό εργαλείο για την μελέτη της έλλειψης της RNase ZS, δημιουργήθηκε μία κυτταρική σειρά A549 η οποία εκφράζει τη χιμαιρική dCas9-KRAB πρωτεΐνη, ώστε με CRISPR παρεμβολή να κατασταλεί - αναστρέψιμα - η έκφραση της εκάστοτε RNase Z. Με την χρήση αυτού του συστήματος διερευνήθηκαν οι νέοι ρόλοι της εκάστοτε μορφής και αποκτήθηκαν νέα στοιχεία για τον πλεονασμό των ευκαρυωτικών ριβονουκλεασών.

## **NOVEL TRNASE Z CELLULAR FUNCTIONS IN NON-CODING RNA BIOGENESIS REVEALED VIA COMBINED CRISPR EDITING AND INTERFERING APPROACHES**

**Alexiou Argyris, Shaukat Athanasios-Nasir, Kaliatsi Eleni, Katsioulas Christos, Skeparnias Ilias, Stathopoulos Constantinos**

*Department of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26 504 Patras, Greece*

Ribonuclease Z (tRNase Z) is the endonuclease responsible for the removal of 3' trailer sequences from tRNA precursors, an essential step in tRNA biogenesis. The human genome encodes two proteins, RNase ZL (92.2 kD), encoded by the ELAC2 gene and RNase ZS (40 kD), encoded by the ELAC1 gene. RNase ZL is localized in the nucleus and the mitochondria and is responsible for the maturation of nuclear and mitochondrial tRNAs, the generation of series-1 tRNA-derived fragments and the maturation of lncRNAs such as MALAT1. Furthermore, RNase ZL has been reported to have various non-catalytic properties. On the other hand, RNase ZS is present in the cytoplasm and has an unknown biological role so far. Previous work has implicated both forms in cell cycle regulation, lncRNA biogenesis, fine-tuning the RNAi pathway and tRF production during stress, albeit each in a different manner. As a means to study more thoroughly the physiological role of both RNase ZS and RNase ZL, we employed CRISPR-Cas9 genome editing in HEK-293T cells. Our experiments demonstrated for the first time that ELAC1 is dispensable for cell viability in contrary to ELAC2 where no fully edited clones were isolated, hinting that ELAC2 knock-out is lethal. This later finding is backed up by recent reports stating that knocking-out ELAC2 is embryonic lethal in mice. In order to study the effect of ablating ELAC2 longterm, as well as to create a more dynamic tool for studying RNase ZS deficiency, we generated a A549 stable cell line which expresses the dCas9-KRAB fusion protein enabling us to use CRISPR interference and repress the expression of either form in a reversible manner. Using this system, we investigated the new roles for each form and acquired novel insights on the redundancy of eukaryotic ribonucleases.

## ΜΙΚΡΟΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΤΙΣ ΑΚΤΕΣ ΤΗΣ ΑΛΟΝΝΗΣΟΥ

**Αλεξίου Ιωάννα<sup>1</sup>, Τούντα Ελένη<sup>2</sup>, Μπόμπορη Δήμητρα<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., ΤΘ 134, 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Εταιρεία Μελέτης και Προστασίας της Μεσογειακής Φώκιας (Μομ), Σολωμού 18, 10682 Εξάρχεια, Αθήνα

Τις τελευταίες δεκαετίες παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η διερεύνηση της επιβάρυνσης του περιβάλλοντος και κυρίως των υδάτινων οικοσυστημάτων με πλαστικά και πολυμερή προϊόντα, εξαιτίας της όλο και αυξανόμενης χρήσης τους. Σημαντική είναι μια ιδιαίτερη κατηγορία πλαστικών, τα μικροπλαστικά, δηλαδή σωματίδια μεγέθους 300μm ως 5mm, που λόγω του κυματισμού και των θαλάσσιων ρευμάτων εμφανίζουν μεγάλη διασπορά και μπορούν εύκολα να εισέλθουν στις υδάτινες τροφικές αλυσίδες, μέσω της πρόσληψής τους από τους υδρόβιους οργανισμούς. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της ύπαρξης μικροπλαστικών στις παράκτιες περιοχές της Αλοννήσου. Πραγματοποιήθηκαν δύο δειγματοληψίες (Οκτώβριος 2017, Μάρτιος 2018) σε τρεις θέσεις (Τσουκαλιά, Χρυσή Μηλιά, Γυάλια), με διαφορετικό βαθμό όχλησης και έκθεσης στον κυματισμό. Σε κάθε θέση λήφθηκαν 15 επιφανειακά (έως 5 cm βάθος) δείγματα άμμου. Ακολούθησε κοσκίνισμα (κόσκινο 5 mm) και ο διαχωρισμός των μικροπλαστικών από τα δείγματα της άμμου με τη χρήση διαλύματος  $ZnCl_2$ , ειδικού βάρους 1,6 mg/ml. Τα μικροπλαστικά στη συνέχεια κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με το μέγεθός τους σε: α) 0,3-1 mm, β) 1-2 mm, και γ) 2-5 mm. Η οπτική παρατήρησή τους, ανά κατηγορία μεγέθους, έγινε σε στερεομικροσκόπιο Nikon (smZ-18) και στη συνέχεια ταξινομήθηκαν, με βάση τον τύπο τους, στις κατηγορίες: πλαστικά θραύσματα, σφαιρίδια, ίνες και συσσωματώματα ινών. Τα υψηλότερα ποσοστά μικροπλαστικών που μετρήθηκαν ανήκαν στην κατηγορία των ινών (89,25%) και στα πολύ μικρού μεγέθους (0,3-1 mm) μικροπλαστικά που μπορούν εύκολα να μεταφερθούν με τον κυματισμό. Οι μέσες τιμές μικροπλαστικών δεν διέφεραν σημαντικά ( $t$ -test=-1,723,  $df=16$ ,  $p>0,05$ ) μεταξύ των δύο δειγματοληπτικών περιόδων ούτε ανάμεσα στους σταθμούς δειγματοληψίας (ANOVA,  $F=0,850$ ,  $df=17$ ,  $p>0,05$ ). Προτείνεται η επέκταση της έρευνας για την εκτίμηση των πιθανών πηγών προέλευσης και μεταφοράς των μικροπλαστικών στις ακτές της Αλοννήσου.

## MICROPLASTICS ALONG THE COASTS OF ALONISSOS ISLAND

**Alexiou Ioanna<sup>1</sup>, Tounta Eleni<sup>2</sup>, Bobori Dimitra<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, POBox 134, 54124Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Society for the Study and Protection of the Monk Seal (Mom), 18 Solomou, Exarchia 10682, Athens

During the last decades, there is a particular interest in the research of aquatic ecosystem enrichment with plastics and polymer products, due to their continuously and accelerating increase of their uses by human. Especially microplastics, that are particles of 300µm to 5mm in size, are of great interest, due to their easily transport through waves and sea currents. Thus, they are highly dispersed and can be potentially enter the aquatic food chains via ingestion by aquatic organisms. The purpose of the present study was to assess microplastics in the coastal areas of Alonissos island. Two samplings were conducted (in October 2017 and March 2018) in three sampling locations (Tsoukalia, Chrysi Milia, Gyalia), having a different degree of human impacts and exposure to waves. At each location, 15 surface (up to 5 cm deep) sand samples were collected and sieved (5 mm pore size). A solution of 1.6 mg ZnCl<sub>2</sub>/ml was used for separating microplastics from sand samples. Microplastics were then categorized according to their size at: a) 0.3-1 mm, b) 1-2 mm, and c) 2-5 mm, visually observed with a Nikon stereoscopic microscope (SMZ-18) and classified according to their type as: fragments, pellets, fibers, fiber clumps. Fibers, with small size (0.3-1 mm) were the dominant category (89.25%). No significant differences in the mean values of microplastics were observed between the two sampling periods (t- test= -1.723, df = 16, p> 0.05) or among the sampling locations (ANOVA, F = 0.850, df =17, p> 0.05). It is proposed to extend the survey to assess the potential sources of origin and transport of microplastics at the coasts of Alonissos.

## ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *GAMBIERDISCUS* ΣΤΗΝ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ ΘΑΛΑΣΣΑ

**Αλιγιζάκη Κατερίνα, Κουτουνίδου Συμέλα, Βέτας Δημήτριος, Αρσενάκης Μηνάς**

Εργαστηριακή Μονάδα Θαλάσσιων Τοξικών Μικροφυκών, Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη 54124, Ελλάδα

Τα βενθικά δινοφύκη του γένους *Gambierdiscus* αποτελούν τον αιτιολογικό παράγοντα της νόσου Ciguatera Fish Poisoning (CFP), καθώς παράγουν τις νευροτοξίνες σιγκουατοξίνη και μαϊτοτοξίνη. Μέχρι πρόσφατα η γεωγραφική τους εξάπλωση περιοριζόταν κυρίως σε τροπικές-υποτροπικές περιοχές. Ο εντοπισμός πληθυσμών του γένους σε παράκτιες περιοχές της Ελλάδας το 2003 επεσήμανε τον κίνδυνο εμφάνισης της CFP, γεγονός που έδωσε το έναυσμα για αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον όσον αφορά στη μελέτη της εξάπλωσης και της ταυτοποίησης των πληθυσμών σε ευρωπαϊκές περιοχές. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί τέσσερα διαφορετικά είδη *Gambierdiscus* στην Κρήτη. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η μορφολογική (σε οπτικό και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης) και μοριακή ταυτοποίηση (με βάση τις περιοχές D8-D10 και D1-D3 του LSU rDNA) επιπλέον στελεχών *Gambierdiscus* από περιοχές της Κρήτης, της Σάμου, της Ρόδου και της Κύπρου (> 50 στελέχη συνολικά). Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την παρουσία του *Gambierdiscus* sp., που είχε αρχικά καταγραφεί στην Κρήτη και είναι ένα νέο υπό περιγραφή είδος συγγενικό με τα *G. caribaeus*/*G. carpenteri*, και ενός είδους που συγγενεύει με το *G. belizeanus*, στην Κρήτη και για πρώτη φορά στην Κύπρο. Επιπρόσθετα, στην Κρήτη καταγράφηκε και πάλι το *G. silvae*, και για πρώτη φορά το *G. australes*, το οποίο πρόσφατα έχει καταγραφεί στη Δυτική Μεσόγειο. Με βάση τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα δε βρέθηκε το *G. carolinianus* το οποίο έχει επίσης καταγραφεί σχετικά πρόσφατα στην Κρήτη. Επιπλέον, καταγράφεται και χαρακτηρίζεται για πρώτη φορά στην Κύπρο το γένος *Fukuyoa*, είδη του οποίου μέχρι πρόσφατα (2015) συγκαταλέγονταν στο γένος *Gambierdiscus*. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δείχνουν την αύξηση του αριθμού των διαφορετικών taxa του γένους *Gambierdiscus* στην Ανατολική Μεσόγειο σε τουλάχιστον πέντε και την παρουσία ενός taxon του γένους *Fukuyoa*, ενώ η ανάλυση των στελεχών από τη Ρόδο και τη Σάμο είναι ακόμη υπό εξέλιξη.

## **DIVERSITY AND DISTRIBUTION OF THE GENUS *GAMBIERDISCUS* IN THE EASTERN MEDITERRANEAN SEA**

**Aligizaki Katerina, Koutounidou Symela, Vetas Dimitrios, Arsenakis Minas**

*Laboratory Unit on Harmful Marine Microalgae, Laboratory of General Microbiology, Department of Genetics, Development and Molecular Biology, AUTH, Thessaloniki, GR-54124, Greece*

Benthic dinoflagellates of the genus *Gambierdiscus* are the causative agent of Ciguatera Fish Poisoning (CFP), as they produce the neurotoxins ciguatoxin and maitotoxin. Until recently, their geographical distribution was limited to tropical- subtropical areas. The identification of populations of the genus in Greek coastal areas on 2003, highlighted the risk of CFP appearance, which has actually increased the research interest on the distribution and identification of populations in European regions. Four *Gambierdiscus* species had been identified so far in Crete. The aim of this study is the morphological (with light and scanning electron microscopy) and molecular identification (based on the LSU rDNA D8-D10 and D1-D3 regions) of additional *Gambierdiscus* strains from Crete, Samos, Rhodes and Cyprus (>50 strains in total). Preliminary results confirmed the presence of *Gambierdiscus* sp., which was originally reported in Crete and is a new under description species associated with *G. caribaeus*/*G. carpenteri* and another species relative to *G. belizeanus*, in Crete and for the first time in Cyprus. In addition, *G. silvae* and for the first time *G. australes*, which had been recently detected in the Western Mediterranean, were found in Crete. Based on the results so far, *G. carolinianus* was not detected, even though it was reported recently in Crete. In addition, the genus *Fukuyoa*, species of which were included in the genus *Gambierdiscus* until recently (2015), is documented and described for the first time in Cyprus. The results of this research indicate an increase in the number of the different *Gambierdiscus* species in the Eastern Mediterranean to at least five taxa, and the presence of one taxon from the genus *Fukuyoa*, while the analysis of the strains from Rhodes and Samos is still in progress.

## **Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΑΛΟΠΟΙΗΣΗΣ/ΚΑΤΑΨΥΞΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΨΥΞΗΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΤΟΥ DNA ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΤΟΥ SPERM CHROMATIN DISPERSION (SCD, HALOSPERM) ΚΑΙ ΤΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ**

**Αναγνώστου Μαρία, Μεσσήνη Χριστίνα, Σιμοπούλου Μάρα, Ζεγκινιάδου Αθανασία, Νταφόπουλος Κωνσταντίνος, Δαπόντε Αλέξανδρος, Ανυφαντής Γεώργιος-Σπυρίδων**

*Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μεζούρλο*

Η κατάψυξη των σπερματοζωαρίων αποτελεί μια από τις διαδικασίες που χρησιμοποιούνται για διάφορους λόγους εδώ και χρόνια στις Μονάδες Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (ΜΙΥΑ) και στις Τράπεζες Κρυοσυντήρησης (ΤΚ). Η υαλοποίηση (γρήγορη κατάψυξη) και η απόψυξη δειγμάτων σπέρματος χρησιμοποιούνται σε επίπεδο ρουτίνας. Η επίδραση της κατάψυξης/απόψυξης στα χαρακτηριστικά της κινητικότητας του σπέρματος εάν και έχει μελετηθεί εκτενώς στο ποσοστό κατάτμησης του DNA είναι αμφιλεγόμενη. Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να ερευνηθεί κατά πόσο η διαδικασία της υαλοποίησης/απόψυξης επηρεάζει την κινητικότητα και την κατάτμηση του DNA σε δείγματα σπέρματος. Σε τριάντα δείγματα σπέρματος που προέρχονται από τριάντα διαφορετικούς άνδρες μελετήθηκε η επίδραση της υαλοποίησης/απόψυξης στην κινητικότητα του σπέρματος και εάν η επίδραση αυτή στην κινητικότητα συνοδεύεται και από ανάλογη επίδραση στο ποσοστό κατάτμησης του DNA. Μετά τη ρευστοποίηση του δείγματος και την μικροσκοπική του εκτίμηση (σύμφωνα με το WHO 2010), ένα τμήμα του 0,5ml χρησιμοποιήθηκε για την πειραματική διαδικασία της υαλοποίησης και ένα τμήμα 0,2ml χρησιμοποιήθηκε για τη διαδικασία της κατάτμησης του DNA. Η κατάτμηση εκτιμήθηκε με δύο τρόπους, το Sperm Chromatin Dispersion (SCD, Halosperm) και τη κυτταρομετρία ροής. Δεκαπέντε μέρες μετά την κατάψυξη του τελευταίου δείγματος πραγματοποιήθηκε απόψυξη των δειγμάτων και εκτιμήθηκε η κινητικότητα και το ποσοστό κατάτμησης του DNA. Όπως αναμένονταν η προωθητική κίνηση των σπερματοζωαρίων μειώθηκε μετά την απόψυξη των δειγμάτων (54,7% +2,2 vs 29,5% +2,8) και η μείωση αυτή συνοδεύτηκε από παρόμοια αύξηση του ποσοστού κατάτμησης και με τις δύο μεθόδους (SDF: 35,3%+0,8 vs 47,3%+0,7, κυτταρομετρία ροής: 25,3%+1,9 vs 30,3%+1,9). Η εμφανής επίδραση της υαλοποίησης/απόψυξης στο DNA δειγμάτων σπέρματος θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη διότι πολλές ΜΙΥΑ και ΤΚ χρησιμοποιούν δείγματα σπέρματος που έχουν καταψυχθεί/αποψυχθεί είτε για απλή γονιμοποίηση είτε και για σπερματέγχυση.

## **THE EFFECT OF CRYOPRESERVATION ON SPERM MOTILITY AND DNA FRAGMENTATION BY SPERM CHROMATIN DISPERSION (SCD) AND SPERM CHROMATIN STRUCTURE ASSAY (SCSA) TESTS**

**Anagnostou Maria, Messini Christina, Simopoulou Mara, Zeginiadou Athanasia, Dafopoulos Konstantinos, Daponte Alexandras, Anifandis George-Spyridon**

*Department of Obstetrics and Gynecology, School of Health Sciences, Faculty of Medicine, University of Thessaly*

Sperm cryopreservation has been implemented in all Assisted Reproductive Units (ARTs) for various reasons years ago. In the era of vitrification, sperm vitrification/thawing as a cryopreservation/warming method, has been also used routinely. The impact of vitrification/thawing on sperm motility has been extensively investigated nevertheless the effect on DNA fragmentation is still a question. The aim of the present study is to investigate the effect of cryopreservation on sperm motility and whether this impact is accompanied by a relative impact on DNA fragmentation. Thirty men seeking semen analysis, after given informed consent were enrolled for the purpose of the present study. After semen analyses, according to World Health Organization (WHO) 2010 guidelines, an aliquot of 0.5ml of each sperm sample was used for vitrification, while an aliquot of 0.2ml was used for the evaluation of DNA fragmentation. The Sperm Chromatin Dispersion (SCD, Halosperm) and Comet assay were used for measuring DNA fragmentation. Following semen analyses, vitrification was performed in each semen sample, while fifteen days post the last vitrified sperm sample, thawing was performed in all semen samples. Following semen analyses, DNA fragmentation assays were performed for the evaluation of fragmentation index post-thawing. As expected, sperm progressive motility was decreased in a significant level ( $54.7\% \pm 2.2$  vs  $29.5\% \pm 2.8$ ) and this reduction was accompanied by a significant increase in DNA fragmentation as indicated from both assays used (SDF:  $35.3\% \pm 0.8$  vs  $47.3\% \pm 0.7$ ; Comet assay:  $25.3\% \pm 1.9$  vs  $30.3\% \pm 1.9$ ). The profound effect of vitrification/thawing on sperm viability through the damage on sperm DNA should be taken under serious consideration, since many ART Units use cryopreserved sperm samples for various IUI/IVF/ICSI -ET treatments.

## **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ HSPC280 ΜΕ ΤΟΥΣ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΝΑΝΟΣΩΛΗΝΙΣΚΟΥΣ**

**Αναστασιάδου Μαρία, Γιούρου Βενετία, Καλυβιώτης Κωνσταντίνος, Φυσέκης Ιωάννης, Στυλιανοπούλου Ηλέκτρα, Σκάβδης Γιώργος, Γρηγορίου Ε. Μαρία**

*Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας Ανάπτυξης & Μοριακής Νευροβιολογίας, Εργαστήριο Μοριακής Ρύθμισης & Ανάπτυξης Διαγνωστικής Τεχνολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης.*

Η HSPC280 είναι μια μικρή πρωτεΐνη που εκφράζεται στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, εκτός από τους μύκητες, εμφανίζοντας ιδιαίτερα συντηρημένη αλληλουχία μεταξύ των ειδών. Στο αναπτυσσόμενο έμβρυο η HSPC280 εκφράζεται αποκλειστικά στο νευρικό σύστημα σε ένα πληθυσμό ιστοειδικών νευρικών βλαστοκυττάρων, ενώ σε πειράματα *in vitro* η υπερέκφρασή της συνδέεται με τη διατήρηση των κυττάρων σε κατάσταση πολλαπλασιασμού. Στα εμβρυικά κύτταρα, η πρωτεΐνη εντοπίζεται στον πυρήνα. Ωστόσο, πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε γλοιοβλαστωματικές κυτταρικές σειρές, έδειξαν ότι η HSPC280 εντοπίζεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα. Ακόμη, η έκφρασή της φαίνεται να περιορίζεται κυρίως σε έναν πληθυσμό κυττάρων που εκφράζει νεστίνη, η οποία αποτελεί δείκτη των γλοιοβλαστωματικών βλαστικών κυττάρων. Για αυτό, λοιπόν, θεωρήθηκε εύλογο να μελετηθεί η έκφρασή της με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού και σε άλλες καρκινικές κυτταρικές σειρές, μη νευρικής προέλευσης, όπως οι κυτταρικές σειρές HeLa και HEK-293, που αποτελούν κλασικά κυτταρικά συστήματα. Από τη μελέτη προέκυψε ότι, τόσο στα HeLa όσο και στα HEK-293, η HSPC280 εκφράζεται στο σύνολο των κυττάρων και εντοπίζεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα. Ιδιαίτερο, ωστόσο, ενδιαφέρον παρουσιάζει σε αυτές τις μη νευρικές κυτταρικές σειρές η έκφραση της HSPC280, καθώς εντοπίστηκε και στους διακυτταρικούς νανοσωληνίσκους, λεπτές, μακριές δομές που σχηματίζονται μεταξύ κυττάρων και εμπλέκονται στη μεταφορά κυτταρικών στοιχείων σε μεταξύ απομακρυσμένων κυττάρων.

## **CORRELATION OF HSPC280 EXPRESSION WITH TUNNELING NANOTUBES**

**Anastassiadou Maria, Giourou Venetia, Kalyviotis Konstantinos, Fysekis Ioannis, Stylianopoulou Electra, Skavdis George, Grigoriou E. Maria**

*Laboratory of Developmental Biology & Molecular Neurobiology, Laboratory of Molecular Regulation & Development of Diagnostic Technology, Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace.*

HSPC280 is a small, highly conserved protein expressed in all eukaryotic organisms, with the exception of fungi. In the developing embryo HSPC280 expression is restricted in the nervous system, in a population of tissue-specific neural stem cells. A series of overexpression experiments in vitro have shown that HSPC280 is associated with the maintenance of the cells in proliferative state. In embryonic cells, the protein is located in the nucleus; however, in glioblastoma cell lines HSPC280 is located in both the nucleus and the cytoplasm, in a population that also expresses nestin, which is a marker of glioblastoma stem cells. To study if HSPC280 is also expressed in nonneuronal cancer cell lines we studied HeLa and HEK-293 cell lines that are classical cellular systems. In both HeLa and HEK-293, HSPC280 is expressed in all cells and is located both in the nucleus and in the cytoplasm in all cells. Notably, in these cell lines HSPC280 was also detected in the tunneling nanotubes, long, thin, structures that connect cells over long distances and are implicated in the transfer of cellular components from cell to cell.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΒΟΡΤΕΖΟΜΙΜΠΗ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΑΣΩΜΑΤΟΣ**

**Αναστασόπουλος Δ., Ζαφειροπούλου Κ., Συμεωνίδης Α., Κατσώρης Π.**

*Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών. Πάτρα Τομέας Παθολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Πατρών, Πάτρα*

Ο αναστολέας του πρωτεασώματος βορτεζομίμη είναι ένα πρωτοποριακό αντικαρκινικό φάρμακο, ιδιαίτερα αποτελεσματικό στη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος και άλλων κακοηθειών. Μέσω αναστρέψιμης πρόσδεσης στην β5 υπομονάδα του πρωτεασώματος, αναστέλλει τη δράση χυμοτριψίνης του πολυπρωτεϊνικού αυτού συμπλόκου. Ωστόσο, φαινόμενα ανάπτυξης ανθεκτικότητας των καρκινικών κυττάρων στη βορτεζομίμη περιορίζουν την κλινική της αποτελεσματικότητα. Στην εργασία αυτή, μελετήθηκε ο ρόλος του πρωτεασώματος στην αναπτυσσόμενη ανθεκτικότητα στην βορτεζομίμη. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκαν οι αλλαγές στην ποσότητα της β5 υπομονάδας και στην ενζυμική ενεργότητα του πρωτεασώματος σε καρκινικά κύτταρα ανθρώπινου προστάτη (DU145). Δημιουργήθηκαν ανθεκτικοί στην βορτεζομίμη κλώνοι κυττάρων DU145. Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο RPMI (5% FBS) με σταδιακή αύξηση στη συγκέντρωση βορτεζομίμης, έως ότου αναπτύχθηκε ανθεκτικότητα στο φάρμακο. Σε πειράματα επιβίωσης, τα καρκινικά κύτταρα ελέγχου παρουσίαζαν επιβίωση 10% σε συγκέντρωση 20 nM βορτεζομίμης, ενώ η επιβίωση των ανθεκτικών κλώνων παρέμενε ανεπηρέαστη ακόμη και σε συγκεντρώσεις άνω των 50 nM. Αρχικά, μελετήθηκε η ποσοτική παρουσία της β5 υπομονάδας του πρωτεασώματος σε φυσιολογικά και ανθεκτικά κύτταρα DU145 χρησιμοποιώντας ανάλυση Western. Τα αποτελέσματα έδειξαν υπερέκφραση της β5 υπομονάδας του πρωτεασώματος στα ανθεκτικά κύτταρα. Στη συνέχεια, με χρήση φθορισμομετρίας μελετήθηκε η ενζυμική δραστηριότητα του πρωτεασώματος σε φυσιολογικά και ανθεκτικά κύτταρα DU145. Από τα πειράματα αυτά βρέθηκε ότι η ενζυμική δραστηριότητα του πρωτεασώματος των ανθεκτικών κυττάρων δεν είχε στατιστικά σημαντικές διαφορές από αυτήν των φυσιολογικών. Συμπερασματικά, η ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων στην βορτεζομίμη φαίνεται να σχετίζεται με την υπερέκφραση της β5 υπομονάδας του πρωτεασώματος και όχι με την επαγωγή της ενζυμικής δραστηριότητάς του.

## **STUDY OF THE MECHANISMS OF ACQUIRED RESISTANCE TO BROTEZOMIB THE ROLE OF THE PROTEASOME**

**Anastasopoulos D.<sup>1</sup>, Zafiropoulou K.<sup>2</sup>, Symeonidis A<sup>2</sup>, Katsoris P.<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>University of Patras, Department of Biology, Patras, Rio, Greece University of Patras,*

*<sup>2</sup>Department of Internal Medicine, University Hospital of Patras, Rio, Greece*

The proteasome inhibitor bortezomib is a novel anticancer drug that has shown remarkable efficacy in the treatment of refractory multiple myeloma, as well as other malignancies. Through reversible binding to the  $\beta 5$  subunit of the proteasome, it blocks the chymotrypsin-like activity of this molecular complex. However, phenomena of cancer drug resistance to bortezomib are known to limit its clinical efficacy. In this study, we investigated the role of the proteasome in the acquisition of resistance to bortezomib. Specifically, we determined the changes in quantity of the  $\beta 5$  proteasome subunit as well as enzymic activity of the proteasome in human prostate cancer cells (DU145). Bortezomib resistant DU145 cell populations were created. The cells were cultivated in RPMI (5% FBS) medium with steadily increasing concentration of bortezomib, until resistance to the drug was developed. In cell viability assay experiments, control cancer cells showed a 10% viability in concentrations of 20 nM bortezomib, whilst the viability of the resistant strains remained unaffected even in concentrations higher than 50 nM. Initially, we quantified the presence of the  $\beta 5$  subunit of the proteasome in normal and resistant DU145 cells, using Western blot. The results showed overexpression of the  $\beta 5$  subunit in the resistant cells. In addition, using fluorometric assays, we measured the enzymic activity of the proteasome in normal and resistant DU145 cells. From those experiments we discovered that the enzymic activity of the resistant cells' proteasome did not show statistically significant differences from the norm. Concluding, the resistance of cancer cells to bortezomib seems to be related to the overexpression of the  $\beta 5$  subunit of the proteasome and not to the enhancement of its activity in the cytosol.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΦΡΑΚΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΚΑΤΑΝΙΝΗΣ *FRA2* ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *ARABIDOPSIS THALIANA L.***

**Ανεζάκης Νικόλαος, Γιαννούτσου Ελένη, Σωτηρίου Πηνελόπη, Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης**

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15784, Αθήνα,  
email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr)

Η κατανίνη είναι μία πρωτεΐνη τμήσης μικροσωληνίσκων (ΜΣ) που έχει βρεθεί στα φυτά. Ρυθμίζει την οργάνωση του περιφερειακού δικτύου των ΜΣ και συνεπώς την κυτταρική αύξηση και μορφογένεση. Προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος της κατανίνης στη μορφογένεση των στοματικών συμπλόκων, μελετήθηκαν οι διαφορές στην κατανομή και τη μορφολογία των στομάτων μεταξύ του *fra2* και του άγριου τύπου (*col-0*). Πιο συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε ο αριθμός στομάτων (ώριμων και νεαρών) και μεριστωματοειδών ανά μονάδα επιφανείας. Επίσης πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των διαστάσεων τους όπως το μήκος και το πλάτος των καταφρακτικών κυττάρων, καθώς και το μήκος και το άνοιγμα του στοματικού πόρου. Τέλος, διερευνήθηκε η εναπόθεση καλλόζης καθώς και διαφόρων πηκτινών με διάφορους βαθμούς εστεροποίησης στα τοιχώματα των καταφρακτικών κυττάρων και η διάταξη των μικροσωληνίσκων. Το *fra2* χαρακτηρίζεται από λιγότερα ώριμα στόματα και περισσότερα νεαρά και μεριστωματοειδή. Ο αριθμός των μεριστωματοειδών ήταν εξαιρετικά μεγαλύτερος στο μετάλλαγμα σε σύγκριση με το *col-0*. Ένας άλλος φαινότυπος που διαφοροποιεί το *fra2* από το *col-0* ήταν η ιδιαίτερα συχνή παρουσία διπλών στοματικών συμπλόκων. Επιπλέον, το *fra2* παρουσίαζε κύτταρα στα οποία δεν είχε πραγματοποιηθεί η τελική σύμμετρη διαίρεση. Όσον αφορά την κατανομή των πηκτινικών επιτόπων και της καλλόζης, τα στοματικά σύμπλοκα του *fra2* παρουσίαζαν διαφορές σε σχέση με το *col-0*, όπως παρατηρήθηκε μετά από ανοσοσήμανση (με τα αντισώματα LM20, JIM7, JIM5, 2F4) και χρώση με κυανό ανιλίνης αντίστοιχα. Έντονη απόθεση πηκτινών παρατηρήθηκε στον πόρο και στην περιφέρεια του στοματικού συμπλόκου κάτι που δεν ίσχυε στον *col-0*. Η διάταξη των ΜΣ στα καταφρακτικά κύτταρα του *fra2* και του *col-0* δεν παρουσίαζαν διαφορές. Τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν πως η κατανίνη έχει ενεργό ρόλο τόσο στον έλεγχο των κυτταροδιαίρέσεων των κυττάρων του πρωτοδέρματος όσο και στην οντογένεση και περαιτέρω διαφοροποίηση των στοματικών συμπλόκων.

## **A MORPHOLOGICAL STUDY OF THE GUARD CELLS OF THE ARABIDOPSIS THALIANA L. FRA2 KATANIN MUTANT**

**Anezakis Nikolaos, Giannoutsou Eleni, Sotiriou Penelope, Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis**

*Department of Botany, Faculty of Biology, UOA, Athens, 15784*  
email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr)

Katanin is a protein that severs microtubules (MT) in plants. It controls the organization of the cortical MT network and consequently cellular growth and morphogenesis. In order to investigate the possible role of katanin in the morphogenesis of guard cells, the morphology and distribution of stomata in *Arabidopsis thaliana* L. *fra2* katanin mutant was studied in comparison with the wild type (*col-0*). The number of stomata (mature and young) as well as the number of meristemoids was quantified per surface unit. Furthermore, the length and the width of the guard cells were measured, as well as the pore length and pore aperture. Finally, the distribution of callose and pectin epitopes with various degrees of esterification at the cell wall matrix of the guard cells was investigated. The *fra2* mutant displays fewer mature stomata and more young and meristemoid cells than the *col-0* leaf of the same age. In this mutant, apart from the high number of meristemoids, the presence of double stomata was also very frequent. Furthermore, *fra2* epidermis displayed persistent guard cell mother cells, where the final asymmetric division has not taken place. As far as the pectin and callose distribution is concerned, immunolocalisation with LM20, JIM7, JIM5, 2F4 antibodies as well as aniline blue staining respectively, revealed several remarkable differences between the mutant and the wild type. Intense fluorescent signal in the various pectin epitopes studied were found in the pore and the dorsal cell walls of the guard cells. On the contrary, at the wild type, pectins are not usually present at the part of the ventral walls forming the stomatal pore. The above data support the idea that katanin has an active role at the cell division control of the protodermal cells and also takes part at the ontogenesis and further differentiation of the stomatal complexes.

## **Η ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΜΕΣΟΛΑΒΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΧΡΩΜΑΤΙΝΙΚΗ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ**

**Ανεστόπουλος Ιωάννης<sup>1</sup>, Κλαβάρης Αριέλ<sup>1</sup>, Παναγιωτίδης Μιχάλης<sup>2</sup>, Παππά Αγγλαία<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, 68100, Ελλάδα

<sup>2</sup>Department of Applied Sciences, Northumbria University, Newcastle Upon Tyne NE1 8ST, UK

Η σιλιμπινίνη αποτελεί διαστερεοϊσομερικό μείγμα που εξάγεται από το φυτό *Silybum marianum* L. Το συγκεκριμένο φυσικό προϊόν, με σημαντική αντικαρκινική δράση στον καρκίνο του προστάτη, έχει συνδεθεί με αξιοσημείωτη ανασταλτική ικανότητα έναντι διαφορετικών ανθρώπινων νεοπλασιών, μέσω επιγενετικών τροποποιήσεων. Στον καρκίνο του προστάτη, υψηλά επίπεδα έκφρασης των συμπλόκων PRC1 (polycomb repressive complex 1) και PRC2 (polycomb repressive complex 2), τα οποία συγκαταλέγονται στις πρωτεΐνες PcG (polycomb group), συνδέονται με αναστολή της μεταγραφής ογκοκατασταλτικών γονιδίων, μέσω ιστονικών τροποποιήσεων και χρωματινικής συμπύκνωσης. Προγενέστερα αποτελέσματά μας υπέδειξαν ότι η σιλιμπινίνη μειώνει τα επίπεδα έκφρασης των μελών του συμπλόκου PRC2 (EZH2, EED, SUZ12), δράση η οποία συνοδεύτηκε από αυξημένα επίπεδα της H3K27me3. Στην παρούσα εργασία, η επώαση καρκινικών κυττάρων προστάτη DU145 με κλινικά εφικτές συγκεντρώσεις σιλιμπινίνης (25-75μg/ml), προκάλεσε δόσοεξαρτώμενη μείωση των πρωτεϊνικών επιπέδων των μελών του συμπλόκου PRC1 (RING1a, RING1b and BMI1). Επιπλέον, η ανάλυση επιγενετικών μικροσυστοιχιών DNA και ποσοτικής PCR πραγματικού χρόνου (qRT-PCR), υπέδειξε ότι η σιλιμπινίνη μεταβάλλει διαφορικά την έκφραση σημαντικών επιγενετικών ενζύμων. Ειδικότερα, παρατηρήθηκαν μεταβολές στα επίπεδα έκφρασης ενζύμων που σχετίζονται με την ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, μέσω μεταβολής της χρωματινικής συμπύκνωσης, συμπεριλαμβανομένων ιστονικών μεθυλοτρανσφερασών (HMTs), ακετυλοτρανσφερασών (HATs), απομεθυλασών (HDMs) και απακετυλασών (HDACs), καθώς και τροποποιήσεις στα επίπεδα έκφρασης ενζύμων τα οποία συνδέονται με τη γονιδιακή αποσιώπηση μέσω μεθυλίωσης του DNA και ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου. Συνοψίζοντας, η αντικαρκινική δράση της σιλιμπινίνης στον καρκίνο του προστάτη, μεσολαβείται εν μέρει, μέσω απορρύθμισης κεντρικών διαδικασιών της χρωματινικής διαμόρφωσης και τροποποίησης ενζύμων της επιγενετικής μηχανής που εμπλέκονται στον καρκίνο του προστάτη.

## **DISRUPTION OF CENTRAL PROCESSES IN CHROMATIN CONFORMATION AND ALTERATION OF KEY EPIGENETIC ENZYMES MEDIATE THE ANTICANCER POTENTIAL OF SILIBININ IN PROSTATE CANCER**

**Anestopoulos Ioannis<sup>1</sup>, Klavaris Ariel<sup>1</sup>, Panayiotidis Mihalis<sup>1,2</sup>, Pappa Aglaia<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, 68100, Alexandroupolis, Greece,*

<sup>2</sup>*Department of Applied Sciences, Northumbria University, Newcastle Upon Tyne NE1 8ST, UK*

Silibinin, a diastereoisomeric mixture extracted from *Silybum marianum* L, with established anti-prostate cancer activity, has been associated with considerable antineoplastic ability in a variety of human cancer types, through epigenetic alterations. In prostate cancer (PCa), high expression of polycomb repressive complex 1 (PRC1) and 2 (PRC2) members, that belong to polycomb group (PcG) proteins, is associated with transcriptional repression of tumor suppressor genes, through histone modifications and chromatin compaction. Our previous results revealed that silibinin reduced the expression levels of PRC2 complex members (EZH2, EED, SUZ12), an effect accompanied by increased H3K27me3 marks. In the current report, treatment of DU145 cells with clinically-achievable concentrations (25-75 µg/mL) of silibinin resulted in reduced protein expression levels of PRC1 complex members (RING1a, RING1b and BMI1), in a dose dependent manner. Next, human epigenetic chromatin modification enzymes-focused DNA microarray and real-time quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR) analyses, revealed that silibinin altered differentially the expression of important epigenetic enzymes. Specifically, significant modulations were observed on the expression profile of enzymes that are associated with gene expression regulation through modification of chromatin configuration, including members of the families of histone methyltransferases (HMTs), histone acetyl- transferases (HATs), histone demethylases (HDMs) and histone deacetylases (HDACs) families, along with enzymes that induce gene silencing via DNA methylation and regulate cell cycle progression. In conclusion, our results suggest, that the anticancer activity of silibinin in prostate cancer is partially mediated by the disruption of central processes in chromatin configuration-remodeling and alteration of enzymes of the epigenomic landscape that regulate prostate cancer progression.

## ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΡΑΓΧΙΑΚΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΟΥ ΕΜΠΟΡΙΚΟΥ ΚΕΦΑΛΟΠΟΔΟΥ *SERIA OFFICINALIS* (LINNAEUS 1758)

**Αποστολογάμβρου Χρυσούλα\*, Χατζηγιάννου Μαριάνθη, Βαφείδης Δημήτριος**

*Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

Τα κεφαλόποδα είναι θαλάσσιοι οργανισμοί που βρίσκονται σε μια μεγάλη ποικιλία οικοτόπων, και είναι εμπορικά σημαντικά γιατί αποτελούν σημαντικό συστατικό στη διατροφή του ανθρώπου. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η περιγραφή της δομής του είδους *Seria officinalis*, με στόχο την κατανόηση των φυσιολογικών διεργασιών και λειτουργιών που το διέπουν καθώς και την ανίχνευση τυχόν παθολογικών καταστάσεων. Κάτω από αυτό το πρίσμα, η ιστολογική μελέτη των συστημάτων της σουπιάς μπορεί να παρέχει πληροφορίες για την οικοφυσιολογία του συγκεκριμένου είδους. Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στην ιστολογική δομή της βραγχιακής καρδιάς. Ύστερα από την ανατομία του ζώου, τα δείγματα που ελήφθησαν εμβαπτίστηκαν σε μονιμοποιητικό διάλυμα φορμόλης αραιώσεως 10%, τα οποία και προετοιμάστηκαν κατάλληλα για την κλασική ιστολογική παρατήρηση (χρώση εωσίνης-αιματοξυλίνης) με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου. Όσον αφορά το κυκλοφορικό σύστημα της σουπιάς, αναλύθηκαν ιστολογικά οι βραγχιακές καρδιές στις οποίες συγκεντρώνεται το αίμα και τα αιμοκύτταρα. Το αίμα συγκεντρώνεται στη βάση των βραγχίων, στις βραγχιακές καρδιές, οι οποίες με τη σειρά τους αυξάνουν την πίεση του αίματος που διατρέχει τα τριχοειδή αγγεία των βραγχίων. Τα κυκλοφορούντα αιμοκύτταρα ενσωματώνουν όλα τα είδη ξένων υλικών, συμπεριλαμβανομένων και των βακτηριακών κυττάρων λόγω της φαγοκυττάρωσης που επιτυγχάνεται από τα μεσεγγυματικά κύτταρα. Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας δίνουν επίσης ενδείξεις ότι τα μεσεγγυματικά κύτταρα είναι σταθερά αιμοκύτταρα, τα οποία έχουν μεταναστεύσει στον καρδιακό ιστό. Η κατάποση και η πέψη αλλογενών ουσιών και βακτηριδίων, και η εμφάνιση αιμοκυττάρων υποδηλώνει τη συμμετοχή αυτών των σταθερών κυττάρων στο σύστημα άμυνας, καθώς επίσης στη φαγοκυττάρωση και στην αποκατάσταση της βλάβης των ιστών που οφείλεται σε μηχανικό ή βιολογικό τραύμα. Μια πιο σαφής εικόνα για το ρόλο των βραγχιακών καρδιών αναμένεται να δοθεί με την ολοκλήρωση του ιστοχημικού ελέγχου.

## **HISTOLOGICAL STUDY OF THE BRACHIAL HEARTS OF THE SEPIA OFFICINALIS (LINNAEUS 1758)**

**Apostologamvrou Chrysoula\* , Hatziioannou Marianthi, Vafidis Dimitrios**

*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Fytokou str., 38446 Volos, Greece*

Cephalopods are marine organisms, found in a wide variety of habitats, and are commercially important as they consist an important food for human nutrition. The aim of the present study is the description of the structure of the commercially important species *Sepia officinalis*, for the understanding of its physiological processes and functions, as well as the detection of any pathological conditions. Under this prism, the histological study of the cuttlefish systems provides information on the ecophysiology of the particular species. This study focuses on the histological structure of the brachial heart. Following the anatomy of the animal, the samples obtained were immersed in a 10% dilution of formalin fixation solution, which were well prepared for classical histological observation (eosin-hematoxylin staining) with the use of an optical microscope. Regarding the cutaneous system of the cuttlefish, the brachial hearts in which the blood and blood cells are collected were histologically analyzed. Blood is concentrated at the base of the gills, in the brachial hearts, which in turn increases the blood pressure through the gill capillaries. Circulating blood cells in the wall of the brachial heart incorporate all kinds of foreign materials, including bacterial cells, due to phagocytosis achieved by mesenchymal cells. The findings of the present study also indicate that mesenchymal cells are stable blood cells that have migrated to the heart tissue. Swallowing and digesting allogeneic substances and bacteria, and the presence of blood cells suggest the involvement of these stable cells in the defense system as well as in phagocytosis and the repair of tissue damage due to mechanical or biological trauma. A clearer picture of the role of the brachial hearts is expected to be provided by the completion of the histochemical analysis.

## **ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΟΥΣ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΟΠΡΩΤΕΙΝΗΣ A3 (HNRNP A3) ΚΑΤΑ ΤΙΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Αρβανίτης Χρήστος-Γεώργιος<sup>1</sup>, Δημήτριος Λ. Κοντογιάννης<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.

<sup>2</sup> Ινστιτούτο Ανοσοβιολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών "Αλέξανδρος Φλέμινγκ", 16672, Βάρη, Ελλάδα.

Στην πορεία της φλεγμονής, τα μακροφάγα αποκτούν ένα φάσμα προ-φλεγμονωδών (M1) ή εναλλακτικών ομοιοστατικών (M2) φαινοτύπων. Η ισορροπία μεταξύ των πολωμένων φαινοτύπων διέπει την ευαισθησία σε λοιμώξεις, χρόνια φλεγμονή, ογκογένεση και προϋποθέτει μετα-μεταγραφική ρύθμιση των mRNAs που ελέγχουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων με επιλεκτικές πρωτεΐνες δέσμησης στο RNA (RBPs). Η hnRNPA3 είναι μέλος της οικογένειας hnRNP A/B που έχει συσχετιστεί με πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά mRNAs και διατήρηση τελομερών σε νευρικά κύτταρα. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η hnRNPA3 εκφράζεται στα ενεργοποιημένα μακροφάγα. Στην παρούσα μελέτη εξετάζουμε την επίδραση της hnRNPA3 στην ενεργοποίηση των μακροφάγων. Πρωτογενή μακροφάγα απομονώθηκαν από διαγονιδιακούς μύες με έλλειψη της hnRNPA3 στην μυελοειδή σειρά και εξετάστηκε η απόκριση τους σε προφλεγμονώδη και εναλλακτικά σήματα ενεργοποίησης. Η μελέτη των αποκρίσεων περιλαμβάνει δείκτες κάθε κατάστασης που μετρήθηκαν με ELISA, qRT-PCR, κυτταρομετρία ροής και μεταβολικές αναλύσεις. Σύμφωνα με τους εξεταζόμενους δείκτες, τα μακροφάγα με έλλειψη της hnRNPA3 εμφανίζουν έντονη M2 απόκριση. Το γεγονός αυτό συνδέεται και με την άρρυθμη απόκριση τους όταν εκτίθενται σε M1 σήματα. Υπό αυτές τις συνθήκες, τα συγκεκριμένα μακροφάγα παρήγαγαν φυσιολογικά επίπεδα TNF, IL12 και IL10. Ωστόσο, έδειξαν σημαντική μείωση στη βιοσύνθεση δύο βασικών προϊόντων: (α)της κύριας προ-φλεγμονώδους κυτταροκίνης ιντερλευκίνης-6, και (β)του βακτηριοκτόνου NOS2. Αυτό συνδέει μη δημοσιευμένα δεδομένα μας που δείχνουν ότι οι μύες με έλλειψη μυελοειδούς hnRNPA3 παρουσιάζουν ανεπαρκή ικανότητα εξάλειψης μολύνσεων και υποδεικνύει ότι η hnRNPA3 έχει ειδικές μετα-μεταγραφικές λειτουργίες. Συμπερασματικά, τα δεδομένα υποδεικνύουν μια άγνωστη, αλλά σημαντική λειτουργία της hnRNPA3 στον έλεγχο ενεργοποίησης των μακροφάγων. Επίσης, μας οδηγούν στην μελέτη των αλληλεπιδράσεών της με μη προσδιορισμένα στοιχεία που διέπουν τον μετα-μεταγραφικό έλεγχο mRNAs της φλεγμονής.

## **FUNCTIONAL ANALYSIS OF HETEROGENEOUS NUCLEAR RIBONUCLEOPROTEIN A3 (HNRNP A3) DURING MACROPHAGE ACTIVATION**

**Arvanitis Christos-Georgios<sup>1</sup>, Dimitrios L. Kontoyiannis<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece.*

<sup>2</sup>*Division of Immunology, Biomedical Sciences Research Center "Alexandros Fleming", 16672, Vari, Greece.*

In the course of inflammation, macrophages acquire a spectrum of pro-inflammatory (M1) or alternative homeostatic (M2) phenotypes. The balance between polarized activation phenotypes governs susceptibility to infection, chronic inflammation and tumorigenesis; and may entail the post-transcriptional regulation of mRNAs controlling macrophage activation by selective RNA-binding proteins (RBPs). hnRNPA3 is a member of the hnRNP A/B family associated with nucleocytoplasmic mRNA transport and telomere maintenance in neural cells. Recent evidence indicates that hnRNPA3 is expressed in activated macrophages. Here, we examine whether hnRNPA3 affects macrophage activation. Primary macrophages were isolated from transgenic mice lacking hnRNPA3 from the myeloid lineage and were tested for their response to proinflammatory and alternative activation signals. Response readouts included state specific markers measured by ELISA, qRT-PCR, flow cytometry and metabolic bioassays. According to examined markers, hnRNPA3 deficient macrophages displayed an excessive M2 response. Strikingly, this connected to a particulate aberration of the same cells exposed to M1 signals. Under these conditions, hnRNPA3 deficient macrophages produced normotypic levels of inflammatory TNF, IL12 and IL10; However, they showed a substantial defect in the biosynthesis of two key macrophage products: (a) the key pro-inflammatory cytokine interleukin-6; and (b) the bacteriocidal NOS2. This connects unpublished data indicating that mice lacking myeloid hnRNPA3 show an inability to eliminate prototypical infections and indicate that hnRNPA3 has transcript specific post-transcriptional functions. Our data indicate that hnRNPA3 an unrecognized, yet important function in the control of macrophage activation. They also pave the way for analysis of its interactions to unidentified elements governing the post-transcriptional control of inflammatory mRNAs.

## **Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ CYLD ΣΤΗΝ ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ**

**Βαλέτα Μαρίνα, Ψευτογκάς Αθανάσιος, Καρατζάς Δημήτριος, Μόσιαλος Γεώργιος**

*Τομέα Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη*

Η καταστολή της έκφρασης της πρωτεΐνης CYLD, μέσω της μειορρύθμισης του mRNA ή της παντελούς αποσιώπησης του γονιδίου της, έχει συσχετισθεί με την ανάπτυξη ποικίλων τύπων καρκίνου, μέσω διάφορων μηχανισμών. Παράλληλα, έχει δειχθεί η αλληλεπίδραση της CYLD με τις πρωτεΐνες PMS1 και PMS2 του συστήματος επιδιόρθωσης αταίριαστου ζεύγους νουκλεοτιδίων DNA (MMR), υποδεικνύοντας τον ενδεχόμενο ρόλο της CYLD στο σύστημα αυτό και στην πρόκληση μικροδορυφορικής αστάθειας. Στο πλαίσιο αυτό, διερευνήθηκε η επίδραση της αποσιώπησης του γονιδίου *Cyld* στη μικροδορυφορική αστάθεια στον καρκίνο του παχέος εντέρου και στον καρκίνο του μαστού. Για την εξυπηρέτηση του συγκεκριμένου σκοπού, ελέγχθηκε και συγκρίθηκε η ύπαρξη μικροδορυφορικής αστάθειας σε 5 διαφορετικούς μικροδορυφορικούς τόπους (*mbat26*, *mbat59*, *mbat67*, *D7Mit91* και *D1Mit79*) σε όγκους του μαστού και του παχέος εντέρου ποντικών, μεταξύ ποντικών όπου είχε αποσιωπηθεί το γονίδιο *Cyld* και ποντικών αγρίου τύπου. Οι μέθοδοι που αξιοποιήθηκαν για τη μελέτη των μικροδορυφορικών αυτών τόπων ήταν η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης και η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση σε αναλυτή DNA τύπου ABI 3730, ενώ η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του εργαλείου "Microsatellite Analysis" του λογισμικού "Applied Biosystems Analysis Module Variant Analysis (VA)" που φιλοξενείται στο περιβάλλον της Thermo Fisher Cloud. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας έδειξαν πως η έλλειψη της CYLD δεν οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα μικροδορυφορικής αστάθειας στους τόπους που εξετάστηκαν. Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά δεν αποκλείουν τη συμμετοχή της CYLD στο σύστημα MMR και στην πρόκληση μικροδορυφορικής αστάθειας σε άλλους τόπους.

## **THE ROLE OF THE TUMOR SUPPRESSOR CYLD IN DNA MICROSATELLITE INSTABILITY**

**Valeta Marina, Pseftogas Athanasios, Karatzas Dimitrios, Mosialos George**

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

Suppression of CYLD expression through mRNA downregulation or complete gene inactivation has been associated with the development of various types of cancer through the deregulation of different mechanisms. At the same time, it has been shown that CYLD can interact with the PMS1 and PMS2 proteins of the DNA mismatch repair system (MMR), indicating the possible role of CYLD in this system and the induction of microsatellite instability. In this context, the effect of Cyld gene silencing on microsatellite instability in colorectal cancer and breast cancer was investigated. In order to achieve this goal, the existence of microsatellite instability in 5 different microsatellite loci (mbat26, mbat59, mbat67, D7Mit91 and D1Mit79) in breast and colon tumors of mice was tested and compared between wild type mice and mice in which the Cyld gene was inactivated. The methods used to study these microsatellite loci were the polymerase chain reaction and the capillary electrophoresis on an ABI 3730 type DNA analyzer, while the analysis of the samples was performed with the "Microsatellite Analysis" software of Applied Biosystems Analysis Module Variant Analysis (VA) hosted in the Thermo Fisher Cloud environment. The results of this research have shown that the lack of CYLD expression does not lead to increased levels of microsatellite instability in the sites examined. However, these findings do not exclude a possible involvement of CYLD in the MMR system and microsatellite instability in other locations.

## **ΠΟΛΥΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΟΧΗ (ΠΦΑ): ΠΡΟΤΥΠΟ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΘΟΔΙΚΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ABCB1 ΚΑΙ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΣΕ ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΤΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΠΑΧΕΩΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Βαρελτζόγλου Μαγδαληνή Ραφαέλα<sup>1</sup>, Szabó Anikó<sup>2</sup>, Boros Imre<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα  
email: [vmagdalin@bio.auth.gr](mailto:vmagdalin@bio.auth.gr)

<sup>2</sup>Laboratory of Cell Cycle and Transcription Regulation, Eukaryotic Biology Unit, Institute of Biochemistry, Biological Research Center (BRC), Szeged, Hungary  
email: [szaniko@brc.hu](mailto:szaniko@brc.hu), [borosi@bio.u-szeged.hu](mailto:borosi@bio.u-szeged.hu)

Η ανθεκτικότητα σε ένα ευρύ φάσμα χημειοθεραπευτικών παραγόντων ορίζεται ως πολυφαρμακευτική αντοχή (ΠΦΑ)[multidrug resistance, MDR] και αποτελεί μείζον πρόβλημα στη χημειοθεραπεία. Η Ρ-γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται από το γονίδιο ABCB1 και ανήκει στην υπεροικογένεια των ABC πρωτεϊνικών μεταφορέων, λειτουργεί ως μία ενεργή αντλία εκροής φαρμάκων από τα νεοπλασματικά κύτταρα και η υπερέκφραση της αποτελεί βασικό μηχανισμό εκδήλωσης ΠΦΑ. Ο καθοδικός υποκινητής του γονιδίου ABCB1 περιέχει πληθώρα ρυθμιστικών στοιχείων μεταξύ των οποίων μία ανεστραμμένη αλληλουχία CCAAT (πλαίσιο Υ) και μία νησίδα CpG. Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη διερεύνηση των μηχανισμών μεταγραφικής ρύθμισης που οδηγούν σε ΠΦΑ σε σειρές ανθεκτικών και ευαίσθητων νεοπλασματικών κυττάρων του παχέως εντέρου, Colo 320 και Colo 205, αντίστοιχα. Εξετάσαμε το πρότυπο μεθυλίωσης του καθοδικού υποκινητή του γονιδίου ABCB1 με επεξεργασία με θειώδη άλατα και αλληλούχιση των προϊόντων (bisulfate sequencing analysis), την έκφραση γονιδίων σχετιζόμενων με την ΠΦΑ και το ρόλο του πλαισίου Υ στη μεταγραφική ενεργοποίηση με απαλοιφή αλληλουχίας και μέτρηση ενεργότητας του υποκινητή με δοκιμασία λουσιφεράσης και για τις δύο κυτταρικές σειρές. Τα ανθεκτικά κύτταρα εμφάνισαν υπομεθυλίωση στη νησίδα CpG και υπερέκφραση του γονιδίου ABCB1, ενώ τα ευαίσθητα κύτταρα υπερμεθυλίωση και ελάχιστη έκφραση του γονιδίου ABCB1, γεγονός που υποδεικνύει πως η μεθυλίωση του DNA ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση του γονιδίου ABCB1 και την εκδήλωση ΠΦΑ σε αυτόν τον κυτταρικό τύπο. Ακόμη, στα ανθεκτικά κύτταρα σημειώθηκε υπερέκφραση των γονιδίων των DNA μεθυλοτρανσφερασών DNMT3a, DNMT3b και του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53, ενώ το γονίδιο ABCB4 δεν εμφάνισε διαφορές στις δύο κυτταρικές σειρές. Η ενεργότητα του φυσιολογικού υποκινητή εμφανίστηκε σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τον μεταλλαγμένο υποδεικνύοντας τη συμμετοχή του πλαισίου Υ στην ενεργοποίηση της μεταγραφής.

## **MULTIDRUG RESISTANCE (MDR): METHYLATION PROFILE ANALYSIS OF ABCB1 DOWNSTREAM PROMOTER AND PROMOTER ACTIVITY IN MULTIDRUG-RESISTANT AND SENSITIVE COLORECTAL CANCER CELLS**

**Vareltzoglou Magdalini Rafaela<sup>1</sup>, Szabó Anikó<sup>2</sup>, Boros Imre<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki A.U.Th. 54124, Thessaloniki, Greece  
email: [vmagdalini@bio.auth.gr](mailto:vmagdalini@bio.auth.gr),*

<sup>2</sup>*Laboratory of Cell Cycle and Transcription Regulation, Eukaryotic Biology Unit, Institute of Biochemistry, Biological Research Center (BRC), Szeged, Hungary  
email: [szaniko@brc.hu](mailto:szaniko@brc.hu), [borosi@bio.u-szeged.hu](mailto:borosi@bio.u-szeged.hu)*

Resistance to a broad spectrum of chemotherapeutic agents in cancer is called multidrug resistance (MDR) and is a major problem in chemotherapy. P-glycoprotein (P-gp) , an ATP-binding cassette (ABC) transporter encoded by the ABCB1 gene, facilitates the efflux of various anticancer drugs from tumor cells and its overexpression is a well-established mediator of MDR. The ABCB1 downstream promoter consists of several regulatory elements, among which an inverted CCAAT box (Y-box) and a CpG island are of special regulatory importance. The current study aims to investigate the transcriptional regulation mechanisms which confers to MDR in the multidrug-resistant and sensitive colorectal cancer cell lines, Colo320 and Colo205, respectively. Here, we examined the ABCB1 downstream promoter methylation profile through bisulfate sequencing analysis, the gene expression of other possible MDR-related genes and the role of Y-box in the transcriptional activation by deletion and promoter activity luciferase assay for both cell lines. The sensitive and resistant cell lines showed respectively hypermethylation and hypomethylation in the CpG island which in combination with a significant overexpression of ABCB1 in the resistant line indicates that DNA methylation negatively regulates ABCB1 expression and the appearance of MDR in this cell type. The resistant cells also overexpressed the DNA methyltransferases DNMT3a, DNMT3b and the tumor suppressor p53 genes, meanwhile the transporter gene ABCB4 expression appeared approximately at the same level. In both cell lines the promoter activity in wild type was significantly higher than in the Y-box mutant which confirms the activating role of this sequence.

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΒΙΟΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

**Βιδάλη Μαρία- Σοφία<sup>1,2</sup>, Νταϊλιάνης Στέφανος<sup>2</sup>, Βλαστός Δημήτρης<sup>3</sup>, Γεωργιάδης Παναγιώτης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών Λεωφ. Βασιλέως Κωνσταντίνου 48 11635 Αθήνα,

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας Τομέας Βιολογίας Ζώων Πανεπιστήμιο Πατρών 26500 Πάτρα

<sup>3</sup>Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων Πανεπιστήμιο Πατρών 30100 Αργίτιο

Παρά την απαγόρευση παρασκευής και χρήσης των πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (Polychlorinated biphenyls, PCBs), η παρουσία τους στο περιβάλλον σε συνδυασμό με την ανθεκτικότητα και την ικανότητά τους να βιοσυσσωρεύονται (Persistent Organic Pollutants, POPs) αποτελούν ακόμα και σήμερα μείζον θέμα Δημόσιας Υγείας. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα του προγράμματος EnviroGenomarkers ([www.envirogenomarkers.net](http://www.envirogenomarkers.net)), όπου μελετήθηκε η επίδραση των POPs στην ολική (genome-wide) γονιδιακή και μικρο-RNA έκφραση, καθώς και στην CpG μεθυλίωση του DNA λευκοκυττάρων υγιών εθελοντών, η παρούσα εργασία στοχεύει στην ενδελεχή τοξικογενετική μελέτη ανάλυσης των βιολογικών επιπτώσεων της *in vitro* έκθεσης ανθρώπινων λευκοκυττάρων σε POPs, προκειμένου να διασταυρωθούν τα εξαγόμενα αποτελέσματα και να διασαφηνιστεί ο ρόλος των PCBs τόσο σε αιματολογικούς καρκίνους όσο και στην πρόκληση νευρολογικών δυσλειτουργιών. Συγκεκριμένα, μετά από μελέτη της κυτταροτοξικότητας και της γονοτοξικότητας τριών επιλεγμένων POPs (HCB, PCB118 και PCB153) σε ανθρώπινα μονοκύτταρα περιφερικού αίματος (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMCs) για χρονικό διάστημα 48 και 72h, ακολούθησε ο προσδιορισμός της συνολικής DNA μεθυλίωσης με φωταύγεια - LUMA (LUminometric Methylation Assay). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν ότι τα PCBs 118 και 153 στο *in vitro* σύστημα PBMCs προκαλεί δόσο-εξαρτώμενη υπομεθυλίωση του DNA σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 5 μM. Σε προηγούμενες *in vitro* μελέτες, στην πλειοψηφία των ανθρώπινων όγκων παρατηρείται γενικευμένη υπομεθυλίωση που συμφωνεί με τα *in vitro* αποτελέσματά μας. Σύμφωνα με τα παραπάνω, θα ακολουθήσει περαιτέρω μελέτη, μέσω επιγενομικής και μεταγραφομικής ανάλυσης των δειγμάτων (Illumina Infinium Methylation EPIC (850K)) για CpG μεθυλίωση και Illumina Sequencing\_HiSeq4000\_75 PR για RNA Next Generation Sequencing.

## **ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL EFFECTS OF PERSISTANT ORGANIC POLLUTANTS (POPS) ON PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS**

**Vidali Maria-Sofia<sup>1,2</sup>, Dailianis Stefanos<sup>2</sup>, Vlastos Dimitris<sup>3</sup>, Georgiadis Panagiotis<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*National Hellenic Research Foundation Institute of Biology Medicinal Chemistry and Biotechnology Vas. Constantinou 48 GR-11635 Athens Greece*

<sup>2</sup>*Division of Animal Biology Lab of Zoology Department of Biology University of Patras GR-26500 Patras Greece*

<sup>3</sup>*Department of Environmental and Natural Resources Management University of Patras GR-30100 Agrinio Greece*

Despite the ban on the manufacturing and application of polychlorinated biphenyls (PCBs), their environmental persistence as well as their ability to bioaccumulate in tissues of living organisms (Persistent Organic Pollutants, POPs) remain a great concern. Given the results of the EnviroGenomarkers program ([www.envirogenomarkers.net](http://www.envirogenomarkers.net)), regarding the investigation of POPs effects on genome-wide and micro-RNA expression as well as CpG methylation of DNA in human leukocytes, the present study followed a thorough toxicogenic evaluation of the POPs mediated effects on human leukocytes in order to verify previous findings as well as to clarify the role of PCBs in both haematological cancers and neurological dysfunctions. In this context, treatment of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) with three selected POPs (HCB, PCB 118 and PCB 153) for 48 and 72 hours was primarily performed for elucidating their cytotoxic and genotoxic potential and thereafter the LUMinometric Methylation Assay (LUMA) was followed. According to the results, PCBs 118 and 153 caused a dose-dependent hypomethylation of DNA at concentrations greater than 5 µM, which is in accordance with previous studies that reported a generalized hypomethylation in most human tumors. Based on the current findings, samples were prepared for epigenomic and transcriptomic analysis, using the Illumina Infinium Methylation EPIC 850K (for CpG methylation) and Illumina Sequencing\_HiSeq4000\_75 PE (for RNA Next Generation Sequencing) arrays.

## **Meth-Phos PROMETHEUS: ΕΝΑΣ WEBSERVER ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΘΕΣΕΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ, ΦΩΣΦΟΥΡΙΩΣΗΣ ΚΑΙ ΜΙΚΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΙΑΚΟΠΤΩΝ ΚΑΙ ΡΕΟΣΤΑΤΩΝ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΝΤΑΙ.**

**Βλασταρίδης Π.<sup>1\*</sup>, Ντουντούμη Χ.<sup>1\*</sup>, Φλιατούρα Β.<sup>1</sup>, Σιμός Μ.<sup>2</sup>, Τσιατσιάνη Σ.<sup>3</sup>, Παπανικολάου Ν.Α.<sup>4</sup>, Ηλιόπουλος Ι.<sup>5</sup>, Van de Peer Υ.<sup>6</sup>, Oliver S.G.<sup>7</sup>, Αμούτζιας Γ.Δ.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Εργαστήριο Βιοπληροφορικής, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, 41500

<sup>2</sup> School of Electrical and Computer Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, Greece;

<sup>3</sup> Netherlands Proteomics Centre, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands;

<sup>4</sup> Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>5</sup> Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

<sup>6</sup> Bioinformatics Institute Ghent, Technologiepark 927, B-9052 Ghent, Belgium;

<sup>7</sup> Cambridge Systems Biology Centre & Department of Biochemistry, University of Cambridge, UK.

Η πρωτεϊνική φωσφορυλίωση είναι η πιο διαδεδομένη μετα-μεταφραστική τροποποίηση, με πολύ σημαντικό ρόλο στην κυτταρική φυσιολογία, στην μεταγωγή σήματος και στις ασθένειες. Οι φωσφορυλίώσεις μπορεί να ρυθμίζουν μία ή περισσότερες λειτουργίες σε μια πρωτεΐνη ως μοριακοί διακόπτες, ή να ομαδοποιούνται τοπικά και να λειτουργούν ως μοριακοί ρεοστάτες. Στη νέα εποχή της πρωτεωμικής με τα πειράματα μεγάλης κλίμακας έχει καταδειχθεί ότι πολύ συχνά οι θέσεις φωσφορυλίωσης συν-εντοπίζονται με θέσεις από άλλες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, όπως οι μεθυλιωμένες Αργινίνες και Λυσίνες, δημιουργώντας έτσι πολυπλοκότερους μικτούς μοριακούς διακόπτες και ρεοστάτες. Το πιο γνωστό παράδειγμα είναι ο κώδικας των Ιστονών. Ωστόσο, οι σημερινές τεχνολογίες και τα πρωτόκολλα φωσφο- και μεθυλ-πρωτεωμικής δεν έχουν ωριμάσει ακόμα και αδυνατούν να εντοπίσουν το σύνολο των συγκεκριμένων τροποποιήσεων. Επομένως, υπάρχει ανάγκη για ένα υπολογιστικό εργαλείο που θα μπορεί να προβλέπει τέτοιες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις όπως και τους πολυπλοκότερους μικτούς μοριακούς διακόπτες και ρεοστάτες, γρήγορα και με μεγάλη ακρίβεια σε ολόκληρα πρωτεώματα. Έτσι δημιουργήσαμε έναν web-server βασιζόμενο σε νευρωνικά δίκτυα, τον Meth-Phos-Prometheus που μπορεί να κάνει αυτές τις απαραίτητες προβλέψεις και να δείξει τα αποτελέσματα γραφικά πάνω στην πρωτεϊνική ακολουθία. Για την εκπαίδευση των νευρωνικών δικτύων εξορύξαμε και φιλτράραμε δεδομένα φωσφο- πρωτεωμικής και μεθυλ-πρωτεωμικής από την βιβλιογραφία, με την βοήθεια ενός υπολογιστικού εργαλείου που αναπτύξαμε για την καταγραφή και οργάνωση των σχετικών δημοσιευμένων εργασιών. Ο Meth-Phos Prometheus μπορεί να προβλέψει θέσεις φωσφορυλίωσης με ακρίβεια 84% και θέσεις μεθυλίωσης με ακρίβεια 86%, ξεπερνώντας την ακρίβεια των υπολοίπων σχετικών δημοσιευμένων εργαλείων. Ενδεικτικά, μπορεί να αναλύσει το πρωτέωμα του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* σε 55 λεπτά.

## **Meth-Phos PROMETHEUS: A WEBSERVER FOR THE PREDICTION OF PROTEIN METHYLATION AND PHOSPHORYLATION SITES, THEIR MIXED SWITCHES AND RHEOSTATS/CLUSTERS**

**Vlastaridis P<sup>1\*</sup>, Ntountoumi C<sup>1\*</sup>, Fliatoura V<sup>1</sup>, Simos M<sup>2</sup>, Tsiatsiani S<sup>3</sup>, Papanikolaou NA<sup>4</sup>, Iliopoulos I<sup>5</sup>, Van de Peer Y<sup>6</sup>, Oliver SG<sup>7</sup>, Amoutzias GD<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Bioinformatics Laboratory, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larisa, 41500, Greece*

<sup>2</sup> *School of Electrical and Computer Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, Greece;*

<sup>3</sup> *Netherlands Proteomics Centre, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands;*

<sup>4</sup> *Department of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Greece;*

<sup>5</sup> *Department of Medicine, University of Crete, Heraklion, Greece;*

<sup>6</sup> *Bioinformatics Institute Ghent, Technologiepark 927, B-9052 Ghent, Belgium;*

<sup>7</sup> *Cambridge Systems Biology Centre & Department of Biochemistry, University of Cambridge, UK*

Protein phosphorylation is the most frequently detected post-translational modification, with a very well established role in cell physiology, signal transduction and diseases. Phosphorylation sites on a protein may regulate one or more of its functions as molecular switches, or they tend to cluster together and form molecular rheostats. Intriguingly, phosphorylation sites are very frequently co-localizing with other posttranslational modifications, such as protein methylation sites, crosstalk with each other and create higher order mixed molecular switches/rheostats. The most well-known case is the histone code. However, the current phospho-proteomic and methyl- proteomic technologies are immature and cannot detect the entire set of modified amino acids. Thus, there is a need for a computational tool that can rapidly and accurately predict these post-translational modifications and their lower or higher order switches/rheostats in entire proteomes. We have performed extensive mining of the proteomics literature, through a custom-made bioinformatics annotation tool and have gathered and filtered a high quality compendium of protein phosphorylation and methylation sites from several eukaryotic model species. We used this compendium to develop Meth-Phos-Prometheus, a Neural Network (NN) webserver that accurately predicts i) methylation and/or phosphorylation sites in eukaryotes ii) the phospho- methyl switches they form iii) the clusters/rheostats they form and iv) further displays them graphically on the protein. The input for this server is a protein sequence or a proteome file in FASTA format. The protein methylation NN has an accuracy of 86% (AUC: 0.925), whereas the protein phosphorylation NN has an accuracy of 84% (AUC: 0.91). Meth-Phos Prometheus significantly outperforms in accuracy other published prediction tools and can analyze the entire yeast proteome in 55 minutes.

## **ΦΑΡΜΑΚΟΓΕΝΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΕΣ ΥΠΟΓΡΑΦΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΝΕΩΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Βλαχάβας Ευστάθιος-Ιάσων<sup>1,2,3</sup>, Παπαδόδημα Όλγα<sup>1</sup>, Χονδρού Πελαγία<sup>2</sup>, Κουτσανδρέας Θεόδωρος<sup>1,3</sup>, Γαλάνης Αλέξης<sup>2</sup>, Χατζηγιάννου Αριστοτέλης<sup>1,3\*</sup>**

<sup>1</sup> *Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα*

<sup>2</sup> *Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη*

<sup>3</sup> *Επιος εταιρεία- τεχνολογικός, Αλεξάνδρου Πάντου 25, Καλλιθέα, Αθήνα*

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί μια ασθένεια με σύνθετο μοριακό προφίλ και ποικίλες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Παρόλη τη σημαντική πρόοδο που έχει επιτευχθεί όσον αφορά το μοριακό χαρακτηρισμό, τη διάγνωση και θεραπεία, ο συγκεκριμένος καρκίνος παραμένει μια από τις συχνότερες κακοήθειες νόσους με τα υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας. Η αξιοποίηση των τεχνικών υψηλής απόδοσης συνέβαλε σημαντικά στην ταυτοποίηση γονιδιακών μεταλλαγών και στο χαρακτηρισμό γονιδίων που ενέχονται στην παθοφυσιολογία του συγκεκριμένου καρκίνου. Ωστόσο, η ιδιαίτερη ετερογένεια του αλλά και η δυσκολία της ερμηνείας μοριακών δεδομένων υψηλής διαστασιμότητας δυσχεραίνουν την αξιοποίηση των μικροσυστοιχιών DNA/RNA-Seq, ιδιαίτερα όσον αφορά την κλινική εφαρμογή. Σε προηγούμενη μελέτη μας πραγματοποιήθηκε η σύντηξη γονιδιωματικών και PET δεδομένων για την εξαγωγή σύνθετων μοριακών υπογραφών που οδήγησε σε ένα υποσύνολο 94 γονιδίων. Στην τωρινή μελέτη, αξιοποιώντας βάσεις δεδομένων και βιολογικών λεξικών σχετικών με φαρμακολογικούς παράγοντες και την επίδρασή τους σε κυτταρικές σειρές, αναπτύχθηκε μια διαδικτυακή εφαρμογή φαρμακογενωμικής ανάλυσης μέσω της γλώσσας R και της R βιβλιοθήκης shiny. Με βάση τις σχεσιακές πληροφορίες μεταξύ περισσοτέρων από 2.500 φαρμακολογικών παραγόντων και μεταβολών προφίλ της γονιδιακής έκφρασης σε περίπου 60 κυτταρικές σειρές, η εφαρμογή ανέδειξε και ιεράρχησε πιθανούς φαρμακολογικούς παράγοντες που στοχεύουν συγκεκριμένους μοριακούς στόχους. Η ανάλυση ανέδειξε μια ιεραρχημένη λίστα ενώσεων και έπειτα από βιβλιογραφική μελέτη, κατέληξε στον φαρμακολογικό παράγοντα fedratinib. Η αντι-πολλαπλασιαστική δράση του συγκεκριμένου παράγοντα μελετήθηκε συγκριτικά με το irinotecan, σε καρκινικές σειρές παχέος εντέρου CaCo-2 και HT-29. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο παράγοντας fedratinib παρουσίασε παρόμοια ή και καλύτερη δράση σε σχέση με το irinotecan τόσο με δόσο και όσο και χρόνο εξαρτώμενο τρόπο.

## **SIGNATURE-AIDED PHARMACOGENOMIC ANALYSIS FOR THE IDENTIFICATION OF NEW THERAPEUTIC TARGETS FOR COLORECTAL CANCER**

**Vlachavas Efstathios-Iason<sup>1,2,3</sup>, Papadodima Olga<sup>1</sup>, Chondrou Pelagia<sup>2</sup>, Koutsandreas Theodoros<sup>1,3</sup>, Galanis Alex<sup>2</sup>, Chatziioannou Aristotelis<sup>1,3\*</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Biology, Medicinal Chemistry & Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, Athens, Greece*

<sup>2</sup>*Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Health Sciences, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece*

<sup>3</sup>*Enios Applications Private Limited Company, Al. Pantou 25, Kallithea, Athens, Greece*

Colorectal cancer (CRC) is considered a highly heterogeneous group of diseases, with distinctive genetic and epigenetic alterations. Despite the significant progress in many experimental studies regarding molecular classification, diagnosis and treatment, CRC is the third leading cause of cancer-related deaths in the United States. The last decade, "omics"-technologies (microarrays, NGS) have highlighted significant genomic alterations in CRC, thus enabling the characterization of causal genes and robust gene signatures driving CRC initiation and progression. However, CRC tumors are extremely complex, involving distinct molecular pathways and epigenetic alterations. Thus, the pressure is intense for earlier, rapid, more accurate diagnostic and noninvasive therapeutic strategies. On this premise, we have previously reported an analytical workflow for the integrative analysis of CRC data, through inference of robust, composite signatures, encompassing both transcriptomics and PET measurements. This analysis highlighted a subset of 94 linker genes with pivotal role in the cross-talk among distinct molecular pathways implicated in tumor progression. In the present study, an R/shiny application was developed to perform drug repositioning and propose putative therapeutic interventions for CRC. The application was based on the phase I library of integrated network-based cellular signatures (LINCS-L1000) dataset. The results of the pharmacogenomics analysis suggested fedratinib in HT-29 colon adenocarcinoma cell line, an inhibitor originally developed for the treatment of patients with myeloproliferative diseases. Preliminary in vitro tests showed that fedratinib exerts similar or even better anti-proliferative effects in HT-29 and CaCo-2 colon cancer cells in comparison to irinotecan, in a time- and dose dependent manner.

## **ΑΦΘΟΝΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΝΥΔΡΕΙΟΠΟΝΙΑΣ ΣΕ ΔΥΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ 20 PPT ΚΑΙ 8 PPT.**

**Βλάχος Νικόλαος, Μητσόπουλος Ιωάννης, Μπαμπουκλής Κωνσταντίνος, Κορμάς Κωνσταντίνος, Βερίλλης Παναγιώτης, Μεντέ Ελένη**

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

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά η ολική αφθονία του βακτηριακού πληθυσμού σε σύστημα ενυδρειοπονίας με υφάλμυρο νερό, στο βιολογικό φίλτρο σε δύο διαφορετικές αλατότητες 8 και 20 ppt. Για τον σκοπό αυτό, κατασκευάστηκαν έξι αυτόνομα συστήματα ενυδρειοπονίας με 2 διαφορετικές αλατότητες 8 ppt και 20 ppt στα οποία συνολικά τοποθετήθηκαν 156 τσιπούρες (*Sparus aurata*), (26 άτομα /σύστημα) με μέσο αρχικό βάρος  $2,55 \pm 0,53$  g και μήκος  $5,57 \pm 0,33$ cm και 36 άτομα κρίταμου (*Crithmum maritimum*) με μέσο αρχικό ύψος  $8,23 \pm 0,34$  cm (6 κρίταμα /σύστημα). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αφθονία των βακτηρίων κατά την έναρξη του πειράματος, σε όλες τις μεταχειρίσεις διαφοροποιήθηκε και ήταν στατιστικώς υψηλότερη ( $20,2 \times 10^5 \pm 0,92$  Cells/mL στο 20 ppt σε σχέση με την χαμηλότερη αλατότητα (8ppt) όπου η αρχική αφθονία κυττάρων ήταν  $1,08 \times 10^5 \pm 1,82$  Cells/mL, σε αντίθεση με την ημέρα έναρξης μεταβολής της αλατότητας όπου η αφθονία των βακτηρίων δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0.05$ ). Ο μέσος όρος της αφθονίας των βακτηρίων στο τέλος του πειράματος ήταν στατιστικά μεγαλύτερος στην 20 ppt αλατότητα ( $18,6 \pm 0,91 \times 10^5$  Cells/mL) ( $p < 0.05$ ) σε σχέση με την αλατότητα 8 ppt ( $6,8 \pm 1,9 \times 10^5$  Cells/mL). Το υδραυλικό φορτίο και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής του νερού στο φίλτρο και στις δύο αλατότητες ήταν  $1,85 \pm 0.15$  cm/min και 9,7 min, αντίστοιχα. Το pH σε όλες τις μεταχειρίσεις κυμάνθηκε από 8 έως 6,7 επιδρώντας στη μείωση της αφθονίας των βακτηρίων στην τιμή 6,7. Επίσης, η ειδική επιφάνεια του φίλτρου (SSA) ήταν  $22,38 \pm 2.35$  cm<sup>2</sup>/cm<sup>3</sup> στατιστικά μεγαλύτερη ( $p < 0.05$ ) στην αλατότητα 20 ppt σε σχέση με την αλατότητα 8 ppt που ήταν  $16,2 \pm 2.24$  cm<sup>2</sup>/cm<sup>3</sup>. Η διακύμανση της βακτηριακής αφθονίας αποδίδεται στο οσμωτικό stress που υφίστανται τα βακτήρια και φαίνεται να οφείλεται στη διαφορά της αλατότητας μεταξύ των μεταχειρίσεων, στη διαφορετική SSA, στο υδραυλικό φορτίο, στον υδραυλικό χρόνο παραμονής του νερού στο φίλτρο και στο pH.

## **BACTERIAL ABUNDANCE IN AQUAPONICS UNDER TWO SALINITIES 20 PPT AND 8 PPT**

**Vlahos N., Mitsopoulos I., Bampouklis K., Kormas K., Berillis P., Mente E.,**

*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly.*

The aim of this study was to measure the bacterial abundance in the biological filter of a brackish water aquaponic system, under two different salinities 8 and 20 ppt. Six aquaponics systems were constructed with two different salinities 8 ppt and 20 ppt. A total number of 156 individual *Sparus aurata* (26 individuals / system) were placed in the aquaponics systems with an average initial weight of  $2.55 \pm 0.53$  g and a length of  $5.57 \pm 0.33$  cm and 36 individual *Crithmum maritimum* plants with an average initial height of  $8.23 \pm 0.34$  cm (6 individual/ system). Initially before the change in the salinity to the two 20 and 8 ppt, salinities, respectively, the abundance of bacteria did not show statistically significant differences between them ( $p > 0.05$ ). The results showed that the abundance of bacteria at the start of the experiment, when the salinity was set to the two requested salinities (20 ppt and 8 ppt), in all treatments was statistically higher ( $20.2 \times 10^5 \pm 0.92$  Cells/mL) at 20 ppt in comparison to the lower salinity (8ppt) where the abundance of cells was  $1.08 \times 10^5 \pm 1.82$  Cells/mL. The average abundance of bacteria at the end of the experiment was higher ( $p < 0.05$ ) in the 20 ppt salinity ( $18.6 \pm 0.91$  Cells  $\times 10^5$ /mL) than the 8 ppt salinity ( $6.8 \pm 1.9$  Cells  $\times 10^5$ /mL). The Hydraulic load rate (HRL) and the retention time of the water in the filter bed in both salinities was  $1.85 \pm 0.15$  cm/min and 9.7 min, respectively. pH values in all treatments were between 8 to 6,7 and there was a reduction of bacteria abundance at the pH of 6.7. The specific surface area (SSA) of the filter bed was  $22.38 \pm 2.35$  cm<sup>2</sup>/cm<sup>3</sup> statistically higher ( $p < 0.05$ ) at 20 ppt compared to 8 ppt which was  $16.2 \pm 2.24$  cm<sup>2</sup>/cm<sup>3</sup>. The variation in bacterial abundance seems to be influenced by salinity, the different SSA, the hydraulic load and the hydraulic retention time in the filter bed and pH.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΣΤΗΝ ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *ZEA MAYS*

Βούλγαρης Π. <sup>1</sup>, Γιαννούτσου Ε. <sup>1</sup>, Παντερής Ε. <sup>2</sup>, Γαλάτης Β. <sup>1</sup>, Αποστολάκος Π. <sup>1</sup>, Αδαμάκης Σ.Ι.Δ<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα

<sup>2</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

Τα στοματικά σύμπλοκα του *Zea mays* αποτελούνται από δύο καταφρακτικά κύτταρα (ΚΚ) και δύο παραστοματικά κύτταρα (ΠΚ), τα οποία προκύπτουν από την ακολουθία τριών ασυμμέτρων διαιρέσεων και μιας σύμμετρης διαίρεσης. Η πρώτη ασύμμετρη διαίρεση δημιουργεί το μητρικό κύτταρο των καταφρακτικών (ΜΚ). Η δεύτερη και η τρίτη διαίρεση επάγονται από το ΜΚ, χαρακτηρίζονται από την έντονη πόλωση των μητρικών των παραστοματικών κυττάρων (ΜΠ), δημιουργούν δύο παραστοματικά κύτταρα (ΠΚ) εκατέρωθεν του ΜΚ. Τέλος, το ΜΚ διαιρείται σύμμετρα και σχηματίζει τα δύο καταφρακτικά κύτταρα (ΚΚ). Σε πολλά φυτικά είδη, ο αριθμός των στομάτων ανά μονάδα επιφάνειας, η κατανομή τους και το μέγεθός τους επηρεάζονται από ποικίλους παράγοντες. Π.χ. η επίδραση διαλυμάτων σακχάρων στο δικοτυλήδο φυτό *Arabidopsis thaliana* διαταράσσει το πρότυπο οντογένεσης των στομάτων. Προκειμένου να διερευνηθεί εάν τα σάκχαρα επηρεάζουν την ανάπτυξη των στομάτων και σε μονοκοτυλήδονα φυτά μελετήθηκε η επίδραση διαλυμάτων συγκέντρωσης 3% (w/v) σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης και μαννιτόλης στο πρότυπο ανάπτυξης των στοματικών συμπλόκων του φυτού *Z. mays*. Η μελέτη επηρεασμένων στοματικών σειρών έδειξε σημαντική αναστολή της πόλωσης των ΜΠ καθώς και των επακόλουθων ασύμμετρων διαιρέσεων, με αποτέλεσμα την ύπαρξη πολλών στοματικών συμπλόκων στερουμένων ΠΚ. Συχνά, αναστέλλεται η σύμμετρη διαίρεση του ΜΚ, ενώ τα επηρεασμένα ΠΚ και ΚΚ εμφανίζουν μορφολογικές ανωμαλίες. Η μελέτη της σύστασης του κοινού κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ ΜΚ και ΜΠ (πολικό άκρο των ΜΠ), έδειξε ότι η αναστολή της πόλωσης συνοδεύεται από αλλαγή στο πρότυπο κατανομής πηκτινών σε αυτή τη θέση. Τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η ανάπτυξη των σπερμάτων σε διάλυμα σακχάρων διαταράσσει σημαντικά το πρότυπο οντογένεσης των στοματικών συμπλόκων του φυτού *Z. mays*, γεγονός που πιθανώς σχετίζεται και με τη διαταραχή της κατανομής των πολυσακχαριτών του στρώματος του κυτταρικού τοιχώματος στις θέσεις μεταγωγής του επαγωγικού ερεθίσματος από τα ΜΚ στα ΜΠ.

## **STUDY ON THE IMPACT OF SUGARS SOLUTIONS ON THE ONTOGENESIS OF THE STOMATAL COMPLEXES OF ZEA MAYS**

**Voulgaris P.<sup>1</sup>, Giannoutsou E.<sup>1</sup>, Panteris E.<sup>2</sup>, Galatis B.<sup>1</sup>, Apostolakos P.<sup>1</sup>, Adamakis S.I.D.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Division of Botany, Faculty of Biology, NKUA, Athens*

<sup>2</sup>*Department of Botany, School of Biology, AUTH, Thessaloniki*

Stomatal complexes of *Zea mays* are comprised of two guard cells (GC) and two subsidiary cells (SC), which derive from a series of three asymmetrical and one symmetrical division. The first asymmetrical division generates the guard cell mother cell (GMC). The second and the third asymmetrical divisions are induced by the GMC, are characterized by intense polarization of the subsidiary cell mother cells (SMCs) and result in the formation of two lens shaped subsidiary cells (SCs). Finally, the GMC divides symmetrically, generating the two GCs. In many plant species, the stomatal complexes density, their distribution and their morphology depends on various factors. In *Arabidopsis thaliana*, the addition of various sugars dilutions disturbs the ontogenesis of its stomatal complexes. In order to investigate if sugars addition affects stomatal ontogenesis of monocotyledonous plants, *Z. mays* seedlings were grown on 3% (w/v) sucrose, glucose, fructose and mannitol. The observation of numerous affected stomatal rows indicates a clear inhibition of the SMCs polarization and the subsequent asymmetrical divisions, resulting in numerous stomatal complexes without SCs. In many cases, an inhibition of the symmetrical division giving rise to the two guard cells was noticed. Furthermore, various morphological aberrations of the GCs and the SCs were observed. The study of the cell wall composition at the common cell wall between the GMC and the SMC (polar site of the SMC) revealed that the polarization inhibition is accompanied by an alteration in pectins distribution at the specific site. It is concluded that the growth of *Z. mays* seedlings in sugar solutions has a significant effect on the pattern of ontogenesis of the stomatal complexes. The change in polysaccharides distribution on the affected cell wall sites may influence the transduction of the inductive stimulus and, subsequently, might affect all the successive events leading to the formation of stomatal complexes.

## **ΑΝΘΙΣΕΙΣ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟΥ ΚΑΙ ΕΡΥΘΡΕΣ ΠΑΛΙΡΡΟΙΕΣ ΣΤΟΝ ΟΡΜΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ: ΜΕΤΑΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΓΝΩΣΤΗΣ ΚΑΙ ΑΝΕΞΕΡΕΥΝΗΤΗΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ**

**Γενίτσαρης Σάββας, Στεφανίδου Νατάσσα, Μουστάκα Μαρία**

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 54124, Θεσσαλονίκη*

Ο Όρμος της Θεσσαλονίκης τα τελευταία χρόνια χαρακτηρίζεται από συχνά και έντονα φαινόμενα ανθίσεων φυτοπλαγκτού και ερυθρών παλιρροιών. Σκοπός της εργασίας ήταν να διερευνηθεί η γνωστή αλλά και η ανεξερεύνητη ποικιλότητα των μονοκύτταρων ευκαρυωτών στον Όρμο από τον Μάρτιο 2017 έως τον Φεβρουάριο 2018. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε απομόνωση του DNA από δείγματα νερού, και στη συνέχεια εφαρμόστηκαν μεταγονιδιωματικές μέθοδοι NGS, στοχεύοντας το γονίδιο του 18S rRNA. Κατά τη διάρκεια του έτους σχεδόν σε όλες τις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες παρατηρήθηκαν ανθίσεις φυτοπλαγκτού ή/και φαινόμενα ερυθρών παλιρροιών και συσσωμάτων βλέννας. Η μεταγονιδιωματική ανάλυση ανίχνευσε τις γνωστές ομάδες των μονοκύτταρων ευκαρυωτών του Όρμου, με κυρίαρχα τα Δινομαστιγωτά, τα Διάτομα, τα Βλεφαριδωτά, τα Πρασινοφύκη και τα Απτοφύκη, και ταυτόχρονα αποκάλυψε ταξινομικές ομάδες που δεν είχαν προηγουμένως αναφερθεί στον Όρμο, με κυρίαρχες τα *Cercozoa*, MALV, MAST, *Laburinthulea*, *Pelagophyceae* και *Oomycetes*. Οι κυρίαρχες ταξινομικές μονάδες (OTUs) είχαν κοντινότερους συγγενείς γνωστά είδη που έχουν ενοχοποιηθεί για τη συμμετοχή τους σε φαινόμενα ερυθρών παλιρροιών, επιβλαβών ανθίσεων (HABs) και συσσωμάτων βλέννας, όπως τα είδη *Noctiluca scintillans*, *Dinophysis acuminata*, *Gonyaulax* sp., *Chaetoceros* spp., *Pseudonitzschia* spp. και *Mesodinium rubrum*. Επιπλέον, OTUs με κοντινότερους συγγενείς γνωστά επιβλαβή είδη για άλλους θαλάσσιους οργανισμούς εντοπίστηκαν σε χαμηλούς αριθμούς, όπως το γνωστό παράσιτο *Haplosporidium* και το επιβλαβές στα δίθυρα πελαγοφύκος *Aureococcus*. Τα αποτελέσματα του χαρακτηρισμού του πλαγκτού αποκάλυψαν σημαντική βιοποικιλότητα με δυνητικές αρνητικές επιπτώσεις. Καθιστούν αναγκαία τη συνεχή παρακολούθηση των μικροοργανισμών αυτών στο Θερμαϊκό Κόλπο ώστε να διερευνηθεί κατά πόσον οι ανθρωπογενείς επιδράσεις έχουν μετατρέψει τον Κόλπο σε ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη αυτών των μικροοργανισμών.

## **PHYTOPLANKTON BLOOMS AND RED TIDES IN THESSALONIKI BAY: METAGENOMIC CHARACTERIZATION OF THE KNOWN AND UNEXPLORED BIODIVERSITY**

**Genitsaris Savvas, Stefanidou Natassa, Moustaka Maria**

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

Thessaloniki Bay has been characterized in recent years by frequent and intense phytoplankton blooms and red tides. The aim of the study was to investigate the known and unexplored diversity of unicellular eukaryotes in Thessaloniki Bay from March 2017 to February 2018. Thus, DNA was extracted from water samples from the Bay, and high throughput sequencing was applied, targeting the 18S rRNA gene. During the study, in almost all weekly samplings phytoplankton blooms and / or red tide and mucilaginous aggregates were observed. The metagenomic analysis detected the known groups of unicellular eukaryotes of the Bay, dominated by Dinoflagellates, Diatoms, Ciliates, Prasinophytes and Haptophytes, and at the same time revealed taxonomic groups that had not been previously observed in the Bay, dominated by *Cercozoa*, MALV, MAST, *Laburinthulea*, *Pelagophyceae* and *Oomycetes*. The dominant Operational Taxonomic Units (OTUs) were closely related to species known to participate in red tides, harmful blooms (HABs) and mucilaginous aggregates such as the taxa *Noctiluca scintillans*, *Dinophysis acuminata*, *Gonyaulax* sp., *Chaetoceros* spp. *Pseudonitzschia* spp. and *Mesodinium rubrum*. In addition, OTUs closely related to known harmful species were found in low numbers, such as the known *Haplosporidium parasite* and the *Aureococcus bivalve* parasite. Our results revealed a significant biodiversity with potential negative impacts. It is, thus, necessary to continuously monitor these microorganisms in Thermaikos Gulf in order to investigate whether the anthropogenic effects have transformed the Gulf into a favorable environment for the development of these taxa.

## ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΥΤΟΣΥΓΚΡΟΤΗΣΗΣ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ-ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΩΝ ΙΝΙΔΙΩΝ ΤΥΠΟΥ Ι ΤΗΣ *E. COLI*

**Γεωργακοπούλου Ι. Κωνσταντίνα, Νάση Ι. Γεωργία, Τσιολάκη Λ. Παρασκευή, Οικονομίδου Α. Βασιλική**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15701*

Η ουρολοιμώξη αποτελεί την πιο συχνή μολυσματική νόσο στον άνθρωπο που επηρεάζει κυρίως τις γυναίκες και χαρακτηρίζεται από την παρουσία συγκεκριμένου αριθμού βακτηρίων στα ούρα ( $>10^5$  κύτταρα/ml). Η πλειονότητα των περιπτώσεων προκαλείται από ουροπαθογόνα στελέχη του βακτηρίου *Escherichia coli* που φέρουν τα χαρακτηριστικά ινίδια τύπου Ι. Τα ινίδια τύπου Ι είναι αποφύσεις της βακτηριακής επιφάνειας, οι οποίες συμμετέχουν στη δημιουργία βιοϋμενίων και στην προσκόλληση σε επιφάνειες, μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από τη D-μαννόζη. Η ακραία πρωτεϊνική υπομονάδα της κάθε απόφυσης, η FimH, είναι υπεύθυνη για την πρόκληση των ουρολοιμώξεων, καθώς η αλληλεπίδρασή της με υποδοχείς του ουροθηλίου συμβάλλει στη δημιουργία βακτηριακών αποικιών και την ανοσοδιαφυγή, οδηγώντας στην επαναλαμβανόμενη εμφάνιση ουρολοιμώξεων. Τα τελευταία χρόνια, τα αντιμικροβιακά πεπτιδία χρησιμοποιούνται ως πιθανή θεραπεία για τις ανθρώπινες μικροβιακές λοιμώξεις, ωστόσο ελάχιστες από τις κλινικές μελέτες έχουν δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Στην παρούσα μελέτη εντοπίστηκαν πεπτιδία με τάση προς συσσωμάτωση στην πρωτεΐνη FimH. Τα πεπτιδία-ανάλογα που προβλέφθηκαν, συντέθηκαν χημικά και μελετήθηκαν χρησιμοποιώντας μεθόδους μοριακής βιοφυσικής και υπολογιστικών αναλύσεων. Τα πειραματικά μας δεδομένα απέδειξαν την ικανότητα συσσωμάτωσης των πεπτιδίων *in vitro* και την πιθανή ύπαρξη αντιμικροβιακών χαρακτηριστικών. Περαιτέρω υπολογιστική σύγκριση με πρωτεώματα διαφόρων οργανισμών ανέδειξε τη μοναδικότητα της αλληλουχίας των πεπτιδίων αυτών, ενισχύοντας τη δυνατότητα αξιοποίησής τους ως αντιμικροβιακά πεπτιδία-αναστολείς, με απώτερο στόχο τη χρήση τους για την καταπολέμηση των ουρολοιμώξεων.

## **SELF-AGGREGATION STUDIES ON PEPTIDE-ANALOGUES OF E. COLI TYPE I FIMBRIAE**

**Georgakopoulou I. Konstantina, Nasi I. Georgia, Tsiolaki L. Paraskevi, Iconomidou A. Vasiliki**

*Division of Cell Biology and Biophysics, Department of Biology, School of Sciences, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15701*

Urinary tract infections are the leading infectious disease in humans, affecting mostly women and refer to the presence of a certain number of bacterial cells in urine ( $>10^5$  cells/ml). The majority of cases are caused by uropathogenic strains of *Escherichia coli*, with the main contributing factor being their type I fimbriae. Type I fimbriae are adhesive pili in the surface of the bacterial cell, which play a crucial role in biofilm formation and also function as adhesins by binding to surfaces in a D-mannose- dependent manner. Their apical protein subunit, namely FimH, is responsible for the occurrence of urinary tract infections. FimH interaction with urothelial receptors facilitates the establishment and colony formation of *E.coli* and subsequently causes human immune evasion, resulting in recurrent infections. During the last years, antimicrobial peptides have been used as a potential treatment for microbial infections in humans, yet only few of the trials have been able to demonstrate efficacy in urinary tract infections. In the present study, we identified peptides with self-aggregation properties in FimH protein. The predicted peptide-analogues were chemically synthesized and studied utilizing both molecular biophysical and computational techniques. Our experimental results demonstrate that FimH peptide-analogues have distinctive aggregation properties in vitro and thus, may exhibit strong antimicrobial characteristics. Further, a computational comparison proving the FimH peptide- analogues uniqueness among proteomes emphasizes the potential of using those peptides as antimicrobial peptide-inhibitors, aiming to eliminate urinary tract infections.

## **ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ («HARDENING») ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

**Γεωργούλης Ιωάννης<sup>1</sup>, Φειδάντσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Γιάντσης Α. Ιωάννης<sup>2</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Δυτικής Μακεδονίας

Η αύξηση της παγκόσμιας θερμοκρασίας λόγω της κλιματικής αλλαγής θα επηρεάσει τους υδρόβιους οργανισμούς σε όλα τα επίπεδα της βιολογικής τους οργάνωσης. Σύμφωνα με την υπόθεση της περιορισμένης θερμοανθεκτικότητας λόγω της μειωμένης ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου στους ιστούς των θαλάσσιων οργανισμών (oxygen and capacity limited thermal tolerance-OCLTT), αύξηση της θερμοκρασίας περαιτέρω των ανώτερων θερμικών ορίων των οργανισμών προκαλεί μείωση της αερόβιας οξειδωσης και ταυτόχρονα την αύξηση του αναερόβιου μεταβολισμού. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η θερμική ανοχή των εξώθερμων οργανισμών μπορεί να αυξηθεί μετά από σύντομη έκθεσή τους σε υποθανατηφόρες θερμοκρασίες, μια διαδικασία γνωστή ως «hardening». Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε την ικανότητα αύξησης της ανθεκτικότητας του μυδιού *Mytilus galloprovincialis* στις αυξημένες θερμοκρασίες μέσω του μηχανισμού του «hardening». Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες για μεγάλο χρονικό διάστημα, μυδιών που έχουν υποστεί «hardening» και μυδιών που δεν έχουν υποστεί, και στην συνέχεια έγινε σύγκρισή τους για τον εντοπισμό διαφορών στον μεταβολισμό τους. Τα πρώτα αποτελέσματα αφορούν διαφοροποιήσεις ως προς την θνησιμότητα, την κατανάλωση ενέργειας και την έκφραση πρωτεϊνικών δεικτών της θερμικής καταπόνησης (Heat shock proteins-Hsps). Αυτά δείχνουν μια αύξηση στο ποσοστό ανθεκτικότητας. Παράλληλα πειραματιστήκαμε με νέες συνθήκες «hardening» με στόχο την επίτευξη συνθηκών κάτω από τις οποίες τα μύδια παρουσιάζουν περαιτέρω μείωση στο ποσοστό θνησιμότητας. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα αυτά προέρχονται από αρχικές μελέτες και για αυτόν τον λόγο απαιτείται επιπλέον διερεύνηση των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών που ρυθμίζουν την θερμοανθεκτικότητα των μυδιών. Στην έρευνα αυτήν συμπεριλαμβάνονται μετρήσεις έκφρασης γονιδίων σχετικά με το στρες, μέτρηση επιπέδων μεταβολιτών και δείκτες μεταβολικών πρότυπων.

## **MOLECULAR MECHANISMS FOR ENHANCING THE HEAT RESISTANCE («HARDENING») OF THE MARINE SPECIES *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

**Georgoulis Ioannis<sup>1</sup>, Feidantsis Konstantinos<sup>1</sup>, Giantsis A. Ioannis<sup>2</sup>, Michaelidis Basileios<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Technological Education Institute of Western Macedonia

The increase of global temperature due to climate change will affect marine organisms at all levels of their biological organization. According to the hypothesis of oxygen and capacity limited thermal tolerance (OCLTT), the further increase of temperature beyond the organisms' upper thermal limits causes a decrease of aerobic oxidation and a parallel increase of anaerobic metabolism. Recent research has shown that the thermal tolerance of ectothermic organisms may be increased after a brief exposure to sub-lethal temperatures, a process known as "hardening". In this study we examined the ability of the increase of the heat resistance of *Mytilus galloprovincialis* under the effect of elevated temperatures through the "hardening" mechanism. For this purpose, mussels that have undergone "hardening" and mussels that have not, were exposed to elevated temperatures for a long period and then they were compared to detect differences in their metabolism. Our first results are related to variations in mortality, energy consumption and expression of Heat shock proteins (Hsps). These results show an increase in the heat resistance rate. At the same time, we carried out new "hardening" experimentation to achieve conditions under which mussels show a further decrease in mortality rates. However, these results are derived from initial studies and for this reason further investigation of the molecular and cellular mechanisms regulating the heat resistance of the mussels is required. This research includes stress expression measurements, metabolites' levels and metabolic patterns.

## ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΖΩΝΗ ΤΗΣ ΑΛΟΝΝΗΣΟΥ

**Γεωργούση Ιωάννα<sup>1</sup>, Πατσιά Αθηνά<sup>1</sup>, Πετρίκη Όλγα<sup>1</sup>, Δενδρινός Παναγιώτης<sup>2</sup>, Μπόμπορη Δήμητρα<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., ΤΘ 134, 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Εταιρεία Μελέτης και Προστασίας της Μεσογειακής Φώκιας (Μοτ), Σολωμού 18, 10682 Εξάρχεια, Αθήνα

Τα ελληνικά θαλάσσια οικοσυστήματα προσφέρουν τεράστια ποικιλία ενδιαιτημάτων και φιλοξενούν πολλά σημαντικά είδη τα οποία ωστόσο απειλούνται λόγω ανθρωπογενών δραστηριοτήτων όπως ο τουρισμός, η αλιεία, οι εισροές θρεπτικών αλάτων κ.α. Η προστασία του θαλάσσιου περιβάλλοντος στην Ευρώπη αλλά και στην Ελλάδα γίνεται σε εφαρμογή των Οδηγιών 2000/60/ΕΚ και 2008/56/ΕΚ. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση της ποιότητας των υδάτων στην παράκτια θαλάσσια ζώνη της Αλοννήσου που εμπίπτει εντός των ορίων του Εθνικού Θαλάσσιου Πάρκου της Αλοννήσου. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν τέσσερις εποχικές δειγματοληψίες (Ιούλιος και Οκτώβριος 2017, Μάρτιος και Μάιος 2018). Ειδικότερα, επιλέχθηκαν πέντε σταθμοί (S1-S5) και τρία βάθη (επιφάνεια 0 m, 15 m, 30 m), στα οποία έγιναν μετρήσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού και λήφθηκαν δείγματα για την εκτίμηση των συγκεντρώσεων των θρεπτικών αλάτων του αζώτου και φωσφόρου και της χλωροφύλλης-α. Η εκτίμηση της τροφικής κατάστασης και οικολογικής ποιότητας των υδάτων έγινε με τη χρήση των δεικτών Trophic Index (TRIX), Eutrophication Index (E.I.) και των συγκεντρώσεων της χλωροφύλλης-α. Η πλειονότητα των σταθμών εμφάνισε μέτρια ως άριστη οικολογική ποιότητα, με τάση μεσοτροφισμού. Γενικώς, η ποιότητα των υδάτων της παράκτιας ζώνης της Αλοννήσου χαρακτηρίστηκε ως καλή, λόγω των χαμηλών συγκεντρώσεων των θρεπτικών, των υψηλών τιμών διαφάνειας και των τιμών των φυσικοχημικών παραμέτρων. Προτείνεται η καθιέρωση προγραμμάτων παρακολούθησης της ποιότητας του υδάτινου περιβάλλοντος στην ευρύτερη περιοχή του Εθνικού Πάρκου της Αλοννήσου που θα καταγράψει την τάση μεταβολής των ποιοτικών παραμέτρων που παρακολουθήθηκαν και θα επιτρέψει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για τη λήψη διαχειριστικών μέτρων στην κατεύθυνση διατήρησης της Καλής Οικολογικής Ποιότητας και Καλής Περιβαλλοντικής Κατάστασης στην περιοχή.

## **WATER QUALITY IN THE COASTAL MARINE AREA OF ALONISSOS ISLAND**

**Georgousi Ioanna<sup>1</sup>, Patsia Athina<sup>1</sup>, Petriki Olga<sup>1</sup>, Dendrinos Panagiotis<sup>2</sup>, Bobori Dimitra<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, TH 134, 54124 Thessaloniki*

*<sup>2</sup>Society for the Study and Protection of the Monk Seal (Mom), 18 Solomou, 10682 Exarchia, Athens*

The Greek marine ecosystems offer a huge variety of habitats and host several important species which, however, are threatened due to human activities (tourism, fishery, nutrient inputs, etc). The protection of the marine environment in Europe as well as in Greece is under the directives 2000/60/EC and 2008/56/EC. The purpose of the present study was to assess the water quality in the coastal marine area of Alonissos island, which is part of the National Marine Park of Alonissos. Four seasonal samplings took place in July and October 2017, March and May 2018. More specifically, five stations (S1-S5) and three depths (surface 0m, 15 m, 30 m) were selected, where water physicochemical parameters were measured. In addition, water samples were collected for the estimation of nutrient (nitrogen and phosphorus) and chlorophyll-a concentrations. The assessment of the eutrophication status and the ecological quality were based on the use of Trophic Index (TRIX), Eutrophication Index (E.I.) and concentrations of chlorophyll-a. Water quality in most stations was assessed as moderate to excellent, while the waters were found to be mesotrophic. In general, the water quality in Alonissos coastal marine area was characterized as good, due to low nutrient concentrations, high transparency and the obtained values of the physicochemical parameters measured. The establishment of water quality monitoring programs, in the broader area of Alonissos National Park is proposed, to record the quality parameters and allow safe conclusions to be drawn for the adoption of management measures in the direction of maintaining Good Ecological Quality and Good Environmental Status in the region.

## Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΛΕΙΜΩΝΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ

**Γκανάκη Τρυγώνα-Ειρήνη, Χρηστάκης Χρήστος, Βλαχόπουλος Κωνσταντίνος, Μακρή Μαρία, Σφουγγάρης Αθανάσιος**

*Εργαστήριο Διαχείρισης Οικοσυστημάτων και Βιοποικιλότητας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, οδός Φυτόκου, 38446, Βόλος, Ελλάδα*

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η διαθεσιμότητα και η επιλογή τροφής από το Κιρκινέζι σε τεχνητούς λειμώνες που δημιουργήθηκαν από μίγμα αγρωστωδών και ψυχανθών, συνολικής έκτασης 307 στρεμμάτων, σε λοφώδεις περιοχές όπου κυριαρχούν μακί οικοσυστήματα, στην ευρύτερη περιοχή του Βελεσίνου Μαγνησίας το 2016. Οι σπορές πραγματοποιήθηκαν στο πλαίσιο του προγράμματος LIFE-Φύση «Διατήρηση και διαχείριση του Κιρκινεζιού (*Falco naumanni*) σε τρεις Ζώνες Ειδικής Προστασίας (ΖΕΠ) της Ελλάδας». Σε πέντε επιλεγμένους τεχνητούς λειμώνες, πραγματοποιήθηκε μελέτη διαθεσιμότητας λείας για το Κιρκινέζι με την τοποθέτηση παγίδων παρεμβολής (pitfall traps) για την συλλογή εδαφόβιων Αρθρόποδων και πραγματοποίηση γραμμικών διαδρομών (line transects) για την εκτίμηση της πυκνότητας των Ορθόπτερων. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ότι οι λειμώνες παρουσίασαν υψηλή αφθονία σε *Formicidae* της τάξης των Υμενόπτερων, Κολεόπτερα (*Carabidae*, *Scarabaeidae*, *Elateridae*, *Tenebrionidae*), Χειλόποδα, Διπλόποδα και Ισόποδα. Επιπλέον, την ίδια χρονιά καταγράφηκε η χρήση των τεχνητών λειμώνων ως ενδαιτημάτων τροφοληψίας από το Κιρκινέζι, σε σύγκριση με τις γειτονικές τους καλλιέργειες και λοιπές χρήσεις γης. Η λήψη παρατηρήσεων πραγματοποιούνταν με δίοπτρες, από εποπτικές θέσεις, μία σε κάθε περιοχή, ώστε να εξασφαλίζεται η καλύτερη δυνατή ορατότητα προς τους λειμώνες και τις γειτονικές τους καλλιέργειες. Από την ανάλυση των δεδομένων επιλογής ενδαιτημάτων προέκυψε ότι τα Κιρκινέζια χρησιμοποιούν σε σημαντικό βαθμό τους λειμώνες ως ενδιαίτημα τροφοληψίας. Συνεπώς, οι πολυετείς τεχνητοί λειμώνες μίγματος αγρωστωδών και ψυχανθών μπορούν να εγκατασταθούν σε λοφώδεις, οριακής αποδοτικότητας, γεωργικές εκτάσεις, συμβάλλοντας ταυτόχρονα στη διατήρηση του είδους και την προστασία των εκτάσεων από τη διάβρωση, με αποφυγή των ετήσιων οργωμάτων και στην παροχή συγκομιζόμενης ζωοτροφής και βοσκήσιμων εκτάσεων για την κτηνοτροφία.

## THE CONTRIBUTION OF MEADOWS TO THE CONSERVATION OF BIODIVERSITY

**Gkanaki Trygona-Eirini, Christakis Christos, Vlachopoulos Konstantinos, Makri Maria, Sfougaris Athanassios**

*Laboratory of Ecosystems Management and Biodiversity, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Fytoko street, 38446, Volos, Greece*

In the present study, food availability and feeding habitat selection by the Lesser Kestrel in artificial meadows were studied. The meadows, covering a total area of 30.7 hectares, were established using a mixture of grasses and legumes, in hilly areas dominated by maquis ecosystems, in the wider region of Velestino at the Thessaly plain in 2016. The sowing took place in the framework of the LIFE Nature project "Conservation and management of the Lesser Kestrel (*Falco naumanni*) in three Special Protection Areas (SPAs) of Greece" coordinated by the Laboratory of Ecosystem and Biodiversity Management of the University of Thessaly. In five selected artificial meadows, a prey availability study was carried out with the installation of pitfall traps for the collection of terrestrial arthropods. The results showed, that the artificial meadows displayed high abundance of *Formicidae* of the order of Hymenoptera, Coleoptera (*Carabidae*, *Scarabaeidae*, *Elateridae*, *Tenebrionidae*), Chilopoda, Diplopoda and Isopoda. Additionally, during the same year, feeding habitat selection was recorded, in order to estimate the use of the meadows as a foraging habitat by the Lesser Kestrel in comparison to other cultivations and land uses. The observations were carried out using binoculars from high vantage points, ensuring clear visibility for data collection. The analysis of habitat selection data showed that the Lesser Kestrel uses the artificial meadows as foraging habitat, and consequently, perennial artificial meadows consisting of legumes and grasses can be established at hilly, agricultural land of marginal productivity, for the conservation of the species, control of erosion because of the avoidance of annual plowing, forage production and grassland available to livestock.

## ΥΠΟ-ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΕΣ ΚΑΙ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ ΣΕ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΑ ΎΜΒΡΥΑ ZEBRAFISH

Ευαγγελία Γκούβα<sup>1,2</sup>, Κοσμάς Ναθαναηλίδης<sup>1</sup>, Ιωάννης Πάσχος<sup>1</sup>, Φωτεινή Αθανασοπούλου<sup>2</sup>, Ιωάννης Σ. Παππάς<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Κωστακιοί Άρτας, 47100 Άρτα, Ελλάδα

<sup>2</sup>Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τρικάλων 224, 43100 Καρδίτσα, Ελλάδα

Τα υδάτινα οικοσυστήματα ενδέχεται να παρουσιάζουν μια σειρά ρύπων με ανθρωπογενή προέλευση, συμπεριλαμβανομένων των βαρέων μετάλλων. Τα ψάρια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στο χαλκό, ο οποίος είναι ένα βασικό μικροθρεπτικό συστατικό, αλλά σε υψηλότερα επίπεδα, μπορεί να γίνει τοξικό. Στην παρούσα μελέτη, αξιολογήθηκαν οι υποθανατηφόρες και θανατηφόρες επιδράσεις του χαλκού στα έμβρυα του Zebrafish και στις προνύμφες χρησιμοποιώντας τυποποιημένες βιολογικές δοκιμές, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του OECD 203 (Guideline for the Testing of Chemicals - Fish, Acute Toxicity Test). Αμέσως μετά τη γονιμοποίηση τα έμβρυα Zebrafish χωρίστηκαν τυχαία σε 3 πειραματικές ομάδες και 1 ομάδα ελέγχου.

Τα αναπτυσσόμενα έμβρυα εκτέθηκαν σε 500, 50 και 0,05 mg/L χαλκού για 96 ώρες. Οι εμβρυοτοξικές παράμετροι που μελετήθηκαν περιλάμβαναν την επιβίωση, το ρυθμό των καρδιακών παλμών και τις ανατομικές δυσπλασίες. Τα έμβρυα που εκτέθηκαν σε 500 mg/L χαλκού εμφάνισαν θνησιμότητα 100% και το LC50 του χαλκού ήταν 0,075 mg/L. Ο χαλκός είχε σημαντική επίδραση στις δυσπλασίες και τα έμβρυα που εκτέθηκαν σε χαλκό παρουσίασαν καθυστερημένη ανάπτυξη, αυξημένο ρυθμό καρδιακού ρυθμού, ανατομικές δυσμορφίες και θνησιμότητα. Οι αρνητικές επιπτώσεις ήταν ανάλογες με την αυξημένη συγκέντρωση χαλκού. Οι ανατομικές δυσπλασίες περιλάμβαναν σοβαρό περικαρδιακό οίδημα, δυσπλαστικό λεκιθικό σάκο με μη φυσιολογική πάχυνση της οπίσθιας μοίρας, κύρτωση της σπονδυλικής στήλης, σκολίωση του οπίσθιου σώματος και διαμαρτία διάπλασης της ακροτελεύτιας μοίρας του ουραίου πτερυγίου.

Τα αποτελέσματα αναδεικνύουν, ότι η έκθεση των εμβρύων Zebrafish στο χαλκό – ακόμη και στη συγκέντρωση των 0,05 mg/L που είναι μικρότερη από την LC50 των 0,075 mg/L – δημιούργησε μια σειρά ανατομικών δυσμορφιών και λειτουργικών διαταραχών στα επιζώντα αναπτυσσόμενα ψάρια.

## **SUB-LETHAL AND LETHAL EFFECTS OF COPPER ON DEVELOPING ZEBRAFISH EMBRYOS**

**Evangelia Gouva<sup>1,2</sup>, Cosmas Nathanailides<sup>1</sup>, Ioannis Paschos<sup>1</sup>, Fotini Athanassopoulou<sup>2</sup>, Ioannis S. Pappas<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Faculty of Agriculture, University of Ioannina, Kostakioi Artas, 47100, Arta, Greece*

<sup>2</sup>*Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, Trikalon str. 224, 43100 Karditsa, Greece*

Aquatic ecosystems may exhibit a range of pollutants with anthropogenic origin, including heavy metals. Fish are particularly sensitive to copper, which is an essential micronutrient but in higher levels, it becomes toxic. In the present study, the sublethal and lethal effects of copper on zebra fish embryos, and larvae were evaluated using standardized bioassays according to OECD 203 Guideline for the Testing of Chemicals (Fish, Acute Toxicity Test). Immediately post-fertilization Zebrafish embryos were randomly divided into three experimental groups and a control.

The developing embryos were exposed to 500, 50 and 0.05mg/L Copper for 96 hrs post fertilization. The embryotoxic parameters that were monitored included survival, heartbeat rate and anatomical malformations. The embryos exposed to 500 mg/L Copper exhibited 100% mortality and LC50 of copper was 0.075 mg/L. Copper had significant influence on malformations, and embryos exposed to copper exhibited delayed development, increased heartbeat rate, anatomical malformations and mortality. The magnitude of the effect increased with increased copper concentration. Anatomical malformations included severe pericardial edema, dysplastic yolk sac, spine curvature, posterior body scoliosis, caudal tip malformation and abnormal fattening of posterior part.

The results indicate that embryonic exposure to copper even at concentration of 0.05 mg/L, which was less than the LC50, a range of anatomical parameters was affected on the surviving developing Zebrafish. The magnitude of the effect increased with increased concentration of copper.

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ GA3, ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΗΝ IN VITRO ΦΥΤΡΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΤΗΣ *PRIMULA VERIS* L.

Γρηγοριάδου Κατερίνα<sup>1\*</sup>, Μάρτου Ναταλία<sup>2</sup>, Σαρροπούλου Βιργινία<sup>1</sup>, Κρίγκας Νίκος<sup>1</sup>, Μαλούπα Ελένη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Βαλκανικός Βοτανικός Κήπος Κρουσσιών, Εργαστήριο Προστασίας και Αξιοποίησης Αυτοφυών και Ανθοκομικών Ειδών, Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης & Φυτογενετικών Πόρων, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός (ΕΛΓΟ) - ΔΗΜΗΤΡΑ, Τ.Θ. 60458, Τ.Κ. 570 01, Θέρμη, Θεσσαλονίκη  
email: [grigokat@outlook.com](mailto:grigokat@outlook.com)

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Τ.Κ. 541 24, Θεσσαλονίκη

Οι αυτοφυείς πληθυσμοί της *Primula veris* L. στην Ελλάδα αποτελούν πολύ συχνά αντικείμενο ληστρικής εκμετάλλευσης λόγω εγνωσμένων φαρμακευτικών ιδιοτήτων αλλά και ανθοκομικού ενδιαφέροντος και πωλούνται στην εγχώρια και διεθνή αγορά. Για το λόγο αυτό επιβάλλεται η διατήρηση-προστασία του είδους μέσα από διαδικασίες εκτός τόπου διατήρησης, καθότι αυτές μπορούν να συμβάλλουν αποφασιστικά στην αιφορική αξιοποίησή του. Για το σκοπό αυτό διερευνήθηκε *in vitro* η επίδραση του γιββερελλικού οξέος GA3 (εμβάπτιση σπερμάτων σε 250 mg/l GA3 για 20 min, 250 mg/l GA3 στο υπόστρωμα, συνδυασμός και των δύο), της επίδρασης του φωτός (16h φώς, 24h σκοτάδι) και της διάρκειας αποθήκευσης (14, 13, 8 έτη, αντίστοιχα, σε θερμοκρασία 220C και υγρασία 30%) στη φυτρωτικότητα των σπερμάτων. Το βασικό υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το MS εμπλουτισμένο με 20 g/l σακχαρόζη και 6 g/l άγαρ (pH: 5,8). Μετά από 55 ημέρες, τα ποσοστά φύτρωσης πλησίασαν το 50% (33,3%-46,7%) παρουσία GA3 στο υπόστρωμα. Η επίδραση του φωτός δεν επηρέασε τη φυτρωτική ικανότητα των σπερμάτων, ωστόσο ο ρυθμός ανάπτυξης μετά τη φύτευση ήταν ταχύτερος και τα σπορόφυτα καλύτερης ποιότητας. Η φυτρωτική ικανότητα των σπερμάτων που αποθηκεύτηκαν για 14 και 13 έτη ήταν μηδενική, ενώ όσα ήταν αποθηκευμένα για μικρότερο χρονικό διάστημα (8 έτη) φύτευαν σε ποσοστό περίπου 50%. Το GA3 ήταν ο παράγοντας που επηρέασε περισσότερο τη φυτρωτική ικανότητα των σπερμάτων, αφού στις περιπτώσεις που δεν εφαρμόστηκε τα ποσοστά ήταν μικρότερα του 7% ή ακόμα και μηδενικά. Η μεγάλη διάρκεια αποθήκευσης (>10 χρόνια) σπερμάτων *Primula veris* L. επηρεάζει αρνητικά τη φυτρωτικότητά τους, συνεπώς η ανανέωση τους σε τράπεζες διατήρησης σπερμάτων θα πρέπει να γίνεται σε μικρότερα διαστήματα. Η χρήση GA3 ευνοεί την έναρξη της φύτευσης.

## **EFFECT OF GA3, LIGHT AND STORAGE TIME ON IN VITRO GERMINATION OF PRIMULA VERIS L. SEEDS**

**Grigoriadou Katerina<sup>1\*</sup>, Martou Natalia<sup>2</sup>, Sarropoulou Virginia<sup>1</sup>, Krigas Nikos<sup>1</sup>, Maloupa Eleni<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Balkan Botanic Garden of Kroussia, Laboratory of Protection and Evaluation of Native and Floricultural Species, Institute of Plant Breeding and Genetic Resources, Hellenic Agricultural Organization Demeter, P.O. Box 60458, P.C. 570 01, Thessaloniki, Greece*

email: [grigocat@outlook.com](mailto:grigocat@outlook.com)

<sup>2</sup>*School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki (A.U.Th.), P.C. 541 24, Thessaloniki, Greece*

The native populations of *Primula veris* L. in Greece are often harvested directly from the wild due to known medicinal properties and ornamental potential and are sold in national and international markets. Therefore, ex-situ conservation efforts are urgently needed for the protection and sustainable use of *P. veris* L. We investigated the in vitro effect of gibberellic acid GA3 (soaking of seeds in 250 mg/l GA3 for 20 min, 250 mg/l GA3 in medium, combination of both), light (16h light, 24h dark) and storage time (14, 13, 8 years, respectively, stored in 22°C and 30% relative humidity) on seed germination of *P. veris* L. The basic medium used was the MS enriched with 20 g/l sucrose and 6 g/l agar (pH: 5.8). After 55 days, the germination rate reached 50% (33.3%-46.7%) with GA3 in the medium. Light did not affect seed germination ability; however growth after germination was faster with high quality seedlings. No germination of seeds stored for 14 and 13 years was detected, while those stored for 8 years germinated at about 50%. The effect of GA3 was critical, since the trials with no GA3 presented 7% germination rate or no germination at all. Storing time of >10 years affects negatively the seed germination of *P. veris* L., therefore their renewal is necessary in seed banks at least every decade. The use of GA3 favors the onset of germination.

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΣΥΣΤΑΛΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ ΑΟΡΤΗΣ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

Γώγος Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Βασιλάκη Άννα<sup>2</sup>, Αηδονίδης Ισαάκ<sup>1</sup>, Σταματίου Ροδόπη<sup>1</sup>, Χατζηευθυμίου Αποστολία<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Η επαναιμάτωση ενός οργάνου που υπέστη βλάβη μετά από μακράς διάρκειας ισχαιμία μπορεί να αυξήσει την έκταση της βλάβης, λόγω απελευθέρωσης ριζών οξυγόνου ή/και αύξησης του ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  που ευθύνονται για τη σύσπαση του αγγειακού τοιχώματος και την εμφάνιση του φαινομένου μη-επαναρροής. Στόχος της μελέτης ήταν να διερευνηθεί εάν η ισχαιμική προετοιμασία (ΙΠ-κύκλοι βραχείας διάρκειας ισχαιμίας-επαναιμάτωσης) μπορεί να επηρεάσει την σύσπαση του αορτικού τοιχώματος αν προηγηθεί της ισχαιμίας και επαναιμάτωσης του ιστού. Κρίκοι αορτής αρουραίου (~2mm) συσπάστηκαν με 1μM φαινυλεφρίνης και όταν η σύσπαση σταθεροποιήθηκε οι ιστοί παρέμειναν για 120min: σε φυσιολογικές συνθήκες (control: Krebs-γλυκόζη, 95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>) ή σε συνθήκες ανοξίας (Krebs-γλυκόζη, 95%N<sub>2</sub>- 5%CO<sub>2</sub>) ή ισχαιμίας (Krebs-σουκρόζη, 95%N<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>). Στη συνέχεια, οι ιστοί επανήλθαν σε συνθήκες ελέγχου («επαναιμάτωση») για 30min. Στα πειράματα ΙΠ, της «ισχαιμίας» προηγήθηκαν 3 κύκλοι ισχαιμίας/επαναιμάτωσης (10min/10min). Η έκφραση της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου (NOS) μελετήθηκε με χρώση NADPH- διαφοράσης. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών έδειξαν ότι η ανοξία δεν επηρέασε την τάση του ιστού ενώ η «ισχαιμία» οδηγεί σε χάλαση που φτάνει στο 45% της αρχικής τάσης μέσα στα πρώτα 60min και έκτοτε διατηρείται σταθερή. Η «επαναιμάτωση» μετά από «ισχαιμία» επανέφερε την τάση του ιστού στα αρχικά επίπεδα. Η χάλαση του ιστού κατά την «ισχαιμία» ανεστάλη παρουσία του μη ειδικού αναστολέα της NOS, L-NAME (10<sup>-5</sup>M). Η έκφραση της NOS κατά την «ισχαιμία» αυξήθηκε στο ενδοθήλιο κατά 145% και στη συνέχεια επανήλθε στα επίπεδα των control ιστών. Τόσο η μέγιστη χάλαση του ιστού ως απάντηση στην «ισχαιμία», όσο και η αύξηση της τάσης του κατά την «επαναιμάτωση» δεν επηρεάστηκε από την ΙΠ. Συμπερασματικά, η «ισχαιμία» και όχι η ανοξία προκαλεί χάλαση της αορτής αρουραίου, μέσω παραγωγής NO. Η ΙΠ δεν μεταβάλλει τη μέγιστη χάλαση του αγγείου ούτε την αύξηση της τάσης του που παρατηρείται κατά τη φάση της «επαναιμάτωσης».

## **IMPACT OF ISCHEMIC PRECONDITIONING ON RAT AORTIC WALL CONTRACTILITY DURING PROLONGED ISCHEMIA FOLLOWED BY REPERFUSION**

**Gogos Konstantinos<sup>1</sup>, Vasilaki Anna<sup>2</sup>, Aidonidis Issak<sup>1</sup>, Stamatiou Rodopi<sup>1</sup>, Hatziefthimiou Apostolia<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Physiology Laboratory, Faculty of Medicine, University of Thessaly*

<sup>2</sup>*Pharmacology Laborator, Faculty of Medicine, University of Thessaly*

Reperfusion of an organ after prolonged ischemia may expand tissue damage due to increased reactive oxygen species or/and intracellular  $Ca^{2+}$ , both accounting for disordered vascular wall contraction and no-reflow phenomenon. The aim of this study was to evaluate the impact of ischemic preconditioning (IP), constituting of short-term ischemia-reperfusion cycles, on contractility of rat aortic wall subjected to ischemia and reperfusion like conditions. For that purpose, rat aortic rings (~2mm) were precontracted with phenylephrine 1pM and after contraction stabilization remained for 120min: under normal (control: Krebs-glucose, 95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>) anoxic (Krebs- glucose, 95%N<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>) or ischemic (Krebs- sucrose, 95%N<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>) conditions. Tissues were then returned to normal conditions ("reperfusion") for 30min. In IP experiments, "ischemia" was preceded by 3 ischemia/reperfusion cycles (10min/10min). Nitric oxide synthase (NOS) expression was studied using NADPH-diaphorase staining. Results showed that anoxia did not affect tissue tension, while "ischemia" led to tissue relaxation that reached 45% of the initial tension during the first 60min and maintained ever since. "Reperfusion" following "ischemia" restored initial tension levels. "Ischemia"-induced tissue relaxation was inhibited by the nonselective NOS inhibitor L-NAME (10<sup>-5</sup>M). Endothelial NOS increased by 145% during "ischemia" and returned to control tissue levels after "reperfusion". Both maximal relaxation -as a response to "ischemia"- and tension recovery after "reperfusion" were not affected by IP. In conclusion, NO release seems predominantly to be responsible for aortic wall relaxation during "ischemia" but not anoxia. IP does not affect ischemia- induced maximal relaxation or tension recovery following reperfusion.

## **ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΔΕΣΜΕΥΟΥΝ ΣΕΛΗΝΙΟ (SELENIUM BINDING PROTEINS, SBPS) ΜΕ ΤΙΣ ΓΛΟΥΤΑΡΕΔΟΞΙΝΕΣ ATGRXS14 ΚΑΙ ATGRXS16**

**Δερβίση Ειρήνη, Βαλασάκη Χρυσάνθη, Αγάλου Αδαμαντία, Ποδιά Βαρβάρα, Χαραλαμπίδης Κοσμάς, Ρούσσης Ανδρέας**

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

Οι πρωτεΐνες που δεσμεύουν σελήνιο (SBPs) είναι πολύ συντηρημένες και παρούσες σε ένα ευρύ φάσμα ειδών που καλύπτουν όλα τα βασίλεια, από τα αρχαία μέχρι και τα θηλαστικά. Στον άνθρωπο η SBP1 έχει συσχετιστεί με διάφορους επιθηλιακούς καρκίνους και άλλες ασθένειες. Όσον αφορά την διευκρίνιση του βιολογικού ρόλου της SBP1 στα φυτά, μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί στα φυτά μοντέλα *Lotus japonicas* και *Arabidopsis thaliana* και στο ρύζι. Για την SBP1 έχει προταθεί η εμπλοκή της στη διαδικασία σχηματισμού φυματίων αλλά και σε μη συμβιωτικές διαδικασίες καθώς επίσης και σε έναν καινούριο μηχανισμό αποτοξίνωσης από μέταλλα. Στο φυτό *Arabidopsis*, η SBP1 μπορεί να θεωρηθεί ως μία πρωτεΐνη γενικής απόκρισης σε καταπονήσεις. Επιπλέον, φαίνεται ότι συμμετέχει σε ένα πρωτεϊνικό δίκτυο, καθώς έχει δειχθεί η εν δυνάμει ικανότητά της να αλληλεπιδρά με 15 πρωτεΐνες, οι οποίες σχετίζονται με την διακίνηση πρωτεϊνών μέσω κυστιδίων, με τη σύνθεση των μεμβρανών, αλλά και με τον οξειδοαναγωγικό έλεγχο του κυττάρου. Μία από τις πρωτεΐνες που αφορούν τον οξειδοαναγωγικό έλεγχο είναι η γλουταρεδοξίνη AtGRX14. Οι γλουταρεδοξίνες είναι μικρά και ευρέως διαδεδομένα μόρια τα οποία ανήκουν στην υπεροικογένεια των θειορεδοξινών και λαμβάνουν σημαντικό ρόλο σε αποκρίσεις έναντι οξειδωτικής καταπόνησης αλλά και σε φυσιολογικές διαδικασίες. Η γλουταρεδοξίνη AtGRXS14 περιέχει μια πολύ συντηρημένη επικράτεια PICOT η οποία έχει δειχθεί ότι είναι υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση με τον μεταφορέα ασβεστίου CAX1. Σε αυτή την εργασία παρουσιάζουμε την μελέτη αλληλεπίδρασης της οικογένειας των πρωτεϊνών που δεσμεύουν σελήνιο (SBPs) με την AtGRXS14 αλλά και με την AtGRXS16 σε σύστημα ζύμης δύο υβριδίων αλλά και σε σύστημα πρωτοπλαστών από το φυτό *Arabidopsis thaliana*.

## **INTERACTION OF SELENIUM BINDING PROTEINS (SBPS) WITH GLUTAREDOXINS ATGRXS14 AND ATGRXS16**

**Dervisi Irene, Valassakis Chrysanthi, Agalou Adamantia, Podia Varvara, Haralampidis Kosmas, Roussis Andreas**

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

Selenium Binding Proteins (SBPs) are conserved in a wide range of species of all kingdoms of life, including archaea and mammals. Human SBP1 is involved in many different epithelial cancers and other diseases. Studies in the plant models *Lotus japonicas*, *Arabidopsis thaliana* and rice aim at understanding the biological role of SBP1 in plants. SBP1 has been purposed to participate in nodule formation and in non-symbiotic processes as well as in a new metal detoxification mechanism. In *Arabidopsis*, SBP1 can be considered as a general stress response protein. Further studies have shown the participation of SBP1 in a protein network of 15 proteins, which are related to protein transport through vesicles, membrane synthesis, and redox cellular control. One of the proteins correlated with redox control is the glutaredoxin AtGRXS14. Glutaredoxins are small and ubiquitous proteins that belong to the thioredoxin superfamily and play an important role in oxidative stress responses and physiological functions. AtGRXS14 contains a conserved PICOT domain, known to be responsible for the CAX1 interaction. In this work we present the interaction study of the SBP protein family with AtGRXS14 and AtGRXS16 in a yeast two hybrid system and in a protoplast system from *Arabidopsis thaliana*.

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΝΗΣ BNN-20 ΣΤΗ ΝΕΥΡΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ «WEAVER»**

**Δημητρακόπουλος Δημήτρης<sup>1‡</sup>, Κακογιάννης Δημήτρης<sup>1‡</sup>, Μούρτζη Θεοδώρα<sup>1,2</sup>,  
Αγγελάτου Φεβρωνία<sup>2</sup>, Καζάνης Ηλίας<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> Εργαστήριο Αναπτυξιακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

<sup>2</sup> Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών

<sup>3</sup> Wellcome Trust - MRC Cambridge Stem Cell Institute, Πανεπιστήμιο του Cambridge, Ηνωμένο Βασίλειο

<sup>‡</sup>Ισότιμη συνεισφορά

Το μοντέλο «weaver», αποτελεί το μοναδικό γενετικό μοντέλο που προσομοιάζει τη νευροπαθολογική εικόνα της νόσου του Πάρκινσον. Ο ομοζυγωτικός μυς «weaver» εμφανίζει ανωμαλίες στην παρεγκεφαλίδα, τον ιππόκαμπο και τη σπερματογένεση, καθώς και αυθόρμητη προοδευτική νευροεκφύλιση των ντοπαμινεργικών νευρώνων της συμπαγούς μοίρας της μέλαινας ουσίας (SNpc). Η μικρομοριακή συνθετική νευροτροφήνη BNN-20 εμφανίζει πλειοτροπική νευροπροστατευτική δράση επί των ντοπαμινεργικών νευρώνων της SNpc του μυός «weaver», όχι μόνο αναστέλλοντας σημαντικά, αλλά και αντιστρέφοντας τη νευροεκφύλιση. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί η επίδραση του BNN-20 στην εμφάνιση νέων ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία των «weaver» μυών, καθώς και η προέλευση τους. Όσον αφορά τη μέλαινα ουσία, καταμετρήθηκαν μετά από ανοσοϊστοχημική χρώση οι ώριμοι ντοπαμινεργικοί νευρώνες (TH+) καθώς και ο πληθυσμός των FOXA2+ (ανώριμων και ώριμων) ντοπαμινεργικών νευρώνων, έτσι ώστε να εκτιμηθεί η ενεργοποίηση αναπτυξιακών μονοπατιών νευρογένεσης. Η υποεπενδυματική ζώνη (SEZ) του κοιλιακού συστήματος αποτελεί μία από τις κύριες νευρογενετικές ζώνες του ενήλικου εγκεφάλου και η εκτίμηση της επίδρασης του BNN-20 στη νευρογένεση της SEZ έγινε με ανοσοϊστοχημική εντόπιση και καταμέτρηση των ανώριμων νευρικών κυττάρων (Dcx+) και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (PCNA/ Ki67+). Τέλος, αξιολογήθηκε ένα πρωτόκολλο σήμανσης των νευροβλαστικών κυττάρων της SEZ καθώς και των απογόνων τους, μέσω της στερεοταξικής ενδοκρανιοκοιλιακής έγχυσης της λιπόφιλης χρωστικής Dil, το οποίο στόχευε στη διερεύνηση της πιθανής συμμετοχής κυττάρων προερχομένων από τη SEZ στη νευρογένεση στη SNpc.

## **EFFECTS OF THE ADMINISTRATION OF NEUROTROPHIN BNN-20 IN NEUROGENESIS IN THE «WEAVER» MOUSE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE**

**Dimitrakopoulos Dimitris<sup>1‡</sup>, Kakogiannis Dimitris<sup>1‡</sup>, Mourtzi Theodora<sup>1,2</sup>, Angelatou Fevronia<sup>2</sup>, Kazanis Ilias<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> *Laboratory of Developmental Biology, Department of Biology, University of Patras*

<sup>2</sup> *Department of Physiology, School of Medicine, University of Patras*

<sup>3</sup> *Wellcome Trust- MRC Cambridge Stem Cell Institute, Cambridge, UK*

<sup>‡</sup> *Equal contribution*

The "weaver" model is the only genetic model that mimics the neuropathology of Parkinson's disease. Homozygous "weaver" mice display abnormalities in the cerebellum, hippocampus and in spermatogenesis, as well as spontaneous neurodegeneration of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra (SNpc). Synthetic micro-neurotrophin BNN-20 exhibits pleiotropic neuroprotective activity on the dopaminergic neurons of the "weaver" SNpc, not only by significantly inhibiting but also by reversing neurodegeneration. The purpose of this study was to investigate the beneficial effects of BNN-20 on the generation of new dopaminergic neurons in the SNpc of the «weaver» mouse and their origin. Immunohistochemical staining was performed in the SNpc in order to quantify mature dopaminergic neurons (TH+) as well as the population of FOXA2+ (immature and mature) dopaminergic-lineage neurons as a way to assess the activation of developmental neurogenic pathways. The subependymal zone (SEZ) of the ventricular system is one of the major neurogenic areas of the adult brain and the effect of BNN-20 on SEZ neurogenesis was assessed by immunohistochemical quantification of neural progenitor cells (Dcx+) and of cell proliferation (PCNA / Ki67+). Finally, a protocol for labeling SEZ neural stem cells and their progeny via the intracerebroventricular injection of the lipophilic dye Dil was evaluated. This protocol was used in order to investigate the potential contribution of SEZ-derived cells in neurogenesis in SNpc.

## **ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΣΤΟΝ ΙΟ ΒΕΤΑΝΟΔΑΥΙΡΟΣ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΑΠΟΚΡΙΣΕΩΝ ΤΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ**

**Δημητρακοπούλου Ελένη<sup>1</sup>, Μπιτχαβά Κωνσταντίνα<sup>1</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>1</sup>,  
Μπουζαλάς Ηλίας<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ελλάδα

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Κτήμα Θέρμης, Θέρμη Θεσσαλονίκης, Ελλάδα

Μία από τις σημαντικότερες ασθένειες της υδατοκαλλιέργειας είναι η νευρική εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια (Viral Encephalopathy and Retinopathy). Μέχρι σήμερα τα πρωτόκολλα που έχουν αναπτυχθεί για την ανίχνευση του Betanodavirus είναι αρκετά. Αναλογιζόμενοι την ευζωία και την περίπτωση των γεννητόρων, των οποίων η οικονομική αξία είναι μεγάλη, πρέπει να εφαρμοστεί μια μη θανατηφόρος μέθοδος. Τα όργανα, στόχος του ιού, είναι το νευρικό σύστημα και ο αμφιβληστροειδής χιτώνας και η λήψη αξιόπιστων δειγμάτων απαιτεί την θανάτωση των ιχθύων. Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν in house πρωτόκολλα ELISA για τον εντοπισμό αντισωμάτων έναντι του ιού, χωρίς όμως την ύπαρξη εμπορικού kit για την αξιόπιστη ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών. Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας αποτέλεσε η ανάπτυξη μεθοδολογίας ELISA για την ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό Μεσογειακού λαβρακιού, (*Dicentrarchus labrax*). Έγινε αιμοληψία σε υγιή και νοσούντα λαβράκια υδατοκαλλιέργειας κατά τους μήνες Σεπτέμβριο-Νοέμβριο του 2018 και επιλέχθηκαν ως θετικοί μάρτυρες οροί από λαβράκια τα οποία είχαν νοσήσει ένα μήνα πριν τη δειγματοληψία και έπειτα από τη ταυτοποίηση του ιού με την μέθοδο της real time RT-PCR στον εγκέφαλο των ψαριών. Εφαρμόστηκε πρωτόκολλο indirect ELISA το οποίο αντικαταστάθηκε με τη μέθοδο της sandwich ELISA. Για τη βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου, εφαρμόστηκαν αλλαγές στους χρόνους επώασης, στις διαφορετικές συγκεντρώσεις πρωτογενών και δευτερογενών αντισωμάτων, στις διαφορετικές συγκεντρώσεις του αντιγόνου και στο συνδυασμό όλων των παραπάνω. Παράλληλα, μελετήθηκαν βιοχημικοί παράγοντες οι οποίοι υποδηλώνουν την παρουσία στρες, που προκαλούνται από το νόσημα, στους οργανισμούς. Το πρωτόκολλο που βελτιστοποιήθηκε, μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο για την πρόληψη της ασθένειας στις υδατοκαλλιέργειες της Μεσογείου. Καινοτομία του πρωτοκόλλου αποτελεί η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των πολυκλωνικών με αποτέλεσμα την αύξηση στην ευαισθησία της μεθόδου.

## **DEVELOPMENT OF AN ANTIBODY DETECTION METHOD FOR BETANODAVIRUS AND REPORT OF BIOCHEMICAL RESPONSE FOR FISH IN AQUACULTURE**

**Dimitrakopoulou Eleni<sup>1</sup>, Bitchava Konstantina<sup>1</sup>, Mihaelidis Basilios<sup>1</sup>, Bouzalas Ilias<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Domain of Zoology, Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Veterinary Research Institute, ELGO- DEMETER, Themi Campus, Themi Thessaloniki, Greece

Viral Encephalopathy and Retinopathy (VER) is one of the most important diseases in aquaculture. To date the protocols developed for the detection of Betanodavirus are sufficient. Considering the welfare of fish and especially the case of the brood stock whose economic value for aquaculture is high, a non-lethal method of detecting the virus must be applied. In the literature there are many in house ELISA protocols for detecting antibodies against Noda virus, but there is no commercial kit for the fast, easy and reliable detection of these antibodies. The purpose of this study was the development of an ELISA protocol for detecting antibodies in the Mediterranean sea bass (*Dicentrarchus Labrax*). Initially, blood was sampled from healthy and diseased sea bass during September, October and November 2018. For positive control samples sera from sea bass from fish that had been infected one month before blood sampling, was used. The presence of the virus in those fish was detected with the method of real time RT-pCr in the brain of fish. Initially, an ELISA indirect protocol was applied which was eventually replaced by the sandwich ELISA method. For the optimization of the protocol, changes were applied, such as incubation times, different concentrations of primary and secondary antibodies, different antigen concentrations and combinations of all the above. At the same time, various biochemical factors were studied suggesting the presence of stress caused by the disease in the organisms. The protocol can be a very useful tool for preventing the presence of the disease in the Mediterranean aquaculture. The innovation of this protocol is the use of commercial reagents such as anti-VNN and anti-European sea bass monoclonal antibodies which reduce the time of development of a protocol while increasing its specificity and sensitivity especially when compared to the hitherto used polyclonal antibodies which require complex laboratory techniques for their production.

## **Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΑΝΤΛΙΩΝ ΕΚΡΟΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ**

**Ελευθεριάδου Ιωάννα<sup>1</sup>, Γιαννούση Κλεονίκη<sup>2</sup>, Δενδρινού-Σαμαρά Αικατερίνη<sup>2</sup>, Σιβροπούλου Αφροδίτη<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρείται δραματική αύξηση του αριθμού των πολυανθεκτικών βακτηρίων. Η αντιμικροβιακή αντοχή συνδέεται με αυξημένη νοσηρότητα, θνησιμότητα, κόστος υγειονομικής περίθαλψης και παρατεταμένη νοσηλεία. Ως εκ τούτου, η εξάπλωση πολυανθεκτικών στελεχών έχει αναγνωριστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ως μια σοβαρή παγκόσμια απειλή για την ανθρώπινη υγεία. Τα βακτήρια αναπτύσσουν αντοχή μέσω διαφόρων μηχανισμών. Η εξώθηση των αντιμικροβιακών ουσιών μέσω των αντλιών εκροής αποτελεί έναν σημαντικό μηχανισμό βακτηριακής ανθεκτικότητας. Έτσι, η αναστολή αυτών των αντλιών εκροής φαίνεται να αποτελεί μια υποσχόμενη προσέγγιση που θα μπορούσε να επαναφέρει σε κυκλοφορία αντιβιοτικά που δεν χρησιμοποιούνται λόγω της αναποτελεσματικότητάς τους. Στην παρούσα εργασία, διερευνήθηκε ο ρόλος μεταλλικών νανοσωματιδίων ως πιθανοί αναστολείς αντλιών εκροής σε πολυανθεκτικά κλινικά στελέχη ψευδομονάδων. Ο τρόπος δράσης των νανοσωματιδίων εκτιμήθηκε μελετώντας την συνεργιστική τους δράση σε συνδυασμό με αντιβιοτικά και εξετάζοντας την ένταση φθορισμού ποιοτικά και ποσοτικά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα νανοσωματίδια παρουσίασαν συνεργιστική δράση με αντιβιοτικά στα οποία τα βακτήρια επέδειξαν ανθεκτικότητα, με δόσο-εξαρτώμενο τρόπο, μειώνοντας την τιμή MIC κατά 4 έως 16 φορές. Ο ποσοτικός προσδιορισμός φθορισμού έδειξε ότι τα νανοσωματίδια σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από την τιμή MIC, αυξάνουν την ενδοκυτταρική συγκέντρωση του βρωμιούχου αιθιδίου. Επίσης, με την μέθοδο Agar Cartwheel προσδιορίστηκε ποιοτικά η ένταση φθορισμού και αποδείχτηκε ότι τα νανοσωματίδια σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (0,0625xMIC) αύξησαν τον παραγόμενο φθορισμό ακόμα και στην χαμηλότερη συγκέντρωση βρωμιούχου αιθιδίου ενώ απουσία των νανοσωματιδίων η ένταση του φθορισμού ήταν πολύ χαμηλότερη. Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα νανοσωματίδια θα μπορούσαν να αποτελέσουν πιθανούς αναστολείς αντλιών εκροής ενώ περαιτέρω έρευνα θα διενεργηθεί προκειμένου να αξιολογηθεί η τοξικότητά τους.

## THE ROLE OF NANOPARTICLES AS EFFLUX PUMP INHIBITORS TO TACKLE ANTIMICROBIAL RESISTANCE

**Eleftheriadou Ioanna<sup>1</sup>, Giannousi Kleoniki<sup>2</sup>, Dendrinou-Samara Catherine<sup>2</sup>, Sivropoulou Afroditi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of General Microbiology, Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup>Laboratory of Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki

Over the last decades, there has been a dramatic surge in the number of multidrug-resistant bacteria. Antimicrobial resistance is associated with increased morbidity, mortality, healthcare costs, and prolonged hospital stays. As a result, the spread of bacterial multidrug resistance is considered a major global threat to human health by the World Health Organization (WHO). Bacteria can develop resistance through various mechanisms. Drug extrusion by the multidrug efflux pumps represents an important mechanism of multidrug resistance. Thus, inhibition of efflux pumps appears to be a promising approach for restoring the activity of existing antibiotics that are not used due to their ineffectiveness. In the present study, the potential role of metallic nanoparticles as efflux pump inhibitors has been investigated, against multidrug resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. The mode of action of nanoparticles was evaluated by studying their synergistic activity in combination with antibiotics and their efflux inhibitory activity by real-time fluorometry and cartwheel assay. The results showed that nanoparticles act synergistically, in a concentration-dependent manner, with antibiotics known to be subject to efflux (4- to 16-fold reduction in MIC). Real-time fluorometry assays demonstrated that nanoparticles at sub-inhibitory concentrations promote the intracellular accumulation of ethidium bromide. Ethidium bromide agar cartwheel method showed that nanoparticles at extremely low concentrations (0,0625xMIC) increased the fluorescence at the lowest concentration of EtBr whereas in the absence of nanoparticles there was much lower fluorescence. These results suggest that nanoparticles may serve as potential sources of efflux pump inhibitors in order to tackle antimicrobial resistance although further investigation of their toxicity is necessary.

## **ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΜΕ ΣΤΑΘΕΡΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΟΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (PCNA) ΣΥΝΤΗΓΜΕΝΟ ΜΕ ΤΗΝ ΚΟΚΚΙΝΗ ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗ (RFP)**

**Εμμανουήλ Χριστίνα, Παναγόπουλος Ανδρέας, Αρμπή Μαρίνα, Ταραβήρας Σταύρος, Λυγερού Ζωή**

*Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών, Εργαστήριο Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών*

Η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου και η σταθερότητα του γονιδιώματος εξασφαλίζεται με την ενορχήστρωση των μεταβάσεων του κυτταρικού κύκλου. Αρκετές πρωτεΐνες παρουσιάζουν χαρακτηριστικό εντοπισμό που εξαρτάται από τη φάση του κυτταρικού κύκλου, γεγονός που τις καθιστά κατάλληλους δείκτες του κυτταρικού κύκλου για την μικροσκοπική παρατήρηση ζωντανών ή μονιμοποιημένων κυττάρων. Η πρωτεΐνη PCNA είναι σημαντική για την αντιγραφή του DNA και δρα σχηματίζοντας έναν ομοτριμερικό δακτύλιο γύρω από το DNA, αποτελώντας ένα ικρίωμα για τη συγκράτηση πρωτεΐνων όπως οι DNA πολυμεράσες στο DNA. Αυτή η ιδιότητα οδηγεί στο σχηματισμό χαρακτηριστικών προτύπων εντοπισμού της πρωτεΐνης κατά τη διάρκεια της πρώιμης, μέσης και όψιμης φάσης S, και για αυτόν τον λόγο η πρωτεΐνη PCNA αποτελεί κατάλληλο δείκτη για τη μελέτη της προόδου της φάσης S. Στόχος μας είναι η κατασκευή μιας κυτταρικής σειράς που να εκφράζει σταθερά την πρωτεΐνη PCNA συντηγμένη με την κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη RFP. Για το σκοπό αυτό κατασκευάσαμε πλασμίδια που εκφράζουν την χιμαιρική πρωτεΐνη RFP-PCNA, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία λεντιών. Κύτταρα HeLa θα μολυνθούν με τους ιούς και θα μελετηθούν με μικροσκοπία φθορισμού ώστε να αξιολογηθεί ο εντοπισμός του RFP-PCNA κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Η κυτταρική αυτή σειρά θα επιτρέψει τη διάκριση με αυτόματο τρόπο κυττάρων που βρίσκονται στην πρώιμη, μέση ή όψιμη φάση S του κυτταρικού κύκλου μέσα σε έναν πληθυσμό, με τη βοήθεια αλγορίθμων. Αυτό το σύστημα θα αποτελέσει ένα εργαλείο για τη μελέτη διαφορετικών πρωτεΐνων κατά τη διάρκεια της φάσης S, σε μεγάλο αριθμό κυττάρων.

## **CONSTRUCTION OF A CELL LINE STABLY EXPRESSING THE PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTIGEN FUSED WITH THE RED FLUORESCENT PROTEIN**

**Emmanouil Christina, Panagopoulos Andreas, Arbi Marina, Taraviras Stavros, Lygerou Zoi**

*Department of General Biology of the School of Medicine of University of Patras, Department of Physiology of the School of Medicine of the University of Patras*

Cell cycle progression and genome stability is ensured by the orchestration of cell cycle transitions. Several proteins exhibit distinctive localization depending on the cell cycle phase which makes them appropriate as cell cycle markers for imaging live or fixed cells. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is a protein important for DNA replication, which forms a homotrimeric clamp encircling the DNA and acts as a scaffold making DNA accessible to proteins such as polymerases. This property results in characteristic localization patterns during early, middle and late S phase which makes PCNA suitable as a marker for assessing S phase progression. Here, our aim is to construct a cell line stably expressing PCNA fused with the red fluorescent protein (RFP). To this end, we constructed plasmids containing RFP- PCNA, in order to create RFP-PCNA expressing lentiviruses. HeLa cells will be infected with these lentiviruses and analysed by fluorescence microscopy, in order to assess RFP-PCNA localization through the cell cycle. These cells will be used for the development of algorithms which will help distinguish, from a cell population, cells that are in early, middle or late S phase of the cell cycle. Finally, this system will be used as a tool to study the expression of different proteins of interest during S phase.

## ΜΙΚΡΟΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΤΑ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΥΔΑΤΑ ΤΗΣ ΑΛΟΝΝΗΣΟΥ

**Ζάκα Ελευθέρια<sup>1</sup>, Δενδρινός Παναγιώτης<sup>2</sup>, Μπόμπορη Δήμητρα<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., ΤΘ 134, 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Εταιρεία Μελέτης και Προστασίας της Μεσογειακής Φώκιας (MOM), Σολωμού 18, 10682 Εξάρχεια, Αθήνα

Τα τελευταία έτη ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διερεύνηση των υδάτινων οικοσυστημάτων σχετικά με την επιβάρυνσή τους με μικροπλαστικά. Ως μικροπλαστικά ορίζονται τα πλαστικά σωματίδια μεγέθους κάτω των 5 mm και διακρίνονται σε πρωτογενή και δευτερογενή. Τα πρωτογενή μικροπλαστικά προκύπτουν απευθείας από ανθρωπογενείς δραστηριότητες, ενώ τα δευτερογενή προέρχονται από αποικοδόμηση μεγαλύτερων πλαστικών απορριμμάτων. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επιβάρυνσης των υδάτων της παράκτιας θαλάσσιας περιοχής της Αλοννήσου με μικροπλαστικά. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκαν το φθινόπωρο του 2017 και την άνοιξη του 2018, επιφανειακές δειγματοληψίες τεσσάρων διαδρομών με μηχανοκίνητο σκάφος. Τα φθινοπωρινά δείγματα συλλέχθηκαν με τη βοήθεια αντλίας, ενώ τα ανοιξιάτικα με δίχτυ τύπου mantanet. Τα δείγματα αρχικά διαχωρίστηκαν με βάση το μέγεθός τους σε τρεις κατηγορίες (υποδείγματα) μεγέθους 0,3-1 mm, 1-2 mm και 2-5 mm. Τα υποδείγματα τοποθετήθηκαν σε τρυβλίο και παρατηρήθηκαν σε στερεομικροσκόπιο για καταμέτρηση και καταγραφή των τύπων των μικροπλαστικών. Συνολικά οι τύποι που εντοπίστηκαν ήταν οι ίνες, οι μεμβράνες, τα θραύσματα, τα σφαιρίδια και τα συσσωματώματα ινών. Στην κατηγορία μεγέθους 0,3-1 mm υπολογίστηκαν οι υψηλότερες τιμές μικροπλαστικών, στην πλειονότητα των δειγματοληπτικών διαδρομών, ενώ οι ίνες βρέθηκε ότι ήταν ο κυρίαρχος τύπος (Φθινόπωρο: 78%, Άνοιξη: 71%). Στα δείγματα του φθινοπώρου τα μικροπλαστικά μεγέθους 1-2 mm ήταν περισσότερα από τα αντίστοιχα των 2-5 mm, ενώ μετά τις ίνες ο πιο άφθονος τύπος ήταν οι μεμβράνες (20%), τα θραύσματα (2%) και σε πολύ μικρότερα ποσοστά ( 0,3%) τα σφαιρίδια και τα συσσωματώματα ινών. Τέλος, στα δείγματα της άνοιξης εντοπίστηκαν περισσότερα μικροπλαστικά μεγέθους 2-5 mm και λιγότερα 1-2 mm, ενώ τις ίνες διαδέχθηκαν τα σφαιρίδια (10%), τα θραύσματα (10%), οι μεμβράνες (8%) και τα συσσωματώματα ινών (1%). Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το ίδρυμα Thalassa ([www.thalassafoundation.com](http://www.thalassafoundation.com))

## **MICROPLASTICS IN THE COASTAL WATERS OF ALONISSOS ISLAND**

**Zaka Eleftheria<sup>1</sup>, Dendrinos Panagiotis<sup>2</sup>, Bobori Dimitra<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, POBox 134, 54124, Thessaloniki*

<sup>2</sup>*Society for the Study and Protection of the Monk Seal (Mom), Solomou 18, 10682 Exarchia, Athens*

The enrichment of aquatic ecosystems with microplastics is of particular interest the last years. As microplastics are defined those plastic particles that are smaller than 5 mm. They are divided into primary and secondary. Primary microplastics originate directly from human activities, while the secondary ones are the result of the degradation of larger plastic wastes. The purpose of the present study was to assess the microplastics' load on the coastal waters of Alonissos island. Thus, four sampling cruises were carried out in autumn 2017 and spring 2018, using a motorized craft. Autumn samples were collected by pump, while in spring a mantanet was used. Samples were classified according to their size into three categories: 0.3-1 mm, 1-2 mm and 2-5 mm. A stereomicroscopic observation was followed in order to identify the types of microplastics present in each sample. In total, five different types were observed: fibers, films, fragments, pellets and clumps of fibers. Microplastics of 0.3-1 mm were the most abundant in the majority of samples while fibers were the dominant type in both seasons (Autumn: 78%, Spring: 71%). Furthermore, in the autumn samples, microplastics of 1-2 mm in size were numerically more abundant than those of 2-5 mm in size. Films were the most abundant type (20%) after fibers, followed by fragments (2%), while pellets and clumps of fibers were present, at lower levels (0.3%). In the spring samples the majority of microplastics belonged to the category of 2-5mm, while pellets and fragments were the most abundant types (10%) after fibers, followed by films (8%) and clumps of fibers (1%).

*Research was funded by Thalassa Foundation ([www.thalassafoundation.com](http://www.thalassafoundation.com))*

## **ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΦΑΣΚΟΜΗΛΟΥ**

**Ζηλίδου Χριστίνα, Κόπτση Ειρήνη, Γιαγκίνης Κωνσταντίνος, Βάσιος Κ. Γεώργιος, Πούλιος Ευθύμιος**

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής, Σχολή Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μητροπολίτη Ιωακείμ 2, ΤΚ 81400, Μύρινα, Λήμνος  
email: [epoulios@aegean.gr](mailto:epoulios@aegean.gr)

Τα τελευταία χρόνια γίνονται εκτεταμένες μελέτες που αφορούν τη μελέτη βιοδραστικών συστατικών (φαινολικών οξέων, φλαβονοειδών και τερπενίων) διαφόρων βοτάνων που χρησιμοποιούνται στην Επιστήμη της Διατροφής, και τα οποία παρουσιάζουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και αντιοξειδωτική δράση. Το φασκόμηλο (γένος *Salvia*, οικογένεια *Lamiaceae*) αποτελεί ένα πολύ διαδεδομένο βότανο στη διατροφή του ανθρώπου, λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων του. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της περιεκτικότητας ολικών φαινολικών συστατικών, και της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας διαφόρων ποικιλιών φασκόμηλου, από διάφορες περιοχές της Ελλάδος (Άγιο Όρος, Λήμνος, Λέσβος, Ήπειρος, Μακεδονία), τα οποία βρίσκονται προς διάθεση στην αγορά. Τα ολικά φαινολικά συστατικά εκχυλίστηκαν με βραστό νερό, και με υδατική μεθανόλη ή υδατική ακετόνη (σε αναλογία 50:50 v/v) με την χρήση υπερήχων. Ακολούθησε διήθηση και μέτρηση των ολικών φαινολικών μέσω της μεθόδου Folin Ciocalteu, καθώς και προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής τους δραστηριότητας μέσω της μεθόδου DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινολικών ανιχνεύθηκαν σε εκχυλίσματα φασκόμηλου κυρίως από τις περιοχές Αγίου Όρους, Μακεδονίας και Ηπείρου. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η εκχύλιση με μεθανόλη ή ακετόνη με χρήση υπερήχων ήταν πιο αποτελεσματική και αποδοτική, σε σχέση με την υδατική εκχύλιση με βρασμό. Όλα τα δείγματα παρουσίασαν υψηλή αντιοξειδωτική δράση, όπως μετρήθηκε από την αναγωγή της ελεύθερης ρίζας DPPH. Συνοψίζοντας, δείγματα φασκόμηλου διαφόρων περιοχών της Ελλάδος, όπως της περιοχής του Αγίου Όρους, παρουσιάζουν υψηλή συγκέντρωση φαινολικών, καθώς και ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες της αντιοξειδωτικής, αντικαρκινικής και αντιφλεγμονώδους δράσης των βιοδραστικών συστατικών του ελληνικού φασκόμηλου, με απώτερο σκοπό να αποσαφηνιστεί ο ευεργετικός του ρόλος στην προαγωγή της υγείας του σύγχρονου ανθρώπου.

## **DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC COMPONENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT GREEK SAGE VARIETIES**

**Zilidou Christina, Koptsi Eirini, Giaginis Constantinos, Vasios K. Georgios, Poulios Efthymios**

*Department of Food Science and Nutrition, School of the Environment, University of the Aegean, Metropolitike Ioakeim 2, GR 81400, Myrina, Lemnos*  
email: [epoulios@aegean.gr](mailto:epoulios@aegean.gr)

In the last few years, there are many cumulative substantial studies for the identification of the bioactive components (phenolic acids, flavonoids, terpenoids) of different plants used in nutrition, which have been found to exert beneficial effects for human health such as anti-inflammatory, anticancer and antioxidant activities. Notably, sage (genus *Salvia*, family *Lamiaceae*) is widely used in human's nutrition due to its beneficial biological activities. In this aspect, the present study determined the total phenolic content, and the antioxidant activity of different sage varieties, from different regions in Greece (Mount Athos, Lemnos, Lesvos, Epirus, Macedonia), provided from local markets. Phenolic components were extracted by the use of boiled water, aqueous methanol or aqueous acetone (50:50 v/v) after ultrasound sonication. Extracts were then filtrated, and the total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu assay, whereas their antioxidant activity was measured by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay. Higher concentrations of phenolic components were determined in extracts from sage samples mainly originated from Mount Athos, Macedonia and Epirus. Extractions with methanol and acetone by ultrasound sonication were found more effective, than the extractions with boiled water. All samples have exerted high antioxidant activity, as measured by the reduction of the free radical DPPH. As a conclusion, sage varieties from different regions, like Mount Athos, contained high concentrations of total phenolic components, and showed significant antioxidant activity. However, more studies of the anti-inflammatory, anticancer and antioxidant activities of the bioactive components of Greek sage are strongly recommended for more precise conclusions to be drawn for its potential effective role in human health promotion.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ HSPS ΣΤΟ ΧΕΡΣΑΙΟ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙ ΕΟΒΑΝΙΑ VERMICULATA ΑΠΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

**Ζουμπούλ Ναζλι<sup>2</sup>, Φειδάντσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Στάικου Αλεξάνδρα<sup>2</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης  
email: [michaeli@bio.auth.gr](mailto:michaeli@bio.auth.gr)

<sup>2</sup>Εργαστήριο Θαλάσσιας και Χερσαίας Ζωικής Ποικιλότητας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Τα χερσαία γαστερόποδα είναι εκτεθειμένα σε ημερήσιες και ετήσιες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και της διαθεσιμότητας νερού στα ενδιαίτητά τους. Συνεπώς η μέση ετήσια αύξηση της θερμοκρασίας λόγω της κλιματικής αλλαγής αναμένεται να επηρεάσει σημαντικά τις φυσιολογικές τους αποκρίσεις. Καθώς η αντίσταση στις θερμότητα επάγει οξειδωτικό στρες, η παρούσα εργασία είχε ως στόχο τη διερεύνηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων και της έκφρασης των πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος (heat shock proteins-hsps) σε άτομα του είδους *Eobania vermiculata* από περιοχές με διαφορετικές κλιματικές συνθήκες. Συγκεκριμένα συλλέχθηκαν άτομα από την περιοχή του Αξιού στη Βόρεια Ελλάδα όπου επικρατεί μεσογειακό κλίμα με ήπιες θερμοκρασίες και μικρής διάρκειας ξηρή περίοδο και άτομα από τη Σύρο όπου η ξηρή περίοδος έχει μεγαλύτερη διάρκεια και υψηλότερες θερμοκρασίες. Τα άτομα και από του δύο πληθυσμούς εκτέθηκαν στους 33°C για εξήντα ημέρες και σε τακτικά χρονικά διαστήματα λαμβάνονταν δείγματα ιστού από το ήπατοπάγκρεας και το μυ του ποδιού. Στα δείγματα αυτά μετρήθηκε η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και προσδιορίστηκε η έκφραση των Hsp70 και Hsp90. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων μέσα στις πρώτες 10-15 ημέρες. Η αύξηση αυτή διέφερε μεταξύ των ιστών καθώς και των πληθυσμών. Επίσης παρατηρήθηκε διαφορετικό πρότυπο έκφρασης των Hsps με τα άτομα του Αξιού να παρουσιάζουν εντονότερη έκφραση. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενες εργασίες και δείχνουν ένα παρόμοιο πρότυπο αντίδρασης των σαλιγκαριών είτε του ίδιου είδους από διαφορετικούς πληθυσμούς είτε διαφορετικών ειδών με παρόμοια κατανομή. Σύμφωνα με προηγούμενες έρευνες φαίνεται ότι η επαγωγή του οξειδωτικού στρες ως απόκριση στις υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να σχετίζεται με τα μεταβολικά πρότυπα σε διαφορετικά είδη ή και σε διαφορετικούς πληθυσμούς του ίδιου είδους.

## **STUDY OF ANTI-OXIDAND ENZYMES AND HSPTS IN THE TERRESTRIAL SNAIL EOBANIA VERMICULATA FROM POPULATIONS OF DIFFERENT GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION**

**Zoumboul Nazli<sup>2</sup>, Feidantsis Konstantinos<sup>1</sup>, Staikou Alexandra<sup>2</sup>, Michaelidis Basile<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki*  
email: [michaeli@bio.auth.gr](mailto:michaeli@bio.auth.gr)

<sup>2</sup> *Laboratory of Marine and Terrestrial Animal Diversity, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki*

Terrestrial gastropods are exposed to daily and annual fluctuations of temperature and water availability in their habitats. Therefore, the average annual increase in temperature due to climate change is expected to significantly affect their physiological responses. As the resistance to heat induces oxidative stress, the present study aimed to investigate antioxidant defence and the expression of heat shock proteins (hsps) in the species *Eobania vermiculata* from areas of different climatic conditions. Specifically, individuals were collected from Axios area in Northern Greece, where Mediterranean climate characterized by a short dry season with moderate temperatures is prevailing, and individuals from Syros where the dry season is characterized by longer duration and higher temperatures. Individuals from both populations were exposed to 33°C for sixty days and at regular intervals hepatopancreas and foot muscle samples were collected. In these samples the activity of antioxidant enzymes and the expression of Hsp70 and Hsp90 were determined. The results showed an increase in the activity of antioxidant enzymes within the first 10-15 days. This increase differed between tissues and populations. Also, a different pattern of Hsps expression was observed with Axios' individuals exhibiting more pronounced expression. These results are consistent with previous work and show a similar pattern of reaction of different populations of the same or different snail species distributed at similar geographic areas. Previous research has shown that induction of oxidative stress in response to high temperatures may be related to metabolic patterns in different species or in different populations of the same species.

## **ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΜΒΡΥΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΣΕ ΛΑΡΒΕΣ ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α (BISPHENOL A-BPA)**

**Θεμελή Αικατερίνη, Χουσιδής Ιερεμίας, Αλίβερτης Δημήτριος, Λεονάρδος Δ.Ιωάννης**

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

Η Δισφαινόλη Α (Bisphenol A-BPA) χρησιμοποιείται εκτενώς στη βιομηχανία των πλαστικών και των ρητινών μέσω των οποίων περνά τελικά στα τρόφιμα και στο περιβάλλον. Πρόκειται για μια από τις πιο μαζικώς παραγόμενες ουσίες παγκοσμίως με τον όγκο παραγωγής να ανέρχεται στους 7 εκατομμύρια τόνους ετησίως. Η αποδεδειγμένη δράση της BPA ως ενδοκρινικός διαταράκτης έχει συνδεθεί με επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου και της άγριας ζωής εγείροντας ένα κλίμα ανησυχίας σχετικά με την τοξικότητά της. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκαν έμβρυα zebrafish (*Danio rerio*) για την διερεύνηση των επιπτώσεων της BPA στην εμβρυϊκή ανάπτυξη και την κινητική συμπεριφορά των λαρβών. Αποχοριωμένα έμβρυα 24 hpf (hours post fertilization- ώρες μετά τη γονιμοποίηση) εκτέθηκαν σύμφωνα με το πρωτόκολλο ZFET του οργανισμού OECD σε 5 συγκεντρώσεις BPA (5mg/l, 8mg/l, 10mg/l, 12mg/l και 15mg/l) με στόχο τον υπολογισμό της μέσης θανατηφόρας συγκέντρωσης (LC50). Το τεστ συμπεριφοράς πραγματοποιήθηκε στις 8 dpf (days post fertilization- ημέρες μετά τη γονιμοποίηση) στις συγκεντρώσεις έκθεσης 5mg/l και 8mg/l και περιελάμβανε 2 πρωτόκολλα ελέγχου συμπεριφοράς, ελεύθερη κολυμβητική δραστηριότητα και κολύμβηση ως απόκριση σε εναλλαγές της φωτοπεριόδου φως: σκοτάδι. Τα αποτελέσματά μας, έδειξαν ότι η τοξικότητα της BPA είναι δόσο-εξαρτώμενη οδηγώντας σε 100% θνησιμότητα στη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Παράλληλα, παρατηρήθηκαν αναπτυξιακές διαταραχές όπως περικαρδιακά και λεκιθικά οιδήματα, σκελετικές ανωμαλίες και αιμορραγίες. Τέλος, η BPA επηρέασε αρνητικά και την κινητικότητα των λαρβών, καθώς οδήγησε σε εμφανώς μειωμένη κολυμβητική δραστηριότητα σε συνθήκες φωτός και σκοταδιού. Τα παραπάνω είναι μόνο μερικά ενδεικτικά πειράματα, ενώ για την πλήρη αξιολόγηση της τοξικότητας της BPA απαιτούνται εκτενέστερες μελέτες.

## **TOXICITY ASSESSMENT AND BEHAVIORAL ANALYSIS IN ZEBRAFISH (DANIO RERIO) EMBRYOS AND LARVAE AFTER EXPOSURE TO BISPHENOL A (BPA)**

**Themeli Aikaterini, Chousidis Ieremias, Alivertis Dimitrios, Leonardos D. Ioannis**

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

Bisphenol A (BPA) is widely used in plastics and resins industry and eventually is carried over to food and the environment. It's one of the world's most mass-produced chemicals with a production volume of 7 million tons per year. Its proven activity as an endocrine disruptor is associated with harmful effects in human health and wildlife, raising the level of concern about its toxicity. In the present study, we utilized zebrafish (*Danio rerio*) embryos to investigate the effects of BPA on embryonic development and larvae locomotor behavior. Dechorionated embryos 24 hpf (hours post fertilization) were exposed according to OECD ZFET protocol to 5 BPA concentrations (5mg/l, 8mg/l, 10mg/l, 12mg/l and 15mg/l) in order to determine the median lethal concentration (LC50). Behavioral test was performed at 8 dpf (days post fertilization) at exposure concentrations of 5mg/l and 8mg/l and included 2 behavioral analysis protocols, free swimming activity and swimming in response to alternating light-dark photoperiod. Our results showed a dose-dependent BPA toxicity, which leads to 100% mortality at the highest concentration. At the same time, developmental deformities such as pericardial and yolk sac edema, skeletal malformation and hemorrhage were observed. BPA also negatively affected the mobility of larvae as it led to reduced swimming activity in light and dark conditions. The aforementioned are only a few indicative experiments, whilst more extensive studies are required to fully assess the toxicity of BPA.

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ**

**Θεοδωράκη Βασιλική, Καϊρης Στέφανος, Στάρφας Δημήτρης, Κατσώρης Παναγιώτης, Τσάκας Σωτήριος, Ροσμαράκη Ελευθερία**

*Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου & Ανάπτυξης Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Το εκχύλισμα του ριζώματος του *Helleborus cydophyllus*, φυτού της οικογένειας των *Ranunculaceae*, είναι γνωστό από την αρχαιότητα για την τοξική του δράση ενάντια στους οργανισμούς. Η ιδιότητά του αυτή έχει πυροδοτήσει ερευνητικό ενδιαφέρον σχετικά με την πιθανή αντικαρκινική του δράση. Σκοπός της μελέτης μας, ήταν να ερευνήσουμε την επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος του *H. cyclophyllus* σε λευκοκυτταρικούς πληθυσμούς από ανθρώπινο περιφερικό αίμα και να ελέγξουμε 1) την βιωσιμότητά τους, 2) τη μορφολογία (αποκοκκίωση) του πληθυσμού, και 3) την πιθανή ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε συγκεντρώσεις εκχυλίσματος *Helleborus* μέχρι και 1 mg/ml, η βιωσιμότητα των κυττάρων είναι υψηλή γύρω στο 95% και τυχόν αποκοκκίωση δεν είναι εμφανής. Επώαση των ουδετερόφιλων κυττάρων για 30 min και 24 h των λεμφοκυττάρων, παρουσία εκχυλίσματος *Helleborus* σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 3 mg/ml αρχίζουν να προκαλούν μείωση της βιωσιμότητας που ξεκινά από 85% και φτάνει το 60% σε συγκεντρώσεις περίπου 10 mg/ml. Ταυτόχρονα, παρατηρείται αύξηση της αποκοκκίωσης των λευκοκυττάρων η οποία είναι ανάλογη της αύξησης της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος. Στα ουδετερόφιλα ανιχνεύθηκε αύξηση της φωσφορυλιωμένης p38 MAPK σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις *Helleborus* ενώ στα λεμφοκύτταρα παρατηρήθηκε μείωση της φωσφορυλιωμένης Erk MAPK σε αντίστοιχες συγκεντρώσεις. Συμπερασματικά, το εκχύλισμα *Helleborus* επιδρά τόσο στη βιωσιμότητα όσο και στη λειτουργία των ουδετερόφιλων και των λεμφοκυττάρων και χρήζει περαιτέρω μελέτης προκειμένου να διαπιστωθούν οι επιδράσεις του σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.

## **EFFECTS OF HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS EXTRACT ON HUMAN POLYMORPHONUCLEAR NEUTROPHILS AND LYMPHOCYTES**

**Theodoraki Vasiliki, Kairis Stefanos, Starfas Dimitris, Katsoris Panagiotis, Tsakas Sotirios, Rosmaraki Eleftheria**

*Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of Patras*

The rhizome extract of *Helleborus cyclophyllus*, a plant of the *Ranunculaceae* family, is known since the ancient times for its toxic effects against organisms. This property has sparked the interest of the research community about its potential anticancer activity. The purpose of our study was to investigate the effect of the *H. cyclophyllus* extract on human peripheral blood leukocyte populations under different concentrations and to test 1) their viability, 2) the morphology of the population (degranulation), and 3) the possible activation of signaling pathways. The results showed that in concentrations of the *Helleborus* extract up to 1mg/ml, cell viability remained high at 95% and degranulation was not observed. When incubating neutrophils for 30 min and lymphocytes for 24h with the extract in concentrations higher than 3mg/ml, we observed cell viability ranging from 85% to 60% in concentrations up to 10mg/ml. In addition, increased leukocyte degranulation was observed and that increase appeared to be proportional to the increase in the concentration of the *Helleborus* extract. In neutrophils we detected an increase in phosphorylated p38 MAPK in increasing concentrations of the *Helleborus* extract, while in lymphocytes we observed a decrease in phosphorylated Erk MAPK at corresponding concentrations. In conclusion, the *Helleborus* extract influences both the viability and function of neutrophils and lymphocytes and further research is required, in order to determine its effects on the immune system.

## Η TRNA-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΑΠΟ ΤΟ GLYS T-BOX ΡΙΒΟΔΙΑΚΟΠΤΗ ΣΤΟΥΣ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΥΣ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΕΙΔΟ-ΕΙΔΙΚΕΣ RNA ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ

**Ιωάννα Πατσή, Νικολέτα Γιαρίμογλου, Δαυίδ Δερμονιώτης, Βασιλική Σταματοπούλου και Κωνσταντίνος Σταθόπουλος\***

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Πάτρα, Ελλάδα*

Οι ριβοδιακόπτες αποτελούν χαρακτηριστικό παράδειγμα της RNA- διαμεσολαβούμενης ρύθμισης της μεταγραφής, προσδίδοντας στα βακτήρια την ικανότητα να προσαρμόζονται στις αλλαγές των περιβαλλοντικών συνθηκών τους. Μία ειδική κατηγορία αυτών αποτελούν οι T-box ριβοδιακόπτες η λειτουργία των οποίων βασίζεται στην διαθεσιμότητα των αμινο-ακυλιωμένων και μη συγγενών μορίων tRNA τους. Οι T-box ριβοδιακόπτες συναντώνται στην 5'UTR περιοχή και ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που βρίσκονται καθοδικά αυτών, ρυθμίζοντας τη δράση της RNA πολυμεράσης μέσω της εναλλαγής διαμορφώσεων ως αποτέλεσμα της δέσμευσης του tRNA. Η πλειοψηφία αυτών των γονιδίων κωδικοποιεί ένζυμα που συμμετέχουν στη βιοσύνθεση και στη μεταφορά αμινοξέων καθώς και την αμινοακυλίωση στα Gram (+) βακτήρια. Πρόσφατα, η ομάδα μας χαρακτήρισε τον glyS Tbox ριβοδιακόπτη του *Staphylococcus aureus* που ρυθμίζει την έκφραση του γονιδίου glyS. Το γονίδιο αυτό αμινοακυλιώνει πέντε ισοδεκτικά μόρια tRNA<sup>Gly</sup>, που χρησιμεύουν στην παροχή γλυκίνης είτε κατά τη διαδικασία της μετάφρασης, είτε για τη σταθεροποίηση του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος. Ο ριβοδιακόπτης αυτός φέρει ασυνήθιστα δομικά χαρακτηριστικά όπως το ειδο-ειδικό στέλεχος Sa κι ένας μεγάλος κορυφαίος βρόγχος που τον διακρίνουν από τους ομόλογους του στους βάκιλους. Με στόχο να διερευνήσουμε περαιτέρω αυτές τις δομικές παραλλαγές, πραγματοποιήσαμε *in vitro* και *in vivo* μελέτες με την χρήση μια σειράς μεταλλαγμάτων που περιείχαν αντικαταστάσεις του κορυφαίου βρόγχου μεταξύ βακίλων και σταφυλόκοκκων, οι οποίες αποκάλυψαν ότι οι δομικές διαφορές επηρεάζουν την ικανότητα των μεταλλαγμάτων να επάγουν τη μεταγραφή. Επιπλέον, η εξάλειψη του σταφυλοκοκκικού Stem Sa μείωσε την *in vitro* μεταγραφή, υποδηλώνοντας ότι τα ειδο-ειδικά δομικά χαρακτηριστικά είναι σημαντικά για την T-box διαμεσολαβούμενη μεταγραφή. Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη προσπάθεια χαρακτηρισμού του ρόλου των ειδο-ειδικών χαρακτηριστικών σε έναν σταφυλοκοκκικό T-box ριβοδιακόπτη.

## **THE TRNA-DEPENDENT GLYS T-BOX RIBOSWITCH-REGULATED TRANSCRIPTION IN STAPHYLOCOCCI DEPENDS ON SPECIES-SPECIFIC RNA CONFORMATIONS**

**Ioanna Patsi, Nikoleta Giarimoglou, David Dermoniotis, Vassiliki Stamatopoulou, Constantinos Stathopoulos\***

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

Riboswitches are characteristic examples of RNA-mediated regulation of transcription, which allow bacteria to swiftly adopt their metabolism in various environmental niches. Among them, T-box riboswitches represent a special class that senses amino acid availability based on the aminoacylation status of their tRNA ligands. T-boxes are parts of the 5'UTRs and regulate almost all genes encoding enzymes for amino acid transport, biosynthesis and aminoacylation in Gram(+) pathogens, by allowing RNA polymerase to transcribe or not downstream genes via a "on" or "off" conformational switch that occurs upon tRNA binding. Our group recently discovered a glyS T-box riboswitch in *Staphylococcus aureus* that controls the expression of a sole glyS gene which in turn, aminoacylates tRNA<sup>Gly</sup> isoacceptors for ribosomal protein synthesis and FemXAB-mediated exo-ribosomal synthesis of pentaglycine peptides which stabilize the cell wall. This specific riboswitch regulates two metabolically different pathways and poses as an ideal molecular target for the development of next-generation antimicrobials. This T-box possesses a unique structural feature in the terminator/antiterminator stem termed stem Sa, which distinguishes it from its counterparts in bacilli. It also contains a bigger than the usual apical loop. To further explore these structural variations in this T-box, we performed in vitro and in vivo analysis of a series of mutants containing swaps of apical loop between bacilli and staphylococci that revealed that structural differences reflect on the ability of the mutants to induce transcription. Moreover, deletion of the staphylococcal specific stem Sa reduced the in vitro transcription, suggesting that both species-specific structural features are important for the T-box mediated transcription. The current study represents the first attempt to identify the role of species-specific structural features in a staphylococcal glyS T-box.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS ΣΤΗΝ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Ιωάννου Κωνσταντίνα, Ανδρουτσοπούλου Θεοδοσία-Παναγιώτα, Τσάκας Σωτήρης

Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η πρώτη γραμμή άμυνας του ανθρώπινου οργανισμού είναι η φυσική ανοσία. Δύο από τις κυριότερες αποκρίσεις της φυσικής ανοσίας είναι φαγοκυττάρωση βακτηρίων και η ενδοκυττάρωση επικίνδυνων βιομορίων. Οι διαδικασίες αυτές επιτελούνται και οι δύο από τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα του αίματος. Ένα από τα σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζει τις παραπάνω διαδικασίες είναι αυτό της φωσφορυλίωσης των MAP κινασών. Το *Helleborus cydophyllus* είναι ένα φαρμακευτικό φυτό το οποίο είναι ευρέως γνωστό για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Τελευταία ελέγχεται για την αντικαρκινική του δράση. Στην εργασία αυτή, μελετήθηκε η επίδραση εκχυλίσματος *Helleborus cyclophyllus* στην φαγοκυττάρωση βακτηρίων *E. coli* και στην ενδοκυττάρωση του πυρετογόνου λιποπολυσακχαρίτη LPS. Για το σκοπό αυτό, απομονωμένα λευκά αιμοσφαίρια καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο RPMI παρουσία πλάσματος 20% και εκχυλίσματος *Helleborus* σε συγκεντρώσεις 0,3 mg/ml, 1 mg/ml και 3 mg/ml. Το ποσοστό βιωσιμότητας των λευκών αιμοσφαιρίων φάνηκε να μειώνεται στο 80% παρουσία 3 mg/ml εκχυλίσματος. Στη συνέχεια, τα κύτταρα επώαστηκαν είτε με φθορίζοντα βακτήρια *E. coli*-FITC για την μελέτη της φαγοκυττάρωσης, είτε με φθορίζοντα λιποπολυσακχαρίτη LPS-FITC για την μελέτη της ενδοκυττάρωσης. Η ανάλυση με κυτταρομετρία ροής, έδειξε ότι η φαγοκυττάρωση των βακτηρίων μειώνεται σε συγκέντρωση εκχυλίσματος *Helleborus* 3 mg/ml, ενώ η ενδοκυττάρωση δεν επηρεάζεται καθόλου. Η ανάλυση των πρωτεϊνικών εκχυλισμάτων των λευκών αιμοσφαιρίων, κατά Western, έδειξε αύξηση της φωσφορυλίωσης της κινάσης p38 παρουσία βακτηρίων και LPS. Η προσθήκη του εκχυλίσματος *Helleborus* φάνηκε να προκαλεί μείωση της φωσφορυλίωσης της p38 MAPK, κατά την φαγοκυττάρωση, ενώ δεν επηρέασε καθόλου τη φωσφορυλίωση της κατά την ενδοκυττάρωση. Συμπερασματικά, σε συνθήκες *in vitro*, το *Helleborus* σε συγκέντρωση 3 mg/ml φαίνεται να επηρεάζει την βιωσιμότητα των λευκών αιμοσφαιρίων, να μειώνει την φαγοκυττάρωση βακτηρίων, αλλά όχι την ενδοκυττάρωση LPS.

## **STUDY OF THE EFFECT OF HELLEBORUS CYCLOPHYLLUS IN PHAGOCYTOSIS AND ENDOCYTOCIS**

**Ioannou Konstantina, Androutsopoulou Theodosia-Panagiota , Tsakas Sotiris**

*Lab of Biology, Department of Biology, University of Patras*

Innate immunity is the first line of defense, in the human body. The two most dominant functions of innate immunity are the bacterial phagocytosis and the endocytosis of toxic biomolecules. These responses are mediated by the neutrophil granulocytes of the blood. The phosphorylation of MAP family kinases is an important signaling pathway that controls these functions, among others. *Helleborus cyclophyllus* is a pharmaceutical plant, widely known for its healing properties. Recent studies investigate its ability to kill cancer cells. In this project, we studied the effect of *Helleborus cyclophyllus* crude extract in bacterial *E. coli* phagocytosis and in pyrogen LPS endocytosis. For this purpose, isolated white blood cells cultured in RPMI nutrient, in the presence of 20% plasma and *Helleborus* crude extract at the concentrations of 0.3 mg/ml, 1 mg/ml and 3 mg/ml. *Helleborus* extract of 3 mg/ml reduced the viability percentage up to 80%. Subsequently, cells were incubated with either fluorescent bacteria *E. coli*-FITC, in order to study phagocytosis or fluorescent lipopolysaccharide LPS-FITC, in order to study endocytosis. Flow cytometry analysis showed that *Helleborus* concentration of 3 mg/ml decreases bacterial phagocytosis, while it has no effect on LPS endocytosis. Western blot analysis of the protein extract from white blood cells showed increased phosphorylation of p38 map kinase in the presence of *E. coli* and LPS, as well. *Helleborus* extract reduced the phosphorylation of p38 MAP kinase in phagocytosis, but it didn't affect its phosphorylation in endocytosis. In conclusion, in vitro, the presence of *Helleborus* extract at a concentration of 3 mg/ml influences the viability of the white blood cells, reduces bacterial phagocytosis but doesn't affect LPS endocytosis.

## IN VITRO ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΑΓΖΝΟ ΣΕ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

Καλαμαράς Γεώργιος<sup>1</sup>, Ευθυμίου Ιωάννα<sup>2</sup>, Βλαστός Δημήτρης<sup>2</sup>, Δεληγιαννάκης Ιωάννης<sup>3</sup>, Νταϊλιάνης Στέφανος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ζωολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

<sup>2</sup>Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Πατρών, 30100 Αγρίνιο

<sup>3</sup>Τμήμα Φυσικής, Τομέας Φυσικής Στερεάς Κατάστασης και Φυσικής Υλικών και Επιφανειών, Εργαστήριο Φυσικοχημείας Υλικών και Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός των κυτταροτοξικών και οξειδωτικών επιπτώσεων πρότυπων νανοσωματιδίων Ag-ZnO (Ag-ZnO NPs) σε αιμοκύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*, σε συνδυασμό με τις αντίστοιχες επιδράσεις συμβατικών μεταλλικών ιόντων Zn<sup>2+</sup> και Ag<sup>+</sup>. Συγκεκριμένα, μετά από έκθεση αιμοκυττάρων για 1 h σε Ag-ZnO NPs, ZnCl<sub>2</sub> και AgNO<sub>3</sub> (0.1-25 µg/mL), προσδιορίστηκαν (α) η θνησιμότητα (τεχνική ουδέτερου ερυθρού/Neutral Red Retention Time), (β) η παραγωγή υπεροξειδικών ανιόντων (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, με τη χρήση NBT) και οξειδίων του αζώτου (με τη μορφή NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, σύμφωνα με την αντίδραση Griess), καθώς και (γ) τα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης (με τη μορφή της μηλονικής διαλδεϋδης/MDA). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η βιωσιμότητα των αιμοκυττάρων μειώθηκε σημαντικά (p0.05) μετά από έκθεση σε συγκεντρώσεις Ag-ZnO NPs > 0.1 µg/mL, ZnCl<sub>2</sub> > 10 µg/mL, και AgNO<sub>3</sub> > 0.1 µg/mL, με το 50% της θνησιμότητας να προκαλείται μετά από έκθεση σε 5 µg/MI Ag-ZnO NPs και/ή AgNO<sub>3</sub>. Επιπλέον, κύτταρα που εκτέθηκαν σε υπο-θανατογόνες συγκεντρώσεις Ag-ZnO NPs (0.1-1 µg/mL) έδειξαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα O<sub>2</sub><sup>-</sup> και MDA, καθώς και σημαντική μείωση των NO, συγκριτικά με τα κύτταρα αναφοράς, αλλά και με τα κύτταρα που εκτέθηκαν στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις ZnCl<sub>2</sub> και/ή AgNO<sub>3</sub>. Η μελέτη των κυτταροτοξικών και οξειδωτικών επιπτώσεων των Ag-ZnO NPs, ZnCl<sub>2</sub> και AgNO<sub>3</sub> αποδεικνύει τον ισχυρό κυτταροτοξικό χαρακτήρα των NPs σε σχέση με τα συμβατικά μεταλλικά ιόντα Zn<sup>2+</sup> και Ag<sup>+</sup> (Ag-ZnO NPs > AgNO<sub>3</sub> > ZnCl<sub>2</sub>), καθώς και την ικανότητά τους να επάγουν φαινόμενα οξειδωτικής καταπόνησης (stress) σε αιμοκύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis*. Οι επιπτώσεις των NPs φαίνεται να καθορίζονται σε σημαντικό βαθμό από τη φύση και τις ιδιότητες των μεταλλικών ιόντων, την οξειδωμένη μορφή του Zn, ενώ δεν φαίνεται να σχετίζονται με την επαγωγή φαινομένων αναπνευστικής έκρηξης (ταυτόχρονη επαγωγή της σύνθεσης O<sub>2</sub><sup>-</sup> και NO<sub>2</sub><sup>-</sup>).

## INVESTIGATION OF CYTOTOXIC AND OXIDATIVE EFFECTS OF NOVEL AGZNO NANOPARTICLES ON HEMOCYTES OF MUSSEL MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

**Kalamaras Georgios<sup>1</sup>, Efthimiou Ioanna<sup>2</sup>, Vlastos Dimitris<sup>2</sup>, Deligiannakis Yiannis<sup>3</sup>, Dailianis Stefanos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Division of Animal Biology, Lab of Zoology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500, Patras, Greece*

<sup>2</sup>*Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Patras, GR-30100 Agrinio, Greece*

<sup>3</sup>*Division of Solid State Physics and Physics of Materials and Surfaces, Lab of Physical Chemistry of Materials and Environment, Department of Physics, University of Ioannina, GR-45110, Greece*

The present study investigates the cytotoxic and oxidative effects of novel AgZnO nanoparticles, as well as bulk metal ions Zn<sup>2+</sup> and Ag<sup>+</sup>, on hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis*. Mussel hemocytes were treated for 1h with AgZnO NPs, ZnCl<sub>2</sub> and/or AgNO<sub>3</sub> (0.1-25 µg/mL in each case) in order to determine (a) cell viability (Neutral Red Retention Time technique-NRRT), (b) superoxide ions (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, using NBT) and nitric oxides (in terms of NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, using the Griess reaction) generation and (c) lipid peroxidation levels (in terms of malondialdehyde/MDA). According to the results, the hemocytes viability was significantly reduced (p<0.05) after their treatment with concentrations of AgZnO NPs > 0.1 µg/mL, ZnCl<sub>2</sub> > 10 µg/mL, and AgNO<sub>3</sub> > 0.1 µg/mL, while 50% cell death was observed after treatment with 5 µg/mL AgZnO NPs and/or AgNO<sub>3</sub>. Moreover, cells treated with sub-lethal concentrations of Ag-ZnO NPs (0.1-1 µg/mL) revealed significantly increased levels of O<sub>2</sub><sup>-</sup> and MDA, while NO levels were significantly reduced in any case. Those findings revealed for the first time the cytotoxic and oxidative effects of Ag-ZnO NPs, compared to those occurred in case of bulk metal ions Zn<sup>2+</sup> and Ag<sup>+</sup> (Ag-ZnO NPs > AgNO<sub>3</sub> > ZnCl<sub>2</sub>), on hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis* which is widely used as an in vitro biological model. The latter could be attributed to NPs nature and properties of metallic ions and the oxidative form of ZnO, rather than its ability to promote hemocytes immune defense processes, like respiratory burst (simultaneous induction of O<sub>2</sub><sup>-</sup> and NO<sub>2</sub><sup>-</sup> synthesis).

## ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ $TiO_2$ ΣΕ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

**Καρασιαλή Σταύρη<sup>1</sup>, Δημητριάδη Αναστασία<sup>1</sup>, Κουμουνδούρος Γιώργος<sup>1</sup>, Μπόμπορη Δήμητρα<sup>2</sup>, Καλογιάννη Μάρθα<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

Η αυξημένη παραγωγή και χρήση νανοσωματιδίων έχει προκαλέσει μεγάλη ανησυχία σχετικά με τις πιθανές τοξικές επιδράσεις στα χερσαία και υδάτινα οικοσυστήματα, με απρόβλεπτες συνέπειες στην υγεία των οργανισμών και των ανθρώπων. Τα νανοσωματίδια του διοξειδίου του τιτανίου ( $TiO_2$ -NPs) έχουν ευρεία χρήση, λόγω της υψηλής φωτοκαταλυτικής τους δραστηριότητας. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση των επιδράσεων των  $TiO_2$ -NPs σε βιομάρτυρες, στα βράγχια και στο ήπαρ του zebrafish (*Danio rerio*), μετά από έκθεση 8 ημερών. Η συγκέντρωση  $TiO_2$ -NPs που χρησιμοποιήθηκε ήταν το ήμισυ της τιμής EC50 που εκτιμήθηκε με τον ποσοτικό προσδιορισμό βρωμιούχου 3-(4,5-διμεθυλοθειαζολ-2-υλο)-2,5-διφαινυλοτραζόλιο (MTT). Στους ιστούς των εκτεθειμένων ψαριών μετρήθηκαν η υπεροξειδωση των λιπιδίων (μέθοδος MDA) και η ακεραιότητα του γενετικού υλικού (μέθοδος των κομητών). Και οι δύο παράμετροι αυξήθηκαν σημαντικά σε σχέση με τα ζώα ελέγχου, μετά από έκθεση τους στα νανοσωματίδια. Το ήπαρ ήταν πιο ευαίσθητο από τα βράγχια, όσο αφορά τα επίπεδα MDA, αλλά όταν εξετάστηκε η βλάβη του DNA, τα βράγχια είχαν μεγαλύτερη ευαισθησία στα νανοσωματίδια από το ήπαρ. Συμπεραίνεται ότι οι βιομάρτυρες που μελετήθηκαν θα μπορούσαν να προταθούν σε μελέτες βιο-παρακολούθησης των υδάτινων οικοσυστημάτων ως προς την επιβάρυνση τους με νανοσωματίδια. Επιπλέον, απαιτείται περαιτέρω διεξοδική έρευνα των μηχανισμών και της συμπεριφοράς τοξικότητας των  $TiO_2$ -NPs για να εξασφαλιστεί η ασφαλής χρήση και διάθεση τους.

## **EFFECTS OF TiO<sub>2</sub> NANOPARTICLES ON OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN TISSUES OF ZEBRAFISH (DANIO RERIO)**

**Karasiali Stavri<sup>1</sup>, Dimitriadi Anastasia<sup>1</sup>, Koumoundouros Giorgos<sup>1</sup>, Bobori Dimitra<sup>2</sup>, Kaloyianni Martha<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece*

*<sup>2</sup>Biology Department, University of Crete, Herakleion, Crete, Greece*

Increased production and usage of nanoparticles has raised extensive concern about the potential toxic effects on terrestrial and aquatic ecosystems, with unexpected consequences to the health of organisms and humans. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPs) have widespread usage, for example cosmetics, personal hygiene products, food, textile, electronics etc., because of their high stability, anticorrosion characteristics and high photocatalytic activity. The aim of the present study was to assess the effects of low dose of TiO<sub>2</sub>-NPs on biochemical and genotoxic biomarkers, in the gills and liver of the model zebrafish (*Danio rerio*), after 8 days of exposure. The concentration of TiO<sub>2</sub>-NPs used was half of the EC50 value, estimated by the 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) assay. Lipid peroxidation (by MDA assay) and DNA integrity (by comet assay) were measured in the tissues of the exposed fish. Both parameters revealed a significant increase after fish exposure to NPs, in relation to controls, with liver being more sensitive than gills, regarding MDA levels, but when DNA damage was examined, gills were more susceptible to respond to NPs exposure than liver. It is concluded that the studied parameters/biomarkers could be suggested in bio-monitoring studies of aquatic ecosystems against nanoparticles. Furthermore, thorough investigation of titanium oxide NPs toxicity mechanisms and behavior is further required to ensure their safe use and disposal.

## ΑΠΟ ΤΙΣ ΜΟΥΣΕΙΑΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ ΣΤΙΣ ΠΗΓΕΣ: ΤΑ *TRUNCATELLOIDEA* ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Κάσσαρη Νεφέλη<sup>1</sup>, Ραδέα Κανέλλα<sup>2</sup>, Βαλάκος Ευστράτιος<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Μουσείο Ζωολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15784, Ιλίσια, Αθήνα

<sup>2</sup> Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15784, Ιλίσια, Αθήνα

<sup>3</sup> Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15784, Ιλίσια, Αθήνα

Η συλλογή Μαλακίων της φυσιοδίφη Jos. Thiesse (19ος αιώνας) έχει δωρηθεί στο Μουσείο Ζωολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η συλλογή περιλαμβάνει 3600 είδη της Ελλάδας και άλλων χωρών και πρόσφατα άρχισε η συντήρηση του περιεχομένου της. Μεταξύ των ελληνικών ειδών της συλλογής, ο αριθμός των υδρόβιων είναι, συγκριτικά, περιορισμένος. Περιορισμένη παραμένει επίσης η γνώση για την ποικιλότητα και την εξάπλωση των υδρόβιων γαστεροπόδων στη χώρα μας, ιδιαιτέρως όσων ανήκουν στις οικογένειες *Hydrobiidae* και *Bythinellidae* (*Truncatelloidea*). Από τα δεδομένα της συλλογής Thiesse καθώς και από ερευνητικές εργασίες προ κύπτει ότι στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί μέχρι σήμερα 28 γένη και >70 είδη της οικογένειας *Hydrobiidae*, από τα οποία ποσοστό 32% και >78% αντιστοίχως είναι ενδημικά της χώρας, καθώς και 8 ενδημικά είδη της οικογένειας *Bythinellidae*. Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στον εμπλουτισμό της γνώσης για τα *Truncatelloidea* της Ελλάδας με εντοπισμό νέων θέσεων εξάπλωσης των *Hydrobiidae* και *Bythinellidae* στην ηπειρωτική χώρα. Πραγματοποιήθηκαν συλλογές σε 57 θέσεις στην Κεντρική και Νότια ηπειρωτική Ελλάδα. Η ανατομή του γενετικού συστήματος αρσενικών και θηλυκών ατόμων, οδήγησε στην αναγνώριση 7 taxa. Αν και η μελέτη δεν έχει ολοκληρωθεί, υπάρχουν ήδη σημαντικά ευρήματα: i. Ανεύρεση 14 νέων θέσεων εξάπλωσης ii. Καταγραφή στην ενδοχώρα της Ηπείρου του γένους *Litthabittella* Boeters, 1970 με γνωστή εξάπλωση σε παράκτιες περιοχές στην Ν. Ιταλία, Σλοβενία, Κροατία, Μαυροβούνιο, Κέρκυρα και Λευκάδα iii. Καταγραφή στο όρος Μαίναλο (Κ. Πελοπόννησος) του ενδημικού γένους *Isimerope* Radea & Parmakelis, 2013 με γνωστή εξάπλωση το όρος Φαρμακάς (ΒΑ Πελοπόννησος) και iv. Καταγραφή του ενδημικού είδους *Trichonia trichonica* Radoman, 1973 (Κρισίμως Κινδυνεύον σύμφωνα με τον Ερυθρό Κατάλογο Δεδομένων της IUCN) στην περιοχή της Λίμνης Τριχωνίδας. Η περαιτέρω μελέτη των δειγμάτων αναμένεται να προσθέσει νέα στοιχεία στην υπάρχουσα γνώση για τα *Truncatelloidea* στην Ελλάδα.

## FROM MUSEUM COLLECTIONS TO SPRINGS: TRUNCATELLOIDEA OF GREECE

**Kassari Nefeli<sup>1</sup>, Radea Canella<sup>2</sup>, Valakos Efstratios<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Zoological Museum of the University of Athens, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, 15784, Ilissia, Athens, Greece

<sup>2</sup>Division of Ecology and Systematics, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, 15784, Ilissia, Athens, Greece

<sup>3</sup>Division of Animal and Human Physiology, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, 15784, Ilissia, Athens, Greece

The collection of Mollusks of the naturalist Jos. Thiesse (19th century) has been donated to the Zoological Museum of the National & Kapodistrian University of Athens. The collection includes 3600 species from Greece and other countries and its preservation has recently been started. Among the Greek species included in the collection, the number of aquatic gastropods is, comparatively, limited. The knowledge of diversity and distribution of aquatic gastropods in our country is also limited, especially for those belonging to the families *Hydrobiidae* and *Bythineliidae* (*Truncatelloidea*). Both from the data of Thiesse's collection and from scientific publications it is known that in Greece there have been recorded until now 28 genera and >70 species of *Hydrobiidae*, of which 32% and >78% respectively are endemic to the country, as well as 8 endemic species of *Bythinellidae*. This project aims to enrich the knowledge concerning the *Truncatelloidea* in Greece. Totally, 57 expeditions were conducted in Central and Southern Greek mainland. The dissection of genital system of male and female specimens confirms the identification of 7 taxa. Significant findings have already been recorded although the study has not been completed yet: i. Fourteen new truncatelloidean sites were found ii. The discovery in Epirus of the genus *Litthabittella* Boeters, 1970 with known distribution in coastal areas of S. Italy, Slovenia, Croatia, Montenegro, Corfu and Lefkada iii. The discovery on Mainalo Mountain (C. Peloponnese) of the endemic genus *Isimerope* Radea & Parmakelis, 2013 with known distribution on the Pharmakas Mountain (NE Peloponnese) and iv. The record of the endemic species *Trichonia trichonica* Radoman, 1973 (Critically Endangered according to the IUCN Red Data List) around Lake Trichonida. The further study of the specimens collected is expected to add even more data to the knowledge concerning the *Truncatelloidea* in the Greek mainland.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ CD34+ ΟΜΦΑΛΙΟΠΛΑΚΟΥΝΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΜΑΤΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ

**Κατανά Ζωή<sup>1</sup>, Δεληγιάννη Φανή<sup>2</sup>, Κριτής Αριστείδης<sup>3</sup>, Κουβάτση Αναστασία<sup>2</sup>, Ξαγοράρη Αγγελική<sup>2</sup>, Αναγνωστόπουλος Αχιλλέας<sup>2</sup>, Σωτηρόπουλος Δαμιανός<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Δημόσια Τράπεζα Ομφαλιοπλακουντικού Αίματος, Αιματολογική Κλινική «Στοργή», Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Γεώργιος Παπανικολάου», Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας

<sup>3</sup> Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, Εργαστήριο Φυσιολογίας

Τα μικροσωμάτια (MPs) είναι ετερογενής πληθυσμός κυστιδίων (100-1000 nm) που απελευθερώνονται σε παθολογικές καταστάσεις ή μετά από διέγερση. Τα MPs αποτελούν μια νέα μορφή ενδοκυτταρικής επικοινωνίας που θα μπορούσε να διαδραματίσει ρόλο στις φυσιολογικές και στις παθολογικές διεργασίες. Οι δύο κύριοι οδοί σηματοδότησης της απόπτωσης είναι η εξωγενής οδός που ξεκινά με τη δέσμευση συνδετών σε υποδοχείς θανάτου και η ενδογενής που προκαλείται από μία ποικιλία ενδοκυτταρικών ερεθισμάτων. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση του ρόλου των MPs στην απόπτωση αιμοποιητικών και λευχαιμικών κυττάρων με έλεγχο του γονιδίου του εξωτερικού μονοπατιού απόπτωσης FAS και του γονιδίου BAX που συμμετέχει στην ενδογενή οδό. Τα CD34+ μικροσωμάτια απομονώθηκαν με ανοσομαγνητικό διαχωρισμό από το πλάσμα ομφαλιοπλακουντικών μονάδων (ΟΠΑ) και τα μονοπύρρηνα κύτταρα (MNCs) με φυγοκέντρηση σε φικόλη. Η προμυελοκυτταρική λευχαιμική κυτταρική σειρά HL60 καθώς και τα MNCs επώαστηκαν παρουσία ή απουσία μικροσωματίων για 24 ώρες. Ελέγχθηκε με RT-PCR η έκφραση των γονιδίων GAPDH, fAs, και BAX στα HL60. Το γονίδιο FAS υπερεκφράζεται στις καλλιέργειες με MPs σε σύγκριση με τις καλλιέργειες μάρτυρα ενώ δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στα επίπεδα του BAX. Παράλληλα, ελέγχθηκε η έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με την απόπτωση στα HL60 και στα MNCs με το Human Apoptosis Antibody Array Kit(R&D). Οι πρωτεΐνες FAS και BAX εκφράζονται μόνο στα HL60 και στα MNCs που καλλιεργήθηκαν με MPs. Από τα πρωτεϊνικά επίπεδα έκφρασης φαίνεται ότι τα MPs επάγουν παρόμοια έκφραση στην λευχαιμική σειρά HL60 και στα MNCs ομφαλιοπλακουντικού αίματος. Ο έλεγχος σε μεταγραφικό και σε επίπεδο πρωτεϊνών για το FAS στα HL60 παρουσία MPs έδειξε αυξημένη έκφραση σε σύγκριση με τα κύτταρα του μάρτυρα. Συνοψίζοντας, τα MPs φαίνεται ότι επάγουν την απόπτωση στη λευχαιμική κυτταρική σειρά HL60 και στα μονοκύτταρα ομφαλιοπλακουντικών μοσχευμάτων χρησιμοποιώντας τόσο το ενδογενές όσο και το εξωγενές μονοπάτι απόπτωσης.

## **STUDY OF THE EFFECT OF UMBILICAL CORD BLOOD CD34+ MICROPARTICLES IN APOPTOSIS**

**Katana Zoi<sup>1</sup>, Deligianni Fani<sup>2</sup>, Kritis Aristeidis<sup>2</sup>, Kouvatsi Anastasia<sup>2</sup>, Xagorari Angeliki<sup>1</sup>, Axilleas Anagnostopoulos<sup>2</sup>, Sotiropoulos Damianos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Public Cord Blood Bank of Thessaloniki, Department of Hematology - BMT unit, "G. Papanicolaou" Hospital, Thessaloniki

<sup>2</sup>Aristotle University of Thessaloniki, Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology

<sup>3</sup>Aristotle University of Thessaloniki, School of Medicine

Microparticles (MPs) are a heterogeneous population of small cell-derived vesicles (100 - 1000 nm) released in pathological conditions or after stimulation. MPs play role in intracellular communication that is associated with physiological and pathological conditions. The two major signaling apoptosis pathways are the exogenous which involves the interaction of ligands with death receptors and the endogenous caused by a variety of intracellular stimuli. The purpose of this study is to investigate the role of MPs in apoptosis of hematopoietic and leukemic cells considering the expression of FAS which participates in the exogenous pathway and BAX that is involved in the endogenous. CD34+ MPs were isolated from the plasma of UCBs after centrifugation and magnetic bead purification. Mononuclear cells (MNCs) were collected after density gradient centrifugation on lymphoprep. The promyelocytic cell line HL60 and MNCs were incubated with CD34+ MPs for 24 hours. Rt-pCr was performed for GAPDH, BAX and FAS genes. FAS gene was over expressed in MPs cultures compared to control while no changes in expression of BAX were observed. In addition, the expression of apoptosis related proteins in HL60 and MNCs cells was tested with the Human Apoptosis Antibody Array Kit(R&D). FAS and BAX proteins are expressed only in HL60 and in MNCs incubated with MPs. From the protein expression levels it appears that MPs induce similar expression in leukemia HL60 and MNCs of umbilical cord blood. From the transcriptional and protein levels it appears that FAS showed increased expression in HL60 incubated with MPs as compared to control. To conclude, it seems that MPs induce apoptosis in the leukemia cell line HL60 and mononuclear cells of the umbilical cord blood using both the endogenous and the exogenous apoptosis pathway.

## **Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΡΙΖΙΚΩΝ ΤΡΙΧΙΔΙΩΝ ΣΕ ΕΠΙΓΕΝΕΙΣ ΡΙΖΕΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΚΑΛΑΝΧΟΕ ΔΑΙΓΡΕΜΟΝΤΙΑΝΑ**

**Κατίδου Βασιλική, Παντελής Εμμανουήλ-Νικόλαος**

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, 541 24, Θεσσαλονίκη*

Το φυτό *Kalanchoe daigremontiana* (*Crassulaceae*) αναπαράγεται αγενώς με φυτάρια που αναπτύσσονται στα περιθώρια των φύλλων του. Οι επιγενείς ρίζες των φυταρίων καλύπτονται από εφυμενίδα και δεν έχουν ριζικά τριχίδια, όσο βρίσκονται στον αέρα. Αφού οι επιγενείς ρίζες έρθουν σε επαφή με το νερό, απομακρύνεται η εφυμενίδα και προκαλείται ταχεία (μέσα σε 3-4 h) και εκτεταμένη εμφάνιση ριζικών τριχιδίων, που εντοπίζεται τόσο στην ζώνη ριζικών τριχιδίων της ρίζας όσο και στη ζώνη επιμήκυνσης. Παρατήρηση των μικροσωληνίσκων με συνεστιακή μικροσκοπία, μετά από ανοσοσθήμανση α-σωληνίνης, αποκάλυψε ότι σε κύτταρα της ζώνης επιμήκυνσης, από τα οποία εκβλαστάνουν ριζικά τριχίδια, οι περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι παραμένουν εγκάρσιοι, γεγονός που παρατηρείται για πρώτη φορά. Η παραπάνω παρατήρηση επιβεβαιώθηκε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης, ενώ αποκαλύφθηκαν και λεπτομέρειες ως προς τις μεταβολές στη λεπτή δομή των κυττάρων κατά την παραπάνω διαδικασία. Μια πιθανή ερμηνεία για την ιδιαίτερη αυτή οργάνωση των μικροσωληνίσκων είναι ότι τα κύτταρα αυτά συνεχίζουν να επιμηκύνονται, ενώ παράλληλα δημιουργούνται ριζικά τριχίδια. Η ταυτόχρονη ύπαρξη δυο προτύπων αύξησης στο ίδιο κύτταρο, διάχυτης στο επιμηκυνόμενο σώμα του κυττάρου και κορυφαίας στο εκβλαστώνον τριχίδιο, δεν έχει ξαναπαρατηρηθεί.

## **MICROTUBULE ORGANIZATION DURING ROOT HAIR EMERGENCE IN ADVENTITIOUS ROOTS OF KALANCHOE DAIGREMONTIANA**

**Katidou Vasiliki, Panteris Emmanuel**

*Department of Botany, School of Biology, AUTH, 541 24, Thessaloniki*

The plant *Kalanchoe daigremontiana* (*Crassulaceae*) proliferates asexually by producing plantlets on its leaf-notches. The adventitious roots of the plantlets are covered by cuticle and don't carry root hairs, while being in the air. After the adventitious roots get in touch with water, the cuticle is removed and a fast (within 3-4 h) and extended emergence of root hairs takes place, at both the root hair zone and the elongation zone of the root. Microtubule observations by CLSM, after  $\alpha$ -tubulin immunolabeling, revealed that the cortical microtubules of root hair emerging cells at the elongation zone remained transverse, which is recorded for the first time. This observation was also confirmed by transmission electron microscopy (TEM), which further revealed details about changes in cell ultrastructure. A possible explanation for transverse microtubule orientation in the above cells is that cell bodies continue to elongate, while root hairs emerge at the same time. This simultaneous occurrence of two cell growth patterns, i.e diffuse growth and tip growth in the same cell, is novel.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΞΩΣΚΕΛΕΤΟΥ ΚΑΒΟΥΡΙΩΝ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Κατσικίνη Μαρία<sup>1</sup>, Πρώιου Ελένη<sup>1</sup>, Πινακίδου Φανή<sup>1</sup>, Brzhezinskaya Maria<sup>2</sup>, Βες Σωτήριος<sup>1</sup>, Παλούρα Ελένη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Φυσικής-Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,

<sup>2</sup>BESSY Storage Ring- Helmholtz Zentrum Berlin, 12489 Berlin

Το χρώμα και οι δομικές μεταβολές του εξωσκελετού των καβουριών *Callinectes sapidus* και *Callinectes granulata* μελετήθηκαν με τη χρήση φασματοσκοπικών μεθόδων. Ο εξωσκελετός των μαλακόστρακων αποτελείται από χιτίνη και ανόργανες φάσεις, κυρίως του  $\text{CaCO}_3$ . Η δομή αυτή είναι καθοριστική για τις μηχανικές του ιδιότητες. Ο εξωσκελετός συχνά χαρακτηρίζεται από έντονο χρωματισμό που οφείλεται σε πρωτεΐνες οι οποίες ενσωματώνουν το χρωμοφόρο καροτενοειδές ασταξανθίνη (AXT). Η φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων Χ (XRF) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της αναλογίας Sr/Ca και Br/Ca ενώ η φασματοσκοπία λεπτής υψής απορρόφησης ακτίνων Χ (XAFS) παρέιχε το δεσμικό περιβάλλον των Br, Sr και Ca. Η φασματοσκοπία Raman εφαρμόστηκε για τη μελέτη της AXT και των δομικών μεταβολών του  $\text{CaCO}_3$ . Συνδυασμός των φασμάτων XRF και Raman έδειξε ότι το Br απαντάται μόνο στις έγχρωμες περιοχές της δαγκάνας του *C. sapidus* όπου και ανιχνεύθηκε η χρωμοφόρος πρωτεΐνη. Από την ανάλυση XAFS στην ακμή K του Br προέκυψε ότι το Br δεσμεύεται σε βενζολικούς δακτυλίους, πιθανότατα της χρωμοπρωτεΐνης. Η συνδυασμένη ανάλυση των φασμάτων Raman και XAFS της ακμής K του Sr, έδειξε ότι το Sr υποκαθιστά το Ca και ότι φάσεις ναοκρυσταλλικού ασβεστίτη και αραγωνίτη κυριαρχούν αντίστοιχα στον δάκτυλο και την παλάμη της δαγκάνας του *C. Sapidus*. Στην παλάμη συνυπάρχει και μια φάση άμορφου ανθρακικού ασβεστίου (ACC). Η διαφοροποίηση των βιοανόργανων φάσεων αποδίδεται στην απαίτηση για βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες στα άκρα της δαγκάνας. Η αναλογία εντάσεων των εντονότερων κορυφών Raman της AXT και του  $\text{CaCO}_3$  χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση της AXT στον εξωσκελετό του *C. granulata*. Συνεισφορές ναοκρυσταλλικού ασβεστίτη και ACC ανιχνεύθηκαν και σε αυτό το είδος και η αναλογία τους προσδιορίστηκε σε διάφορα σημεία του εξωσκελετού. Τέλος, τα φάσματα XAFS της L3,2 ακμής του Ca είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα της φασματοσκοπίας Raman καθώς η διεύρυνση των κορυφών XAFS σχετίζεται με τη συνύπαρξη της ACC φάσης.

## STUDY OF CRAB EXOSKELETONS BY MEANS OF SPECTROSCOPIC TECHNIQUES

**Katsikini Maria<sup>1</sup>, Proiou Eleni<sup>1</sup>, Pinakidou Fani<sup>1</sup>, Brzhezinskaya Maria<sup>2</sup>, Ves Sotirios<sup>1</sup>, Paloura Eleni<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*School of Physics - Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, BESSY*

<sup>2</sup>*Storage Ring - Helmholtz Zentrum Berlin*

The colour and structural variations of the exoskeleton of the *Callinectes sapidus* and the *Calappa granulata* crabs were studied using spectroscopic methods. The exoskeleton of crustaceans consists of chitin biopolymers and inorganic biominerals, mainly CaCO<sub>3</sub>, which determine its mechanical properties. It also exhibits vivid colouration caused by the presence of proteins that trap the astaxanthin (AXT) carotenoid chromophore. X-ray Fluorescence (XRF) spectroscopy was used for the determination of the Sr/Ca and Br/Ca mass ratios, whereas X-ray Absorption Fine Structure (XAFS) spectroscopy provided the bonding configurations of the Br, Sr and Ca atoms. Raman spectroscopy was applied for the study of the AXT chromophore and the structural variations of the CaCO<sub>3</sub> biomineral. Combined analysis of the XRF and Raman spectra indicated that Br is present only in the stained parts of the *C. sapidus* claw, where the chromo-protein was also detected. Analysis of the Br K-edge XAFS spectra revealed that Br is bonded to benzene rings most probably of the chromo-protein amino acid residues. The Sr K-edge XAFS and Raman analysis, revealed that Sr substitutes for Ca in the carbonate biomineral. Nano-crystalline calcite and aragonite phases prevail in the finger and the palm of the *C. sapidus* claw, respectively. In the latter case, an amorphous calcium carbonate (ACC) phase is found to coexist with the nano-crystalline one. The variations in the biomineralization in the fingers of the claw are attributed to the necessity for improved mechanical properties close to its tip. The relative intensity of the main AXT and CaCO<sub>3</sub> Raman peaks was used for the quantification of the AXT chromophore at the *C. granulata* exoskeleton. Nano-crystalline calcite and ACC contributions were also detected and their relative concentration was also determined. The Ca L<sub>3,2</sub> edge XAFS spectra were consistent with the Raman findings as the XAFS peak broadening is related to the coexistence of the ACC phase.

## **ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗΣ - Α (BPA) ΜΕ ΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΙ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΤΗΣ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑΣ ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)**

**Κατσούλας Αντώνης<sup>1</sup>, Τουράκη Μαρία<sup>2</sup>, Κορμάς Κωνσταντίνος<sup>3</sup>, Αντωνοπούλου Ευθυμία<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,

<sup>2</sup>Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,

<sup>3</sup>Εργαστήριο Μικροβιακών Κοινοτήτων και Ενδολιθιολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>4</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η Δισφαινόλη - Α, ανθρωπογενής ρύπος με δράση ενδοκρινικού διαταράκτη και δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία των οργανισμών, εισέρχεται στον οργανισμό μέσω δερματικής επαφής ή διατροφής. Συγκεκριμένα βακτήρια έχουν τη δυνατότητα επιβίωσης παρουσία BPA και μεταβολισμού της. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η διερεύνηση *in vitro* της δυνατότητας επιβίωσης του μικροβιώματος εντέρου και κοπράνων της ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) παρουσία BPA, αλλά και η πιθανότητα μεταβολισμού της από αυτά τα βακτήρια. Μετά τη συλλογή δειγμάτων από άτομα πέστροφας, κάθε δείγμα καλλιεργήθηκε σε μέσο ανόργανων αλάτων που περιείχε BPA (50 µg/mL) με συμπλήρωμα 0,1% (w/v) εκχύλισμα ζύμης, σε θερμοκρασίες 13°C και 37°C. Δείγματα υπερκειμένου καλλιέργειας συλλέχθηκαν στις 0, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 και 96 ώρες, φυγοκεντρήθηκαν, διηθήθηκαν (0.45 µm) και αναλύθηκαν με HPLC, με την η-οκτυλφαινόλη ως εσωτερικό πρότυπο. Μετά το πέρας του πειράματος συλλέχθηκαν κύτταρα, τα οποία υποβλήθηκαν σε ομογενοποίηση, εκχύλιση σε στερεή φάση και HPLC ανάλυση. Η αποικοδόμηση της BPA ήταν εμφανής σε όλα τα δείγματα, με σημαντικές όμως διαφορές, να παρουσιάζονται τόσο μεταξύ θερμοκρασιών όσο και μεταξύ βιολογικών δειγμάτων (κόπρανα, έντερα). Διερευνήθηκε η παρουσία των 4-υδροξυ ακετοφαινόνη (HAP), 4-υδροξυ βενζοϊκό οξύ (HBA), υδροκινόνη (HQ) και 4-ισο-προπενυλφαινόλη (4-ISO), που αποτελούν ενδιάμεσα μεταβολικών μονοπατιών βακτηρίων. Τακτοποιήθηκε βάσει χρόνου έκλυσης και φάσματος απορρόφησης, ο μεταβολίτης 4-ISO σε δείγματα εντέρου στους 37°C από 0 έως 24 ώρες, με τη συγκέντρωσή του να είναι χρόνο-εξαρτώμενη, και η HAP σε δείγματα εντέρου και περιττωμάτων στους 13°C και στους 37°C, από 0 έως 96 ώρες. Τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν ότι μέλη του μικροβιώματος της πέστροφας έχουν όχι μόνον τη δυνατότητα επιβίωσης με τη BPA ως μοναδική πηγή άνθρακα αλλά και μεταβολικής τροποποίησης της με τρόπο εξαρτώμενο από τη θερμοκρασία και το χρόνο καλλιέργειας.

## **BISPHENOL-A INTERACTIONS WITH THE GUT AND FECES MICROBIOME OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)**

**Katsoulas Antonis<sup>1</sup>, Touraki Maria<sup>2</sup>, Kormas Konstantinos<sup>3</sup>, Antonopoulou Efthimia<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup>Laboratory of General Biology Aristotle University of Thessaloniki

<sup>3</sup>Laboratory of Microbial Communities and Habitats in Aquatic Environments University of Thessaly

<sup>4</sup>Laboratory of Animal Physiology Aristotle University of Thessaloniki

Bisphenol-A (BPA) an anthropogenic pollutant with endocrine disrupting effects and adverse impacts on the health of organisms, enters the body through dermal contact or nutrition. Specific species bacteria appear to have the ability of survival in the presence of BPA and of its metabolic alteration. The purpose of this study was to investigate, *in vitro*, the survival of gut and feces microbiome of the freshwater fish *Oncorhynchus mykiss*, in the presence of BPA and also the possibility of its metabolism by these bacteria. After collecting samples from the rainbow trout, each sample was cultured on mineral salts medium containing BPA (50 µg/mL) supplemented with 0.1% (w/v) yeast extract at temperatures of 13°C and 37°C. Culture supernatant aliquots were collected at 0, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 and 96 hours, centrifuged, filtered (0.45 µm) and analyzed with HPLC, using n-Octylphenol as the internal standard. Cells were collected at the end of the experiment (96h) and subjected to homogenization, solid phase extraction and HPLC analysis. Although BPA degradation was evident in all samples, significant differences were observed, both between temperatures as well as between biological samples (feces, gut). The presence of 4-hydroxy acetophenone (HAP), 4-hydroxy benzoic acid (HBA), Hydroquinone (HQ) and 4-iso-propenylphenol (4-ISO) were investigated as intermediates in metabolic pathways of bacteria. Based on elution time and absorption spectrum, the metabolite 4-ISO was identified, only in gut samples at 37°C from 0 to 24h with its concentration being time-dependent, while HAP was detected in gut and feces samples at both temperatures, from 0 to 96 hours. Our results demonstrate that members of the rainbow trout microbiome (gut, feces) have not only the ability of survival when BPA acts as the sole carbon source but also of its metabolic modification in a temperature-dependent and time-dependent manner.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΠΝΟΥ ΤΟΥ ΤΣΙΓΑΡΟΥ ΣΤΗΝ ΑΓΧΩΔΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΜΥΩΝ**

**Καφαντόγιας Βασίλειος<sup>1</sup>, Κανελλόπουλος-Κοτσώνης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Τσίληρας Θεοφάνης<sup>1</sup>, Ατσοπάρδη Κορίνα<sup>2</sup>, Πουλάς Κωνσταντίνος<sup>2</sup>, Μαργαρίτη Μαριγούλα<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Ρίο, Ελλάδα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας και Ανοσολογίας, Φυσιολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Ρίο, Ελλάδα

Μελέτες συσχέτισης του καπνίσματος με το άγχος και την κατάθλιψη επιδεικνύουν ποικίλα αποτελέσματα. Λαμβάνοντας υπ όψη την επίδραση του χολινεργικού συστήματος στην αγχώδη συμπεριφορά, σκοπός της εργασίας είναι να διερευνηθεί η επίδραση του καπνού του τσιγάρου στην αγχώδη συμπεριφορά και στην ενεργότητα των δύο ισομορφών (G1 & G4 / έχουν ιδιαίτερη σημασία στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα) της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) εγκεφαλικών περιοχών ενηλίκων αρσενικών μυών. Οι μύες χωρίστηκαν σε 3 ομάδες: α) ομάδα μαρτύρων, β) ομάδα που εκτέθηκε σε 1 τσιγάρο και γ) ομάδα που εκτέθηκε σε 2 τσιγάρα. Η έκθεση πραγματοποιήθηκε σε ειδική συσκευή με έκθεση ολόκληρου του σώματος στον καπνό των τσιγάρων. Ο συμπεριφορικός δείκτης άγχος/φόβος ερευνήθηκε με τη δοκιμασία ανοιχτού πεδίου όπου καταμετρήθηκε ο χρόνος θιγμοκτισμού για 10 min. Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αύξηση του χρόνου θιγμοτακτισμού μόνο στην ομάδα που είχε εκτεθεί στον καπνό 2 τσιγάρων. Στη συνέχεια οι μύες θυσιάστηκαν και απομονώθηκαν οι εγκεφαλικές περιοχές (κεντρικά ημισφαίρια, παρεγκεφαλίδα & υπόλοιπος εγκέφαλος). Στις ανωτέρω περιοχές προσδιορίστηκε η ενεργότητα των G1 και G4 ισομορφών της AChE με τη χρωματομετρική μέθοδο του Ellman. Η έκθεση στον καπνό 2 τσιγάρων προκάλεσε στατιστικώς σημαντική μείωση μόνο στην ενεργότητα της G4 ισομορφής της AChE σε όλες τις υπό μελέτη εγκεφαλικές περιοχές. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι μόνο η έκθεση των μυών στον καπνό 2 τσιγάρων είχε επίδραση τόσο στη συμπεριφορά με πρόκληση αγχογένεσης όσο και στην G4 ισομορφής της AChE μειώνοντας την ενεργότητα της σε όλες τις υπό μελέτη εγκεφαλικές περιοχές. Επιπλέον μελέτες απαιτούνται για τη διερεύνηση των αποτελεσμάτων.

## **EFFECT OF CIGARETTE SMOKE ON THE ANXIETY AND ON ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY OF ADULT MALE MICE**

**Kafadogias Basileios<sup>1</sup>, Kanellopoulos-Kotsonis Konstantinos<sup>1</sup>, Tsiliras, Theofanis<sup>1</sup>,  
Atsopardi Korina<sup>2</sup>, Poulas Konstantinos<sup>2</sup>, Margarity Marigoula<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras, 26504, Rio, Greece

<sup>2</sup>Laboratory of Molecular Biology and Immunology, Department of Pharmacy, University of Patras, Rio 26504, Greece

Studies on the correlation of smoking with anxiety and depression show various results. Considering the effect of the cholinergic system on anxiety behavior, the aim of the study is to investigate the effect of conventional cigarette smoke on anxiety behavior and on the activity of two acetylcholinesterase's isoforms (AChE) (G1 & G4 / are of particular importance in the central nervous system) in brain regions of adult male mice. Mice divided into 3 groups, control group, group that exposed to 1 cigarette and group that exposed to 2 cigarettes. The exposure was carried out in a unique smoking device with whole body exposure in cigarette smoke. The anxiety behavior assessed using the open field test by measuring, in a 10 min task, the time mice spent remained close to the walls of the open field apparatus (thigmotaxis time) was investigated. The results showed a statistically significant increase in thigmotaxis time only in the group that exposed to smoke of 2 cigarettes. Subsequently, the mice were sacrificed and specific brain regions (central hemispheres, cerebellum & remain brain) were isolated. The activity of G1 and G4 isoforms of AChE was determined, in both salt-soluble and detergent-soluble fraction respectively, by using Ellman's colorimetric method. In conclusion, the results show that muscle exposure in smoke of 2 cigarettes affected both their behavior with anxiety induction and only the G4 isoform of AChE by reducing its activity in all of the underlying brain regions. The results revealed induction of anxiety and reduction of activity of G4 isoform of AChE only after the 2 cigarettes smoke exposure. Additional studies are required to investigate the results.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΔΕΙΚΤΩΝ STRESS ΣΤΟ ΔΙΘΥΡΟ ΜΑΛΑΚΙΟ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΔΙΚΛΟΦΕΝΑΚΗ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ (ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ *TISOCHRYSIS LUTEA*)**

**Κλουκινιώτη Μαρία και Νταϊλιάνης Στέφανος**

*Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ζωολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα*

Η παρούσα μελέτη διερευνά την απόκριση δεικτών stress στο δίθυρο μαλάκιο *Mytilus galloprovincialis*, μετά από έκθεση σε Δικλοφαινάκη (Diclofenac ή DCF), υπό συνθήκες διατροφής (χορήγηση του μικροφύκου *Tisochrysis lutea*) και ασιτίας. Σε άτομα που εκτέθηκαν για 4 ημέρες σε DCF συγκέντρωσης 20 µg/L, απουσία και παρουσία τροφής ( $4 \times 10^6$  κύτταρα/L *Tisochrysis lutea*), προσδιορίστηκαν η μείωση της ικανότητας παραμονής των μυδιών στην ατμόσφαιρα (stress on stress technique), η σταθερότητα των λυσοσωμικών μεμβρανών (τεχνική Neutral Red Retention Time/NRRT), τα επίπεδα των σουπεροξειδικών ανιόντων ( $O_2^{\cdot-}$ ), οξειδίων του αζώτου (με τη μορφή  $NO_2^-$ ) και της υπεροξειδωσής των μεμβρανικών λιπιδίων (ισοδύναμα μηλονικής διαλδεύδης/MDA), καθώς και οι συχνότητες εμφάνισης μικροπυρήνων (τεχνική MN assay) στα αιμοκύτταρα/αιμόλεμφο. Αντίστοιχα, προσδιορίστηκε ο αριθμός των κυττάρων, ο ρυθμός ανάπτυξης (µ, growth rate) και το ποσοστό αναστολής της ανάπτυξης (% inhibition rate) του μικροφύκου, μετά από έκθεση σε DCF (0.005-20 µg/L) για διάστημα 24-72h. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι περιβαλλοντικά ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις DCF δεν φαίνεται να επηρεάζουν το ρυθμό ανάπτυξης του μικροφύκου, γεγονός που υποδεικνύει την ύπαρξη διαθέσιμης τροφής για τα εκτιθέμενα άτομα καθ' όλη τη διάρκεια της έκθεσης. Επιπλέον, άτομα που εκτέθηκαν σε DCF παρουσία ή απουσία τροφής έδειξαν μειωμένη ικανότητα επιβίωσης στην ατμόσφαιρα, καθώς και μειωμένες τιμές NRRT σε κάθε περίπτωση. Αντίθετα, η χορήγηση τροφής με τη μορφή του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* φαίνεται να ενίσχυσε την ανθεκτικότητα των ατόμων έναντι των οξειδωτικών και γενετοξικών επιπτώσεων του DCF. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι τόσο το είδος και η ποσότητα της διαθέσιμης διατροφής, όσο και ρυθμός τροφοληψίας των δίθυρων μαλακίων παίζουν καθοριστικό ρόλο στην απόκρισή τους έναντι των οξειδωτικών και γενετοξικών επιπτώσεων που μπορεί να επιφέρουν περιβαλλοντικά ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις φαρμακευτικών ουσιών, όπως η DCF.

## **INVESTIGATION OF STRESS INDICES IN HEMOLYMPH OF MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*, AFTER EXPOSURE TO DICLOFENAC: THE ROLE OF STARVATION AND/OR NUTRITION (FEEDING WITH *TISOCHRYSIS LUTEA*)**

**Kloukinioti Maria and Dailianis Stefanos**

*Division of Animal Biology, Lab of Zoology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500, Patras, Greece*

The present study investigates cytotoxic, oxidative and genotoxic stress indices on the bivalve mollusc *Mytilus galloprovincialis*, after exposure to diclofenac (DCF; nonsteroidal anti-inflammatory drug/NSAID) as well as the role of starvation and nutrition (feeding with the algal species *Tisochrysis lutea*) on the obtained results. Specifically, mussels' ability to survive in air (stress on stress method), hemocytes' lysosomal membrane stability (in terms of Neutral Red Retention Time/RRRT assay), the production of both superoxide anions ( $O_2^{\cdot-}$ ) and nitric oxides (NO, in terms of nitrites), lipid peroxidation (in terms of malondialdehyde/MDA content) and the formation of nuclear abnormalities (MN assay) were assessed in hemocytes/hemolymph of mussels exposed for 4 days to 20  $\mu\text{g/L}$  of DCF with or without feeding ( $4 \times 10^6$  cells/L *Tisochrysis lutea*). In parallel, 72h algal bioassay (i.e. cell number, growth rate/p and inhibition rate/ %) was performed for estimating DCF (at concentrations ranged from 0.005 to 20  $\mu\text{g/L}$ ) ability to inhibit algal growth. According to the results, environmentally relevant concentrations of DCF caused negligible alterations in algal growth rates, thus verifying the nutritional status of mussel during the experimental procedure. Moreover, DCF-treated mussels with or without feeding showed low ability to survive in air as well as low RRRT values, compared to those occurred in DCF-free mussels in any case. On the contrary, mussels fed daily with *Tisochrysis lutea* were seemed to be less vulnerable to DCF-mediated effects, compared to non-fed challenged mussels. Those findings revealed that mussels' nutrition and feeding rate, as well as the type of nutrition (i.e. algae species) could regulate mussels' response against bioavailable NSAIDs, like DCF, thus mediating DCF oxidative and genotoxic potential against non-target aquatic species.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΔΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Κολέτσου Έλλη, Μπαλούκα Ευανθία, Ράθωση Μαρίνα, Κιούση Ευγενία Δέσποινα, Χονδρού Πελαγία, Γαλάνης Αλέξης\***

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη*

Προβιοτικοί ορίζονται οι ζωντανοί μικροοργανισμοί οι οποίοι συνεισφέρουν ευεργετικά στην υγεία του ξενιστή, όταν χορηγηθούν σε επαρκείς συγκεντρώσεις. Η πλειοψηφία αυτών ανήκουν στο γένος *Lactobacillus*. Πρωταρχικές *in vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι δύο στελέχη λακτοβάκιλλων, τα *L. plantarum* L125 και *L. pentosus* L33, έχουν αξιόλογο προβιοτικό δυναμικό. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο χαρακτηρισμός των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών δράσης τους και η περαιτέρω αξιολόγηση του προβιοτικού τους δυναμικού. Για το σκοπό αυτό αρχικά πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αντι-πολλαπλασιαστικής τους δράσης σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου, μετά από επίδραση τόσο με ζωντανούς μικροοργανισμούς όσο και με το θρεπτικό μέσο ανάπτυξης τους, σε δύο συγκεντρώσεις και σε δύο διαφορετικούς χρόνους επίδρασης. Η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε είναι η SRB assay (Sulforhodamine B), η οποία βασίζεται στην ικανότητα της χρωστικής SRB να προσδένεται ηλεκτροστατικά στις πρωτεΐνες του κυττάρου και με αυτό τον τρόπο, να γίνεται προσδιορισμός της κυτταρικής τους πυκνότητας. Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας SRB έδειξαν τόσο δόσο- όσο και χρονο-εξαρτώμενη μείωση της επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων. Επιπροσθέτως, η κυτταροτοξική δράση των προβιοτικών στελεχών επιβεβαιώθηκε περαιτέρω μέσω της δοκιμασίας σχηματισμού αποικιών (Colony Formation Assay) μετά από επίδραση στα καρκινικά κύτταρα με το θρεπτικό μέσο ανάπτυξής τους για 48 ώρες.

## **STUDY OF THE ANTIPROLIFERATIVE EFFECT OF POTENTIALLY PROBIOTIC MICROORGANISMS IN HUMAN COLON CANCER CELLS**

**Koletsou Ellie, Mpalouka Evanthia, Rathosi Marina, Kioussi Despina-Evgenia, Chondrou Pelagia, Galanis Alex\***

*Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Health Sciences, Democritus University of Thrace*

Probiotics are defined as live microorganisms that when administrated in adequate amounts confer health benefits to the host. *Lactobacillus* represents the most common species. Preliminary in vitro studies have shown that two strains, *Lactobacillus plantarum* L125 and *L. pentosus* L33 possess considerable probiotic potential. The aim of this study was to further investigate the probiotic potential of the two strains and characterize the molecular and cellular pathways involved. Firstly, to evaluate the antiproliferative potential of the two strains, colon cancer cells were treated with viable cells as well as with the conditioned media of the microorganisms in two different concentrations and two time points. To this end, Sulforhodamine B assay (SRB) was employed, which is based on the ability of the SRB dye to bind electrostatically to cellular proteins, thus allowing the determination of cell number and density. The results showed a dose- and time-dependent reduction in the survival of cancer cells. The cytotoxic effects were further confirmed by colony formation assay.

## **ΒΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΣΟΥΠΙΑΣ, *SEPIA OFFICINALIS*, ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΙΚΟ ΚΟΛΠΟ**

**Κομπογιάννη Ειρήνη-Φωτεινή, Χρησιτίδης Γεώργιος, Συμεωνίδου Ξένη, Αντωνιάδου Χρυσάνθη, Βουλτσιάδου Ελένη, Καρύδας Θεοφάνης, Χιντήρογλου Χαρίτων-Σαρλ, Γκάνιας Κωνσταντίνος**

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Η κοινή σουπιά, *Sepia officinalis* L. 1758, είναι ένα από τα πιο άφθονα είδη Κεφαλόποδων στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου και ταυτόχρονα έχει μεγάλη εμπορική σημασία. Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες με σκάφος παράκτια αλιείας χρησιμοποιώντας μανωμένα δίχτυα σε επιλεγμένες περιοχές του Θερμαϊκού κόλπου, όπου η σουπιά αποτελεί σημαντικό αλίευμα. Οι δειγματοληψίες έλαβαν χώρα κατά την κύρια αλιευτική περίοδο της σουπιάς στην παράκτια αλιεία (μέσα Χειμώνα - Άνοιξη) σε εύρος βάθους 5-7 m. Στα άτομα που αλιεύθηκαν εξετάστηκαν στοιχεία τόσο της εξωτερικής, όσο και της εσωτερικής μορφολογίας τους. Συγκεκριμένα, καταγράφηκαν το φύλο, το μήκος μανδύα, το πλάτος μανδύα, το μήκος πτερυγίου, το ολικό βάρος, το βάρος της γονάδας και των ωκολλαγόνων αδένων για τα θηλυκά, η πληρότητα του στομάχου και το στάδιο αναπαραγωγικής ωριμότητας. Η αναλογία φύλου (θηλυκά/αρσενικά) στα άτομα που αλιεύθηκαν ήταν 0,86 εκ των οποίων τα αρσενικά είχαν μέσο μήκος μανδύα 136,2 mm και τα θηλυκά 137,33 mm και η διαφορά τους δεν ήταν στατιστικά σημαντική (t-test,  $p > 0.1$ ). Όσον αφορά τα στάδια αναπαραγωγικής ωριμότητας, κανένα άτομο δεν κατηγοριοποιήθηκε ως ανώριμο καθώς οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν κατά την έναρξη της αναπαραγωγικής τους περιόδου. Άλλωστε, όπως είναι γνωστό, η σουπιά για να αναπαραχθεί μεταναστεύει σε ρηχά νερά, όπου έγινε και η χρήση του αλιευτικού εργαλείου. Επίσης, με την άνοδο της θερμοκρασίας τον Μάρτιο παρατηρήθηκε αύξηση των αρσενικών ατόμων που βρίσκονταν σε τελικό στάδιο ωριμότητας.

## **BIOMETRIC ANALYSIS AND BIOLOGY OF THE CUTTLEFISH *SEPIA OFFICINALIS* IN THERMAIKOS GULF**

**Kompogianni Eirini-Foteini, Christidis Georgios, Simeonidou Xeni, Antoniadou Chrysanthi, Voultsiadou Eleni, Karidas Theofanis, Chintiroglou Chariton-Sarl, Ganias Konstantinos**

*Division of Zoology, Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki*

The common cuttlefish, *Sepia officinalis* L. 1758, is one of the most abundant cephalopod species in the Mediterranean Sea and, in addition, it is of great commercial importance. Samplings were carried out with a small-scale fishing vessel using trammel nets, in selected areas in Thermaikos Gulf, where the cuttlefish consists an important catch. The samplings were carried out during the main cuttlefish fishing period in the small-scale fisheries (mid-winter - spring) in depth range 5-7 m. Features of the external and the internal morphology of the individuals collected were examined. Specifically, the sex, the mantle length, the mantle width, the fin length, the total weight, the gonad weight and, on the females, the nidamental gland weight, the stomach fullness and the maturity stage were recorded. The sex ratio (females/males) on the individuals collected was 0.86 and, moreover, the male individuals had mean mantle length 136.2 mm and the female 137.33 mm, without a statistically significant difference (t-test,  $p>0.1$ ). Concerning the maturity stages, as the samplings were carried out at the beginning of the cuttlefish reproductive period, none of the individuals was identified as immature. Besides, as it has been widely observed, cuttlefish in order to reproduce migrate in shallow waters, where the fishing gear was used. Furthermore, with the increase of the temperature in March, an increase in the number of the male individuals in the final stage of maturity was observed.

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ MELPHALAN ΕΠΙ ΤΗΣ ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΟΣ**

**Κορακάκη Δήμητρα, Ασημακόπουλος Βύρων, Νικολέττος Νικόλαος, Φυσέκης Ιωάννης, Ξάνθης Βασίλειος**

*Εργαστήριο Νευροφυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Το Melphalan είναι χημειοθεραπευτικό φάρμακο που ανήκει στην κατηγορία αλκυλιωτικών παραγόντων. Πρόκειται για την πλέον χρησιμοποιούμενη ομάδα ενώσεων με εφαρμογή σε ευρεία γκάμα νεοπλασματικών ασθενειών. Ο βασικός μηχανισμός δράσης του Melphalan είναι η αλκυλίωση των βάσεων του DNA μέσω πυρηνόφιλης υποκατάστασης και ο σχηματισμός σταυροδεσμών μεταξύ αντιπαράλληλων κλώνων, με αποτέλεσμα την ανικανότητα του κυττάρου για μεταγραφή και αντιγραφή του DNA, που έχει ως συνέπεια την αδυναμία πολλαπλασιασμού. Η παρούσα μελέτη διερεύνησε *in vitro* την επίδραση του Melphalan σε κύτταρα γλοιοβλαστώματος.

Κύτταρα γλοιοβλαστώματος της κυτταρικής σειράς U87MG, καλλιεργήθηκαν με ή χωρίς την παρουσία του Melphalan σε δυο διαφορετικά θρεπτικά μέσα, στο DMEM F12 και στο DMEM High Glucose. Η σημαντικότερη διαφορά μεταξύ αυτών των δύο θρεπτικών είναι η περιεκτικότητα τους σε γλυκόζη (το DMEM F12 περιέχει 3,15g/l D-glucose και το DMEM High Glucose περιέχει 4,5g/l). Η ζωτικότητα και ο αριθμός των κυττάρων ανά καλλιέργεια μελετήθηκε μετά από 48h επίδραση τριών διαφορετικών συγκεντρώσεων Melphalan: 0,1μM, 1μM & 100μM. Ο αριθμός των κυττάρων εκτιμήθηκε με κυτταρόμετρο Neubauer και η ζωτικότητα με χρήση εωσίνης- νιγκροζίνης. Αποτελέσματα Το Melphalan προκάλεσε μια δόσο-εξαρτώμενη μείωση στον αριθμό των κυττάρων γλοιοβλαστώματος U87MG και σε μικρότερο βαθμό μείωση στα ποσοστά ζωτικότητας. Επιπλέον μεταξύ των κυτταροκαλλιιεργειών, στο θρεπτικό με την υψηλή περιεκτικότητα γλυκόζης, παρατηρήθηκε μικρότερη μείωση στα ποσοστά ζωτικότητας και στον τελικό αριθμό των κυττάρων σε σύγκριση με το θρεπτικό με την χαμηλότερη περιεκτικότητα γλυκόζης. Συμπέρασμα Το χημειοθεραπευτικό φάρμακο Melphalan είναι αποτελεσματικό στη μείωση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων γλοιοβλαστώματος U87MG με δόσο-εξαρτώμενο τρόπο. Τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο καλλιιεργητικό μέσο φαίνεται να ευνοούν την ανάπτυξη των κυττάρων γλοιοβλαστώματος U87MG.

## **EFFECT OF MELPHALAN ON THE VITALITY OF GLIOBLASTOMA**

**Korakaki Dimitra, Asimakopoulos Byron, Nikolettos Nikolaos, Fysekis Ioannis, Xanthis Vasileios**

*Laboratory of Neurophysiology, Faculty of Medicine, School of Health Sciences, Democritus University of Thrace*

Melphalan is chemotherapeutic drug that belongs to the category of alkylating agents. It is the most commonly used group of compounds that can be applied to a wide range of neoplastic diseases. The primary mechanism of action of Melphalan is the alkylation of DNA bases by nucleophilic substitution and cross-linking between antisense strands, resulting in the cell's inability to transcribe and replicate DNA, resulting in weakness multiplication. In this study the effect of Melphalan on glioblastoma cells in vitro is investigated.

Glioblastoma cells of the U87MG cell line were cultured with or without the presence of Melphalan in two different media, DMEM F12 and DMEM High Glucose. The most important difference between these two nutrients is their glucose content (DMEM F12 contains 3.15 g/l D-glucose and DMEM High Glucose contains 4.5 g/l). The vitality and number of cells per culture were studied after 48h treatment with three different concentrations of Melphalan: 0.1  $\mu$ M, 1 $\mu$ M & 100 $\mu$ M. The number of cells was evaluated with a Neubauer cytometer and vitality was evaluated by eosin-nigrosine staining. Results Melphalan caused a dose-dependent decrease in the number of U87MG glioblastoma cells and to a lesser extent a decrease in vitality rates. In addition, between cell cultures, in the nutrient with the high glucose content, less reduction in vitality and final cell count was observed compared to the lower glucose nutrient. Conclusion The chemotherapy drug Melphalan is effective in reducing the proliferation of U87MG glioblastoma cells in a dose-dependent way. Increased glucose levels in the culture medium appear to favor the growth of U87MG glioblastoma cells.

## **ΣΥΝΕΡΓΑΤΙΚΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΣΥΜΒΑΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ A22 HYDROCHLORIDE ΣΕ ΠΟΛΥ-ΑΝΘΕΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ**

**Κοτζιαλάμπου Αναστασία, Σιβροπούλου Αφροδίτη**

*Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα*

Η εξάπλωση πολύ-ανθεκτικών παθογόνων προκαλεί ανησυχία στη χημειοθεραπεία των βακτηριακών λοιμώξεων. Σήμερα, η εύρεση νέων αντιμικροβιακών παραγόντων και η μελέτη της αλληλεπίδρασης τους με υπάρχοντα αντιβιοτικά κρίνεται επιτακτική. Στην παρούσα έρευνα αξιολογήθηκε η αντιμικροβιακή δράση του χημικού παράγοντα A22 hydrochloride σε πολύ-ανθεκτικά κλινικά απομονωμένα στελέχη *Escherichia coli*- *Pseudomonas aeruginosa* (n=40) και προσδιορίστηκε πιθανή συνεργαστική ή ανταγωνιστική αλληλεπίδραση του με αντιβιοτικά. Η αλληλεπίδραση μελετήθηκε με την τεχνική της σκακιάρας και με καμπύλες κυτταρικού θανάτου. Σε επίπεδο φαρμακοδυναμικής προσδιορίστηκε η παράμετρος της μετά- αντιβιοτικής δράσης (PAE) και τέλος αξιολογήθηκε η δράση του A22/αντιβιοτικών στο σχηματισμό και τη βιωσιμότητα βακτηριακού βιοφίλμ. Το A22 επέδειξε ισχυρή βακτηριοκτόνο δράση με συγκεντρώσεις MIC 2-64 µg/ml και δεν εμφάνισε ανταγωνιστική σχέση με καμία κατηγορία αντιβιοτικών. Οι τιμές FICI επέδειξαν συνέργεια του A22 με κεφοξιτίνη, κεφταζιδίμη, μεροπενέμη, κολιστίνη και αζιθρομυκίνη με υποτετραπλασιασμό της MIC και προσθετική σχέση με αμικιλίνη, σιπροφλοξασίνη και αμικασίνη. Οι καμπύλες θανάτου επιβεβαίωσαν ότι στους συνδυασμούς συνέργειας παρατηρήθηκε μείωση τριών δεκαδικών λογαρίθμων των ζώντων κυττάρων σε σχέση με το πιο αποτελεσματικό αντιβιοτικό. Το A22 και η αζιθρομυκίνη χωριστά παρουσίασαν μετά- αντιβιοτική δράση 3 ωρών ενώ ο συνδυασμός τους αύξησε το χρόνο σε 5 ώρες. Στελέχη με ικανότητα σχηματισμού ισχυρού βιοφίλμ παρουσία A22 αδυνατούν να προσκολληθούν και η ιδιότητα αυτή ενισχύεται παρουσία αζιθρομυκίνης και αμικασίνης. Το A22 παρουσίασε υψηλή ανασταλτική και βακτηριοκτόνο δράση σε βακτηριακό βιοφίλμ 24 ωρών σε συγκέντρωση 2xMIC τη στιγμή που σε συνδυασμό με αζιθρομυκίνη και αμικασίνη ίδια δράση παρατηρήθηκε σε συγκέντρωση 1xMIC. Τα παραπάνω υποδεικνύουν συνεργατική δράση του A22 με διάφορα αντιβιοτικά και αποτελούν τη βάση για περαιτέρω διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης του.

## **SYNERGISTIC EFFECTS BETWEEN CONVENTIONAL ANTIBIOTICS AND A22 HYDROCHLORIDE AGAINST MULTI-DRUG RESISTANT PATHOGENS**

**Kotzialampou Anastasia, 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*

The emergence of multi-drug-resistant pathogens provoked serious concern regarding the chemotherapy of bacterial infectious diseases. Therefore, the need for find novel antimicrobial agents and the study of their interactions with other antibiotics is imperative today. The present work focused on antimicrobial activity of the novel antimicrobial compound A22 hydrochloride alone or in combination with various antibiotics against clinical multi-drug resistant pathogens including *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* strains (n=40). To assess the interaction between A22 and antibiotics checkerboard susceptibility assays combined with killing kinetics studies were performed. In addition, the effect of A22 alone or in combination, on the pharmacodynamic parameter of PAE was determined and measurements of the antiadhesive and bactericidal activity on biofilms were performed. It was estimated, that A22 inhibited the bacterial growth with MICs varying from 2 µg/ml to 64 µg/ml. The combination experiments suggest synergy between A22 and cefoxitin, ceftazidime, meropenem, colistin and azithromycin as a 4-fold reduction in MIC was observed. Additive effect was determined between A22 and ampicillin, ciprofloxacin and amikacin. No antagonism was observed. Time-kill studies showed that the synergistic combinations lead to a 3-log reduction of cfu's with respect to the most potent antibiotic. Measurable PAE (Post Antibiotic Effect) of A22 or azithromycin alone was 3 hours, while their combination was 5 hours. A22 at concentration 2xMIC showed high bactericidal activity against biofilms forming bacteria after 24h of incubation. In combination with azithromycin or amikacin the same effect was observed at 1xMIC. The above data indicate synergistic effects between A22 hydrochloride and various antibiotics and constitute a first step for the characterization of A22 as a potential antibiotic.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΠΟΛΥΣΤΥΡΕΝΙΟΥ ΣΕ ΛΑΡΒΕΣ ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*, HAMILTON 1822)**

**Κουβέλη Ευαγγελία, Χουσιδής Ιερεμίας και Λεονάρδος Ιωάννης**

*Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τ.Κ. 45110, Ιωάννινα*

Η ρύπανση από πλαστικά συνιστά ένα σημαντικό περιβαλλοντικό ζήτημα που αφορά τα ανθρωπογενή απορρίμματα (μακροπλαστικά, μικροπλαστικά, νανοπλαστικά) στα υδάτινα οικοσυστήματα. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η πιθανή βιοσυσσώρευση και τοξικότητα φθοριζόντων νανοπλαστικών πολυστυρενίου (PS-NPs) σε πρώιμα αναπτυξιακά στάδια των zebrafish (*Danio rerio*). Λάρβες στο στάδιο 3dpf (dpf = days post fertilization) εκτέθηκαν σε νανοσωματίδια διαμέτρου 50-75 nm (12.5, 25, 37.5, 50, 100 mg/L) για 96 ώρες, έως 7dpf. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν συσσώρευση των νανοσωματιδίων στο γαστρεντερικό αυλό, την επιδερμίδα, το λεκιθικό σάκο, την καρδιά, τα βράγχια και στην περιοχή της κεφαλής, ιδίως στους οφθαλμούς. Το LC50, (συγκέντρωση διαλύματος ουσίας κατά την οποία το 50% του πληθυσμού αποθνήσκει), υπολογίστηκε πως είναι τα 37.044 mg/L. Η έκθεση σε PS-NPs επέφερε υψηλή θνησιμότητα, καρδιακά οιδήματα και παραμορφώσεις, ιδιαίτερα στις συγκεντρώσεις 50 και 100 mg/L (100% θνησιμότητα). Η μελέτη της συμπεριφοράς έδειξε ότι τα νανοπλαστικά επηρέασαν την κολυμβητική συμπεριφορά των λαρβών, αφού σημειώθηκε μια σημαντική μείωση, στη μέση διανυθείσα απόσταση (cm) και στη μέση ταχύτητα (cm/s) των εξεταζόμενων ατόμων σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις έκθεσης (12.5, 25, 37.5 mg/L). Με σκοπό να γίνει συσχέτιση των αποτελεσμάτων μας και διερεύνηση του μεγέθους και των συγκεντρώσεων των νανοπλαστικών που συναντώνται σε υδάτινα οικοσυστήματα, επιχειρήθηκε δειγματοληψία στο κόλπο της Ηγουμενίτσας. Βρέθηκε ότι στο νερό περιέχονταν πλαστικά σωματίδια διαφόρων μεγεθών, κυρίως της τάξης των μικρομέτρων. Συμπερασματικά, είναι αναγκαίο να γίνουν περισσότερες μελέτες για την πρόσληψη και βιοκατανομή πλαστικών σωματιδίων, διότι τα μικροπλαστικά και νανοπλαστικά, αποτελούν κίνδυνο για τους οργανισμούς σε ολόκληρο το φάσμα της βιολογικής τους οργάνωσης. Η κατανόηση των πιθανών επιπτώσεών τους είναι καθοριστικής σημασίας για την εκπόνηση αποτελεσματικών διαχειρίσεων κινδύνου.

## **STUDY OF DISTRIBUTION OF POLYSTYRENE NANOPARTICLES IN ZEBRAFISH LARVAE (*DANIO RERIO*, HAMILTON 1822)**

**Kouveli Evangelia, Chousidis Ieremias, Leonardos Ioannis**

*Department of Biological Applications and Technology, School of Health Sciences, University of Ioannina, 45110, Ioannina*

Plastic pollution is considered one of the most eminent environmental threats and has to do with marine anthropogenic litters (macroplastics, microplastics, nanoplastics) in aquatic ecosystems. In the current study the potential bioaccumulation and toxicity of fluorescent polystyrene nanoparticles (PS-NPs) in zebrafish larvae (*Danio rerio*) at early developmental stages was examined. Zebrafish larvae at 3dpf (dpf = days post fertilization) were exposed to nanoparticles with a diameter of 50-75nm (12.5, 25, 37.5, 50, 100 mg/L) for 96 hours, until 7dpf. Our results indicate that nanoparticles were accumulated in the gastrointestinal tract, epidermis, yolk sac, heart, gills and in the head region, particularly in the eyes. LC50, (concentration of a chemical required to cause lethality in 50% of the population), was estimated at 37.044 mg/L. PS-NPs exposure induced high mortality, cardiac edemas and malformations, particularly at a concentration of 50 and 100 mg/L (100% mortality). Behavioral and locomotor activity tests, showed that nanoplastics affected the zebrafish larvae swimming behavior, since there was a significant decrease of tested individuals average distance covered (cm) and average speed (cm/s) in the highest nanoplastics concentrations (12.5, 25, 37.5 mg/L). In order to evaluate our results and investigate nanoplastics size and concentrations that can be found in aquatic ecosystems, a series of samplings was carried out in Igoumenitsa bay. Our results indicated that there were plastic particles of different sizes in the water column, especially micrometer-sized particles. In conclusion, further studies should be carried out about the uptake and biodistribution of plastic particles, because microplastics and nanoplastics constitute risk for the organisms across successive levels of their biological organization. An understanding of their potential impacts is crucial to the development of effective risk management.

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΦΙΛΕΤΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ

**Κουγιαγκά Ευκαρπία<sup>1</sup>, Αποστολογάμβρου Χρυσούλα<sup>1</sup>, Γιαννούλη Περσεφόνη<sup>2</sup>, Χατζηιωάννου Μαριάνθη<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

<sup>2</sup>Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της ιστολογικής δομής της κεφαλοποδικής μάζας (με την εμπορική ονομασία φιλέτο) των σαλιγκαριών. Απομονώθηκαν τα φιλέτα 20 εκτρεφόμενων σαλιγκαριών *Cornu aspersum maximum*, 10 νωπών και 10 ύστερα από άτμιση και θερμική επεξεργασία. Τα δείγματα υπέστησαν αφυδάτωση, εμβάπτιση σε ξυλόλη και εγκλεισμό σε παραφίνη. Τομές ιστών (5 μm) χρωματίστηκαν με αιματοξυλίνη - ηωσίνη και Masson, και ακολούθως εξετάστηκαν σε οπτικό μικροσκόπιο με προσαρμοσμένη ψηφιακή κάμερα. Η ιστολογική δομή του φιλέτου περιλαμβάνει α) το επιθήλιο το οποίο αποτελείται ένα στρώμα κυλινδρικών κυττάρων με βλεφαρίδες ή μικρολάχνες, και β) τον υποεπιθηλιακό μυϊκό και συνδετικό ιστό. Τα μυϊκά κύτταρα σχηματίζουν δεσμίδες και στον συνδετικό ιστό εντοπίστηκε πλέγμα ινών κολλαγόνου και διάφορων κυττάρων. Παρατηρήθηκαν επίσης οι βλεννογόνοι αδένες στο υποεπιθηλιακό πλέγμα και οι αιμοκοιλιακοί κόλποι στο συνδετικό ιστό. Με την επίδραση της θερμότητας, τα μυϊκά κύτταρα διατηρήθηκαν σε δεσμίδες ενώ ο συνδετικός ιστός υπέστη συρρίκνωση και οι αιμοκοιλιακοί κόλποι συνενώθηκαν. Βλεννογόνοι αδένες της κοιλιακής και ραχιαίας πλευράς των θερμικά επεξεργασμένων φιλέτων διατηρήθηκαν ενώ το κολλαγόνο που περιβάλλει τα μυϊκά κύτταρα, δεν ζελατινοποιήθηκε.

## **EFFECT OF THERMAL TREATMENT ON HISTOLOGICAL STRUCTURE OF SNAIL FILLETS**

**Kougiagka Efkarpia<sup>1</sup>, Apostologamvrou Chrysoula<sup>1</sup>, Giannouli Persefoni<sup>2</sup>, Hatzioannou Marianthi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly*

<sup>2</sup>*Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly*

The aim is to study the histological structure of the snail foot-head mass (labelled as fillet). Fillets were removed from 20 farmed snails *Cornu aspersum maximum*, 10 snails were used fresh and 10 snails after steaming and heat treatment. Samples were dehydrated, immersed in xylol, and embedded in paraffin wax. Sections of 5µm were stained with hematoxylin and eosin, and Masson's Trichrome Stain. The sections were studied using an optical microscope with an attached digital camera. The histological structure of the snail fillet consists of a) an epithelium composed of a single layer of microvillous cells and ciliated cells and b) the subepithelial muscle and connective tissue. The muscle cells formed bunches and connective tissue comprises a matrix of packed collagen fibrils and various cell types. Also, mucus glands were identified in the subepithelial matrix and haemocoelic sinuses in the connective tissue. After heat treatment, muscle cells continued to form bunches, while connective tissue underwent shrinkage and haemocoelic sinuses formed units. Mucus glands in the dorsal and ventral region of snail fillets remained after treatment and collagen which surrounds muscle cells, was not converted to gelatin.

## **ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΖΝΟ-ΑΓ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Κουκουβίνη Καλυψώ Αγγελική<sup>1</sup>, Ευθυμίου Ιωάννα<sup>1</sup>, Μουζουράκης Ελευθέριος<sup>3</sup>, Γεωργίου Γιάννης<sup>3</sup>, Βλαστός Δημήτρης<sup>1</sup>, Νταιλιάνης Στέφανος<sup>2</sup>, Δεληγιαννάκης Ιωάννης<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Πατρών, 30100 Αγρίνιο

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ζωολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

<sup>3</sup>Τμήμα Φυσικής, Τομέας Φυσικής Στερεάς Κατάστασης και Φυσικής Υλικών και Επιφανειών, Εργαστήριο Φυσικοχημείας Υλικών και Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η ενδεχόμενη γενοτοξική και κυτταροτοξική δράση σύνθετων νανοσωματιδίων (composite nanoparticles/CNPs) οξειδίου του ψευδαργύρου-αργύρου (ZnO-Ag NPs) μεγέθους 49 nm (ZnO) - 9 nm (Ag), σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων, εφαρμόζοντας την τεχνική των μικροπυρήνων (micronuclei, MN) με τη χρήση κυτταροχαλασίνης-Β (Cytokinesis-Block Micronucleus assay, CBMN assay). Μέσω αυτής της τεχνικής ανιχνεύονται χρωμοσωματικές βλάβες (θραύση ή/και απώλεια χρωμοσωμάτων) οι οποίες εμφανίζονται ως μικρές πυρηνικές δομές τους μικροπυρήνες, στο κυτταρόπλασμα διπύρηνων μεσοφασικών κυττάρων. Η παρασκευή και ο προσδιορισμός του μεγέθους των ZnO-Ag NPs πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνικής Flame Spray Pyrolysis και με τη χρήση δεδομένων περίθλασης ακτίνων-Χ αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις 0.5, 1, 5, 10, 15 και 20 µg/mL των ZnO-Ag NPs επιλέχθηκαν για τον έλεγχο της γενοτοξικής και κυτταροτοξικής τους δράσης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα ZnO-Ag NPs δεν οδήγησαν σε στατιστικά σημαντική επαγωγή MN σε καμία από τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις, γεγονός που υποδεικνύει απουσία γενοτοξικής δράσης. Αναλύοντας το δείκτη κυτταροτοξικότητας (Cytokinesis Block Proliferation index, CBPI index), διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση συγκριτικά με το μάρτυρα, κάτι που υποδεικνύει κυτταροτοξική δράση των ZnO-Ag NPs. Κατά συνέπεια, τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν απουσία γενοτοξικής δράσης και επαγωγή κυτταροτοξικότητας των ZnO-Ag NPs, στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις και πειραματικές συνθήκες.

## **GENOTOXIC AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF NOVEL ZNO-AG NANOPARTICLES IN HUMAN LYMPHOCYTES**

**Koukouvini Kalypso Angeliki<sup>1</sup>, Efthimiou Ioanna<sup>1</sup>, Mouzourakis Eleftherios<sup>3</sup>, Georgiou Yiannis<sup>3</sup>, Vlastos Dimitris<sup>1</sup>, Dailianis Stefanos<sup>2</sup>, Deligiannakis Yiannis<sup>3</sup>**

*<sup>1</sup>Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Patras, GR-30100 Agrinio, Greece*

*<sup>2</sup>Division of Animal Biology, Lab of Zoology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500, Patras, Greece*

*<sup>3</sup>Division of Solid State Physics and Physics of Materials and Surfaces, Lab of Physical Chemistry of Materials and Environment, Department of Physics, University of Ioannina, GR-45110, Greece*

The present study aimed to investigate the genotoxic and cytotoxic potential of composite zinc oxide-silver nanoparticles (ZnO-Ag NPs, 49 nm (ZnO) - 9 nm (Ag)) in cultured human lymphocytes, by applying the Cytokinesis-Block micronucleus (CBMN) assay with the use of cytochalasin-B. CBMN assay investigates the presence of micronuclei (MN) originating from acentric chromosome fragments or whole chromosomes that are unable to migrate to the poles during the anaphase stage of cell division. ZnO-Ag NPs were manufactured through Flame Spray Pyrolysis and the NPs' size was calculated using X-Ray diffraction data. The selected ZnO-Ag NPs concentrations were 0.5, 1, 5, 10, 15 and 20 µg/mL. According to the results of the present study, ZnO-Ag NPs did not lead to the induction of statistically significant MN frequencies at any of the tested concentrations, thus indicating the absence of ZnO-Ag NPs-mediated genotoxicity. However, ZnO-Ag NPs-mediated cytotoxicity was statistically significant, as shown by the decreased CBPI (Cytokinesis-block proliferation index) values in all cases. Consequently, the results of our study demonstrated a lack of genotoxic potential and the induction of cytotoxicity by the ZnO-Ag NPs, in the specific concentrations and experimental conditions.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΑΥ

**Κουρούβανη Μαρία, Μαυροειδή Παναγιώτα, Παπαζαφείρη Παναγιώτα, Χαραλάμπους Σύλβα, Ευθυμιόπουλος Σπύρος**

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

Η νόσος του Alzheimer είναι μια προοδευτική νευροεκφυλιστική ασθένεια, η οποία χαρακτηρίζεται από τις πλάκες αμυλοειδούς και τα νευροϊνιδιακά δεμάτια που αποτελούνται από υπερφωσφορυλιωμένη tau πρωτεΐνη. Η tau είναι μια πρωτεΐνη που βρίσκεται σε αφθονία στους νευρώνες, σχετίζεται με τους μικροσωληνίσκους και συμβάλλει στον πολυμερισμό και τη λειτουργία τους. Σε περιπτώσεις υπερφωσφορυλίωσής της, αλλάζει η υποκυτταρική της κατανομή και προάγεται ο σχηματισμός των νευροϊνιδιακών δεματίων. Η παθολογία της tau και γενικώς της νόσου Alzheimer φαίνεται να σχετίζεται με τη μειωμένη παροχή γλυκόζης και οξυγόνου στον εγκέφαλο, είτε σε κατάσταση ισχαιμίας, είτε λόγω στένωσης των αρτηριών κατά το γήρας. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης της στέρσης οξυγόνου και γλυκόζης στα επίπεδα και στην κατανομή της ολικής και φωσφορυλιωμένης tau στη σύναψη. Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν εγκεφαλικές τομές από μύες C57BL/6, που εμποτίζονται με κατάλληλα διαλύματα τεχνητού εγκεφαλονωτιαίου υγρού. Τα αποτελέσματα σε ολικά εκχυλίσματα ιστού δείχνουν ότι η στέρση οξυγόνου οδηγεί σε αποφωσφορυλίωση της tau στα κατάλοιπα που εξετάστηκαν (pSer356, pSer262, pSer404) επιβεβαιώνοντας προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου. Η έλλειψη γλυκόζης φαίνεται να οδηγεί σε αποφωσφορυλίωση της tau σε δύο από τα 3 κατάλοιπα (pSer356, pSer262) που ελέγχθηκαν, ενώ στο τρίτο (pSer404) δεν παρατηρείται κάποια αλλαγή. Το πρότυπο κατανομής της tau στη σύναψη εξετάζεται με την απομόνωση συναπτοσωμάτων και μετασυναπτικών πυκνοτήτων, σε συνθήκες υποξίας και υπογλυκαιμίας, θα συγκριθεί με την κατανομή της σε δείγματα από διαγονιδιακούς μύες THY-TAU22, οι οποίοι παρουσιάζουν νευροπαθολογικές αλλαγές, όπως υπερφωσφορυλίωση και νευροϊνιδιακά δεμάτια.

## **STUDY OF TAU PHOSPHORYLATION**

**Kourouvani Maria, Mavroeidi Panagiota, Haralambous Sylva, Papazafiri Panagiota, Efthimiopoulos Spiros**

*Department of Biology, Division of Human and Animal Physiology, University of Athens, Panepistimiopolis, Ilisia*

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disease, characterized by amyloid plaques and neurofibrillary tangles consisting of hyperphosphorylated protein tau. Tau, which is found in abundance in neurons, is associated with microtubules promoting their polymerization and function. Hyperphosphorylation of tau leads to neurofibrillary tangles, and changes the subcellular distribution of the protein. Tau pathology as well as Alzheimer's disease are correlated to cerebral blood hypoperfusion which limits the delivery of oxygen and glucose to the brain. The present study examines the effects of oxygen and glucose deprivation on the phosphorylation and subcellular localization of tau. Acute brain slices of C57BL/6 mice were perfused using artificial cerebrospinal fluid, and were treated with either hypoxia or hypoglycemia. Our results indicate that in total brain extracts oxygen deprivation causes dephosphorylation in all sites examined (pSer404, pSer356, pSer262), which supports previous studies. Glucose deprivation seems to cause dephosphorylation in two sites examined (pSer356, pSer262), but it had no effect on the third site (pSer404). In order to study the subcellular localization of tau, synaptosomes and post synaptic densities were isolated, under hypoxic and hypoglycemic conditions and the pattern of tau distribution will be compared to that of transgenic THY-TAU22 mice. These mice exhibit neuropathological changes, including tau phosphorylation and formation of neurofibrillary tangles.

## **ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΝΤΑΣ ΚΛΙΜΑΤΙΚΑ ΚΑΤΑΦΥΓΙΑ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ**

**Κυπριώτη Αμαλία, Αλμπανίδου Βασιλική, Μαρδίρης Άγγελος, Μαζάρης Αντώνιος**

*Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα*

Η κλιματική αλλαγή αποτελεί μια πραγματικότητα καθώς και μια απειλή για τα θαλάσσια οικοσυστήματα. Ως εκ τούτου ο εντοπισμός περιοχών οι οποίες χαρακτηρίζονται από μια σταθερότητα στα κλιματικά τους χαρακτηριστικά αναδεικνύεται σε μια διαχειριστική προτεραιότητα. Στην παρούσα εργασία γίνεται μια προσπάθεια να ανιχνευτούν δυνητικά κλιματικά καταφύγια για την περιοχή της Μεσογείου. Αξιοποιούμε ένα σύνολο από βιοκλιματικές μεταβλητές που προκύπτουν από δεδομένα θερμοκρασίας της επιφάνειας της θάλασσας και εξετάζουμε τα πρότυπα μεταβολής πολυδιάστατων κλιματικών ιδιοτήτων στη μονάδα του χώρου και του χρόνου. Τα κλιματικά δεδομένα αφορούν σε καταγραφές και προβλέψεις για διάστημα 150 ετών (1950-2100). Χρησιμοποιήσαμε πέντε διαδοχικές περιόδους των τριάντα ετών για τις οποίες εκτιμήθηκε η αναλογική ταχύτητα της κλιματικής αλλαγής, επιτρέποντας ουσιαστικά να εντοπίσουμε χωρικά, και για κάθε σημείο της Μεσογείου εάν εντοπίζονται ανάλογες κλιματικές συνθήκες από τη μια χρονική στιγμή στην άλλη. Περιοχές με χαμηλή ταχύτητα κλιματικής αλλαγής μπορούν να χαρακτηριστούν ως κλιματικές σταθερές και ως δυνητικά κλιματικά καταφύγια. Τα παραγόμενα αποτελέσματα συνδυαστήκαν με την κατανομή των θαλάσσιων προστατευμένων περιοχών επιτρέποντας την αξιολόγηση τους ως προς την κλιματική τους σταθερότητα. Υψηλές τιμές στην ταχύτητα της κλιματικής αλλαγής παρατηρήθηκαν στις παράκτιες περιοχές της Μεσογείου και για όλο το χρονικό διάστημα των 150 ετών. Επίσης διαπιστώσαμε ότι οι κλιματικά σταθερές περιοχές, μειώνονται σημαντικά καθώς προσεγγίζουμε το 2100. Τέλος, παρατηρήθηκε πως οι περιοχές οι οποίες παρουσιάζουν κλιματικά σταθερές συνθήκες καταλαμβάνουν μικρή έκταση εντός των υφιστάμενων θαλάσσιων προστατευόμενων περιοχών. Η παρούσα εργασία προσφέρει για πρώτη φορά μια εκτίμηση της αναλογικής ταχύτητας της κλιματικής αλλαγής σε θαλάσσιο οικοσύστημα, καταδεικνύοντας την σημαντικότητα κλιματικών καταφυγίων καθώς πιθανές ελλείψεις στην κάλυψη από τις προστατευόμενες περιοχές.

## **IDENTIFYING POTENTIAL CLIMATIC REFUGIA IN THE MEDITERRANEAN SEA**

**Kyprioti Amalia, Almpnidou Vasiliki, Mardiris Aggelos, Mazaris Antonios**

*Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece*

Climate change represents a major threat for marine ecosystems. The ability to identify marine areas that could be subjected to stable climatic conditions could foster our conservation capacity. In the present study, we estimated climate change velocity along the Mediterranean Sea, as the mean to detect climatic stable areas. We have used data on sea surface temperature for historical and future periods (i.e. 1950-2100) and produced a series of bioclimatic variables used to assess how climatic conditions might change in space and time. The data were split into bins of 30years allowing us to estimate climate-analogs (i.e. points in space with climate sufficiently similar to those of the points under consideration) and thus identify sites which could be considered as climatic refugia. In an attempt to explore whether the current network of marine protected areas (MPAs) enclose climatic stable sites, we overlaid consensus maps of climate change velocities and the distribution maps of MPAs in the region. We used data on sea surface temperature for the Mediterranean under current and future conditions, during 150 years so as to identify potential climatic refugia and evaluate the climatic stability of the marine protected areas (MPAs). Our analyses demonstrated that the coastal regions of the Mediterranean are characterized by high velocities of climate change. We found that climatic refugia are gradually shrinking over time. Our results further revealed that MPAs are subjected to high climatic variation with only limited climatic refugia enclosed within their boundaries. To the best of our knowledge, this is the first time that climate-analog velocity is applied for a marine region, offering some insights on the location and extent of climatic refugia and their relative coverage from MPAs.

## ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΠΟΥ ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ-Α ΑΠΟ ΤΡΙΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

**Κυρίλα Γκλόρια<sup>1</sup>, Σρορετσανίτη Βασιλική<sup>1</sup>, Σαμανίδου Βικτωρία<sup>2</sup>, Τουράκη Μαρία<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Εργαστήριο Αναλυτικής χημείας, Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η Δισφαινόλη-Α (BPA) μία συνθετική οργανική ένωση με ιδιότητες ενδοκρινικού διαταράκτη, θεωρείται επικίνδυνος ρύπος για τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Παρότι έχει αναφερθεί ότι η αποικοδόμηση της BPA από βακτήρια είναι εφικτή, οι μελέτες περιορίζονται σε συγκεκριμένα βακτηριακά στελέχη. Τα προβιοτικά είναι βακτήρια με θετικές επιδράσεις στην υγεία του ξενιστή και η χρήση τους για πιθανή αποικοδόμηση της BPA θα μπορούσε να αποτελέσει λύση απομάκρυνσης της. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η ικανότητα αποικοδόμησης της BPA από τρία στελέχη προβιοτικών βακτηρίων *Lactococcus lactis*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*. Τα βακτήρια καλλιεργήθηκαν σε ελάχιστο θρεπτικό μέσο αλάτων με 0.1% (w/v) εκχύλισμα ζύμης και μοναδική πηγή άνθρακα τη BPA (50 µg/ml). Τα βακτήρια επώαστηκαν για 96 ώρες και δείγματα υπερκειμένου λήφθηκαν αρχικά ανά 4 ώρες στις 0, 4, 8 και έπειτα στις 24, 48, 72 και 96 ώρες, φυγοκεντρήθηκαν και διηθήθηκαν (φίλτρο 0.45 µm). Τα δείγματα ιζήματος συλλέχθηκαν στις 96 ώρες, υποβλήθηκαν σε ομογενοποίηση και εκχύλιση στερεής φάσης (SPE). Ακολούθησε ανάλυση των δειγμάτων σε HPLC-DAD με εσωτερικό πρότυπο n-οκτυλφαινόλη. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των συνολικών επιπέδων της BPA (κύτταρα και υπερκείμενο), σε ποσοστό περίπου 50% στις καλλιέργειες *L. lactis* και *B. subtilis* και 30% για το *L. plantarum*. Ο ρυθμός μείωσης της BPA ήταν υψηλότερος τις πρώτες 24 ώρες σε σύγκριση με τον ακόλουθο ρυθμό μείωσης (24-96 ώρες). Στα χρωματογράφηματα καταγράφηκαν τρεις κορυφές πιθανών μεταβολιτών, δύο εκ των οποίων συσχετίστηκαν με βάση τον χρόνο έκλυσης και το φάσμα απορρόφησης με την 4-ισο-προπενυλφαινόλη και την 4- υδροξυ-ακετοφαινόνη, στα δείγματα ιζήματος και υπερκειμένου αντιστοίχως. Η τρίτη κορυφή θα εξεταστεί με φασματογράφο μαζών. Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη αναφορά για ανίχνευση μεταβολιτών δισφαινόλης-Α σε κύτταρα βακτηρίων και συνηγορεί υπέρ της δυνατότητας χρήσης τους ως αποικοδομητές του ρύπου.

## DEGRADATION OF BISPHENOL-A BY THREE PROBIOTIC STRAINS

Kyrila Gloria<sup>1</sup>, Schoretsaniti Vasiliki<sup>1</sup>, Samanidou Victoria<sup>2</sup>, Touraki Maria<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Molecular Biology, Genetics and Development, Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup>Laboratory of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, School of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Bisphenol-A (BPA) a synthetic organic compound, which can act as an endocrine disruptor, is considered a pollutant that poses a danger against humans and the environment. Although the degradation of BPA by bacteria is possible, the studies are restricted to specific bacterial strains. Probiotics are bacteria that exert positive effects on their host and their use on the possible BPA degradation could serve as a means for its removal. In the present study the BPA degradation ability of the three probiotic strains *Lactococcus lactis*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* was investigated. Bacteria were grown in basal salt medium containing 0.1% (w/v) yeast extract and BPA as the sole carbon source (50 µg/ml). Bacteria were cultured for 96 hours and supernatant was collected at 0, 4, 8, 24, 48, 72 and 96 hours, centrifuged and filtered (0.45 µm syringe filter). Cell pellet samples were collected at 96 hours, homogenized and extracted using SPE. The samples were analyzed using HPLC-DAD, with n-octylphenol as the internal standard. The results showed a reduction in total BPA levels (cells and supernatant) at a rate of about 50% for the cultures of *L. lactis* και *B. subtilis* and 30% for *L. plantarum*. The rate of BPA levels reduction was higher in the first 24 hours compared with the following rate for the 24-96 hours period. Three possible metabolite peaks were recorded in the chromatograms, two of which were correlated, on the basis of their retention time and absorption spectrum, with 4-isopropenylphenol and 4-hydroxyacetophenone, in the cell and supernatant samples respectively. The third peak requires future investigation with LC-MS. The present study is the first report on the detection of BPA metabolites in bacterial cells and supports their possible use for degradation of the pollutant.

## **ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΛΥΜΑΝΤΙΚΩΝ ΔΡΑΣΕΩΝ ΘΥΜΟΛΗΣ ΚΑΙ ΧΛΩΡΙΟΥΧΟΥ ΒΕΝΖΑΛΚΟΝΙΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΜΕΝΩΝ, ΠΑΝΩ ΣΕ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΑΝΟΞΕΙΔΩΤΟΥ ΧΑΛΥΒΑ, ΚΥΤΤΑΡΩΝ *LISTERIA MONOCYTOGENES***

**Κώστογλου Δήμητρα<sup>1,2</sup>, Ηλιάδης Ιωάννης<sup>1</sup>, Γαρουφαλλίδου Νικολέτα<sup>1</sup>, Σκαρμούτσου Γεωργία<sup>1</sup>, Ανδρίτσος Νικόλαος<sup>1,3</sup>, Γκιαούρης Ευστάθιος<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής, Σχολή Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μύρινα, Λήμνος

<sup>2</sup>Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Σχολή Τροφίμων, Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθηνά

<sup>3</sup>Αναλυτικά Εργαστήρια Αθηνών, Αθήνα

Η *L. monocytogenes* είναι ένα σημαντικό τροφιμογενές παθογόνο βακτήριο που προκαλεί τη λιστερίωση, μια σχετικά σπάνια αλλά ιδιαίτερως σοβαρή ασθένεια για ευπαθείς πληθυσμιακές ομάδες (ποσοστά θνητότητας  $\approx$  25-30%). Ο μικροοργανισμός θανατώνεται εύκολα με το μαγείρεμα, και έτσι τα πιο επικίνδυνα τρόφιμα είναι εκείνα τα οποία μολύνονται και καταναλώνονται δίχως θέρμανση, όπως π.χ. είναι τα νωπά λαχανικά και οι σαλάτες. Η εμμονή του μικροοργανισμού σε χώρους επεξεργασίας τροφίμων πιστεύεται πως μεταξύ άλλων συνδέεται και με την ικανότητα του να προσκολλάται πάνω στις επιφάνειες του εξοπλισμού, δημιουργώντας ισχυρά βιο- υμένια, τα οποία και ανθίστανται των τυπικών διαδικασιών εξυγίανσης που εφαρμόζονται. Στην παρούσα μελέτη, κύτταρα 4 στελεχών του μικροοργανισμού διαφορετικών οροτύπων (1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b), αφέθηκαν να προσκολληθούν μαζί πάνω σε πρότυπη επιφάνεια ανοξειδωτού χάλυβα που επώαστηκε πλήρως εμβαπτισμένη σε 1:20 αραιωμένο ζυμό μαρουλιού υπό διαφορετικές θερμοκρασίες (3-37 °C και χρονικά διαστήματα (14,1-81,9 ώρες). Μεθοδολογία απόκρισης επιφανείας εφαρμόστηκε για την πρόβλεψη των συνθηκών που οδηγούν στη μέγιστη προσκόλληση. Υπό αυτές τις συνθήκες (30,5 °C για 54,3 ώρες), τα προσκολλημένα κύτταρα ( $5,7 \pm 0,4 \log_{10} \text{CFU/cm}^2$ ) εκτέθηκαν σε απολύμανση (για 15 λεπτά στους  $20 \pm 2$  °C είτε με θυμόλη, ένα τερπενοειδές φυσικής προέλευσης, είτε με χλωριούχο βενζαλκόνιο (XB), ένα συνθετικό χημικό απολυμαντικό με χρήση στη βιομηχανία τροφίμων και αλλού. Για κάθε ουσία, 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις χρησιμοποιήθηκαν, βάσει προηγούμενου προσδιορισμού των ελαχίστων βακτηριοκτόνων συγκεντρώσεων (MBCs) της κάθε μιας έναντι των πλαγκτονικών κυττάρων του κάθε στελέχους. Τα αποτελέσματα φανέρωσαν τη σημαντική απολυμαντική δράση της θυμόλης έναντι των προσκολλημένων κυττάρων, με συγκέντρωση 625 ppm ( $=2 \times \text{MBC}$ ) να οδηγεί σε μη ανιχνεύσιμα ( $10 \text{ CFU/cm}^2$ ) ζωντανά κύτταρα. Για τον ίδιο βαθμό θανάτωσης, το XB απαιτείτο πάλι να χρησιμοποιηθεί σε δεκαπλάσια συγκέντρωση της MBC αυτού (70 ppm)

## **COMPARATIVE ASSESSMENT OF DISINFECTANT ACTIONS OF THYMOL AND BENZALKONIUM CHLORIDE AGAINST *LISTERIA MONOCYTOGENES* CELLS ADHERED TO STAINLESS STEEL SURFACE**

**Kostoglou Dimitra<sup>1,2</sup>, Iliadis Ioannis<sup>1</sup>, Garoufallidou Nikoleta<sup>1</sup>, Skarmoutsou Georgia<sup>1</sup>, Andritsos Nikolaos<sup>1,3</sup>, Giaouris Efstathios<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Faculty of the Environment, University of the Aegean, Myrina, Lemnos

<sup>2</sup>Department of Food Science and Human Nutrition, Faculty of Food, Biotechnology and Development, Agricultural University of Athens, Athens

<sup>3</sup>Analytical Laboratories of Athens, Athens

*L. monocytogenes* is a major foodborne pathogenic bacterium that causes listeriosis, a relatively rare but particularly serious disease for vulnerable population groups (mortality rates  $\approx$  25-30%). The microorganism is easily killed by cooking, and the most dangerous foods are thus those that are contaminated and consumed without heating, such as fresh vegetables and salads. The persistence of the microorganism in food processing areas is believed to be linked, among other things, to its ability to adhere to the surfaces of the equipment, creating robust biofilms that resist the typical sanitation processes applied. In the present study, four strains of the microorganism of different serotypes (1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b) were allowed to adhere together onto a standard stainless steel surface incubated fully immersed in 1:20 diluted lettuce broth under different temperatures (3-37 °C) and time intervals (14.1-81.9 hours). Surface response methodology was applied to predict the conditions leading to maximum adhesion. Under these conditions (30.5 °C for 54.3 hours), adherent cells ( $5.7 \pm 0.4 \log_{10} \text{CFU/cm}^2$ ) were exposed to disinfection (for 15 minutes at  $20 \pm 2$  °C) either with thymol, a terpenoid of natural origin, or with benzalkonium chloride (BC), a synthetic chemical disinfectant used in the food industry and elsewhere. For each substance, 3 different concentrations were tested, based on a prior determination of the minimum bactericidal concentrations (MBCs) of each one against the planktonic cells of each strain. The results revealed the significant thymol disinfectant activity against adherent cells, with a concentration of 625 ppm (= 2 x MBC) leading to undetectable ( $10 \text{CFU/cm}^2$ ) viable cells. For the same degree of killing, BC was still required to be used at a concentration ten times more its MBC (70 ppm).

## ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΜΕΛΩΝ ΤΩΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΩΝ ΤΩΝ HSPS ΚΑΙ MAPKS ΣΤΑ ΕΙΔΗ *SPARUS AURATA* ΚΑΙ *DICENTRARCHUS LABRAX* ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΩΝ ΝΕΡΟΥ

Μάρτου Ναταλία<sup>1‡</sup>, Μορφέσης Κωνσταντίνος<sup>1‡</sup>, Πατσέα Έλενα<sup>2‡</sup>, Βλάχος Νίκος<sup>2‡</sup>, Μεντέ Έλενα<sup>2‡</sup>, Αντωνοπούλου Έφη<sup>1‡</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΚ 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ΤΚ 38446 Φυτόκο, Βόλος

<sup>‡</sup>Ισότιμη συνεισφορά

Η παρούσα εργασία αποτελεί μέρος ενός μεγαλύτερου πειράματος που διεξήχθη στις εγκαταστάσεις της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, όπου διαφορετικά είδη ευρύαλων ιχθύων (αντέχουν σε μεγάλες μεταβολές αλατότητας νερού) καλλιεργήθηκαν με το φυτό *Crithmum maritimum* (κρίταμο) σε ανακυκλωμένο σύστημα ενυδραιοπονίας με διαφορετικές αλατότητες. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης διαφορετικών συγκεντρώσεων αλατοτήτων (8 ppt, 14 ppt και 20 ppt) στη φυσιολογική απόκριση δύο ευρύαλων ειδών ψαριών με αυξημένη εμπορική αξία, της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Για τις ανάγκες του πρώτου πειράματος κατασκευάστηκαν έξι αυτόνομα συστήματα ενυδραιοπονίας όγκου 100 L με αλατότητες 8 και 20 ppt στα οποία τοποθετήθηκαν συνολικά 156 τσιπούρες, (26 άτομα /σύστημα) με μέσο αρχικό βάρος  $2,55 \pm 0,53$  g και μήκος  $5,57 \pm 0,33$  cm και 36 άτομα κρίταμου με μέσο αρχικό ύψος  $8,23 \pm 0,34$  cm (6 άτομα /σύστημα). Για τις ανάγκες του δεύτερου πειράματος χρησιμοποιήθηκαν εννέα αυτόνομα συστήματα ενυδραιοπονίας με όγκο 100 L με αλατότητες 8 ppt, 14 ppt και 20 ppt, στο οποίο τοποθετήθηκαν συνολικά 135 λαβράκια (15 άτομα/ σύστημα) με μέσο αρχικό βάρος  $8,17 \pm 0,12$  g και μήκος  $9,3 \pm 0,09$  cm και 54 άτομα κρίταμου με μέσο αρχικό ύψος  $8,23 \pm 0,34$  cm (6 άτομα /σύστημα). Λήφθησαν δείγματα ιστών (βράγχια και έντερο για τη τσιπούρα και βράγχια, έντερο, νεφρό και ήπαρ για το λαβράκι) και στάλθηκαν στο Τμήμα Βιολογίας του ΑΠΘ, στα οποία πραγματοποιήθηκε ανοσοανίχνευση των πρωτεϊνών Hsp90, Hsp60, p38- MAPKs και ERKs μέσω της μεθόδου ηλεκτροφόρησης σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου, παρουσία δωδεκυλοθειικού νατρίου (SDS-PAGE), κατά Western blot. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των παραπάνω δειγμάτων έδειξαν διαφοροποιήσεις ανάμεσα στα είδη ιχθύων, αλλά και μεταξύ των ατόμων του ίδιου είδους που εκτράφηκαν στις δεξαμενές με διαφορετική αλατότητα. Παράλληλα, παρατηρήθηκε διαφορετική απόκριση ανάλογα με το είδος του ιστού. Η έρευνα βρίσκεται σε εξέλιξη.

## **RESPONSE OF THE HSPS AND MAPKS FAMILY MEMBERS TO DIFFERENT SALINITIES IN *SPARUS AURATA* AND *DICENTRARCHUS LABRAX***

**Martou N.<sup>1‡</sup>, Morfesis K.<sup>1‡</sup>, Patsea E.<sup>2‡</sup>, Vlahos N.<sup>2‡</sup>, Mente E.<sup>2‡</sup>, Antonopoulou E.<sup>1‡</sup>**

<sup>1</sup>Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR- 54124 Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, 38446 Fytoko Volos, Magnesia, Greece

<sup>‡</sup>Equal contribution

The present study is part of an experiment conducted at the facilities of the Faculty of Agricultural Sciences, University of Thessaly, where gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and European sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) (species with tolerance to different levels of salinity), respectively, were co-farmed with rock sapphire (*Crithmum maritimum*), in an aquaponic system in different salinities. The aim of this study was to investigate the effect of different levels of salinity (8, 14 ppt and 20 ppt) on the physiological response of the commercial fish *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. Six recirculated water systems were constructed with 8 ppt and 20 ppt salinities, respectively. In total, 156 gilthead sea bream (26 individuals / system) with an average initial weight of  $2.55 \pm 0.53$  g and length of  $5.57 \pm 0.33$  cm and 36 rock sapphire plants with an average initial height of  $8.23 \pm 0.34$  cm (6 individuals / system) were used. Also for the purpose of the second experiment nine recirculated water systems were used with 8 ppt, 14 ppt and 20 ppt salinities, respectively and were used in total 135 sea bass (15 individual/ system) with an average initial weigh  $8.17 \pm 0.12$  g and length  $9.3 \pm 0.09$  cm and 54 individual rock sapphire with an average initial height  $8.23 \pm 0.34$  cm (6 individual /system). Tissue samples from both fishes (gills and intestine for *S. aurata* and gills, intestine, kidney and liver for *D. labrax*) were sent to School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, in order to immunodetect the proteins Hsp90, Hsp60, p38- MAPKs and ERKs by Western blot. The results showed differentiations between different fish species, between individuals farmed with different salinities. Additionally, we detected different tissue-specific responses. The investigation is in progress.

## ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΔΙΘΥΡΑ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ΚΑΙ *VENUS VERRUCOSA* ΑΠΟ ΤΟΝ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Λάττος Αθανάσιος<sup>1</sup>, Γιάντσης Α. Ιωάννης<sup>2</sup>, Καραγιάννης Δημήτρης<sup>3</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Δυτικής Μακεδονίας

<sup>3</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η ανάπτυξη των μικροβιακών πληθυσμών ευνοείται από την άνοδο της θερμοκρασίας στο πλαίσιο της κλιματικής αλλαγής και μπορεί να επηρεάσει την ευζωία των θαλάσσιων δίθυρων. Κατά συνέπεια, η διερεύνηση του εποχικού συμβιωτικού μικροβιακού φορτίου των δίθυρων είναι πολύ σημαντική. Ο γαστρεντερικός σωλήνας των δίθυρων είναι πλούσιος σε συμβιωτικές μικροβιακές κοινότητες και η μελέτη του συμβιωτικού μικροβιακού πρότυπου μπορεί να προσφέρει χρήσιμες γνώσεις σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των περιβαλλοντικών συνθηκών, του φυσιολογικού στρες, της εποχικότητας, της παραγωγικότητας, της ευαισθησίας/αντοχής στις μικροβιακές ασθένειες και της γενικής βιολογίας των δίθυρων. Χρησιμοποιώντας σύγχρονες τεχνολογίες αλληλούχισης του DNA είναι δυνατό να προσδιοριστούν και να ποσοτικοποιηθούν οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στους ιστούς των δίθυρων, σε επίπεδο οικογένειας, γένους ή ακόμη και είδους. Στην παρούσα εργασία εφαρμόστηκε η τεχνολογία προσδιορισμού αλληλουχίας Illumina 16S rRNA για την διερεύνηση της βακτηριακής ποικιλότητας του γαστρεντερικού σωλήνα των θαλάσσιων δίθυρων *Mytilus galloprovincialis* και *Venus verrucosa* από τον Θερμαϊκό Κόλπο. Τα είδη αυτά αποτελούν υδρόβιους οργανισμούς μεγάλης σημασίας για την υδατοκαλλιέργεια και την αλιεία, αντίστοιχα. Ενισχύθηκε και αλληλουχήθηκε μία περιοχή περίπου 400 ζευγών βάσεων του 16SrRNA, ενώ η ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος SILVA Incremental Aligner. Δεκαέξι και δεκαοκτώ διαφορετικά βακτηριακά γένη ταυτοποιήθηκαν στους ιστούς του *M. galloprovincialis* και του *V. verrucosa*, αντίστοιχα. Το βακτήριο *Spongiobacter* sp. κυριάρχησε στη βακτηριακή ποικιλότητα του *M. galloprovincialis*, ενώ το *Staphylococcus* sp. στο *V. verrucosa*. Το παθογόνο *Vibrio* sp. ήταν παρόν μόνο στο *M. galloprovincialis*. Η προκαταρκτική αυτή ανάλυση αποτελεί την πρώτη προσπάθεια προσδιορισμού του συμβιωτικού μικροβιακού φορτίου σε δίθυρα από το Θερμαϊκό Κόλπο.

## THE GUT MICROBIOTA OF THE MARINE BIVALVES *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* AND *VENUS VERRUCOSA* FROM THERMAIKOS GULF: PRELIMINARY RESULTS

Lattos Athanasios<sup>1</sup>, Giantsis A. Ioannis<sup>2</sup>, Karagiannis Dimitris<sup>3</sup>, Michaelidis Basile<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Technological Educational Institute of Western Macedonia, 53100, Florina, Greece

<sup>3</sup>Laboratory of Ichthyology, School of Veterinary Medicine, Faculty of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece

The gastrointestinal tract of bivalve molluscs hosts rich symbiotic microbial communities that may play key roles in animal's physiology and are also critical for the host immune system. The development of these microbial populations may also affect the shelf life during transportation and storage. Keeping these in mind, investigation of bivalves' symbiotic microbiota is of very high importance. Symbiotic microbial profiling can provide very useful knowledge concerning interactions among environmental conditions, physiological stress, seasonality, productivity, susceptibility/resistance to microbial diseases and the general biology of bivalves. Using the next generation sequencing technologies it is now possible to identify and quantify the microorganisms hosted within the gastrointestinal tract of bivalves, at family, genus or even species level. In the present study, the Illumina 16S rRNA amplicon sequencing technology was applied to investigate the bacterial diversity hosted within the gastrointestinal tract of the marine bivalves *Mytilus galloprovincialis* and *Venus verrucosa* from Thermaikos Gulf. These species constitute aquatic organisms of high importance in terms of aquaculture and fisheries, respectively. An approximate 400 base pair region of the 16S rRNA was amplified using a universal pair of primers, sequenced using the Illumina technology and taxonomically assembled by the SILVA Incremental Aligner service for small subunit ribosomal RNA. Sixteen and eighteen different bacterial genera were identified in the tissues of *M. galloprovincialis* and *V. verrucosa*, respectively. *Spongiobacter* sp. dominated the bacterial diversity of *M. galloprovincialis*, whereas *Staphylococcus* sp. dominated the bacterial diversity of *V. verrucosa*. The pathogen *Vibrio* sp. was only present in the gastrointestinal tract of *M. galloprovincialis*. This survey provides the first insights on the gut microbiome in bivalves from Thermaikos Gulf.

## **Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΟΔΡΟΜΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Λιαροπούλου Δανάη, Πάσχου Μαρία, Ευθυμιόπουλος Σπύρος, Παπαζαφείρη Παναγιώτα**

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Η πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (APP, Amyloid precursor protein), διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη παθογένεση της νευροεκφυλιστικής νόσου του Alzheimer, καθώς αποτελεί την πηγή για τα τοξικά πεπτίδια Αβ. Παρότι αρκετά δεδομένα υποστηρίζουν την εμπλοκή της APP στη συναπτική λειτουργία και τη μεμβρανική πλαστικότητα, ο ρόλος της στις φυσιολογικές λειτουργίες των νευρώνων δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε ο ρόλος της APP στη σηματοδότηση και τη διαφοροποίηση νευρικών κυττάρων. Σε όλα τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε η κυτταρική σειρά νευροβλαστώματος SH-SY5Y και η SH-SY5Y/APP- από την οποία είχε σιγηθεί η έκφραση της APP με τη χρήση shRNA. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως παρουσία ρετινοϊκού οξέος τα κύτταρα SH-SY5Y/APP- δεν διαφοροποιούνται, ενώ τα επίπεδα των πρωτεϊνών pCaMKII, pCREB και pERKs, απαραίτητες για τη συναπτική διαβίβαση, βρέθηκαν ιδιαίτερα χαμηλά. Επιπλέον, στα ίδια κύτταρα παρατηρήθηκε υπερ-ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού επιβίωσης PI3K/Akt και αδυναμία ενεργοποίησής του υπό την επίδραση νευροτροφικών ή αυξητικών παραγόντων, όπως της ινσουλίνης ή του νευρικού αυξητικού παράγοντα. Σε συνθήκες καταπόνησης και συγκεκριμένα έπειτα από στέρηση γλυκόζης ή εκκένωση του ενδοπλασματικού δικτύου από ιόντα  $Ca^{2+}$ , τα επίπεδα της pAkt μεταβάλλονται αισθητά μόνο στα κύτταρα SH-SY5Y. Επίσης, τα επίπεδα της πρωτεΐνης STIM1, που αποτελεί αισθητήρα του κυττάρου για χαμηλές συγκεντρώσεις ιόντων  $Ca^{2+}$ , ήταν σημαντικά υψηλότερα στα κύτταρα SH-SY5Y/APP-, υποδηλώνοντας αλλαγή στη δυναμική κινητοποίησης των ιόντων  $Ca^{2+}$ . Παράλληλα, εισαγωγή της ενδοκυτταρικής καρβοξυτελικής περιοχής της APP στα κύτταρα SH-SY5Y/APP- με κατάλληλο πλασμιδιακό φορέα οδήγησε σε μερική, αλλά όχι πλήρη, αναστροφή του φαινοτύπου. Συνολικά, τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν τον σημαντικό ρόλο της APP στη διαφοροποίηση και τη συναπτική λειτουργία και ενισχύουν την υπόθεση ότι η διαταραχή της ομοιόστασης του ασβεστίου συμβάλλει στην παθογένεια της νόσου Alzheimer.

## **THE ROLE OF AMYLOID PRECURSOR PROTEIN IN NERVE CELL DIFFERENTIATION AND SIGNALING**

**Liaropoulou Danai, Paschou Maria, Efthimiopoulos Spiros, Papazafiri Panagiota**

*Division of Animal and Human Physiology, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens*

Amyloid precursor protein (APP) is considered to play a critical role in Alzheimer's disease, mainly because it is the source of the toxic A $\beta$  peptides. However, the role of the full length APP in neuronal function has not yet been fully elucidated, although accumulating evidence supports its involvement in synaptic function and membrane plasticity. In the present work we investigated the role of APP in nerve cell differentiation and signaling, using the neuroblastoma cell line SH-SY5Y, as well as the SH-SY5Y/APP- cell line, in which APP expression was downregulated using shRNA. It was found that, in the absence of APP, the cells could not differentiate and contained significantly low levels of the proteins pCaMKII, pCREB and pERKs, which are essential for synaptic transmission. Furthermore, we observed that in these cells the PI3K/Akt signaling pathway was over-activated, and could not be stimulated after treatment with neurotrophic or growth factors, such as insulin or nerve growth factor. Under stress, and in particular after glucose deprivation or endoplasmic reticulum (ER) calcium depletion after treatment with thapsigargin, the pAkt levels detected were significantly increased only in SH-SY5Y cells. More importantly, basal levels of the STIM1 protein, a Ca<sup>2+</sup> sensor in the ER that translocates upon Ca<sup>2+</sup> store depletion, were considerably higher in SH-SY5Y/APP- cells, indicating a different dynamic response in calcium mobilization. Transfection of SH-SY5Y/APP- cells with vector containing the intracellular carboxy-terminal domain of APP was able to partially restore the phenotype. Collectively, these results confirm the important role of APP in nerve cell differentiation and synaptic function and further support the hypothesis that disturbance of calcium homeostasis contributes to the pathogenesis of Alzheimer's disease.

## **ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ tRNA DERIVED FRAGMENTS (TRFS) ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ**

**Μάγκου Παρασκευή, Πανουτσοπούλου Κωνσταντίνα, Αυγέρης Μαργαρίτης, Σκορίλας Ανδρέας**

Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα  
email: [ascorilas@biol.uoa.gr](mailto:ascorilas@biol.uoa.gr)

Ο καρκίνος των ωοθηκών είναι ο δεύτερος συχνότερα διαγνωσμένος γυναικολογικός καρκίνος στις ανεπτυγμένες χώρες, με τη δυσμενέστερη πρόγνωση 5ετούς επιβίωσης. Πρόσφατα περιγράφηκε μια κατηγορία μικρών, μη κωδικών μορίων RNA που προέρχονται από πρόδρομες ή ώριμες αλληλουχίες tRNA, γνωστά ως tRNA derived fragments (tRFs), με σημαντικό ρόλο σε πλήθος κυτταρικών λειτουργιών αλλά και την καρκινογένεση. Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε ανάλυση έκφρασης και κλινική αξιολόγηση της προγνωστικής σημασίας του 5'-half tRF-LysCTT στον ορώδη καρκίνο της ωοθήκης.

Ολικό RNA απομονώθηκε από στατιστικά σημαντικό αριθμό όγκων ασθενών με την μέθοδο Chomczynski. Ακολούθησε πολυαδενυλίωση του 3'-άκρου του ολικού RNA και αντίστροφη μεταγραφή. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων του 5'-half tRF-LysCTT αναπτύχθηκε real-time qPCR μεθοδολογία με χρήση φθορισμογόνου SYBR-Green, χρησιμοποιώντας το snoRNA RNU48 ως ενδογενές γονίδιο αναφοράς. Εκτεταμένη στατιστική ανάλυση διεξήχθη για να μελετηθεί η κλινική αξία του 5'-half tRF-LysCTT στην πρόγνωση των ασθενών. Αποτελέσματα: Η ανάλυση έκφρασης ανέδειξε τη μειωμένη έκφραση του 5'-half tRF-LysCTT στους ασθενείς προχωρημένου FIGO σταδίου ( $p=0.047$ ) καθώς και στους ασθενείς με δυσμενή ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία ( $p=0.043$ ) σε σχέση με αυτούς που εμφάνισαν ολική ή μερική ύφεση της νόσου. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με ορώδη καρκίνο ωοθήκης που υποεκφράζουν το 5'-half tRF-LysCTT χαρακτηρίζονται από σημαντικά μειωμένη ολική επιβίωση συγκρινόμενοι με αυτούς στους οποίους διαπιστώθηκε υπερέκφραση (διάμεση ολική επιβίωση: 53 vs. 40 μήνες;  $p=0.099$ ). Συμπεράσματα: Η μειωμένη έκφραση του 5'-half tRF-LysCTT συσχετίζεται με δυσμενή μεταθεραπευτική πορεία των ασθενών με ορώδη καρκίνο της ωοθήκης, αποτελώντας δυνητικά ένα νέο προγνωστικό μοριακό δείκτη της νόσου. Ευχαριστίες:

*Η εργασία υποστηρίχθηκε οικονομικά από την Εταιρεία Ογκολόγων Παθολόγων Ελλάδας (ΕΟΠΕ).*

## **TRNA DERIVED FRAGMENTS (TRFS) EXPRESSION ANALYSIS AND CLINICAL EVALUATION IN OVARIAN CANCER**

**Magkou Paraskevi, Panoutsopoulou Konstantina, Avgeris Margaritis, Scorilas Andreas**

*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece*

*email: [ascorilas@biol.uoa.gr](mailto:ascorilas@biol.uoa.gr)*

Ovarian cancer (OC) accounts for the most gynecological cancer-related deaths and is the second most frequently diagnosed gynecological cancer in developed countries, with the poorest 5-year survival. Recently, a class of small noncoding RNAs (ncRNAs) has been described to be derived from tRNA precursor or mature sequences, namely tRNA derived fragments (tRFs). tRFs have been implicated in numerous cellular processes and they have been reported to be dysregulated in multiple cancers. In the present study, we aimed to investigate the expression profile of 5'-half tRF-LysCTT in serous OC (SOC) and to explore its clinical value in patients' prognosis.

Total RNA was extracted from a statistical significant size of ovarian tumors using Chomczynski method. Total RNA was polyadenylated in 3'-end and first-strand cDNA synthesis was performed by MMLV. A SYBR-Green fluorescent-based quantitative real-time PCR (qPCR) assay was developed to quantify 5'-half tRF-LysCTT levels in ovarian specimens, using snoRNA RNU48 as endogenous reference control gene for normalization purposes. Extensive statistical analysis has been conducted to explore the clinical utility of the studied tRFs in patients' prognosis. Results: The expression analysis highlighted the reduced levels of the 5'-half tRF-LysCTT in SOC patients of higher FIGO stage ( $p=0.047$ ), as well as in patients with poor response to first-line-chemotherapy compared to those experiencing complete or partial disease remission ( $p=0.043$ ). Moreover, SOC patients with reduced 5'-half tRF-LysCTT levels displayed significantly shorter overall survival compared to those overexpressing 5'-half tRF-LysCTT (median OS: 53 months vs 40 months;  $p=0.099$ ). Conclusions: Loss of 5'-half tRF-LysCTT is associated with unfavorable outcome of serous ovarian carcinomas and could represent a novel molecular marker of disease prognosis.

*Acknowledgement: The study was supported by Hellenic Society of Medical Oncology (HeSMO).*

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ, ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C, ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΛΙΠΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΗΝ ΑΓΧΩΔΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΜΥΩΝ ΣΤΟ ΕΠΙΛΗΠΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΗΣ ΠΕΝΤΥΛΕΝΟΤΕΤΡΑΖΟΛΗΣ**

**Μακαρούνη Ελένη<sup>1</sup>, Ματσεντίδου Δέσποινα<sup>1</sup>, Ατσοπάρδη Κορίνα<sup>2</sup>, Ανέστη Μαριά<sup>1</sup>, Βαρδάκας Περικλής<sup>1</sup>, Νικολέντζου Ράνια<sup>1</sup>, Ντέτσικα Λαμπρινή<sup>1</sup>, Μαργαρίτη Μαριγούλα<sup>1</sup>, Παναγόπουλος Τ. Νικόλαος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο, 26504, Ελλάδα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας και Ανοσολογίας, Φυσιολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504, Ρίο, Ελλάδα

Η επιληψία αποτελεί μία νευρολογική διαταραχή του εγκεφάλου, η οποία χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενες, απρόκλητες επιληπτικές κρίσεις. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της πιθανής ευεργετικής επίδρασης της Ν-ακετυλοκυστεΐνης (NAC), της βιταμίνης C, της μελατονίνης και του λιποϊκού οξέος στην αγχώδη συμπεριφορά ενήλικων αρσενικών μυών στο επιληπτικό μοντέλο της πεντυλενοτετραζόλης (PTZ). Στη μελέτη συμμετείχαν δέκα ομάδες πειραματόζων, στις οποίες χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά: i) φυσιολογικός ορός ή το αντίστοιχο έκδοχο (Control), ii) pTz (60mg/kg), iii) NAC (100mg/kg), iv) NAC (100mg/kg) 1 ώρα πριν από τη χορήγηση PTZ (60 mg/kg), v) βιταμίνη C (250mg/kg), vi) βιταμίνη C (250mg/kg) 30 λεπτά πριν από τη χορήγηση PTZ (60mg/kg), vii) μελατονίνη (80mg/kg), viii) μελατονίνη (80mg/kg) 30 λεπτά πριν από τη χορήγηση PTZ (60mg/kg), ix) λιποϊκό οξύ (500mg/kg) και ix) λιποϊκό οξύ (500mg/kg) 30 λεπτά πριν από τη χορήγηση PTZ (60mg/kg). Για την αξιολόγηση της συμπεριφοράς άγχους/φόβου χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία ανοιχτού πεδίου. Μετρήθηκε ο χρόνος παραμονής των πειραματόζων στην περιφέρεια της συσκευής (χρόνος θιγμοτακτισμού). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση PTZ προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της συμπεριφοράς άγχους/φόβου. Η χορήγηση των ουσιών βιταμίνη C, μελατονίνη και λιποϊκό οξύ στους μύες μάρτυρες αλλά και σε αυτούς που έγινε επαγωγή επιληπτικών κρίσεων δεν επηρέασε τη συμπεριφορά τους. Η χορήγηση όμως της NAC οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση της αγχώδους συμπεριφοράς, συγκριτικά με την ομάδα PTZ. Συμπερασματικά, η χορήγηση PTZ προκάλεσε αγχογένεση, ενώ μόνο μετά από χορήγηση NAC παρατηρήθηκε επαναφορά της θιγμοτακτικής συμπεριφοράς στα φυσιολογικά επίπεδα.

## **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF N-ACETYLCYSTEIN, VITAMIN C, MELATONIN AND LIPOIC ACID IN ANXIETY BEHAVIOR OF ADULT MALE MICE IN THE EPILEPTIC MODEL OF PENTYLENATETRAZOL (PTZ)**

**Makarouni Eleni<sup>1</sup>, Matsentidou Despina<sup>1</sup>, Atsopardi Korina<sup>2</sup>, Anesti Maria<sup>1</sup>, Vardakas Periklis<sup>1</sup>, Nikolentzou Rania<sup>1</sup>, Detsika Lamprini<sup>1</sup>, Margarity Marigoula<sup>1</sup>, Panagopoulos T. Nikolaos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of Patras, Rio 26504, Greece

<sup>2</sup>Laboratory of Molecular Biology and Immunology, Department of Pharmacy, University of Patras, Rio 26504, Greece

Epilepsy is a brain disorder characterized by spontaneous recurrent seizures. The aim of the study was to investigate the possible beneficial effect of N-acetylcystein (NAC), vitamin C, melatonin and lipoic acid on the anxiety behavior of adult male mice in the epileptic model of pentylenatetrazol (PTZ). Mice were divided into 10 groups and were injected intraperitoneally with: i) saline or vehicle solution (control), ii) PTZ (60mg/kg), iii) NAC (100mg/kg), iv) NAC (100mg/kg) 1 hour before PTZ (60mg/kg) treatment, v) vitamin C (250mg/kg), vi) vitamin C (250mg/kg) 30 minutes before PTZ (60mg/kg) treatment, vii) melatonin (80mg/kg), viii) melatonin (80mg/kg) 30 minutes before PTZ (60mg/kg) treatment, ix) lipoic acid (500mg/kg), x) lipoic acid (500mg/kg) 30 minutes before PTZ (60mg/kg) treatment. Anxiety/fear behavior was assessed by using the open-field test. During an individual 10 min task, we measured the time mice spent in the periphery of the open field apparatus (thigmotaxis time). The results showed that the administration of PTZ caused a statistically significant increase in anxiety / fear behavior. Moreover, the vitamin C, melatonin and lipoic acid administration did not affect the behavior in both control and PTZ group. However, NAC administration revealed a statistically significant reduction of anxiety behavior in epileptic mice compared to the PTZ group. Conclusively, PTZ administration caused induction of anxiety, while only after NAC injection there was a recovery of thigmotaxis behavior at control levels.

## ΕΠΟΧΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟ ΦΟΡΤΙΟ ΤΟΥ ΛΕΥΚΟΥ ΜΥΟΣ ΤΗΣ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*SPARUS AURATA*)

Μακρή Βασιλική<sup>1</sup>, Καλογιάννη Ελένη<sup>2</sup>, Κοτζαμάνης Ιωάννης<sup>3</sup>, Ναθαναηλίδης

Κοσμάς<sup>4</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.

<sup>2</sup>Εργαστήριο Ελαιόλαδου και Λιπαρών Υλών, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, 57400, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.

<sup>3</sup>Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών, Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών, Άγιος Κοσμάς, Ελληνικό, 16777, Αθήνα, Ελλάδα.

<sup>4</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Κωστακιοί Άρτας, 47100, Άρτα, Ελλάδα.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ένας σημαντικός τομέας οικονομικής δραστηριότητας όπως αυτός των υδατοκαλλιεργειών, απειλείται λόγω της κλιματικής αλλαγής. Συγκεκριμένα, υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ της παραγόμενης βιολογικής ενέργειας (ATP) και θερμοανθεκτικότητας των ψαριών. Επομένως, η μελέτη του ενεργειακού φορτίου και των αλλαγών στον μεταβολισμό των οργανισμών κάτω από συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας θα συμβάλει ουσιαστικά στην κατανόηση των κυτταρικών μηχανισμών καθορισμού των θερμικών ορίων αντοχής των εκτρεφόμενων ιχθύων. Η παρούσα ερευνητική εργασία εστιάζεται στη διερεύνηση της εποχικής αλλαγής του ενεργειακού φορτίου των και προτύπων μεταβολισμού της τσιπούρας (*Sparus aurata*) με σκοπό την μελέτη της συσχέτισης αυτών με υψηλές εποχικά θερμοκρασίες. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε μονάδα ιχθυοκαλλιέργειας στη Λάρυμνα με βάση το εποχικό θερμοκρασιακό πρότυπο της θαλάσσιας περιοχής. Από τα άτομα που συλλέχθηκαν απομονώθηκε δείγμα σκελετικού λευκού μυϊκού ιστού και στην συνέχεια έγινε ανάλυση των υδατανθράκων, των ολικών λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των αμινοξέων. Τα πρώτα αποτελέσματα δείχνουν ελάχιστες μεταβολές στα επίπεδα των πρωτεϊνών και των αμινοξέων και μεγαλύτερες στα επίπεδα των ολικών λιπιδίων και των υδατανθράκων. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων των λιπιδίων κατά τους μήνες με χαμηλές θερμοκρασίες και μείωση στους μήνες της άνοιξης. Αντίθετα, τα επίπεδα των υδατανθράκων παρουσίασαν αύξηση κατά τους θερινούς μήνες. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν μία εποχιακή αλλαγή στα μεταβολικά πρότυπα παραγωγής βιολογικής ενέργειας (ATP). Φαίνεται ότι η παραγωγή ATP βασίζεται στην οξείδωση των λιπιδίων την περίοδο του χρόνου με χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ την περίοδο των υψηλών θερμοκρασιών στην οξείδωση των υδατανθράκων. Διερευνάται κατά πόσο αυτή η εποχική αλλαγή στην οξείδωση των βιολογικών καυσίμων συμβάλλει στην θερμοανθεκτικότητα των εκτρεφόμενων ιχθύων.

## SEASONAL CHANGES ON THE ENERGY CHARGE OF WHITE MUSCLE OF FARMED GILTHEAD SEA BREAM (*SPARUS AURATA*).

**Makri Vasiliki<sup>1</sup>, Kalogianni Eleni<sup>2</sup>, Kotzamanis Yannis<sup>3</sup>, Nathanailides Cosmas<sup>4</sup>, Michaelidis Basile<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, Faculty of Science, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Technology and Quality Control of Olive Oil, Oils and Fats Lab, Department of Food Technology, School of Food Technology and Nutrition, Alexander Technological Educational Institution of Thessaloniki, 57400, Thessaloniki, Greece

<sup>3</sup>Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture Laboratory of Fish Nutrition, Hellenic Centre for Marine Research, Agios Kosmas, Helleniko, 16777, Athens, Greece

<sup>4</sup>Department of Agriculture, University of Ioannina, Kostakii Arta, 47100, Arta, Greece.

Recent studies have shown that aquaculture, a major sector of economic activity, is threatened by climate change. There is a relationship between biological energy (ATP) and the thermal tolerance of fish. Consequently, the studying of energy charge and patterns of the metabolism under high temperature conditions will contribute to elucidate the cellular mechanisms for determining the thermal tolerance limits of farmed fish. The present research focuses on the study of the seasonal changes on the energy charge and patterns of metabolism of sea bream (*Sparus aurata*) with the aim to investigate their correlation with high seasonal temperatures. Seasonal samples were obtained from a fish farm in Larymna according to ambient seasonal temperature fluctuation profiles of the marine area. Samples of axial white muscle collected and then analyzed for carbohydrates, total lipids, proteins and amino acids. The initial results indicate minimum changes in protein and amino acid levels and greater changes in total lipids and carbohydrate levels. Specifically, an increase in total lipids was observed during the months with low temperatures and a decrease in the spring months. In contrast, carbohydrate levels increased during the summer months. These results indicate a seasonal change in the metabolic patterns of biological energy production (ATP). It is concluded that ATP production is based on lipids oxidation during low temperatures and oxidation of carbohydrates during high temperatures. This research will assist to investigate how seasonal changes on oxidation of biological energy 'biofuels' contribute in thermal tolerance of farmed fish.

## **ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΜΥΔΙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΚΘΕΣΗ ΤΟΥ ΣΕ ΑΥΞΑΝΟΜΕΝΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ**

**Μακρή Σταυρούλα<sup>1</sup>, Παππά Αθανασία-Ζωή<sup>1</sup>, Γιάντσης Α. Ιωάννης<sup>2</sup>, Φειδάντσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Δροσοπούλου Ελένη<sup>3</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Δυτικής Μακεδονίας

<sup>3</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η κλιματική αλλαγή αναμένεται να επηρεάσει τη φυσιολογία και την παραγωγικότητα πολλών θαλάσσιων οργανισμών, όπως το μεσογειακό μύδι (*Mytilus galloprovincialis*). Η επίδραση στους οργανισμούς αυτούς αντικατοπτρίζεται σε μια μη φυσιολογική μακρομοριακή καταστροφή η οποία οδηγεί σε θερμική καταπόνηση και μετά την υπέρβαση ενός ορίου μπορεί να προκαλέσει αυξημένη θνησιμότητα. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των επιπέδων έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με το στρες, σε ιστούς μυδιών μετά από έκθεσή τους σε αυξανόμενες θερμοκρασίες. Για τον λόγο αυτόν τα άτομα τοποθετήθηκαν σε πέντε ενυδρεία όπου η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους 20°C, 22°C, 24°C, 26°C και 28°C για 12 ώρες, 1, 3, 5 και 10 μέρες. Στην συνέχεια έγιναν δειγματοληψίες σε κανονικά χρονικά διαστήματα και τα επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος (Heat shock proteins- Hsps), της καταλάσης, της δισμουτάσης υπεροξειδίου του Μn και Cu/Zn, της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης και των μεταλλοθειονινών προσδιορίστηκαν σε ένα σύστημα PCR πραγματικού χρόνου, στον μανδύα και στον προσαγωγό μυ. Με εξαίρεση τα μύδια που εκτέθηκαν στους 20°C και στους 22°C, όπου τα επίπεδα του mRNA ήταν χαμηλά, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας και στους δύο ιστούς που εξετάστηκαν τις πρώτες ώρες. Η πλειοψηφία των γονιδίων στόχων εκφράστηκαν σε υψηλότερα επίπεδα στον μανδύα από τον προσαγωγό μυ. Η έκφραση των γονιδίων του αντιοξειδωτικού στρες συμβαδίζει με την αύξηση των δραστηριοτήτων των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αντίθετα η έκφραση των γονιδίων των Hsps γίνεται τις πρώτες ώρες έκθεσης των μυδιών είτε στους 24°C είτε στους 26°C. Αντίθετα τα επίπεδα των αντίστοιχων πρωτεϊνών Hsp70 και Hsp90 παρατηρείται μετά από τις πρώτες πέντε ημέρες έκθεσης των μυδιών στους 26°C. Το γεγονός αυτό είναι σε συμφωνία με την υπόθεση της «προετοιμασίας για αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες» και σχετίζεται με την επανενεργοποίηση του μεταβολικού ρυθμού στους 26°C.

## **EXPRESSION LEVELS OF THERMAL AND OXIDATIVE STRESS RELATED GENES IN THE MEDITERRANEAN MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* EXPOSED TO INCREASED SEAWATER TEMPERATURES**

**Makri Stavroula<sup>1</sup>, Pappa Athanasia-Zoi<sup>1</sup>, Giantsis A. Ioannis<sup>2</sup>, Feidantsis Konstantions<sup>1</sup>, Drosopoulou Eleni<sup>3</sup>, Michaelidis Basile<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Technological Educational Institute of Western Macedonia, 53100, Florina, Greece

<sup>3</sup>Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

The anthropogenic climate change is known to greatly threaten the ecologically and socio-economically vital coastal marine systems. Specifically, climate change is expected to affect the physiology and productivity of immobile marine organisms, such as the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*). The effect on these organisms is reflected in a non-physiological macromolecular damage that leads to thermal stress and when exceeding a threshold limit may cause increased mortality. In this context, the aim of the present study was to investigate the transcriptional response of stress related genes in *M. galloprovincialis* exposed to elevated seawater temperature. For this purpose mussels were placed in five aquaria controlled at the levels of 20°C, 22°C, 24°C, 26°C and 28°C for 12 hours, 1, 3, 5 and 10 days. Particularly, the expression levels of the Heat Shock Protein, the catalase, the Mn and Cu/Zn superoxide dismutase, the Glutathione S-transferase and the metallothionein genes were determined in a real time PCR system, in two different tissues, namely the mantle and the adductor muscle. With the exception of mussels exposed to 20°C and 22°C, where the mRNA levels were low, a significant effect of temperature was observed in both tissues examined. The majority of the target genes were expressed in higher levels in the mantle than the adductor muscle tissue. These results demonstrate that mussels enhance their short-term anti-thermal potential. In this manner they probably prevent the harmful effects of high temperatures that often occur in particular marine areas of Thermaikos gulf during the hot summer months and is related with the hypothesis of preparation for the oxidative stress by reactivating the metabolic rate at 26°C.

## **ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΗΣ *YARROWIA LIPOLYTICA* ΣΕ ΤΡΟΦΙΚΕΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΞΕΙΣ**

**Μαλιώρη Βασιλεία<sup>1,2</sup>, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Μακρής Αντώνιος<sup>2</sup>, Θεοδοσίου Ελένη<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Ελλάδα

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών - Εθνικό Κέντρο Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης (INEB-EKETA), 6ο χλ. Χαριλάου - Θέρμης, Θέρμη, Θεσσαλονίκη, 57001, Ελλάδα

Κατά την παραγωγή του συμβατικού βιοντίζελ (1ης γενιάς), τριακυλογλυκερόλες από ζωικά λίπη ή φυτικά έλαια μετεστεροποιούνται με μεθανόλη, οδηγώντας στο σχηματισμό μεγάλων ποσοτήτων ακατέργαστης γλυκερίνης. Το πλεόνασμα της ακατέργαστης γλυκερίνης καθιστά επιτακτική την ανάπτυξη καινοτόμων βιοτεχνολογικών στρατηγικών για την αξιοποίησή της με στόχο την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Η *Yarrowia lipolytica* είναι μία ελαιογόνος ζύμη ικανή να μεταβολίζει τη γλυκερίνη και να συσσωρεύει ενδοκυτταρικά λιπίδια σε ποσοστό που ανέρχεται στο 20% του ξηρού κυτταρικού βάρους. Η σύσταση των μικροβιακά παραγόμενων λιπιδίων είναι παρόμοια με εκείνη των φυτικών ελαίων και έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά στην παραγωγή προηγμένου βιοντίζελ. Στην παρούσα εργασία, διερευνήσαμε την επίδραση της συγκέντρωσης της γλυκερίνης, της αναλογίας C/N στο μέσο ανάπτυξης και της παρουσίας διαφόρων συμπληρωμάτων σε σημαντικές φυσιολογικές και μορφολογικές παραμέτρους της ζύμης. Επιπλέον, αναπτύχθηκε μία μέθοδος διαλογής υψηλής απόδοσης (high throughput screening) με χρήση ροδαμίνης Β για τη χρώση των ενδοκυτταρικών λιπιδίων στην *Y. lipolytica* και την ταυτοποίηση αποικιών με βελτιωμένη ικανότητα λιπογένεσης. Προκειμένου να τροποποιηθεί γενετικά το βιοσυνθετικό μονοπάτι των λιπιδίων, προκλήθηκε τυχαία μεταλλαξιγένεση με χρήση του μεταλλαξιγόνου EMS (ethyl methanesulfonate) και οι μεταλλαγμένοι πληθυσμοί της ζύμης αναλύθηκαν με τη συγκεκριμένη μέθοδο.

## **PHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL RESPONSES OF *YARROWIA LIPOLYTICA* UPON TROPHIC AND GENETIC PERTURBATIONS**

**Maliori Vassilia<sup>1,2</sup>, Vlachonasios Konstantinos<sup>1</sup>, Makris Antonis<sup>2</sup>, Theodosiou Eleni<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, 54124, Greece

<sup>2</sup>Institute of Applied Biosciences - Centre for Research and Technology Hellas (INAB-CERTH), 6th km. Charilaou - Thermi Road, Thermi, Thessaloniki, 57001, Greece

During the production of conventional biodiesel (1st generation), triacylglycerols from animal fat or vegetable oils are transesterified with methanol leading to the formation of large quantities of crude glycerin. Crude glycerin contains many impurities, making the refining process expensive and wasteful. Since its surplus results in a constantly declining price, it is imperative to develop novel bio-based strategies to valorize this cheap and abundant renewable raw material into high value-added products. *Yarrowia lipolytica* is an oleaginous yeast able to efficiently utilize glycerin and accumulate lipids up to 20% (wt/wt) of its dry cell weight. Microbial lipids produced by oleaginous yeasts display fatty acid compositional profiles similar to those of commercial vegetable oils and can be used for the production of advanced biodiesel. In this work, we investigated the effect of the absolute glycerin concentration, the C/N ratio of the growth medium, and various supplements on the physiological and morphological responses of the yeast. A high throughput screening (HTS) rhodamine B-based method was developed using agar plates to stain intracellular lipids in *Yarrowia lipolytica* and to identify colonies with superior lipogenic capacity. In order to engineer the lipid biosynthetic pathway, random mutagenesis was applied using the EMS (ethyl methanesulfonate) mutagen and the yeast population was screened using the rhodamine B contained agar plates.

## **ΒΙΟΓΕΩΓΡΑΦΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΕ ΕΙΔΗ ΚΑΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΟΞΙΑΣ (*FAGUS* SP.) ΜΕΣΑ ΑΠΟ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΙΚΟΥ DNA**

**Μανώλης Απόστολος<sup>1</sup>, Τσιφιντάρης Μαργαρίτης<sup>1</sup>, Βαρσάμης Γεώργιος<sup>1</sup>, Τζαμπέρ Γιασμίν<sup>2</sup>, Βισκαδούρου Σοφία<sup>2</sup>, Γαλάνης Αλέξης<sup>1</sup>, Παπαγεωργίου Αριστοτέλης Χ.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

<sup>2</sup>Τμήμα Δασολογίας & Διαχείρισης Περιβάλλοντος & Φυσικών Πόρων, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

Η οξιά είναι ένα από τα πιο σημαντικά δέντρα στην Ευρώπη. Εμφανίζεται με δύο είδη, τα *Fagus sylvatica* κυρίως στην Ευρώπη και *Fagus orientalis* στην Ασία, ενώ στον χώρο των Ν.Α. Βαλκανίων αναφέρονται μεικτοί πληθυσμοί. Παλαιότερες έρευνες έχουν συνδέσει την εξάπλωση των δύο ειδών με τη μεταπαγετώδη ιστορία τους και κυρίως την κίνηση των πληθυσμών από τα καταφύγια προς τη σημερινή τους θέση μετά τη λήξη της τελευταίας παγετώδους περιόδου. Με δείκτες χλωροπλαστικού DNA (cpDNA), βρέθηκαν διαφορετικοί απλότυποι για τα δύο είδη και υποστηρίχθηκε η άποψη ότι η Β.Α. Ελλάδα αποτελεί πεδίο φυσικού υβριδισμού. Στην εργασία αυτή έγινε αλληλούχηση των τεμαχίων του cpDNA που έχουν χρησιμοποιηθεί στις προηγούμενες έρευνες για να οριστούν εκ νέου οι απλότυποι της οξιάς και να ελεγχθεί η υπόθεση της μείξης των δύο ειδών κατά τις μεσοπαγετώδεις μετακινήσεις. Έγινε σύγκριση πληθυσμών της οξιάς από την Δ. Ευρώπη, το Ιράν και από αντιπροσωπευτικές θέσεις στην Ελλάδα. Βρέθηκαν πολυμορφισμοί τριών τύπων, που προέρχονται από προσθαιρέσεις, από επαναλαμβανόμενα μοτίβα SSR και από αντικαταστάσεις. Αποδείχτηκε ότι η θεωρία που ελέγχουμε και που είχε βασιστεί στη σύγκριση του μήκους των τεμαχίων του cpDNA είναι λανθασμένη. Φαίνεται ότι οι πληθυσμοί των Ν.Α. Βαλκανίων δεν σχετίζονται καθόλου με τα δύο είδη στην ευρωπαϊκή και ασιατική τους εξάπλωση αντίστοιχα, κάτι που αποδεικνύει την καταγωγή τους από ξεχωριστά τοπικά καταφύγια και τη γενικότερη βιογεωγραφική τους απομόνωση. Η μείξη των δύο ειδών πιθανόν να συνέβη πολύ πριν την περίοδο των παγετωδών κύκλων του Πλειστόκαινου.

Η εργασία εντάσσεται στο πλαίσιο της Πράξης «ELIXIR-GR: Η Ελληνική Ερευνητική Υποδομή για Διαχείριση και Ανάλυση Δεδομένων στις Βιοεπιστήμες» (MIS 5002780) / Δράση «Ενίσχυση των Υποδομών Έρευνας και Καινοτομίας» / Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία», ΕΣΠΑ 2014-2020, με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης).

## **BIOGEOGRAPHICAL PATTERNS IN SPECIES AND POPULATIONS OF BEECH (*FAGUS* SP.) USING SEQUENCES OF CHLOROPLAST DNA FRAGMENTS**

**Manolis Apostolos<sup>1</sup>, Tsifintaris Margaritis<sup>1</sup>, Varsamis Georgios<sup>2</sup>, Jaber Yasmin<sup>2</sup>, Viskadourou Sofia<sup>2</sup>, Galanis Alexis<sup>2</sup>, Papageorgiou Aristotelis C.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Molecular Biology & Genetics / Democritus University of Thrace*

<sup>2</sup>*Department of Forestry, Environmental Management & Natural Resources*

Beech is one of the most important trees in Europe, represented by two species, *Fagus sylvatica* mainly in Europe and *Fagus orientalis* in Asia, while an introgression zone is considered to occur in S.E. Balkans. Previous research has linked the geographical range of the two species with their postglacial history, in particular with the migration of populations from glacial refugia to their current location after the end of the last glacial period. Using chloroplast DNA markers (cpDNA), different haplotypes were identified in both species, supporting the theory of N.E. Greece being a hybrid zone. In this study, we sequenced the cpDNA fragments used in previous studies, to redefine the beech haplotypes and to test the hypothesis of the postglacial introgression of the two beech species. Material was compared from beech populations in Western Europe, Iran and representative locations in Greece. Three polymorphism types, namely indels, SSR patterns and point mutations were found. Our data support that the theory we tested, which was based on comparisons of the length of cpDNA fragments, was wrong. No connection between the cpDNA beech haplotypes of the S.E. Balkans and the two species in their European and Asian distribution was found, indicating a biogeographical isolation of the populations of N.E. Greece. The two species probably came in introgressive contact before the Pleistocene glacial era.

*We acknowledge support of this work by the project "ELIXIR- GR: Hellenic Research Infrastructure for the Management and Analysis of Data from the Biological Sciences" (MIS 5002780) which is implemented under the Action "Reinforcement of the Research and Innovation Infrastructure", funded by the Operational Program "Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation" (NSRF 2014-2020) and co-financed by Greece and the European Union (European Regional Development Fund).*

## **Η ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΝΔΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΒΑΛΚΑΝΙΑ : Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ ΩΣ ΔΥΝΗΤΙΚΟΙ ΔΙΑΔΡΟΜΟΙ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ**

**Μαρδίρης Άγγελος, Τσαβδαρίδου Αναστασία-Δέσποινα, Κυπριώτη Αμαλία, Μαρία Παπαζέκου, Μαζάρης Αντώνιος**

*Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη*

Η εντεινόμενη εκμετάλλευση και ο κατακερματισμός του φυσικού τοπίου από τον άνθρωπο, καθιστούν την μείωση της συνδεσιμότητας μεταξύ περιοχών και ενδιαιτημάτων ως σημαντική απειλή για την διατήρηση της βιοποικιλότητας. Στην παρούσα εργασία, γίνεται αξιολόγηση των επιπτώσεων που έχουν οι ανθρωπογενείς παρεμβάσεις στην φυσική ροή των ποταμών. Εστιάζουμε στην ευρύτερη περιοχή των Βαλκανίων και μελετάμε τον τρόπο με τον οποίο οι υφιστάμενες, αλλά και οι μελλοντικές κατασκευές (φράγματα), αλλοιώνουν την οικολογική συνοχή και συνδεσιμότητα. Μελετήθηκαν συνολικά δέκα διακρατικά ποτάμια, που διαρρέουν το μεγαλύτερο τμήμα της Βαλκανικής χερσονήσου. Τα ποτάμια μετατράπηκαν σε δίκτυα διασυνδεόμενων κόμβων, ενώ τα φράγματα θεωρήθηκαν μη διαπερατά εμπόδια εντός των δικτύων αυτών. Χρησιμοποιώντας την θεωρία των γράφων εκτιμήθηκε ένα σύνολο δεικτών τοπολογίας που μας επέτρεψαν την αξιολόγηση της δομής και της συνδεσιμότητας των δικτύων, αλλά και της βαρύτητας των κόμβων στους οποίους κατασκευάζονται φράγματα. Για την πλειονότητα των ποτάμιων δικτύων που μελετήθηκαν, διαπιστώθηκαν σημαντικές απώλειες στην συνδεσιμότητα εξαιτίας των ανθρωπογενών κατασκευών. Ενώ όταν συγκρίθηκε η υφιστάμενη με την μελλοντική τους κατάσταση οι απώλειες ήταν ακόμη μεγαλύτερης κλίμακας. Πέρα από τα ποσοτικά ευρήματα και τον χωρικό προσδιορισμό κρίσιμων τμημάτων για την οικολογική συνδεσιμότητα των υδάτινων συστημάτων στα Βαλκάνια, η παρούσα εργασία αναδεικνύει ένα σημαντικό ζήτημα για τις προσπάθειες διατήρησης. Παρά την ανάδειξη της οικολογικής συνδεσιμότητας ως βασικό άξονα προτεραιότητας για την προστασία της βιοποικιλότητας, και όπως άλλωστε αποτυπώνεται στο ανώτερο πολιτικό επίπεδο σχεδιασμού (πχ. ευρωπαϊκή νομοθεσία και στρατηγικές), στην πράξη οι χωρικές επιλογές παρεμβάσεων στα ποτάμια συστήματα φαίνεται να αγνοούν πλήρως τη σημαντικότητα της.

## **ECOLOGICAL CONNECTIVITY IN THE BALKAN PENINSULA: RIVERS AS POTENTIAL CORRIDORS**

**Mardiris Angelos, Tsavdaridou Anastasia-Despoina, Kyprioti Amalia, Papazekou Maria, Mazaris Antonios**

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

Habitat loss and fragmentation are listed as major threats to biodiversity at local, regional and global scales as they could alter the structure and configuration of the landscape mosaic, generating physical barriers to biological flows (i.e. genes, individuals, populations). In this study, we explored how existing and planned interventions (i.e. dam construction) affect the structure, coherence and connectivity properties of riparian networks in the Balkan Peninsula. We focused on ten transnational rivers that drain throughout the studied area. Rivers were transferred into networks of interconnected nodes, further considering dams as non-passable barriers inside the networks. By using graph theory, we estimated a series of metrics offering information on the structure of the networks and on the significance of the nodes where dams are located or will be constructed. Our analysis revealed that dam constructions have a significant impact upon connectivity properties of all riparian networks. Similarly, we demonstrated that future constructions would also greatly alter connectivity patterns. Our study offered an overall assessment of the connectivity in the riparian systems in the Balkan Peninsula and supported quantitative evidence on critical nodes which facilitate network coherence and connectivity. At the same time, it clearly demonstrates a major conservation challenge. Even though ecological connectivity is recognized as a key priority in higher political agendas (e.g. EU directives and strategies), it seems that it is largely ignored during the planning, design and construction of technical infrastructure projects.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΟΥ ΙΚΤΕΡΟΥ ΣΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΦΡΑΓΜΟ

**Μαριάννα Κουρουνάκου<sup>1</sup>, Φωτούλα Μαρίνη<sup>1</sup>, Αιλιμπάκης Κωνσταντίνος<sup>2</sup>, Τσεπελάκη Τόνια<sup>2</sup>, Βαγιανός Κωνσταντίνος<sup>2</sup>, Παναγιώτα Παπαζαφείρη<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

<sup>2</sup>Τομέας Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Λίγες πληροφορίες υπάρχουν σχετικά με τον χρόνο που απαιτείται για την εμφάνιση αλλαγών, τόσο στην οξειδωτική κατάσταση του εγκεφάλου και του εντέρου όσο και στην συγκρότηση των στενοσυνδέσμων τους, στην περίπτωση του αποφρακτικού ίκτερου. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η καταγραφή των επιπέδων των πρωτεϊνών των στενοσυνδέσμων σε σταθερά χρονικά διαστήματα -12ώρες, 48ώρες, 7ημέρες και 14ημέρες, μετά από απολίνωση του χοληδόχου πόρου σε επιμύες. Οι υπό μελέτη ιστοί περιλαμβάνουν τόσο την παρεγκεφαλίδα, το στέλεχος και τα ημισφαίρια όσο και τον εντερικό βλεννογόνο. Αυτό επιχειρείται μέσω προσδιορισμού των αλλαγών των κλωντινών, CLDN-3 και CLDN-5 στα διάφορα τμήματα του εγκεφάλου και της αποφραξίνης και των κλωντινών CLDN-4 και CLDN-3 στο έντερο. Οι σημαντικότερες αλλαγές που καταγράφηκαν στον εγκέφαλο συνδέονται με μείωση της CLDN-5 στο στέλεχος στο διάστημα 14 ημερών και σημαντική αύξηση της CLDN-3 στο ημισφαίριο μετά από 48 ώρες. Επιπλέον, η CLDN-4 φαίνεται να αυξάνει στον εντερικό βλεννογόνο. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνεται και από συμπληρωματικά πειράματα σε καλλιέργειες κυττάρων εντέρου, τα οποία έδειξαν ότι σε συνθήκες υποξίας η CLDN-4 παρουσιάζει αύξηση. Όσον αφορά στην αποφραξίνη, καταγράφηκε σημαντική μείωση στα επίπεδα της ζώνης των 65kDa και αύξηση αυτής των 75kDa. Αυτή η διαφορά έχει συνδεθεί με φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης σε κατάλοιπα τυροσίνης, γεγονός που το καθιστά μη λειτουργικό. Επιπρόσθετα, σε πειράματα ανοσοκυτταροχημείας στα συγκεκριμένα κύτταρα, εντοπίστηκε μετακίνηση και συσσωμάτωση της CLDN-3 στον ενδοκυττάριο χώρο, ενώ τα συνολικά επίπεδά της παρέμειναν σταθερά. Έχει παρατηρηθεί ότι οι εγκεφαλικές βλάβες που προκαλεί ο αποφρακτικός ίκτερος μπορούν να περιοριστούν ύστερα από έγκαιρη διακοπή του αιτίου που τον προκαλεί. Λαμβάνοντας υπόψη αυτό, αναμένεται ότι στο τέλος της μελέτης θα καθοριστεί το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα στο οποίο απαιτείται άμεση κλινική παρέμβαση, ώστε να αποφευχθούν οι αρνητικές επιπτώσεις του αποφρακτικού ίκτερου.

## **STUDY OF THE OBSTRUCTIVE JAUNDICE IMPACT ON THE INTESTINAL AND BLOOD BRAIN BARRIER**

**Kourounakou Marianna<sup>1</sup>, Marini Fotoula<sup>1</sup>, Lilimpakis Constantinos<sup>2</sup>, Tsepelaki Tonia<sup>2</sup>, Vagianos Constantine<sup>2</sup>, Papazafiri Panagiota<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Division of Animal and Human Physiology, Department of Biology, National & Kapodistrian University of Athens*

<sup>2</sup>*Division of Surgery, Department of Medicine, National & Kapodistrian University of Athens*

In the case of obstructive jaundice, there is little information about the time required for alterations to occur in the physiology of the organism. These alterations may include change of brain's oxidative state, as well as altered tight junction structures. The purpose of the present study is to define the levels of tight junction proteins at time intervals of 12 hours, 48 hours, 7 days and 14 days, after ligation of the bile duct in rats. The tissues examined include the cerebellum, the brain stem and the hemispheres as well as the intestinal epithelium. This is attempted by identifying CLDN-3 and CLDN-5 changes in the various parts of the brain and occludin, CLDN-4 and CLDN-3 in the intestine. The most important changes recorded in the brain are associated with a significant increase of CLDN-3 in the hemisphere 48 hours after the ligation and a decrease of CLDN-5 in the brain stem 14 days after the ligation. In addition, CLDN-4 appears to increase in the intestinal mucosa. This finding is further confirmed by complementary experiments in intestinal cell cultures, which showed that during hypoxia conditions, CLDN-4 levels are increased. With regard to occludin, a significant decrease of the 65kDa band and an increase of 75kDa was recorded. This difference has been associated with phosphorylation of the protein at tyrosine residues, making it nonfunctional. In addition, immunocytochemistry experiments on these cells, showed a clear translocation and aggregation of CLDN-3 in the intracellular space, albeit its total levels remained stable. It has been observed that cerebral lesions caused by obstructive jaundice can be reduced after a timely interruption of the cause. Considering this, it is expected that at the end of the study, the specific time interval requiring immediate clinical intervention will be determined to avoid the adverse effects of obstructive jaundice.

## **ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΟΥΡΟΠΟΙΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΑΝΔΡΩΝ**

**Μάστορα Ειρήνη, Φλώρου Ζωή, Πετεινάκη Ευθυμία**

*Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

Η προσβολή του γεννητικού συστήματος των ανδρών από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων αποτελεί μία από τις πλέον κοινές σεξουαλικά μεταδιδόμενες περιπτώσεις ιογενούς αιτιολογίας. Σκοπός ήταν να μελετηθεί εάν ο ασυμπτωματικός πληθυσμός είναι εκτεθειμένος στον ιό HPV καθώς και να καθοριστούν οι τύποι χαμηλού και υψηλού κινδύνου, ώστε να εκτιμηθεί η σκοπιμότητα εμβολιαστικής κάλυψης του ανδρικού πληθυσμού έναντι του ιού. Η παρουσία του ιού HPV εξετάστηκε συνολικά σε 57 ουρηθρικά δείγματα υγιών ανδρών αναπαραγωγικής ηλικίας. Η ανίχνευση και η τυποποίηση των ιών HPV χαμηλού και υψηλού κινδύνου πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου έπειτα από την εξαγωγή γενετικού υλικού. Ο ιός εντοπίστηκε σε 11 από τους 57 άνδρες. Το ποσοστό εύρεσης των τύπων χαμηλού κινδύνου ήταν συνολικά 7%. Ο HPV 6 και ο HPV 11 εντοπίστηκαν σε ποσοστό 3,5%. Το ποσοστό εύρεσης των τύπων υψηλού κινδύνου ήταν συνολικά 12,3%. Οι HPV 16, HPV 18, HPV 35, HPV 39, HPV 45, HPV 51, HPV 56, HPV 58 και HPV 59 δεν εντοπίστηκαν σε κανένα δείγμα. Ο HPV 31 και ο HPV 33 εντοπίστηκαν σε ποσοστό 5,3%, ενώ ο HPV 52 εντοπίστηκε σε ποσοστό 1,7%. Δεν παρατηρήθηκε ταυτόχρονη παρουσία παραπάνω του ενός τύπου. Ο HPV συναντάται συνολικά σε ποσοστό 19,3% στους άνδρες, παρότι δεν προκαλεί κλινική εκδήλωση. Η συχνότητα του ιού σε αυτό το ποσοστό και μάλιστα σε δείγμα ασυμπτωματικών φορέων, είναι ανησυχητική. Τα ευρήματα λειτουργούν προσθετικά στη γενικότερη κατανόηση της επιδημιολογίας του ιού HPV στον ανδρικό πληθυσμό. Ακόμη, συμβάλλουν στην απόκτηση γνώσης σχετιζόμενης με την εισαγωγή του HPV εμβολιασμού και στα αγόρια, ενώ αποτελούν χρήσιμα στοιχεία ως βασικές προηγηθείσες του εμβολιασμού μετρήσεις.

## **DETECTION AND GENOTYPING OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS IN THE UROGENITAL SYSTEM OF ASYMPTOMATIC MEN**

**Mastora Eirini, Florou Zoi, Peteinaki Euthimia**

*Laboratory of Microbiology, Department of Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly*

Genital infection with human papilloma virus is one of the most common sexually transmitted diseases of viral etiology. The aim was to study whether the asymptomatic population is exposed to HPV virus as well as to determine the low and high risk types, in order to assess the feasibility of men's vaccination coverage against the virus. HPV prevalence was examined in 57 urine samples of healthy reproductive aged men. Detection and genotyping of HPV low and high risk viruses were performed by the real-time quantitative polymerase chain reaction method following DNA extraction. The virus was detected in 11/57 men. The low risk types' detection rate was 7%. HPV 6 and HPV 11 were detected in 3.5%. The high risk types' detection rate was 12.3%. HPV 16, HPV 18, HPV 35, HPV 39, HPV 45, HPV 51, HPV 56, HPV 58 and HPV 59 were not detected in any sample. HPV 31 and HPV 33 were detected in 5.3%, while HPV 52 was detected in 1.7%. No simultaneous presence of more than one type was observed. HPV was found in 19.3% of men, although the virus does not cause clinical manifestations. Virus high frequency, especially among asymptomatic men, is worrying. The findings contribute additionally to the general understanding of HPV epidemiology in the male population. They also contribute to the acquisition of knowledge related to the introduction of HPV vaccination in boys, and are useful data as pre-vaccination analyses.

## ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ ΜΕΓΑΚΥΤΤΑΡΩΝ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑΝΙΝΗΣ *FRA2* ΤΟΥ *ARABIDOPSIS THALIANA L.* ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Μεϊντάνη Χριστιάννα<sup>1</sup>, Γιαννούτσου Ελένη<sup>1</sup>, Ντάλλη Νικολέττα<sup>2</sup>, Καραγκούνη Δ. Αμαλία<sup>1</sup>, Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15784, Αθήνα  
email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr).

<sup>2</sup>Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, 14561, Αθήνα

Οι κομβονηματώδεις του είδους *Meloidogyne incognita* είναι υποχρεωτικά παρασιτικοί οργανισμοί που προσβάλλουν τις ρίζες πολλών καλλιεργούμενων φυτών. Επάγουν τη διαφοροποίηση των συνοδών παρεγχυματικών κυττάρων του κεντρικού κυλίνδρου σε μεγακύτταρα από τα οποία τρέφονται μέχρι να ολοκληρώσουν τον κύκλο ζωής τους. Η είσοδος του νηματώδους στη ρίζα του φυτού προκαλεί μια σειρά αποκρίσεων, η οποία περιλαμβάνει και την αλλαγή της σύστασης των κυτταρικών τοιχωμάτων, μέσω αλλαγής της έκφρασης διαφόρων γονιδίων. Στο μετάλλαγμα *fra2*, η κατανίνη που συμβάλλει στην ορθή διεύθυνση των μικροσωληνίσκων και με αυτό τον τρόπο ρυθμίζει έμμεσα τη διαμόρφωση του κυτταρικού τοιχώματος, δεν είναι λειτουργική. Προκειμένου να διαλευκανθεί η συνεισφορά της ορθής λειτουργίας του κυτταροσκελετού στη μόλυνση από τον κομβονηματώδη, φυτά *fra2* ηλικίας 30 ημερών μολύνθηκαν με 100 κομβονηματώδεις/ml. Παράλληλα μολυσμένα φυτά αγρίου τύπου, *col-0*, χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Τμήματα της ρίζας μήκους 0,5 cm εκατέρωθεν των κόμβων αποκόπηκαν από φυτά 21 ημέρες μετά τη μόλυνση και έπειτα από διαδοχικές αφυδατώσεις με αιθανόλη εμποτίστηκαν με ρητίνη LRW. Οι εγκάρσιες τομές στο επίπεδο των μεγακυττάρων επώαστηκαν με τα αντισώματα JIM5, LM20, LM6, LM25, anti-(1→3)-β-D-glucan, LM2 που προσδένονται ειδικά σε απομεθυλεστεροποιημένη ομογαλακτουρονάνη (DeHG), πλήρως μεθυλεστεροποιημένη ομογαλακτουρονάνη (MeHG), αραβινάνη (Ara), ξυλογλουκάνη (Xlg), καλλόζη (Cal) και γλυκοπρωτεΐνες (AGPs) αντίστοιχα. Τα δείγματα παρατηρήθηκαν σε μικροσκόπιο φθορισμού. Τα επίπεδα DeHG και AGPs είναι παρόμοια στον άγριο τύπο και στο μετάλλαγμα, ενώ οι MeHG και Ara παρουσιάζονται αυξημένες στο *fra2*. Αντίθετα οι Xlg και Cal διατηρούνται σε υψηλότερα επίπεδα στο *col-0*. Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα παρατηρείται αυξημένη εναπόθεση πηκτινικών ενώσεων στο *fra2* έναντι του *col-0* και ταυτόχρονα χαμηλότερα επίπεδα ημικυτταρίνων που συμβάλλουν στη δημιουργία πιο χαλαρών και εύθραυστων κυτταρικών τοιχωμάτων στο μετάλλαγμα *fra2*.

## **CELL WALL MODIFICATIONS OF GIANT CELLS IN FRA2 KATANIN MUTANTS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* L. AFTER ROOTKNOT NEMATODE INFECTION**

**Meidani Christianna<sup>1</sup>, Giannoutsou Eleni<sup>1</sup>, Ntalli Nikoletta<sup>2</sup>, Karagouni D. Amalia<sup>1</sup>, Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Botany, Faculty of Biology, UOA, Athens, 15784

email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr)

<sup>2</sup>Benaki Phytopathological Institute, 14561, Athens

Rootknot nematodes of the species *Meloidogyne incognita* are obligatory parasitic organisms that infect the roots of many cultivated plants. They induce the differentiation of the parenchymatic cells of the central cylinder to giant-cells from which they feed until they complete their life cycle. Nematode entry in the root of the plant causes a series of responses, which also include changes in the composition of the cell wall via the expression of various genes. In the *fra2* mutant, katanin, that contributes in the proper microtubule organization and consequently controls indirectly the cell wall structure, is not functional. So, in order to study the contribution of microtubules in the rootknot infection, 30-day-old *fra2* plants were treated with 100 nematodes/ml. Similarly treated wild type plants (*col-0*) were used as controls. Root knots of a length of 0.5 cm were cut off from plants, 21 days post infection and subjected to successive dehydration with ethanol; finally embedded to LRW resin. Traverse sections through the giant cells were incubated with JIM5, LM20, LM6, LM25, anti-(1→3)-β-D-glucan, and LM2 primary antibodies which bind specifically to de-methyl-esterified homogalacturonan (DeHG), methyl-esterified homogalacturonan (MeHG), arabinan (Ara), xyloglucan (Xlg), callose (Cal) and glycoproteins (AGPs) respectively. Sections were observed in an epifluorescence microscope. Levels of DeHG and AGPs were similar in the wild type and the mutant plants, while MeHG and Ara appeared increased in *fra2*. On the contrary, higher levels of Xlg and Cal were observed in *col-0*. These data suggest an increased deposition of pectins and simultaneously lower levels of hemicelluloses in *fra2*, contributing in the formation of a more loose and fragile cell wall in the mutant.

## **ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΙΘΑΝΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΩΛΗΝΑ ΤΟΥ ΕΔΩΔΙΜΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *Cornu aspersum* (Müller, 1774)**

**Μεταλληνού Ε.<sup>1</sup>, Χαριζάνη Ε.<sup>1</sup>, Στάικου Α.<sup>2</sup>, Γιάγκου Μ.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

<sup>2</sup>Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Ο εντερικός μικροβιόκοσμος κατέχει σημαντικό ρόλο τόσο στη διατήρηση και ενίσχυση της ομοιόστασης του εντέρου όσο και σε διάφορες άλλες λειτουργίες του ξενιστή στα σπονδυλωτά. Η χορήγηση προβιοτικών, ζωντανών μικροοργανισμών που σε κατάλληλες ποσότητες προάγουν υγεία του ξενιστή βελτιώνοντας την ισορροπία της εντερικής μικροχλωρίδας του, αποτελεί στρατηγική θεραπείας και βελτιωμένης παραγωγής σε ζώα εκτροφής. Ωστόσο, μέχρι σήμερα υπάρχει περιορισμένη πληροφορία όσον αφορά τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας καθώς και τη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος και των προβιοτικών στα ασπόνδυλα ζώα. Στην παρούσα εργασία, απομονώθηκαν 60 βακτηριακά στελέχη από τον εντερικό σωλήνα του εδώδιμου σαλιγκαριού *Cornu aspersum* (Müller, 1774) και εξετάστηκαν *in vitro* οι ιδιότητές τους, που σχετίζονται με τον χαρακτηρισμό τους ως πιθανά προβιοτικά. Για να διαπιστωθεί η ικανότητα τους να ξεπερνούν τους εντερικούς φραγμούς και να επιβιώνουν κατά τη διέλευσή τους από το γαστρεντερικό σωλήνα, πραγματοποιήθηκε ποιοτικός έλεγχος της ανάπτυξής τους παρουσία της γαστρικής και εξωτερικής βλέννας, των γαστρικών εκκρίσεων και του όξινου pH. Επίσης, διερευνήθηκαν χαρακτηριστικά της κυτταρικής τους επιφάνειας (υδροφοβία, αυτοσυσσωμάτωση και σχηματισμός βιοϋμενίου), που συνδέονται με τον αποικισμό του εντερικού σωλήνα. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) για την διάκριση των στελεχών *cam7*, *cam8*, *cam10*, *cam11*, *cama8*, *cama9*, *cama11*, *cama15*, *cama19* που εμφάνισαν τις καλύτερες προβιοτικές ιδιότητες *in vitro*. Ακολούθησε διερεύνηση της *in vivo* ανοσοτροποποιητικής τους δράσης, μέσω της ικανότητας τους να αυξάνουν τη χημειόταξη και τη φαγοκυττάρωση των κυττάρων της αιμόλεμφου. Τα στελέχη με την υψηλότερη ανοσοτροποποιητική ικανότητα, ταυτοποιήθηκαν σε επίπεδο είδους με αλληλούχιση του 16S rRNA και ελέγχθηκαν για την αντιβακτηριακή τους δράση.

## **EXAMINATION OF POTENTIAL PROBIOTICS BACTERIA ISOLATED FROM THE EDIBLE LAND SNAIL *Cornu aspersum* (Müller, 1774) GASTROINTESTINAL TRACT.**

**Metallinou E.<sup>1</sup>, Charizani E.<sup>1</sup>, Staikou A.<sup>2</sup>, Yiangou M.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, A.U.Th.*

<sup>2</sup>*Department of Zoology, School of Biology, A.U.Th.*

The intestinal microbiota plays an important role in maintaining and enhancing intestinal homeostasis as well as in other host function in vertebrates. Probiotics are living microorganisms that benefit the host when administrated in appropriate quantities, by enhancing its intestinal microbial balance, and thus are increasingly used in commercial animal production operations in order to improve animal health and productivity. However, there is little information concerning, composition of the intestinal microflora, as well as immune responses and probiotics in invertebrates. In this study we have investigated the probiotic properties of 60 bacterial strains that were isolated from the gastrointestinal tract of *Cornu aspersum* (Müller, 1774). Gastric maintenance of the bacteria in the intestinal tract was evaluated by determining their capacity to tolerate the presence of gastrointestinal barriers such as, gastric and external mucus, gastric secretions and low pH. Cell surface characteristics (hydrophobicity, autoaggregation and biofilm formation) associated with bacterial capacity to colonize the intestinal tract were further investigated. Application of Principal Component Analysis (PCA) indicated that 9 bacterial strains (cam7, cam8, cam10, cam11, cama8, cama9, cama11, cama15, cama19) exhibited the highest values concerning to their *in vitro* probiotic properties. The above strains, were further investigated for their *in vivo* immunomodulatory activity such as their capacity to increase the chemotactic and phagocytic activity of snails' haemolymph cells. The strains that revealed the highest immunomodulatory activity were also identified on a species level using 16S rRNA gene sequences and were examined for their antimicrobial activity.

## **ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΝΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΖΥΜΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΕΡΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΟΣΙΝΗΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΥΛΑΛΑΝΙΝΗΣ.**

**Μούγιου Νίκη<sup>1,2</sup>, Τρίκκα Φωτεινή<sup>2</sup>, Αργυρίου Αναγνώστης<sup>2</sup>, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Μακρής Μ. Αντώνιος<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών, ΕΚΕΤΑ, 6ο χλμ Χαριλάου- Θέρμης, 57001 Θέρμη, Θεσσαλονίκη

Πολλές ενώσεις με οικονομικό ενδιαφέρον παράγονται από το δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών χρησιμοποιώντας τα αρωματικά αμινοξέα ως πρόδρομες ενώσεις. Τέτοιες ενώσεις είναι διάφορα αλκαλοειδή, φλαβονοειδή και φαινολικά οι οποίες χρησιμοποιούνται ως φάρμακα, όπως η κινίνη και η εφεδρίνη, ή ως συμπληρώματα διατροφής, όπως η ελευρωπαΐνη και η υδροξυτυροσόλη. Η εκχύλιση τους από φυτικούς ιστούς συχνά είναι δύσκολη και δαπανηρή, ως εκ τούτου υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη μικροβιακών βιο-εργαστασίων για την ετερόλογη παραγωγή τους. Ο στόχος αυτής της εργασίας είναι η ανάπτυξη νέων κυτταρικών σειρών ζύμης υπερπαραγωγής της τυροσίνης και της φαινυλαλανίνης με απώτερο στόχο να χρησιμοποιηθούν για τη σύνθεση φαινολικών ουσιών. Όλα τα αρωματικά αμινοξέα παράγονται από το σικιμικό μονοπάτι κατά το οποίο η 4-φωσφο-ερυθρόζη και το φωσφοενολπυροσταφυλικό οξύ, μέσω επτά αντιδράσεων, συνθέτουν το χορισμικό οξύ. Στη ζύμη τα ένζυμα ARO4 (AROMATIC amino acid requiring) και ARO7 ελέγχουν τα ενδογενή επίπεδα τυροσίνης ενώ το ένζυμο ARO3 της φαινυλαλανίνης μέσω βρόγχων αρνητικής ανάδρασης. Κατόπιν τα δύο αμινοξέα ενδιαφέροντος καταβολίζονται από τις αμινοτρανσφεράσες ARO8 και ARO9, η έκφραση των οποίων ελέγχεται από τον μεταγραφικό παράγοντα ARO80. Για την αύξηση της τυροσίνης και της φαινυλαλανίνης έγιναν μεταλλάξεις στα βιοσυνθετικά τους γονίδια και διαγράφηκαν γονίδια καταβολισμού. Η αντικατάσταση των γονιδίων ARO4 και ARO7 με μεταλλαγμένα αλληλόμορφα, καθώς και η διαγραφή των γονιδίων ARO3 και ARO80 αύξησε την τυροσίνη κατά 4,5 και την φαινυλαλανίνη κατά 1,8 φορές. Περαιτέρω διαγραφές των γονιδίων ARO8 και YPL062W, το οποίο εμπλέκεται στη συσσώρευση γλυκογόνου οδήγησαν σε αύξηση της τυροσίνης και της φαινυλαλανίνης κατά 8 και 4 φορές αντίστοιχα. Επιπρόσθετες παρεμβάσεις σε ρυθμιστικά μονοπάτια μπορούν να βελτιώσουν την παραγωγικότητα των στελεχών μας. Τα νέα στελέχη ζύμης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή φαινολικών ουσιών και τερπενίων.

## **DEVELOPMENT OF NOVEL YEAST STRAINS FOR THE OVERPRODUCTION OF TYROSINE AND PHENYLALANINE.**

**Niki Mougou<sup>1,2</sup>, Fotini Trika<sup>2</sup>, Anagnostis Argiriou<sup>2</sup>, Konstantinos Vlachonasios<sup>1</sup>, Antonios M. Makris<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Institute of Applied BioSciences, CERTH, 57001 Thessaloniki, Greece*

Many plant compounds of economic interest are derived from secondary metabolism using aromatic amino acids as precursor molecules. These compounds include alkaloids, flavonoids and phenolics that are used as pharmaceuticals, like quinine and ephedrine, and as dietary supplements, such as oleuropein and hydroxytyrosol. Their isolation from plant tissues is often laborious and non-cost effective, therefore there is an increasing effort for the development of microbial bio-factories for heterologous production. The aim of this research is to develop novel yeast strains that overproduce the aromatic amino acids tyrosine and phenylalanine in order to serve as a platform for biosynthesis of phenolic compounds. All aromatic amino acids are produced by the shikimate pathway that starts with phosphoenolpyruvate and erythrose-4-phosphate and via seven enzymatic steps leads to the production of chorismate. In yeast, the enzymes ARO4 (AROMATIC amino acid requiring) and ARO7 control endogenous tyrosine levels while ARO3 controls phenylalanine levels via feedback inhibition loops. The two amino acids are then degraded by the aminotransferases ARO8 and ARO9, which are controlled by the transcriptional factor ARO80. To increase tyrosine and phenylalanine we engineered their biosynthetic genes and deleted some of their catabolic genes. The replacement of ARO4 and ARO7 genes by tyrosine-insensitive alleles and the deletion of ARO3 and ARO80 led to a new yeast strain, in which both tyrosine and phenylalanine levels were increased 4.5-fold and 1.8-fold respectively. Further deletions of the ARO8 and YPL062W gene, which is involved in glycogen accumulation, increased the intracellular pool of tyrosine and phenylalanine by 8 and 4 times respectively. The strains can be further improved by incorporating additional perturbations in regulatory pathways. These new yeast strains can be exploited for the production of valuable phenolic compounds and terpenes.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΠΕΔΙΝΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ (*PERDIX PERDIX*) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

**Μουλιστάνος Α.<sup>1</sup>, Καραϊσκού Ν.<sup>1</sup>, Γκαγκαβούζης Κ.<sup>1</sup>, Murray-Dickson G.<sup>2</sup>, Ghazali M<sup>2</sup>, Μηνούδη Σ.<sup>1</sup>, Καλαεντζής Κ.<sup>1</sup>, Χατζηνίκος Ε.<sup>3</sup>, Κιούσης Δ.<sup>3</sup>, Μανιός Ν.<sup>4</sup>, Ball A.<sup>2</sup>, Senn H.<sup>2</sup>, Τριανταφυλλίδης Α.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ελλάδα

<sup>2</sup>WildGenes Laboratory, Royal Zoological Society of Scotland, Εδιμβούργο, Ηνωμένο Βασίλειο

<sup>3</sup>Δ' Κυνηγετική Ομοσπονδία Στερεάς Ελλάδος, Αθήνα, Ελλάδα

<sup>4</sup>Δασαρχείο Τρικάλων, Ελλάδα

Η πεδινή πέρδικα *Perdix perdix* (Linnaeus, 1758) αποτελεί ένα από τα τρία είδη του γένους *Perdix* και το μοναδικό που απαντάται στην ευρωπαϊκή ήπειρο. Οι πληθυσμοί του είδους παρουσιάζουν μεγάλη μείωση σε όλες τις χώρες εξάπλωσης του και ειδικότερα σε περιοχές εντατικής γεωργίας. Στην Ελλάδα, η πεδινή πέρδικα σημείωσε δραματική πτώση πληθυσμιακά τα τελευταία χρόνια και οι πληθυσμοί της περιορίστηκαν από τη Θεσσαλία και τη ΝΔ Μακεδονία ως τη Θράκη. Αν και η θήρευση του είδους απαγορεύτηκε το 1984, γίνεται εκτροφή σε μικρή κλίμακα από ιδιωτικά εκτροφεία. Προηγούμενες φυλογενετικές μελέτες με βάση το μιτοχονδριακό DNA έχουν δείξει την παρουσία δύο διακριτών κλάδων, ανατολικού και δυτικού, οι οποίοι αντικατοπτρίζουν την επιβίωση προγονικών πληθυσμών του είδους κατά την τελευταία παγετώδη περίοδο σε δύο καταφύγια. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας στα άτομα πεδινής πέρδικας από την Ελλάδα και την ΠΓΔΜ καθώς επίσης και η διερεύνηση της γενετικής δομής των μελετώμενων πληθυσμών. Συνολικά, απομονώθηκε γενετικό υλικό από 127 δείγματα φτερών, αίματος και μυϊκού ιστού από 5 άγριους πληθυσμούς από την Ελλάδα, δύο από την ΠΓΔΜ καθώς και από εκτροφεία στην Ελλάδα και γενοτυπήθηκαν επιτυχώς σε 8 μικροδορυφορικούς τόπους. Τα επίπεδα της γενετικής ποικιλότητας των πληθυσμών ήταν ικανοποιητικά. Τα εκτρεφόμενα άτομα διαφοροποιήθηκαν από τα άγρια άτομα και ομαδοποιήθηκαν με άτομα δυτικής προέλευσης ενώ όλα τα άγρια άτομα ήταν ανατολικής προέλευσης. Επιπλέον, τα άγρια άτομα ομαδοποιήθηκαν σε τρεις κύριες γεωγραφικές ομάδες. Τα αποτελέσματά μας στηρίζουν τις προσπάθειες για τη διατήρηση του είδους, δίνοντας σημαντικές πληροφορίες για τη γενετική ποικιλότητα των πληθυσμών της στην Ελλάδα.

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το ίδρυμα Α. Γ. Λεβέντη

## **GENETIC ANALYSIS OF GREEK POPULATIONS OF GREY PARTRIDGE (*PERDIX PERDIX*) BASED ON MICROSATELLITE ANALYSIS**

**Moulistanos A.<sup>1</sup>, Karaïskou N.<sup>1</sup>, Gkagkavouzis K.<sup>1</sup>, Murray-Dickson G.<sup>2</sup>, Ghazali M.<sup>2</sup>, Minoudi S.<sup>1</sup>, Kalaentzis K.<sup>1</sup>, Chatzinikos E.<sup>3</sup>, Kiouisis D.<sup>3</sup>, Manios N.<sup>4</sup>, Ball A.<sup>2</sup>, Senn H.<sup>2</sup>, Triantafyllidis A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*WildGenes Laboratory, Royal Zoological Society of Scotland, Edinburgh, United Kingdom*

<sup>3</sup>*4th Hunting Federation of Sterea Hellas, Athens, Greece*

<sup>4</sup>*Forestry Authority of Trikala, Greece*

The grey partridge *Perdix perdix* (Linnaeus, 1758) is one of the three species of the genus *Perdix* and the only one that can be found on the European continent. Populations of this species have undergone dramatic declines across its native range and especially in intensively farmed areas. In Greece, the grey partridge populations have declined dramatically in recent years and populations of the species are restricted in Thessaly, SW Macedonia and Thrace. Although the hunting of the species was banned in 1984, it is still reared at a small scale by private farms. Previous phylogenetic studies based on mtDNA have shown the presence of two distinct clades, East and West, which reflect the survival of the ancestral populations of grey partridge in two glacial refugia. The aim of the present study is to examine the genetic diversity and the population structure of samples from Greece and FYROM. In total, 127 samples of feather, blood and muscle tissue samples were collected from 5 Greek wild populations and 2 wild populations from FYROM while captive individuals were also included in the analysis. All individuals were genotyped successfully with 8 microsatellite loci and levels of heterozygosity values were found to be moderate. All captive individuals grouped with the West clade while the wild individuals grouped with the East clade. Additionally, wild individuals were clustered in three main groups. Our results support the conservation efforts of the grey partridge, providing important information on the genetic diversity of its populations in Greece.

*This project was funded by the Leventis Foundation.*

## ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ MIR-145 ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ ΜΕΣΩ ΠΥΡΟΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗΣ

**Μπαρμπαρίγος Πέτρος<sup>1,2</sup>, Αυγέρης Μαργαρίτης<sup>1</sup>, Πανουτσοπούλου Κωνσταντίνα<sup>1</sup>, Σκορίλας Ανδρέας<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως (BlCa) είναι ο δεύτερος συχνότερος καρκίνος του ανδρικού ουρογεννητικού συστήματος, ωστόσο οι έως και σήμερα χρησιμοποιούμενοι προγνωστικοί δείκτες δεν δύνανται να προβλέψουν με βεβαιότητα την έκβαση της νόσου. Το miR-145 εμφανίζει ογκοκατασταλτική δράση, ενώ μελέτες της ομάδας μας έχουν αναδείξει την σημαντική προγνωστική σημασία του για τους ασθενείς. Στόχος της μελέτης είναι η διερεύνηση των επιπέδων μεθυλίωσης του υποκινητή του MIR-145 γονιδίου και η κλινική σημασία της στην πρόγνωση του BlCa.

Ιστοτεμάχια όγκων BlCa ασθενών ομογενοποιήθηκαν σε Trizol και ακολούθησε η απομόνωση DNA. Το DNA υποβλήθηκε σε τροποποίηση δισουλφιδίου (bisulfite treatment) για την μετατροπή των μη-μεθυλιωμένων καταλοίπων κυτοσίνης σε ουρακίλη. Το τροποποιημένο DNA χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα για την PCR ενίσχυση συγκεκριμένων περιοχών του υποκινητή του MIR-145 και την τελική πυροαλληλούχιση των PCR προϊόντων. Βιοπληροφορική ανάλυση: Οι θέσεις CpG του υποκινητή του MIR-145 εντοπίστηκαν μέσω της βάσης MethHC. Για τον εντοπισμό των θέσεων CpG και τη διαλογή αυτών με κριτήριο τις προδιαγραφές της μεθόδου πυροαλληλούχισης αξιοποιήθηκαν εργαλεία της ENCODE στη βάση UCSC.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρουσιάζουν τα διαφοροποιημένα επίπεδα μεθυλίωσης των cg23917868, cg01310120, cg11671363, cg22941668 CpG στόχων στους όγκους της ουροδόχου κύστεως, και την συσχέτισή τους με τα επίπεδα έκφρασης του miR-145, υποστηρίζοντας τον σημαντικό τους ρόλο στον μεταγραφικό του έλεγχο. Σε κλινικό επίπεδο, σημαντική συσχέτιση αναδεικνύεται μεταξύ των επιπέδων μεθυλίωσης του υποκινητή του MIR-145 και των κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών (pT, Grade) των όγκων της κύστεως καθώς και του κινδύνου υποτροπής και εξέλιξης της νόσου μετά την θεραπεία επιλογής. Συμπεράσματα: Η μεθυλίωση του υποκινητή του MIR-145 συσχετίζεται με τα επίπεδα μεταγραφής του και μπορεί να αποτελέσει ένα νέο μοριακό προγνωστικό δείκτη του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως.

## **DNA METHYLATION ANALYSIS OF MIR-145 GENE PROMOTER IN BLADDER CANCER USING PYROSEQUENCING**

**Barmparigos Petros<sup>1,2</sup>, Avgeris Margaritis<sup>1</sup>, Panoutsopoulou Konstantina<sup>1</sup>, Scorilas Andreas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece,*

<sup>2</sup>*Department of Biological Applications and Technology, School of Health Sciences, University of Ioannina, Greece*

Bladder cancer (BlCa) is the second most frequently diagnosed urologic cancer in Western male populations, however the currently used prognostic biomarkers are unable to accurately predict disease prognosis and patient's outcome. The miR-145 exhibits tumor-suppressor function and studies from our team have highlighted its significant prognostic value in BlCa. The aim of the present study is to investigate the methylation levels of the promoter of MIR-145 gene and to evaluate its clinical significance in BlCa prognosis.

Bladder tumor specimens were homogenized using TRI reagent and total DNA was extracted. Thereafter, DNA was bisulfite treated to convert the non-methylated cytosine residues to uracil. The bisulfite-treated DNA was used as template for the amplification of specific MIR-145 gene promoter regions via PCR and, finally, the PCR products were analyzed by pyrosequencing. Bioinformatic analysis: The CpG sites related to the promoter region of MIR-145 were acquired from MethHC database. In order to map the CpG sites and identify those of interest according to Pyrosequencing method requirements, a variety of tools of ENCODE and UCSC databases were used.

The analysis have demonstrated the differentiated methylation levels of cg23917868, cg01310120, cg11671363 and cg22941668 CpG targets in bladder tumors and their correlation with miR-145 expression levels, highlighting their crucial role in MIR-145 transcriptional regulation. At the clinical level, an important correlation emerges between miR-145 promoter methylation and clinicopathological characteristics (pT, Grade) of bladder tumors, as well as risk of relapse and post-treatment disease outcome. Results: MIR- 145 promoter methylation is associated with gene's transcriptional levels and may serve as a new prognostic molecular marker for BlCa.

## **ΤΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ Ρ38/ΜΚ2 ΚΑΘΟΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΥR ΜΕ ΤΗΝ ΤΤΡ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΟΛΩΣΗ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.**

**Μπερή Νεφέλη-Ειρήνη<sup>1</sup>, Χατζημικέ Μαργαρίτα<sup>2</sup>, Κοντογιάννης Λ. Δημήτρης<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Ανοσοβιολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών "Αλέξανδρος Φλέμινγκ", 16672, Βάρη, Ελλάδα

Τα μακροφάγα αποκρίνονται σε ποικίλα εξωκυττάρια σήματα και πολώνονται προς ένα φάσμα φαινοτύπων από προ-φλεγμονώδη (M1) σε αντι-φλεγμονώδη (M2). Το σηματοδοτικό μονοπάτι ρ38/MAPKAP2(MK2) ενεργοποιείται τόσο από M1 όσο και από M2 ερεθίσματα και ελέγχει το μεταγραφικό και μετά-μεταγραφικό έλεγχο πρωτεϊνών. Κομβικά στοιχεία του μετά-μεταγραφικού μηχανισμού αποτελούν οι πρωτεΐνες που προσδένουν RNA (RBPs), που καθορίζουν την έκφραση συγκεκριμένων mRNA. Σε απόκριση προ-φλεγμονωδών ερεθισμάτων, η MK2 απενεργοποιεί μέσω φωσφορυλίωσης αποσταθεροποιητικές RBPs, προάγοντας την έκφραση προ-φλεγμονωδών mRNA. Ωστόσο, ο μετά-μεταγραφικός ρόλος της, στα M2 μακροφάγα παραμένει ασαφής. Έρευνες του εργαστηρίου μας ανέδειξαν τον καθοριστικό ρόλο της RBP-HuR, ως μέρος ριβονουκλεοπρωτεϊνικού συμπλόκου που ενορχηστρώνει την πόλωση από M1 σε M2 κατάσταση. Σκοπός μας είναι η μελέτη της επίδρασης της ρ38/MK2 σηματοδότησης στη λειτουργία της HuR και στην αλληλεπίδρασή της με την ΤΤΡ κατά την εναλλαγή αυτή. Αρχικά, πρωτογενή μακροφάγα που υπολείπονται ή όχι της MK2 πολώθηκαν προς M1 και M2 για διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Τα πρωτεϊνικά εκχυλίσματα αναλύθηκαν, μέσω της τεχνικής στυπώματος Western χρησιμοποιώντας αντισώματα ειδικά για τις φωσφορυλιωμένες μορφές της HuR και της ΤΤΡ αντίστοιχα. Προσδιορίστηκε έτσι το χρονικό σημείο μέγιστης φωσφορυλίωσης και η εξάρτηση της από την MK2. Η αλληλεπίδραση των MK2-HuR-ΤΤΡ θα εξετασθεί περαιτέρω με την χρήση τεχνικών ανοσοκατακρήμνισης. Η φωσφορυλίωση της HuR και της ΤΤΡ ανιχνεύτηκε τόσο στην M1 όσο και στην M2 κατάσταση σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, ενώ η ένταση της φωσφορυλίωσης ήταν χαμηλότερη απουσία της MK2. Τα αποτελέσματά μας, καταδεικνύουν την αλληλεπίδραση HuR-ΤΤΡ, υπό τον έλεγχο του ρ38/MK2 σηματοδοτικού μονοπατιού, με σκοπό την ρύθμιση της μετάβασης από M1 σε M2 φαινότυπο και αντιστρόφως.

## **A P38/MK2 INDUCED INTERPLAY BETWEEN HUR AND TTP GOVERNS MACROPHAGES POLARIZATION.**

**Beri Nefeli-Eirini<sup>1</sup>, Chatzimike Margarita<sup>2</sup>, Kontoyiannis L. Dimitris<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Division of Immunology, Biomedical Sciences Research Center "Alexandros Fleming", 16672, Vari, Greece*

Macrophages are polarized towards a spectrum of phenotypes, from pro-inflammatory (M1) to anti-inflammatory/tissue repairing (M2), in response to a variety of extracellular signals. p38/MAPKAP2(MK2) signaling cascade, activated both upon M1 and M2 signals, controls the gene expression of inflammatory molecules, through regulation of transcriptional and post-transcriptional (PT) events. Key components of PT regulation are RNA-binding proteins (RBPs), targeting and regulating the expression of specific mRNAs. In response to pro-inflammatory stimulus, MK2 deactivates, via phosphorylation, destabilizing RBPs such as TTP, promoting pro-inflammatory mRNA expression, but its role in PT events during M2 polarization is still unknown. Work from our lab reveals the deterministic role of the RBP HuR, as part of a ribonucleoprotein complex, acting as a masterswitch between pro-inflammatory resolution and alternative polarization. Our aim is to investigate the effect of p38/MK2 signaling cascade on HuR's function and interaction with TTP during the switch between M1 and M2 macrophage polarization. To do so, MK2 deficient or non-deficient primary macrophages, were polarized towards M1 and M2 phenotype, through a series of different time points. The protein extracts were analyzed, using specific antibodies for the phosphorylated isoforms of HuR and TTP respectively, via western blot analysis, to identify the phosphorylation peak and its dependence on MK2. The MK2/HuR/TTP interaction is to be examined via Co-Immunoprecipitation assay. HuR and TTP were found to be phosphorylated in both M1 and M2 states in different time points and the rate of phosphorylation was lower upon deletion of MK2. Our results reveal the interplay between HuR and TTP at specific activation points, regulated by the p38/MK2 signaling cascade in order to control the switch between M1 and M2 polarization.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ HU<sup>R</sup> ΚΑΙ TIA-1 ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

**Μπήλεβ Ελένη<sup>1</sup>, Κοντογιάννης Δημήτρης<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.

<sup>2</sup> Ινστιτούτο Ανοσοβιολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών "Αλέξανδρος Φλέμινγκ", 16672, Βάρη, Ελλάδα.

Πολλά mRNA της φλεγμονώδους απόκρισης έχουν στα μη μεταφραζόμενα άκρα τους στοιχεία πλούσια σε βάσεις AU(AREs) που αναγνωρίζονται από ριβονουκλεοπρωτεΐνες(RBPs), η πλειονότητα των οποίων καταστέλλει την μετάφραση. Η TIA-1 είναι μια aRE-BP ικανή να καταστείλει την έναρξη της μετάφρασης. Το γενετικό μετάλλαγμα αποσιώπησης καθιστά τους μύες ευαίσθητους σε παθολογική φλεγμονή, λόγω υπερέκφρασης κυτταροκινών από ενεργοποιημένα μακροφάγα, υποδεικνύοντας ότι η TIA δρα καταστέλλοντας τις προφλεγμονώδεις δράσεις των μακροφάγων. Η αρχική υπόθεση έθετε ότι για την ενεργοποίηση των μακροφάγων η HuR ανταγωνίζεται τις κατασταλτικές δράσεις της TIA, σταθεροποιώντας και προωθώντας την μετάφραση των mRNAs. Ωστόσο, μύες με αποσιώπηση του γονιδίου της HuR στην μυελοειδή σειρά, προσομοιάζουν τον φαινότυπο των μεταλλαγμάτων TIA και εμφανίζονται ευαίσθητα στον φλεγμονώδη εκφυλισμό. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι ο εντοπισμός συνέργειας ή ανταγωνισμού των HuR και TIA κατά την ενεργοποίηση των μακροφάγων. Για τον σκοπό αυτό διαφοροποιήθηκαν μακροφάγα διαγονιδιακών μύων για την αποσιώπηση της HuR, της TIA ή και των δυο. Τα μακροφάγα δοκιμάστηκαν υπό συνθήκες προ-φλεγμονώδους ενεργοποίησης και ελέγχθηκαν για αλλαγές στη βιοσύνθεση πρότυπων κυτταροκινών και μεταβολιτών, των οποίων η απορρύθμιση αντανάκλα έλλειψη φλεγμονώδους μετα-μεταγραφικού ελέγχου. Δείχνουμε παρόμοια επίδραση των μονών μεταλλαγμάτων στην προ-φλεγμονώδη ενεργοποίηση. Εντούτοις, στο διπλό μετάλλαγμα εντοπίστηκε μια ισχυρή προσθετική δράση στην βιοσύνθεση των κομβικών κυτταροκινών, χωρίς να υπάρχει ουσιαστική επιρροή στην συσσώρευση των αντίστοιχων mRNAs. Η προσθετική αυτή δράση δεν οφειλόταν σε αλληλεπίδραση των μεταλλαγμών όταν έλειπε η μια από τις δύο. Υποθέτουμε ότι το προσθετικό γενετικό αποτέλεσμα των μεταλλάξεων TIA και HuR αποκαλύπτει τη φυσική τους αλληλεπίδραση στη μεταφραστική καταστολή φλεγμονωδών mRNA, και προτείνουμε μια ιεραρχία μετα-μεταγραφικών γεγονότων που συμβαίνουν κατά την ενεργοποίηση των μακροφάγων.

## **ADDITIVE EFFECTS OF THE ARE-BINDING PROTEINS HUR AND TIA-1 IN INFLAMMATION CONTROL**

**Bilev Eleni<sup>1</sup>, Kontoyiannis Dimitris L.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Division of Immunology, Biomedical Sciences Research Center "Alexandros Fleming", 16672, Vari, Greece.*

AU-rich elements are located in the untranslated termini of many inflammatory mRNAs. They are recognized by a collection of RNA-binding proteins (ARE-BPs) the majority of which suppress mRNA translation. For example, TIA-1 is an ARE-BP capable of inhibiting the initiation of translation. Its genetic deletion in the mouse provide susceptibility to inflammatory pathology due to excessive cytokine release from activated macrophages suggesting that it acts towards macrophage deactivation and the resolution of inflammation. An initial hypothesis suggested that for macrophage activation to occur, the inhibitory functions of TIA are antagonized by HuR which has the ability to stabilize mRNAs and promote their translation. However, mice lacking HuR from the myeloid lineage resemble the phenotype of TIA deficient mice and appear susceptible to inflammatory degeneration. Here we aim to identify whether HuR and TIA act synergistically or antagonistically during macrophage activation. To do so we differentiated macrophages from transgenic mice lacking either HuR or TIA or both. We tested these macrophages under conditions of proinflammatory activation and seek for changes in the biosynthesis of major cytokines and metabolites whose skewing reflects a lack of inflammatory post-transcriptional control. We demonstrate that the effect of single mutations in pro-inflammatory activation is similar; however, we identified a potent and strong additive effect towards the biosynthesis of key cytokines when the mutations are combined, without any substantial effect in the accumulation of their corresponding mRNAs. This additive effect was not due to direct relationship between the expression of each of these RBPs when the other was lacking. We postulate that the additive genetic effect of TIA and HuR mutation reveals their physical interaction for the suppression of inflammatory mRNA translation and propose a hierarchy of post-transcriptional events occurring during macrophage activation.

## ΣΥΝΑΘΡΟΙΣΕΙΣ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΧΘΙΑ ΖΩΝΗ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΒΟΛΒΗΣ

Μποζατζίδου Μαρία<sup>1</sup>, Ντισλίδου Χρυσούλα<sup>1</sup>, Gallitelli Luca<sup>2</sup>, Siontas Oliver<sup>3</sup>, Alaca Ezgi<sup>4</sup>, Μπόμπορη Χ. Δήμητρα<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Department of Science, University Roma Tre

<sup>3</sup>Department of Biotechnology, Technical University of Berlin

<sup>4</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University

Οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες που αναπτύσσονται κατά μήκος της ακτογραμμής μιας λίμνης θεωρείται ότι επηρεάζουν την παρόχθια ζώνη της και κατά συνέπεια τα ενδιαιτήματα που απαντούν σε αυτήν. Στην παρούσα έρευνα έγινε διερεύνηση των συναθροίσεων των βενθικών μακροασπονδύλων της παρόχθιας ζώνης της λίμνης Βόλβης, σε τρεις σταθμούς (S1, S2, S3) τον Σεπτέμβριο του 2018. Η μέθοδος δειγματοληψίας ήταν ημιποσοτική, τριών λεπτών λακτίσματος-σάρωσης, με χρήση ειδικής απόχης. Όλα τα άτομα μακροασπονδύλων αναγνωρίστηκαν σε επίπεδο οικογένειας. Σε κάθε σταθμό υπολογίστηκαν οι δείκτες ποικιλότητας Simpson και Shannon, ο δείκτης Ομοιομορφίας (evenness), η ποσοστιαία συμμετοχή των EPT (*Ephemeroptera*, *Plecoptera* και *Trichoptera*), η ποσοστιαία συμμετοχή των *Chironomidae* και ο λόγος EPT/*Chironomidae*. Συνολικά, προσδιορίστηκαν 24 ταξινομικές ομάδες (taxa) βενθικών μακροσπονδύλων. Η οικογένεια *Chironomidae* ήταν η πιο άφθονη σε όλους τους σταθμούς. Ο μεγαλύτερος αριθμός taxa καταγράφηκε στον σταθμό S2 (18 taxa), ενώ η υψηλότερη αφθονία στον σταθμό S1 (1.385 άτομα). Σύμφωνα με τους δείκτες Shannon και Simpson, οι σταθμοί S1 (1,31 και 0,61, αντίστοιχα) και S3 (1,33 και 0,64, αντίστοιχα) εμφάνισαν μεγαλύτερη ποικιλότητα από τον σταθμό S2 (0,87 και 0,34, αντίστοιχα). Στη βενθική κοινότητα του σταθμού S2 κυριάρχησαν λίγα είδη (χαμηλή τιμή του δείκτη Ομοιομορφίας 0,30). Η τιμή της ποσοστιαίας συμμετοχής των EPT και στους τρεις σταθμούς κυμάνθηκε από 1,8-15%, με υψηλότερο ποσοστό στον σταθμό S1. Η ποσοστιαία συμμετοχή των *Chironomidae* ήταν υψηλότερη στο σταθμό S2 (81%) σε σχέση με τους υπόλοιπους σταθμούς (S1: 59%, S3: 47%). Ο λόγος EPT/*Chironomidae* έδειξε ότι οι συναθροίσεις των βενθικών μακροασπονδύλων στους σταθμούς S1 και S2 αποτελούνται περισσότερο από taxa, τα οποία είναι ευαίσθητα στις περιβαλλοντικές πιέσεις (S1: 26%, S2: 2%, S3: 22%).

## LITTORAL BENTHIC MACROINVERTEBRATE ASSEMBLAGES IN LAKE VOLVI

**Bozatzidou Maria<sup>1</sup>, Ntislidou Chrysoula<sup>1</sup>, Gallitelli Luca<sup>2</sup>, Siontas Oliver<sup>3</sup>, Alaca Ezgi<sup>4</sup>, Bobori C. Dimitra<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Ichthyology/School of Biology/Aristotle University of Thessaloniki,

<sup>2</sup>Department of Science, University Roma Tre

<sup>3</sup>Department of Biotechnology, Technical University of Berlin

<sup>4</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University

Shoreline development is considered to impact the littoral zone because this zone is preferential for many human activities that affect the littoral habitats. In the present study, we investigated the composition of the littoral benthic macroinvertebrate assemblages in Lake Volvi. Three stations (S1, S2, S3) were sampled in September 2018. Macroinvertebrate samples were collected by the semi-quantitative 3-min kick/sweep method using a D-shaped pond net. All individuals were identified to family level. Simpson, Shannon and Evenness indices, as well as the percentage contribution of EPT (*Ephemeroptera*, *Plecoptera* and *Trichoptera*), percentage contribution of *Chironomidae* and EPT/*Chironomidae* ratio were applied at samples of each station. *Chironomidae* was the most abundant family in all stations. The highest number of taxa was recorded at station S2 (18 taxa), while the highest abundance at station S1 (1,385 individuals). According to Shannon and Simpson diversity indices, stations S1 (0.61 and 1.31, respectively) and S3 (0.64 and 1.33, respectively) were more diverse than station S2 (0.87 and 0.34). The benthic community at station S2 was characterized by few dominant species (low Evenness value; 0.30). The percentage contribution of EPT at all stations varied from 1.8 to 15%, with the highest percentage observed at S1. The percentage contribution of *Chironomidae* was higher at station S2 (81%) than in the other stations (S1: 59%, S3: 47%). According to the EPT/*Chironomidae* ratio (S1:26%, S2:2%, S3:22%), the benthic assemblages at stations S1 and S2 were composed of sensitive to environmental stress taxa.

## ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΕΛΑΤΗΣ (*ABIES SP.*) ΣΕ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ

**Μπούμπα Βασιλική<sup>1</sup>, Meco Marjol<sup>2</sup>, Παπαγεωργίου Αριστοτέλης Χ.<sup>1</sup>, Τσιριπίδης Ιωάννης<sup>3</sup>, Δρούζας Ανδρέας Δ.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής & Φυτογεωγραφίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Θ..104, 54124, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Dept. of Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tirana, Albania

<sup>3</sup>Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

Το γένος *Abies Miller* είναι από τα σημαντικότερα της οικογένειας Pinaceae, εξαπλώνεται στο βόρειο ημισφαίριο και περιλαμβάνει 49 είδη και πολλά φυσικά υβρίδια, είτε ενδημικά είτε με εκτεταμένη εξάπλωση. Συχνά, η ύπαρξη φυσικών υβριδίων δυσχεραίνει την ταξινομική κατάταξη των taxa καθώς και την οριοθέτηση της εξάπλωσής τους. Μία τέτοια περίπτωση αποτελούν τα taxa ελάτης στην Ελλάδα, η Κεφαλληνιακή ελάτη (*Abies cephalonica* Loud.) με κύρια εξάπλωση στη νότια Ελλάδα, η Λευκή ελάτη (*A. alba* Mill.) που εξαπλώνεται σε όλη σχεδόν την Ευρώπη μέχρι τα βόρεια σύνορα της Ελλάδας και η Υβριδογενής ελάτη (*A. x borisii regis* Mattf.) που θεωρείται υβρίδιο των δύο παραπάνω ειδών και σχηματίζει μικτές συστάδες με αυτά στην κεντρική και βόρεια Ελλάδα/νότια Βαλκάνια, αντίστοιχα. Ενώ η Κεφαλληνιακή και η Λευκή ελάτη διακρίνονται με μορφολογικούς χαρακτήρες, στην Υβριδογενή ελάτη παρατηρείται συνδυασμός ή ενδιάμεσα μορφολογικά χαρακτηριστικά των δύο ειδών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν φυσικοί πληθυσμοί ελάτης, αντιπροσωπευτικοί των τριών taxa που έχουν επιβεβαιωθεί με χρήση μοριακών δεικτών, και εξετάστηκαν μορφολογικά χαρακτηριστικά των βελονών με σκοπό να διερευνηθεί η διαφοροποίηση μεταξύ των taxa. Τα αποτελέσματα δείχνουν την ύπαρξη διαφοροποίησης με χωρικό πρότυπο από βορρά προς νότο που σχετίζεται και με το taxon που αντιπροσωπεύουν οι πληθυσμοί και συγκρίθηκαν με αποτελέσματα αντίστοιχων μελετών με μορφολογικούς και μοριακούς δείκτες για την ελάτη στην Ελλάδα.

## DIFFERENTIATION OF FIR POPULATIONS (*ABIES* SP.) BASED ON MORPHOLOGICAL TRAITS

**Bouba Vasiliki<sup>1</sup>, Meco Marjol<sup>2</sup>, Papageorgiou Aristotelis C.<sup>1</sup>, Tsiripidis Ioannis<sup>3</sup>, Drouzas Andreas D.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, P.O. Box 104,54124 Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Dept. of Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tirana, Albania

<sup>3</sup>Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Greece

The genus *Abies* Miller is one of the most important genera of *Pinaceae*, distributed in the northern hemisphere and it comprises 49 species as well as many natural hybrids, either endemic or with extended distribution. Frequently, the existence of natural hybrids creates difficulties in the taxonomic assignment of the taxa as well as in the delimitation of their distribution. Such a case exists with the *Abies* taxa in Greece; Greek fir (*Abies cephalonica* Loud.), an endemic species distributed mainly in southern Greece, Silver fir (*A. alba* Mill.) distributed in most of Europe up to the northern borders of Greece and King Boris fir (*A. x borisii regis* Mattf.) which is considered as a hybrid between the two aforementioned species, and is found in mixed stands with them in central and northern Greece/southern Balkans, respectively. While Greek fir and Silver fir are distinguished with morphological traits, King Boris fir is characterised by a combination of or intermediate morphological traits of the two species. In this study, natural fir populations representative of all three taxa, whose status has been verified by using molecular markers, were studied and morphological characteristics of the needles were examined aiming to check for differentiation among the taxa. The results show that the fir populations are differentiated on a north to south spatial pattern which is related also to the taxon represented by each population. These results were compared with results from respective studies on the *Abies* of Greece with morphological and molecular traits.

## **ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΟΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ ΛΑΚΤΟΒΑΚΙΛΛΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΟΥ ΑΠΟ ΑΛΛΑΝΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ RAPD-PCR**

**Ναδάλης Συμεών Γεώργιος, Μαρμάνης Κωνσταντίνος, Χονδρού Πελαγία, Γαλάνης Αλέξης\***

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη*

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια ραγδαία ανάπτυξη της αγοράς νέων λειτουργικών τροφίμων τα οποία περιέχουν προβιοτικούς μικροοργανισμούς με ωφέλιμες για τον ανθρώπινο οργανισμό ιδιότητες. Ένα στέλεχος που έχει απομονωθεί από σαλάμι αέρος Λευκάδος και έχει επιδείξει σημαντικό προβιοτικό δυναμικό είναι το *Lactobacillus plantarum* L125. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η ανάπτυξη μιας γρήγορης και αποτελεσματικής τεχνικής για την μοριακή ανίχνευση και ταυτοποίηση του συγκεκριμένου στελέχους. Για το σκοπό αυτό, εφαρμόστηκε η τεχνική της RAPD - PCR (Random Amplified Polymorphic DNA - PCR). Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 102 εκκινητές τυχαίας νουκλεοτιδικής αλληλουχίας. Οι εκκινητές 31 και 71 έδωσαν ένα χαρακτηριστικό πρότυπο ζωνών για το στέλεχος *L. plantarum* L125 σε σχέση με 10 συγγενικά στελέχη *L. plantarum*. Οι εν δυνάμει πολυμορφικές θέσεις που ανιχνεύτηκαν πρόκειται στη συνέχεια να επιβεβαιωθούν με αλληλούχιση, στοίχιση στο Blast και ανάλυση σε βάσεις δεδομένων, ώστε να σχεδιαστούν ειδικοί εκκινητές που θα χρησιμοποιηθούν σε μια νέα εξειδικευμένη αντίδραση PCR για την μοριακή ταυτοποίηση του εν λόγω στελέχους.

## **MOLECULAR DETECTION OF A PROBIOTIC LACTOBACILLUS STRAIN ISOLATED FROM MEAT PRODUCTS BY RAPD-PCR**

**Nadalis Symeon Georgios, Marmanis Konstantinos, Chondrou Pelagia, Galanis Alex\***

*Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Health Sciences, Democritus University of Thrace*

Nowadays, there is a rapid growth for functional foods containing probiotic microorganisms with beneficial effects on human health. *Lactobacillus plantarum* L125 is a lactic acid bacteria strain that has been isolated from a traditional meat product. It has been demonstrated in vitro experiments that *L. plantarum* L125 displays significant probiotic potential. The aim of the present study was the development of an efficient and accurate method for the molecular identification and detection of this strain. Thus, RAPD-PCR methodology (Random Amplified Polymorphic DNA - PCR) was employed. A total of 102 random decamer primers were tested. Primers RAPD-31 and RAPD-71 resulted in a distinct polymorphic pattern for *L. plantarum* L125 in comparison to ten relative *L. plantarum* strains. The detected polymorphic sites will be further evaluated following sequencing and Blast analysis. The obtained information will be used to design specific primers for a novel highly specific PCR assay for the molecular detection of the strain of interest.

## **ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΤΗΣ MAJOR FACILITATOR SUPERFAMILY ΣΤΑ ΦΥΤΑ**

**Νικολαΐδης Μάριος<sup>1\*</sup>, Διακογεωργίου Αλεξάνδρα<sup>1</sup>, Φλεμετάκης Εμμανουήλ<sup>2</sup>, Φριλίγγος Ευστάθιος<sup>3</sup>, Αμούτζιας Γρηγόριος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιοπληροφορικής, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

<sup>2</sup>Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

<sup>3</sup>Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Τα σάκχαρα αποτελούν τις κύριες πηγές ενέργειας όλων των οργανισμών και για αυτό οι μεταφορείς τους είναι από τις σημαντικότερες πρωτεΐνες-μεταφορείς στα κύτταρα. Στους ευκαρυώτες συναντάμε τρεις μεγάλες κατηγορίες μεταφορέων σακχάρων, τους μεταφορείς γλυκόζης της υπεροικογένειας MFS, τους συμμεταφορείς νατρίου - γλυκόζης και τους SWEETs. Σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας ήταν η εξελικτική και φυλογενετική ανάλυση της οικογένειας φυτικών μεταφορέων γλυκόζης της MFS. Αρχικά αναπτύξαμε μια γενική βιοπληροφορική μέθοδο εντοπισμού τους σε όλους τους ευκαρυώτες, βασισμένου σε Hidden Markov Models και ικανού να τις διαχωρίσει από άλλες συγγενικές οικογένειες μεταφορέων. Στη συνέχεια, αναλύσαμε 12 αντιπροσωπευτικά πρωτεώματα φυτικών οργανισμών από χλωρόφυτα, βρυόφυτα, γυμνόσπερμα και αγγειόσπερμα για τον εντοπισμό και την φυλογενετική ανάλυσή αυτών των μεταφορέων. Η εξελικτική ανάλυση έδειξε ότι χωρίζονται σε 7 υποοικογένειες, όπου οι δύο εμφανίστηκαν τουλάχιστον πριν από 950 εκατομμύρια χρόνια, ενώ οι υπόλοιπες 5 τουλάχιστον πριν από 500 εκατομμύρια χρόνια. Παραδόξως, οι πιο αρχέγονες υποοικογένειες (VGT & pGLcT/SGB1) δεν είχαν τον μεγαλύτερο αριθμό ομολόγων αλλά αντιθέτως αρκετά μικρό, γεγονός που υποδηλώνει κάποιου είδους εξελικτική πίεση που ευνοεί την παρουσία ενός ή λίγων μόνο ομολόγων για αυτές.

## **BIOINFORMATIC & EVOLUTIONARY ANALYSIS OF THE MAJOR FACILITATOR SUPERFAMILY SUGAR TRANSPORTERS IN PLANTS**

**Nikolaidis Marios<sup>1\*</sup>, Diakogeorgiou Alexandra<sup>1</sup>, Flemetakis Emmanouil<sup>2</sup>, Friligos Eustathios<sup>3</sup>, Amoutzias Gregory<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Bioinformatics Laboratory, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larisa*

<sup>2</sup>*Department of Biotechnology, Agricultural University of Athens, Athens*

<sup>3</sup>*Laboratory of Biological Chemistry, Department of Medicine, University of Ioannina, Ioannina*

Sugars are the main sources of energy for all organisms, therefore their transporters are very important protein-carriers in the cell. In eukaryotes, there are three major classes of sugar transporters, the glucose transporters of the MFS superfamily, the sodium-glucose symporters and the SWEETs. The purpose of this work was the evolutionary and phylogenetic analysis of plant sugar transporters, which belong to the MFS superfamily. At first, we developed a generic bioinformatics method, based on Hidden Markov Models that may detect these transporters in all eukaryotes and distinguish them from other closely related transporters. Next, we used this methodology to detect and analyze the MFS sugar transporters of 12 representative plant proteomes, from chlorophyta, bryophyta, gymnosperms and angiosperms. The evolutionary analysis divided the detected transporters into 7 subfamilies. Two of these appeared at least 950 million years ago, whereas the other 5 appeared at least 500 million years ago. Paradoxically, the oldest two subfamilies (VGT & pGLcT/SGB1) did not contain the largest number of homologs. This finding suggests a certain type of evolutionary pressure that favours the existence of one or only a few homologs per proteome, for these two ancient subfamilies.

## ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΖΑΖΑΡΗ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΤΗΣ ΠΑΡΟΧΘΙΑΣ ΖΩΝΗΣ

Ντισλίδου Χρυσούλα<sup>1</sup>, Μποζατζίδου Μαρία<sup>1</sup>, Radziszewska Anna<sup>2</sup>, Szymańska Agnieszka<sup>2</sup>, Μπόμπορη Χ. Δήμητρα<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University in Poznan

Οι συναθροίσεις βενθικών μακροασπονδύλων ανταποκρίνονται στη φυσική μεταβλητότητα και στις ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Τα βενθικά μακροασπόνδυλα έχουν αναγνωριστεί ως ένας από τους πιο αξιόπιστους δείκτες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας των λιμνών. Η παρούσα εργασία στοχεύει στην αξιολόγηση της ποιότητας των υδάτων της λίμνης Ζάζαρη με τη χρήση βενθικών μακροασπονδύλων. Τον Οκτώβριο του 2018 διεξήχθησαν δειγματοληψίες σε 3 σταθμούς που βρίσκονταν στην παρόχθια ζώνη της λίμνης. Σε κάθε σταθμό μετρήθηκαν η θερμοκρασία (°C), το pH, η αγωγιμότητα (μS/cm), το διαλυμένο οξυγόνο (DO, mg/l) και το βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο (BOD<sub>5</sub>, mg/l). Η μέθοδος δειγματοληψίας που εφαρμόστηκε ήταν ημιποσοτική, τριών λεπτών λακτίσματος-σάρωσης, με χρήση ειδικής απόχης. Όλα τα άτομα μακροασπονδύλων αναγνωρίστηκαν σε επίπεδο οικογένειας. Για την εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας των σταθμών υπολογίστηκε ο πολυμετρικός δείκτης LIMCO (Littoral Invertebrate Multimetric Index based on Composite Sampling), ο οποίος βασίζεται σε πέντε μετρικές: δείκτης ποικιλότητας Margalef, ποσοστιαίες κλάσεις αφθονίας για τους συλλέκτες, ποσοστιαίες κλάσεις αφθονίας των *Chironomidae* και αριθμός των ταξινομικών ομάδων EPTCBO (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, Coleoptera, Bivalvia και Odoanata). Μεταξύ των φυσικοχημικών παραμέτρων που καταγράφηκαν μόνο το DO και το BOD<sub>5</sub> παρουσίασαν διαφοροποίηση στο σταθμό S3 σε σύγκριση με τους άλλους. Συνολικά, προσδιορίστηκαν 31 ταξινομικές ομάδες (taxa) βενθικών μακροασπονδύλων. Τα πιο άφθονα taxa ήταν τα *Chironomidae* (Diptera, 699 άτομα) και *Oligochaeta* (487 άτομα). Ο αριθμός και η αφθονία των taxa ήταν υψηλότερα στο σταθμό S2 (21 taxa και 1553 άτομα). Με βάση τον πολυμετρικό δείκτη LIMCO, η οικολογική ποιότητα στους σταθμούς S1 και S3 εκτιμήθηκε ως ελλιπής, ενώ στο σταθμό S2 ως μέτρια.

## ASSESSING THE ECOLOGICAL QUALITY OF LAKE ZAZARI USING LITTORAL BENTHIC MACROINVERTEBRATES

Ntislidou Chrysoula<sup>1</sup>, Bozatzidou Maria<sup>1</sup>, Radziszewska Anna<sup>2</sup>, Szymańska Agnieszka<sup>2</sup>, Bobori C. Dimitra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup>Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University in Poznan

Littoral benthic macroinvertebrate assemblages respond to natural variability and human activities. They have been recognized as one of the most convenient indicators to be used for the assessment of lakes ecological quality. The present study aimed to evaluate the water quality of Lake Zazari in Florina Region (Greece) using littoral benthic macroinvertebrates. During October 2018, benthic macroinvertebrates samplings were conducted at 3 stations located at the lake's littoral zone. At each station, physico-chemical parameters were measured, such as temperature (°C), pH, conductivity (µS/cm), dissolved oxygen (DO, mg/l) and biochemical oxygen demand (BOD<sub>5</sub>, mg/l). Macroinvertebrates samples were collected by the semi-quantitative 3min kick/sweep method using a D-shaped pond net. All individuals were identified to family level. For the assessment of the ecological quality, the polymetric index LIMCO (Littoral Invertebrate Multimetric Index based on Composite Sampling) was used. This index is based on five metrics: the Margalef diversity, the abundance class of % Gatherers/Collectors, the abundance class of % *Chironomidae* and the number of taxa of EPTCBO (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, Coleoptera, Bivalvia and Odoanata). Among the physico-chemical parameters measured only DO and BOD<sub>5</sub> were exhibited lower values at station S3 compared to the others. In total, 31 taxa of benthic macroinvertebrates were identified. The most abundant taxa were *Chironomidae* (Diptera; 699 individuals) and *Oligochaeta* (487 individuals). Richness and abundance were higher at station S2 (21 taxa and 1553 individuals respectively). According to LIMCO index, stations S1 and S3 were assessed as having poor ecological quality while station S2 was assessed with moderate ecological quality.

## **ΕΓΚΑΘΙΔΡΥΣΗ ΕΝΟΣ ΜΕΤΑΦΕΡΟΜΕΝΟΥ LENTI-ΙΟΥ ΤΗΣ mCHERRY-ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΗΣ 22RV1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ ΣΕ SCID MOUSE MODEL, ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟ IVIS-KΙΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ**

**Ξίφτου Κυριακή<sup>1</sup>, Κακουράτος Χρήστος<sup>1</sup>, Λάμπρου Ιωάννης<sup>1</sup>, Κασσελά Κατερίνα<sup>3</sup>, Ξανθοπούλου Ερασμία<sup>1</sup>, Μητράκας Αχιλλέας<sup>1</sup>, Καρακασιλιώτης Ιωάννης<sup>3</sup>, Γιατρομανωλάκη Αλεξάνδρα<sup>2</sup>, Κουκουράκης Ι. Μιχαήλ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Μονάδα Ακτινοβιολογίας, Ακτινοπαθολογίας, Κλινική Ακτινοθεραπείας, Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

<sup>3</sup>Εργαστήριο Ιατρικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

Ο καρκίνος του προστάτη είναι η πιο συχνή κακοήθης νόσος στους άνδρες. Καθώς η συχνότητα εμφάνισης και το προσδόκιμο ζωής των ασθενών αυξάνεται, απαιτείται η κατανόηση όλης της διαδικασίας καρκινογένεσης του προστάτη και της αντοχή του στην ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία και στην ορμονοθεραπεία ώστε να προσδιοριστούν μοριακοί στόχοι για θεραπευτικές επεμβάσεις. Το IVIS Kineti<sup>®</sup> είναι μια πλατφόρμα οπτικής απεικόνισης για εργαστηριακές απεικονίσεις ζώων σε πραγματικό χρόνο, στοχεύοντας έτσι στην δημιουργία in vivo μοντέλων για την ογκολογική έρευνα. Σκοπός της δημιουργίας του συγκεκριμένου πρωτοκόλλου είναι η παραγωγή μόνιμα φθορίζουσών καρκινικών σειρών για απεικόνιση στο IVIS. Ο πλασμιδικός φορέας LV10N είναι κατάλληλος για διαμόλυνση κυττάρων θηλαστικών με σωματίδια Lentivirus και φέρει το γονίδιο της πρωτεΐνης mCherry. Ο πολλαπλασιασμός του LV10N πραγματοποιήθηκε στα DH5-Alpha βακτήρια και η επιλογή των επιτυχώς μετασηματισθέντων κυττάρων έγινε με αμπικιλίνη. Ακολούθησε η απομόνωση του πλασμιδιακού DNA με τη χρήση του NucleoSpin Plasmid Miniprep kit. Ακολούθως, τα σωματίδια του ιού παράχθηκαν σε κύτταρα ξενιστές HEK293 διαμολύνοντας τα με τρία πλασμίδια, δύο για την παραγωγή των ιικών σωματίων και το πλασμίδιο της επιλογής μας [Packaging plasmid(pCMvR8.74), Envelope plasmid (pczVSV-G), Plasmid of interest(LV10N U6/mCherry&Puro)]. Στη συνέχεια, η καρκινική κυτταρική σειρά προστάτη 22Rv1 επιμολύνθηκε με το υπερκείμενο των κυττάρων-ξενιστών και ακολούθησε η επιλογή των επιτυχώς μετασηματισμένων κυττάρων χρησιμοποιώντας το αντιβιοτικό πουρομυκίνη. Τέλος, η φθορίζουσα καρκινική κυτταρική σειρά 22Rv1 ( $5 \times 10^6$  κύτταρα) εγχύθηκε σε ανοσοκατεσταλμένους μύες [SCID (NOD.CB17- Prkdcscid/J)], συνοδευόμενη από ανίχνευση του σήματος mCherry από το IVIS Imaging System. Το παρόν πρωτόκολλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της in vivo εξέλιξης του όγκου και την παρακολούθηση της ανταπόκρισης του καρκίνου του προστάτη στην ακτινοθεραπεία, ορμονοθεραπεία και χημειοθεραπεία.

## **ESTABLISHMENT OF A LENTIVIRUS-TRANSFECTED mCHERRY-EXPRESSING 22RV1 PROSTATE CANCER CELL LINE AND MONITORING OF ITS GROWTH IN A SCID MOUSE MODEL, USING THE IVIS-KINETIC IMAGING SYSTEM.**

**Xiftou Kyriaki<sup>1</sup>, Kakouratos Christos<sup>1</sup>, Lamprou Ioannis<sup>1</sup>, Kassela Katerina<sup>3</sup>, Xanthopoulou Erasmia<sup>1</sup>, Mitrakas Achilleas<sup>1</sup>, Karakasiliotis Ioannis<sup>3</sup>, Giatromanolaki Alexandra<sup>2</sup>, Koukourakis I. Michael<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Radiobiology/ Radiopathology Unit, Department of Radiotherapy/ Oncology, School of Medicine, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece

<sup>2</sup>Pathology Unit, School of Medicine, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece

<sup>3</sup>Laboratory of Biology, School of Medicine, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece

Prostate cancer (PCa) is one of the most common malignancies, consisting 1/3 of all cancers diagnosed in men. As the incidence and life expectancy of patients is constantly increasing, it is necessary to understand the mechanisms of PCa resistance to radiotherapy, chemotherapy and hormone therapy, so as to identify molecular targets for therapeutic interventions. IVIS Kinetic® is a sensitive visual imaging platform for lab animal imaging in pre-clinical settings, aiming to discover more effective therapeutic approaches. The purpose of creating this protocol is to produce fluorescent cell lines suitable for visualization with IVIS. A useful tool of our research, the plasmid vector LV10N, suitable for transfecting mammalian cells with Lentivirus particles, has the mCherry protein gene and the antibiotic selection with either ampicillin or puromycin. LV10N proliferation was performed on DH5-Alpha- competent bacteria, the selection of successfully transformed cells was done with ampicillin, followed by the extraction of plasmid DNA using the NucleoSpin Plasmid Miniprep kit (Macherey-Nagel). Subsequently, the Lentivirus particles were produced in HEK293 host cells using a 2nd generation Lentiviral system and infecting target cells. Additionally, the PCa cell line 22Rv1 was infected with the supernatant of the host cells, followed by antibiotic selection of successfully transformed cancer cells using Puromycin. Finally, the 22Rv1 fluorescence cancer cells ( $5 \times 10^6$  cells) were injected at the flank of SCID (NOD.CB17-Prkdcscid / J) mice models, followed by detection of the mCherry signal by the IVIS Imaging System. Overall, the applied protocol provided an important experimental tumor model to study and monitor, in vivo, the PCa response to radiotherapy, hormonal therapy and chemotherapy.

## **ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΜΕΤΑΞΥ GPCRS ΚΑΙ RAMPS**

**Οικονόμου Ε.Δ., Μπαλτούμας Φ.Α., Παπανδρέου Ν.Χ., Οικονομίδου, Β.Α.**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 15701*

Οι Συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) αποτελούν τη μεγαλύτερη και πιο ποικιλόμορφη ομάδα μεμβρανικών υποδοχέων στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Ρυθμίζουν την πλειονότητα των μονοπατιών μεταγωγής σήματος του κυττάρου και έχουν εμπλακεί σε διάφορες ασθένειες. Οι περισσότερες λειτουργίες των GPCRs επιτελούνται από τις ετεροτριμερείς G-πρωτεΐνες. Αυτές λειτουργούν ως μοριακοί διακόπτες για τη μετάδοση της σηματοδοτικής πληροφορίας στο εσωτερικό του κυττάρου. Επιπλέον, διάφοροι GPCRs έχουν βρεθεί να αλληλεπιδρούν με μία άλλη κατηγορία πρωτεϊνών, τους «ρυθμιστές της λειτουργίας των υποδοχέων» (RAMPs). Οι RAMPs ρυθμίζουν διάφορα στοιχεία των GPCRs όπως η φαρμακολογία των υποδοχέων, η καθοδήγηση τους στην κυτταρική μεμβράνη, οι αλληλεπιδράσεις με G-πρωτεΐνες καθώς και τα μονοπάτια ανακύκλωσης και αποικοδόμησής τους. Η παρούσα εργασία είχε ως σκοπό την υπολογιστική μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των RAMPs και των GPCRs, ώστε να κατανοηθούν οι μηχανισμοί λειτουργίας και κατ' επέκταση η βιολογική τους σημασία. Για την επίτευξη της χρησιμοποιήσαμε τις εξής τεχνικές: α) ομόλογη προτυποποίηση για την κατασκευή ολοκληρωμένων δομών, β) μεθόδους αγκυροβόλησης για τη δημιουργία συμπλόκων GPCRs-RAMPs, γ) προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής και δ) υπολογισμοί ελεύθερης ενέργειας. Τα αποτελέσματά μας αποκαλύπτουν τα δομικά γνωρίσματα των αλληλεπιδράσεων GPCRs-RAMPs και προσφέρουν στοιχεία για τη λειτουργική σημασία τους. Η εργασία υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της Δράσης «ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ» και συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση και εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ)» (κωδικός έργου: Τ1ΕΔΚ-00353)

## **COMPUTATIONAL STUDIES OF INTERACTIONS BETWEEN GPCRS AND RAMPS**

**Oikonomou E.D., Baltoumas F.A., Papandreou N.C., Iconomidou V.A.**

*Division of Cell Biology and Biophysics, Department of Biology, School of Sciences, National & Kapodistrian University of Athens, Athens, 15701, Greece*

G-Protein Coupled Receptors (GPCRs) are the largest and most diverse group of membrane receptors in eukaryotic organisms. They regulate the majority of the cell's signaling pathways and have been implicated in several diseases. Most GPCR functions are conducted by a group of heterotrimeric proteins, known as G-proteins. The latter function as "molecular switches" for the transmission of signaling information inside the cell. Various GPCRs have also been found to interact with another family of transmembrane proteins, namely, the Receptor Activity Modifying Proteins (RAMPs). RAMPs can regulate a number of GPCR features, including receptor pharmacology, targeting of receptors to the plasma membrane, interactions with G-proteins and GPCR recycling and proteolysis pathways. The aim of this work was the computational study of interactions between RAMPs and GPCRs, in order to investigate their functional mechanism and, ultimately, their biological importance. Towards this end we used a) homology modeling for the construction of full protein structures, b) docking methods to create GPCR-RAMP complexes, c) Molecular Dynamics simulations and d) Free Energy calculations. Overall, our results unveil the structural aspects of GPCR-RAMP interactions and offer insights on their functional relevance. *The present work was co-funded by the European Union and Greek national funds through the Operational Program "Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation", under the call "RESEARCH-CREATE-INNOVATE" (project code: T1EDK-00353).*

## **ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΝΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ CRISPR-CAS9 ΓΙΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΔΙΕΥΡΥΝΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΜΕ ΑΝΤΙΓΟΝΟ-ΕΙΔΙΚΑ Τ-ΚΥΤΤΑΡΑ**

**Πανταζή Χρυσούλα<sup>1,2</sup>, Αλβανού Μαρία<sup>1,3</sup>, Κουκουλιάς Κυριάκος<sup>1,2</sup>, Ψαθά Νικολέττα<sup>4</sup>, Τσιόλας Γεώργιος<sup>5</sup>, Γιάγκου Μηνάς<sup>2</sup>, Σπυριδωνίδης Αλέξανδρος<sup>3</sup>, Σταματόπουλος Κώστας<sup>5</sup>, Αναγνωστόπουλος Αχιλλέας<sup>1</sup>, Μακρής Αντώνιος<sup>5</sup>, Γιαννάκη Ευαγγελία<sup>1</sup>, Παπαδοπούλου Αναστασία<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Μονάδα Γονιδιακής και Κυτταρικής Θεραπείας, Αιματολογική Κλινική - Μονάδα Μεταμόσχευσης Αιμοποιητικών Κυττάρων, Γενικό Νοσοκομείο "Γεώργιος Παπανικολάου", Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>3</sup>Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών, Πάτρα, Ελλάδα

<sup>4</sup>Altius Institute for Biomedical Sciences, Σιάτλ, Ουάσιγκτον, ΗΠΑ

<sup>5</sup>Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών (INEB), ΕΚΕΤΑ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Οι λοιμώξεις αποτελούν θανατηφόρα επιπλοκή μετά την μεταμόσχευση αιματοποιητικών κυττάρων. Καθώς η φαρμακοθεραπεία συχνά αποτυγχάνει, η υιοθετούμενη ανοσοθεραπεία (ΥΑ) με παθογόνο-ειδικά Τ-λεμφοκύτταρα (pSTs) αποτελεί υποσχόμενη εναλλακτική. Ωστόσο, τα Τ-λεμφοκύτταρα υπολειπώνονται παρουσία στεροειδών, θεραπεία πρώτης γραμμής των επιπλοκών της μεταμόσχευσης, στερώντας τους πιο επιρρεπείς στην εμφάνιση λοιμώξεων ασθενείς, από τη δυνατότητα Υα με pSTs. Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η επίδραση της δεξαμεθαζόνης (DEX) σε πρωτογενή Τ-κύτταρα και αναπτύχθηκε ένα σύστημα CRISPR/Cas9 για τη γενετική αδρανοποίηση του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (GR), αποσκοπώντας στην παραγωγή ανθεκτικών στα στεροειδή pSTs. Η τριήμερη έκθεση σε DEX, μείωσε την έκπτυξη των CD3/CD80-διεγερμένων Τ-κυττάρων και προκάλεσε απόπτωση και διαφοροποίηση, αυξάνοντας τα επίπεδα PD-1 και CTLA-4 σε σχέση με τη συνθήκη απουσίας DEX. Για την απαλοιφή του GR, T2 κύτταρα διαμολυσμένα με λεντι-ϊικούς φορείς που εξέφραζαν την Cas9 και 10 διαφορετικά RNA-οδηγούς (gRNAs) που στόχευαν τον GR (σε θέση έναρξης της μεταγραφής και εξώνια 2-5) σε μίγμα ή ξεχωριστά, καλλιεργήθηκαν ±DEX. Τα διαμολυσμένα με τα μίγματα των gRNAs κύτταρα εμφάνιζαν παρόμοια έκπτυξη και απόπτωση ±DEX, υποδηλώνοντας ότι περιείχαν λειτουργικά gRNAs. Για να προσδιοριστεί εάν η ανθεκτικότητα στα στεροειδή προήλθε από ένα gRNA ή ήταν απόρροια προσθετικής/συνεργικής δράσης, T2 κύτταρα διαμολύνθηκαν με φορείς μονήρων gRNAs. Τα 8 από τα 10 τροποποιημένα με gRNAs υπό μελέτη κύτταρα, εμφάνιζαν παρόμοια έκπτυξη ±DEX, υποδηλώνοντας ανθεκτικότητα στη DEX. Από αυτά τα gRNAs, θα επιλεγεί το βέλτιστο gRNA βάσει της υψηλότερης ικανότητας αδρανοποίησης του GR και της χαμηλότερης εκτός-στόχου δράσης. Συνολικά, προτείνεται μία σειρά gRNAs ικανών να διασπάσουν τον GR και να προσδώσουν ανθεκτικότητα στα στεροειδή, αποβλέποντας στην παραγωγή pSTs για την ευρύτερη εφαρμογή της ΥΑ στους πιο ευάλωτους σε λοιμώξεις ασθενείς όπως εκείνοι που λαμβάνουν στεροειδή.

## **DEVELOPING A CRISPR-CAS9 TOOL TO INACTIVATE THE GLUCOCORTICOID RECEPTOR AND BROADEN THE APPLICABILITY OF ANTIGEN-SPECIFIC T-CELL IMMUNOTHERAPY**

**Pantazi Chrysoula<sup>1,2</sup>, Alvanou Maria<sup>1,3</sup>, Koukoulias Kiriakos<sup>1,2</sup>, Psatha Nikoletta<sup>4</sup>, Tsiolas Georgios<sup>5</sup>, Yiangou Minas<sup>2</sup>, Spyridonidis Alexandros<sup>3</sup>, Stamatopoulos Kostas<sup>5</sup>, Anagnostopoulos Achilles<sup>1</sup>, Makris Antonios<sup>5</sup>, Yannaki Evangelia<sup>1</sup>, Papadopoulou Anastasia<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Gene and Cell Therapy Center, Hematology Department - Stem Cell Transplantation Unit, "George Papanikolaou" Hospital, Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*

<sup>3</sup>*University General Hospital of Patras, Patras, Greece*

<sup>4</sup>*Altius Institute for Biomedical Sciences, Seattle, Washington, USA*

<sup>5</sup>*Institute of Applied Biosciences (INAB), Centre for Research and Technology Hellas (CERTH), Thessaloniki, Greece*

Infections are fatal complications after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). While pharmacotherapy often fails, adoptive immunotherapy (AI) with pathogen-specific T cells (pSTs) is a promising alternative. However, T cells perform suboptimally under steroids, the first-line treatment of transplant-associated complications, depriving the most susceptible to infections patients of the potential benefits of AI. We here evaluated the impact of dexamethasone (DEX) on T cells and developed a CRISPR/Cas9 system to genetically disrupt the glucocorticoid receptor (GR) and confer resistance to steroids, ultimately aiming to generate steroid-resistant pSTs. A 3-day DEX exposure impaired the proliferation of CD3/CD80-pulsed primary T cells and induced apoptosis, transition from a central to an effector memory phenotype and upregulation of PD-1 and CTLA-4 over the "no DEX" condition. To inactivate the GR gene, T2 cells transduced with lentiviral vectors encoding Cas9 and 10 different gRNAs (targeting GR at a transcription start site or exons 2-5) in pooled libraries or separately, were incubated  $\pm$ DEX. Cells edited with 2 gRNA pools, presented normal proliferation and reduced apoptosis on DEX treatment versus their untreated counterparts, suggesting that pools contained functional gRNAs. To clarify whether DEX-resistance was a single gRNA effect or an additive/synergistic action of the pooled gRNAs, T2 cells were transduced by single gRNA vectors. Cells edited with 8/10 tested gRNAs presented similar apoptosis and proliferation  $\pm$ DEX, suggesting functional resistance to DEX. Among these gRNAs, an optimal gRNA will be selected based on the highest GR disruption efficiency and the lowest off-target activity. Overall, we provide a series of gRNAs to disrupt the GR and confer resistance of T cells to steroids, endeavoring to generate steroid-resistant pSTs and offer the benefits of AI to the most vulnerable to infections patients as those receiving steroids post HSCT.

## ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΚΚΡΙΤΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ *LACTOCOCCUS LACTIS* ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΣΕΙΡΑ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ RKO

Παπαδημητρίου Ελένη<sup>1</sup>, Καρακότα Μαρία<sup>1</sup>, Κολιάκος Γεώργιος<sup>2</sup>, Τουράκη Μαρία<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τομέας Βιολογικών Επιστημών και Προληπτικής Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η διαταραχή του μικροβιώματος του εντέρου έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση διαφόρων ασθενειών στον άνθρωπο. Τα προβιοτικά βακτήρια, κύριο μέρος του εντερικού μικροβιώματος, όταν χορηγηθούν σε επαρκείς ποσότητες, προσφέρουν οφέλη στην υγεία του ξενιστή συμβάλλοντας στη διατήρηση ισορροπίας της εντερικής μικροχλωρίδας. Η δράση τους ασκείται μέσω του εκκριτώματός τους που περιέχει οργανικά οξέα και βακτηριοσίνες. Οι βακτηριοσίνες είναι κατιονικά, ριβοσωμικά συντιθέμενα πεπτίδια με αντιμικροβιακή δράση και έχουν θεωρηθεί ως εναλλακτική λύση έναντι των αντιβιοτικών. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας, είναι η μελέτη της ενδεχόμενης κυτταροτοξικής δράσης υπερκείμενων καλλιέργειας του προβιοτικού βακτηρίου *Lactococcus lactis* στην κυτταρική σειρά ανθρώπινου εντερικού καρκινώματος RKO. Υπερκείμενα καλλιέργειας του προβιοτικού συλλέχθηκαν στις 0, 6, 12, 24 και 48h επώασης και προσδιορίστηκε η αντιμικροβιακή τους δράση με οργανισμό δείκτη *Enterococcus faecalis* και πρότυπη καμπύλη νισίνης. Υψηλότερο ποσοστό αναστολής σημειώθηκε με τα υπερκείμενα 24 και 48h και η ποσότητα πρωτεΐνης αυτών προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Bradford. Στη συνέχεια, τα υπερκείμενα φιλτραρίστηκαν, λυοφιλίθηκαν, επαναδιαλύθηκαν σε θρεπτικό μέσο κυττάρων και ελέγχθηκε η κυτταροτοξική τους δράση με τη μέθοδο MTT και με χρώση crystal violet. Το ίδιο πείραμα πραγματοποιήθηκε με την κυτταρική σειρά βλαστικών κυττάρων Wharton's jelly με σκοπό να εξεταστεί η επιλεκτικότητα των βακτηριοσινών ως προς τα καρκινικά κύτταρα. Τα αποτελέσματά μας δηλώνουν μείωση της βιωσιμότητας των καρκινικών κυττάρων RKO σε αντίθεση με τα φυσιολογικά κύτταρα Wharton's jelly, προτείνοντας μία σημαντική και επιλεκτική κυτταροτοξική δράση των βακτηριοσινών του *L. lactis* έναντι καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου.

## **SELECTIVE CYTOTOXICITY OF *LACTOCOCCUS LACTIS* SECRETOME ON HUMAN COLORECTAL CANCER CELL LINE RKO**

**Papadimitriou Eleni<sup>1</sup>, Karakota Maria<sup>1</sup>, Koliakos George<sup>2</sup>, Touraki Maria<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of General Biology, Department of Genetics Development and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

<sup>2</sup>Laboratory of Biological Chemistry, School of Medicine, Faculty of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

Gut microflora has been correlated with human gut-associated diseases. Probiotics are the predominant inhabitants in the colon which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit maintaining intestinal microbial balance in their host through their secretome components (organic acids, bacteriocins). Bacteriocins are cationic, ribosomal synthesized peptides with antimicrobial activity, which led to their characterization as alternatives to antibiotics. The aim of this study was to investigate the anti-proliferative effects of cell-free culture supernatants (CFS) of the probiotic *Lactococcus lactis* on human colon carcinoma cell line RKO, in a dose-response manner. CFSs were collected from *L. lactis* cultures after 0, 6, 12, 16, 24, 48h of incubation and their antimicrobial activity was tested against *Enterococcus faecalis* and nisin standard curve, with highest values observed using the 24h and 48h CFSs. The total protein levels of these CFSs were determined using Bradford assay. The CFSs were filtered (0.45µm), lyophilised, dissolved in DMEM and their cytotoxic effects were determined by colorimetric MTT assay and crystal violet cell staining. The same experiment was carried out in the human stem cell line Wharton's jelly to examine the selectivity of bacteriocins against cancer cells. Our results demonstrate viability reduction of RKO cells in contrast with non-carcinogenic Wharton's jelly cells, suggesting a significant and specific cytotoxicity of *L. lactis* bacteriocins against colon cancer cells.

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΙΟΥΛΙΚΩΝ ΣΕ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΛΕΜΦΟ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ *CORNU ASPERSUM***

**Παπαδημητρίου-Τσανταρλιώτου Α.<sup>1</sup>, Μπικιάρης Δ.<sup>2</sup>, Καλογιάννη Μ.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη

Η έρευνα στο πεδίο των βιοϋλικών εμφανίζει ραγδαία ανάπτυξη τις τελευταίες δεκαετίες δεδομένης της αξιοποίησής τους σε διάφορους τομείς. Η αυξημένη χρήση τους οδηγεί σε μαζική συσσώρευσή τους στο περιβάλλον με απρόβλεπτες συνέπειες για το τελευταίο καθώς και για τους οργανισμούς. Για το λόγο αυτό απαιτείται η ανάπτυξη μεθόδων που θα μπορούν να αξιολογήσουν τη σημασία της συσσώρευσης των βιοϋλικών στο περιβάλλον. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εκτίμηση των επιδράσεων της απλής και της τροποποιημένης χιτοζάνης (με προσθήκη μηλεϊνικού ανυδρίτη) σε βιοχημικούς και γενετοξικούς βιομάρτυρες στην αιμολέμφο του σαλιγκαριού *Cornu aspersum*, ώστε να προταθούν ασφαλή όρια χρήσης αυτών των υλικών. Συγκεκριμένα, χορηγήθηκαν στα ζώα, επί 15 ημέρες και υπό εργαστηριακές συνθήκες, απλή και τροποποιημένη χιτοζάνη. Η συγκέντρωσή τους υπολογίστηκε με βάση το ήμισυ της EC50 (μέθοδος Neutral Red Retention assay). Στη συνέχεια έγινε προσδιορισμός στην αιμολέμφο των ζώων των δύο βιομαρτύρων, της λιπιδικής υπεροξειδωσης μέσω του προσδιορισμού της μηλονικής διαλδεΐδης (MDA) (Lipid Peroxidation assay) και της βλάβης του γενετικού υλικού (μέθοδος Comet assay). Οι παράμετροι αυτές σημείωσαν σημαντική αύξηση στους ιστούς των εκτιθεμένων ζώων, συγκριτικά με τα ζώα ελέγχου. Επιπλέον, φαίνεται ότι η δράση της τροποποιημένης χιτοζάνης είναι περισσότερο τοξική για τα κύτταρα των ζώων, σε σχέση με αυτήν της απλής χιτοζάνης. Συμπεραίνεται ότι οι βιομάρτυρες που χρησιμοποιήθηκαν θα μπορούσαν να προταθούν σε μελέτες βιοπαρακολούθησης της χερσαίας ρύπανσης, που οφείλεται σε βιοϋλικά.

## **BIOMATERIALS EFFECT ON PARAMETERS RELATED TO OXIDATIVE STRESS IN HEMOLYMPH OF SNAIL *CORNU ASPERSUM***

**Papadimitriou-Tsantarliotou A.<sup>1</sup>, Bikiaris D.<sup>2</sup>, Kaloyianni M.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki 54124 Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>School of Chemistry, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki 54124 Thessaloniki, Greece

Research in the field of biomaterials has been developed rapidly over the last decade, due to their exploitation in various sectors. This increased use leads to massive accumulation in the environment with unpredictable consequences for the environment and the organisms. For this reason, it is necessary the development of methods that can estimate the threats that biomaterials impose to environment and hence to human health. The aim of the present study was to assess the effects of two biomaterials, chitosan and modified chitosan (maleic acid grafted chitosan) in a low dose, on biochemical and genotoxic biomarkers on the hemolymph of the snail *Cornu aspersum*. In laboratory conditions, the two biomaterials were incorporated in the feed pellets and the concentration used was in each case half of the EC50 concentration as it was determined by the Neutral Red Retention Assay. MDA (Lipid peroxidation assay) and DNA integrity (Comet assay) were measured in the hemolymph of the exposed animals. Both parameters showed a significant increase in hemolymph of exposed snails compared to controls. In addition, modified chitosan appears to induce greater toxicity to the animal cells than those exposed to chitosan. It is concluded that the parameters used could be suggested in bio-monitoring studies against terrestrial pollution caused by biomaterials.

## **ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΔΕΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΟΜΕΝΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΜΕΣΩ ΠΟΤΑΜΙΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΟΧΘΙΩΝ ΔΙΑΔΡΟΜΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΒΑΛΚΑΝΙΩΝ**

**Παπαζέκου Μαρία, Τσαβδαρίδου Αναστασία-Δέσποινα, Μαρδίρης Άγγελος, Μαζάρης Αντώνιος**

*Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη*

Η συνδεσιμότητα των προστατευόμενων περιοχών αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο ως προτεραιότητα για την προστασία της βιοποικιλότητας. Παρόλα αυτά, ο εντοπισμός αλλά και η προστασία οικολογικών διαδρόμων παραμένουν σημαντικές προκλήσεις, ίσως όταν οι περιοχές ενδιαφέροντος εκτείνονται σε ευρύτερες χωρικές κλίμακες. Καθώς οι ποτάμιοι και παρόχθιοι διάδρομοι συνδέουν περιοχές σε μεγάλες αποστάσεις και διαφορετικά υψόμετρα, ενώ συχνά προστατεύονται και ανταποκρίνονται γρήγορα σε προσπάθειες αποκατάστασης, θα μπορούσαν εν δυνάμει να αποτελέσουν βασικό στόχο για την ενίσχυση της συνδεσιμότητας περιοχών σε ένα ευρύτερο τοπίο. Σκοπός λοιπόν, της παρούσας εργασίας είναι να διερευνηθεί ο βαθμός στον οποίο τα ποτάμια και οι παρόχθιες περιοχές μπορούν να λειτουργήσουν ως φυσικοί διάδρομοι μεταξύ προστατευόμενων περιοχών στην περιοχή των Βαλκανίων. Για το σκοπό αυτό, αναλύθηκε σύνολο δεικτών χωρικής συνδεσιμότητας, αξιοποιώντας πληροφορίες για το καθεστώς προστασίας των προστατευόμενων περιοχών και τις χρήσεις γης στις παρόχθιες εκτάσεις, προκειμένου να αξιολογηθεί η ποιότητα των προτεινόμενων δικτύων οικολογικών διαδρόμων. Τα αποτελέσματα δείχνουν για πρώτη φορά πως το υφιστάμενο σύστημα των φυσικών ποτάμιων και παρόχθιων διαδρόμων, επιτυγχάνει μια υψηλή δομική συνδεσιμότητα, με ένα ποσοστό των δυνητικών διαδρόμων να βρίσκονται ήδη υπό καθεστώς προστασίας. Επιπλέον, αναγνωρίζονται τμήματα κοιτών τα οποία επί του παρόντος δεν προστατεύονται και η ένταξή τους σε προγράμματα προστασίας μπορεί να ενισχύσει τους στόχους της συνδεσιμότητας και κατ' επέκταση της διατήρησης. Αναμφισβήτητα τα ποτάμια και τα παρόχθια συστήματα αποτελούν από μόνα τους πολύτιμα οικοσυστήματα που φέρουν σύνολο χαρακτηριστικών που αξιώνει την προστασία τους. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας αναδεικνύουν και ιδιότητες που αφορούν στη χωρική τους δομή και διάσταση, η εκμετάλλευση των οποίων μπορεί να δώσει άμεσες λύσεις στο ζήτημα της οικολογικής συνδεσιμότητας.

## **ASSESSING THE CONNECTIVITY OF PROTECTED AREAS USING RIVERINE AND RIPARIAN CORRIDORS IN THE BALKAN REGION**

**Papazekou Maria, Tsavdaridou Anastasia-Despoina, Mardiris Aggelos, Mazaris Antonios**

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

Connectivity of protected areas is increasingly recognized as a priority for the conservation of biodiversity. Still, the identification and protection of ecological corridors is rather challenging, especially when has to be applied at large spatial scales. Given that riverine and riparian habitats could expand over broad geographical regions, connect high to low elevation sites, while they are often protected and respond quickly to restoration efforts, they could potentially become key targets for increasing connectivity. The aim of the present study was to evaluate whether rivers and riparian areas could facilitate ecological connectivity among the protected areas hosted in the Balkan region. Towards this direction, we conducted a series of spatial analyses allowing to quantitatively address connectivity properties, while we used information on the conservation status of protected areas and land use in riparian zones to assess the quality of the proposed ecological corridors. The results demonstrated that riverine and riparian habitats could greatly support connectivity purposes; high structural connectivity is achieved with only a proportion of corridors currently under protection. In addition, we identified segments of rivers that could greatly improve connectivity. The results of the present study provided some key insights on the spatial properties of riverine and riparian areas as potential ecological corridors, suggesting that such areas should become high conservation targets as they could greatly support ecological connectivity across highly heterogeneous landscapes.

## **ΤΟ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΕΝΖΥΜΟ ALDH2 ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΕΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ PPARβ/Δ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΙΣΧΑΙΜΙΑ/ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ**

**Παπαθεοδώρου Ιωάννα, Παλιούρα Δημήτρα, Παναγιωτίδης Γεώργιος-Δημήτριος, Λάζου Αντιγόνη**

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΚ 54124*

Το οξειδωτικό στρες είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που οδηγεί σε κυτταρική βλάβη και δυσλειτουργία της καρδιάς μετά από ισχαιμία/επαναιμάτωση (I/R). Ο πυρηνικός υποδοχέας PPARβ/δ αποτελεί κύριο μεταγραφικό ρυθμιστή του μεταβολισμού της καρδιάς με παράλληλες αντι-οξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις ενώ πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν την καρδιοπροστατευτική του δράση. Σκοπός της εργασίας ήταν η περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών που διαμεσολαβούν την προστατευτική δράση του PPARβ/δ κάτω από συνθήκες ισχαιμίας/επαναιμάτωσης της καρδιάς εστιάζοντας στο αντιοξειδωτικό ένζυμο αλδεϋδική αφυδρογονάση 2 (ALDH2). Η ALDH2 συμμετέχει στην απενεργοποίηση των ενεργών αλδεϋδών οι οποίες συσσωρεύονται κατά το οξειδωτικό στρες και οι οποίες καθιστούν τις πρωτεΐνες μη λειτουργικές. Χορήγηση του αγωνιστή του PPARβ/δ GW0742 σε πειραματόζωα είχε ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της ALDH2 καθώς και μείωση των τροποποιημένων από 4HNE πρωτεϊνών μετά από *ex vivo* ισχαιμία/επανεμποτισμό της καρδιάς. Τα αποτελέσματα αυτά αντιστράφηκαν όταν χορηγήθηκε ο ανταγωνιστής του PPARβ/δ GSK0660. Παράλληλα αυξήθηκαν τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της πρωτεϊνικής κινάσης Cε (PKCε), κύριου ενεργοποιητή της ALDH2. Επιπλέον, αναστολή της ALDH2 μετά από χορήγηση κυαναμιδίου οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους του εμφράγματος της καρδιάς μετά από ισχαιμία/επανεμποτισμό ενώ η χορήγηση του GW0742 ταυτόχρονα με τον αναστολέα της ALDH2 ανέστρεψε αυτό το αποτέλεσμα. Συμπερασματικά, η ενεργοποίηση του πυρηνικού υποδοχέα PPARβ/δ μειώνει την βλάβη του καρδιακού ιστού μέσω της ενεργοποίησης του αντιοξειδωτικού ενζύμου ALDH2 και έτσι μπορεί να συντελέσει στην διαχείριση της βλάβης της ισχαιμίας/επαναιμάτωσης.

## **ANTIOXIDANT ENZYME ALDH2 MEDIATES THE PROTECTIVE EFFECTS OF NUCLEAR RECEPTOR PPARB/ $\Delta$ AFTER CARDIAC ISCHEMIA/REPERFUSION**

**Papatheodorou Ioanna, Palioura Dimitra, Panagiotidis Georgios-Dimitrios, Lazou Antigone**

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR 54124*

Oxidative stress is one of the main factors that lead to cellular damage and cardiac dysfunction after ischemia/reperfusion. Nuclear receptor PPAR $\beta/\delta$  is a transcriptional regulator of cardiac metabolism with antioxidant and anti-inflammatory properties whereas recent data support its cardioprotective effects. The purpose of this study was to further investigate the mechanisms that mediate the cardioprotective properties of PPAR $\beta/\delta$  under myocardial ischemia/reperfusion with focus on the antioxidant enzyme aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2). ALDH2 deactivates reactive aldehydes which accumulate during oxidative stress, thus preventing the irreversible modification of proteins. Treatment of animals with GW0742, the agonist of PPAR $\beta/\delta$ , resulted in the activation of ALDH2 as well as in the reduction of 4HNE-modified proteins after *ex vivo* ischemia/reperfusion of the heart. These effects were reversed after treatment with the antagonist of PPAR $\beta/\delta$  GSK0660. Moreover, phosphorylation levels of protein kinase C $\epsilon$  (PKC $\epsilon$ ), which phosphorylates and activates ALDH2, were increased. In addition, inhibition of ALDH2 after treatment with cyanamide, resulted in increased infarct size after cardiac ischemia/reperfusion while treatment with GW0742 in combination with cyanamide, reversed this result. In conclusion, activation of nuclear receptor PPAR $\beta/\delta$  reduces cardiac tissue damage through activation of the antioxidant enzyme ALDH2 and consequently may contribute to the management of ischemia/reperfusion injury.

## **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ TMEM154 ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ ΣΤΟΥΣ LENTI-ΙΟΥΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ (SRLVS)**

**Πάππας Φ.<sup>1,2</sup>, Μπουκουβάλα Ε.<sup>1</sup>, Παπαδόπουλος Α.<sup>2</sup>, Αικατερινιάδου Λ.<sup>1</sup>, Μπουζαλάς Η.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών, Κτήμα Θέρμης

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Οι Lenti-ιοί των Μικρών Μηρυκαστικών (SRLVs) είναι ρετροϊοί (RNA ιοί) που προσβάλλουν πρόβατα και αίγες, επάγοντας χρόνια νοσήματα με συμπτώματα πνευμονίας, εγκεφαλομυελίτιδας, αρθρίτιδας και μαστίτιδας. Μελέτες GWAS στις Η.Π.Α. έχουν αναδείξει μοριακούς δείκτες που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα προβάτων διαφόρων φυλών στους εν λόγω ιούς, με τον πιο σημαντικό να αφορά έναν Μονονουκλεοτιδικό Πολυμορφισμό (SNP) στο 35ο κωδικόνιο του γονιδίου της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης TMEM154 που έχει ως αποτέλεσμα την κωδικοποίηση του αμινοξέος λυσίνη (K) αντί του γλουταμινικού οξέος (E). Έκτοτε, οι δείκτες από τις μελέτες αυτές έχουν αξιολογηθεί και σε άλλες φυλές ανά τον κόσμο. Σε αυτήν τη μελέτη, επιχειρείται η συσχέτιση του πολυμορφισμού E35K με την ανίχνευση εξειδικευμένων αντισωμάτων για τους SRLVs στα πρόβατα γαλακτοπαραγωγής της φυλής Χίου. Για το σκοπό αυτό ελέγχθηκαν πρόβατα από τρεις εκτροφές με ELISA για την ορολογική τους κατάσταση έναντι των SRLVs. Τα ίδια ζώα γονοτυπήθηκαν για τον τόπο (locus) ενδιαφέροντος χρησιμοποιώντας μέθοδο Real-Time PCR που αναπτύχθηκε στο εργαστήριό μας. Τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία, τόσο σε επίπεδο κοπαδιού όσο και ατομικά, προκειμένου να αξιολογηθεί η σχέση των αλληλομόρφων E και K με οροθετικότητα ή οροαρνητικότητα. Μέχρι τώρα, ολικός ορολογικός επιπολασμός στις εκτροφές φαίνεται να είναι της τάξεως του 39% ενώ οι σχετικές συχνότητες των αλληλομόρφων E και K βρέθηκαν 86,5% και 13,5% αντίστοιχα. Επιπλέον, η συσχέτιση οροθετικότητας και αλληλομόρφων για τον υπό μελέτη SNP φαίνεται να είναι σημαντική, με τον απλότυπο K να αποτελεί υποσχόμενο δείκτη για βελτίωση της ανθεκτικότητας μέσω επικουρούμενης από μοριακούς δείκτες επιλογής.

## **CORRELATION OF TRANSMEMBRANE PROTEIN TMEM154 GENE POLYMORPHISMS WITH RESISTANCE OF CHIOS BREED SHEEP TO SMALL RUMINANT LENTIVIRUSES INFECTION**

**Pappas F.<sup>1,2</sup>, Boukouvala E.<sup>1</sup>, Papadopoulos A.<sup>2</sup>, Ekateriniadou L.<sup>1</sup>, Bouzalas I.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*HAO-DEMETER, Veterinary Research Institute, Campus of Themi*

<sup>2</sup>*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki*

Small Ruminant Lentiviruses (SRLVs) are retroviruses (RNA viruses) that infect sheep and goats, causing chronic wasting disease with signs as pneumonia, encephalomyelitis, arthritis and mastitis. Genome-Wide Association Studies conducted in the U.S.A. revealed molecular markers related to the resistance of sheep of different breeds to these viruses, with the most significant one being a single nucleotide polymorphism (SNP) at the 35th codon of the transmembrane protein TMEM154 gene which results in coding the amino acid lysine (K) instead of glutamic acid (E). Since then, these markers have been evaluated in more breeds worldwide. In this study, we tried to evaluate the association of the E35K polymorphism with the serological status against SRLVs in Chios breed dairy sheep. For this purpose, sheep from three farms were checked with ELISA tests for their serological status against SRLVs. The same animals were genotyped for the locus of interest using Real-Time PCR method developed in our lab. Results were processed both, at herd level and individually, in order to assess the relationship of E and K alleles to positive or negative serological status. Until now, the total seroprevalence in the studied farms appears to be 39% while the relative frequencies of the E and K alleles were found 86.5% and 13.5% respectively. Interestingly, the serological status was significantly correlated with haplotype. These data indicate that K haplotype is a promising marker for genetic marker-assisted selective breeding.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΦΡΑΚΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΚΑΤΑΝΙΝΗΣ BOTERO 1 ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *ARABIDOPSIS THALIANA* L.**

**Παρασκευοπούλου Δάφνη, Σωτηρίου Πηνελόπη, Γιαννούτσου Ελένη, Αδαμάκης**

**Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης**

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα, 15784*

*email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr)*

Η πρωτεΐνη κατανίνη είναι ένα ετεροδιμερές που ανήκει στην υπεροικογένεια των AAA ΑΤΡασών, το οποίο δρα ως ένζυμο τμήσης των μικροσωληνίσκων και άρα συμμετέχει σε ποικίλες κυτταρικές διεργασίες. Το boterol (bot1) είναι ένα γνωστό μετάλλαγμα κατανίνης. Στο μετάλλαγμα αυτό, τα κύτταρα και κατά συνέπεια τα όργανα του φυτού παρουσιάζονται διογκωμένα. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε αν και κατά πόσο στο συγκεκριμένο μετάλλαγμα επηρεάζεται η μορφογένεση των στοματικών συμπλόκων. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν συγκριτικά τα στοματικά σύμπλοκα στο bot1 και στον άγριο τύπο (col-0). Αρχικά, μελετήθηκε η μορφολογία και στη συνέχεια ο αριθμός των στομάτων κάθε σταδίου ανάπτυξης ανά μονάδα επιφάνειας. Τέλος εξετάστηκε η σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος των καταφρακτικών κυττάρων. Φαίνεται πως τα στοματικά σύμπλοκα στο μετάλλαγμα έχουν μικρότερο λόγο μήκους/πλάτους και μικρότερο άνοιγμα πόρου σε σχέση με αυτά του αγρίου τύπου. Ενώ ο αριθμός των μεριστωματοειδών είναι αυξημένος, ο συνολικός αριθμός στομάτων στο bot1 είναι μικρότερος. Πραγματοποιώντας χρώση με κυανό της ανιλίνης, που προσδένεται ειδικά σε εναποθέσεις καλλόζης, διαπιστώθηκε πως δεν υπάρχουν διαφορές, μεταξύ bot1 και col-0, όσο αφορά στον εντοπισμό της καλλόζης. Με ανοσοσήμανση με JIM5 (που προσδένεται σε μη-εστεροποιημένες ομογαλακτουρονάνες) και LM20 (που προσδένεται σε πλήρως μεθυλοεστεροποιημένες πηκτίνες) διαπιστώθηκαν διαφορές μεταξύ bot1 και col-0, όσο αφορά τον εντοπισμό του επιτόπου που αναγνωρίζει το αντίσωμα LM20. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν ότι η μετάλλαξη στο γονίδιο της κατανίνης που έχει ως αποτέλεσμα τον φαινότυπο bot1 μπορεί να επηρεάσει τη μορφολογία και τον αριθμό των στομάτων και μερικώς τη σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος των καταφρακτικών κυττάρων.

## **THE GUARD CELLS MORPHOLOGY OF THE STOMATAL COMPLEXES IN THE KATANIN MUTANT BOTERO 1 OF *ARABIDOPSIS THALIANA* L. PLANTS**

**Paraskevopoulou Dafni, Sotiriou Penelope, Giannoutsou Eleni, Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis**

*Department of Botany, Faculty of Biology, UOA, Athens, 15784, email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr)*

Katanin protein is a heterodimer belonging to the superfamily of AAA ATPases. It acts as a microtubule-severing enzyme, thus participating in a variety of cellular processes. Botero1 (bot1) is a known katanin mutant. In this mutant, the cells and consequently all of the plant organs have a bulging appearance. In the present study, it was investigated whether in this mutant the morphogenesis of the stomatal complexes is affected. For this purpose, stomatal complexes in bot1 and in the wild type (col-0), were examined comparatively. Initially, their morphology was studied, followed by the number measurements of stomata in each stage of development, while in parallel their number per surface unit was also recorded. Finally, the cell wall composition of the guard cells was investigated. It appears that the stomatal complexes of the mutant have a smaller length/width ratio and a smaller pore aperture. Although the number of meristemoids is increased in bot1, the total number of stomata is lower. By staining with aniline blue, which binds specifically to callose deposits, it was found that bot1 and col-0 showed no differences. By conducting immunolabeling, with JIM5 (which binds to un-esterified homogalacturonan) and LM20 (which binds to fully methyl esterified pectins), different pectin depositions between bot1 and col-0 were observed. In particular, LM20 showed a differential deposition pattern in bot1. These data support that katanin depletion may affect the morphology and the number of stomata and partially the composition of the guard cells cell wall.

## ΝΕΑ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΓΝΩΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

**Παρίσης Ευθύμιος, Πάνου Μάνθος, Γκέλης Σπύρος**

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη  
email: [sgkelis@bio.auth.gr](mailto:sgkelis@bio.auth.gr)

Το φύλο των κυανοβακτηρίων είναι ευρέως γνωστό για τους πολύπλοκους μηχανισμούς επιβίωσης που διαθέτει, ευνοώντας την ανάπτυξη πολλών ειδών σε ιδιαίτερα περιβάλλοντα. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η απομόνωση και ο χαρακτηρισμός κυανοβακτηρίων από ιδιαίτερα ενδιααιτήματα εντός του Ελλαδικού χώρου. Έγιναν δειγματοληψίες από τρεις υδατοσυλλογές στην βόρεια Ελλάδα (θερμά ιαματικά λουτρά Άγκιστρου, Πικρολίμνη Κιλκίς, λιμνοθάλασσα Καλοχωρίου) κατά την περίοδο Οκτωβρίου - Νοεμβρίου 2017. Η απομόνωση στελεχών έγινε με κλασικές μικροβιολογικές μεθόδους. Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά θρεπτικά υλικά (BG11, Zarrouk) σε υγρή και στερεά μορφή και τα στελέχη αναπτύχθηκαν ως υγρές μονοκαλλιέργειες. Ο μορφολογικός χαρακτηρισμός τους έγινε με την ανάλυση μορφολογικών και μορφομετρικών χαρακτήρων στο οπτικό μικροσκόπιο. Ακολούθησε απομόνωση γενετικού υλικού και ενίσχυση του γονιδίου που κωδικοποιεί τη μικρή ριβοσωμική υπομονάδα με τη χρήση της PCR και ειδικών για κυανοβακτήρια εκκινητών. Απομονώθηκαν συνολικά επτά στελέχη τα οποία ανήκουν σε τρεις τάξεις (Nostocales, Chroococcales, Synechococcales) και τέσσερα γένη (*Nodularia*, *Nodosilinea*, *Cyanobacterium*, *Cyanobium*). Τα στελέχη εντάχθηκαν στη συλλογή μικροφυκών του Τμήματος Βιολογίας ΑΠΘ (TAU-MAC). Τρία στελέχη που απομονώθηκαν από τη λιμνοθάλασσα Καλοχωρίου ανήκουν στο γένος *Nodularia* το οποίο αποτελεί ένα εν δυνάμει τοξικό γένος που απομονώνεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα. Η παρουσία των ειδών *Cyanobacterium stanieri* και *Cyanobium gracile*, που απομονώθηκαν από τη λιμνοθάλασσα Καλοχωρίου και από τα θερμά λουτρά Άγκιστρου αντίστοιχα, αναφέρονται για πρώτη φορά στην Ελλάδα. Η φυλογενετική ανάλυση του στελέχους TAU-MAC 3117 υποδεικνύει ότι πιθανώς πρόκειται για ένα νέο κρυπτικό taxon. Μέσω της παρούσας εργασίας αποκαλύπτεται νέα ποικιλότητα κυανοβακτηρίων στην Ελλάδα και η ανάγκη της περαιτέρω διερεύνησης των ιδιαίτερων ενδιααιτημάτων της χώρας μας.

## NOVEL DIVERSITY OF CYANOBACTERIA FROM UNDEREXPLORED ENVIRONMENTS IN GREECE

**Parisis Efthymios, Panou Manthos, Gkelis Spyros**

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR- 54124 Thessaloniki, Greece  
email: [sgkelis@bio.auth.gr](mailto:sgkelis@bio.auth.gr)

Cyanobacteria are widely known for their complex survival mechanisms, favoring their occurrence in diverse and often extreme environments. The aim of the present study was the isolation and characterization of cyanobacteria from unexplored habitats within Greece. Samples were taken from three different waterbodies in northern Greece (Hot springs of Agistro, Lake Pikrolimni in Kilkis, Kalohori lagoon) between October and November 2017. The isolation was done by conventional microbiological methods. Two different growth media (BG11, Zarrouk) were used in liquid and solid form and the strains were grown as liquid monocultures. Their morphological characterization was done by analyzing morphological and morphometric characteristics under an optical microscope. Genomic DNA was extracted from each strain isolated, followed by amplification of the gene encoding the small ribosomal subunit (16S rRNA) using PCR and cyanobacterial specific primers. A total of seven strains representing three orders (Nostocales, Chroococcales, Synechococcales) and four genera (*Nodularia*, *Nodosilinea*, *Cyanobacterium*, *Cyanobium*) were isolated. Strains were deposited in Aristotle University micro algae and Cyanobacteria culture collection (TAU-MAC). Three strains isolated from the Kalohori lagoon belong to the genus *Nodularia*, which is a potentially toxic genus. This is the first time a *Nodularia* strain from Greece was isolated. *Cyanobacterium stanieri* and *Cyanobium gracile*, isolated from Kalohori lagoon and from Agistro hot springs respectively, are recorded for the first time in Greece. Our phylogenetic analysis of strain TAU-MAC 3117 suggests that it is probably a new cryptic taxon. This work reveals a new diversity of cyanobacteria in Greece, posing the need for further exploration of lesser known habitats of our country.

## Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΛΓΗΤΙΚΟΥ ΦΑΡΜΑΚΟΥ DICLOFENAC ΣΤΗΝ ΡΙΖΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *ARABIDOPSIS THALIANA* L.

Πελέκη Ε. Μαρία-Ειρήνη, Χριστοδουλάκης Σ. Νικόλαος, Αδαμάκης Σ. Ιωάννης-Δημοσθένης

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα, 15784  
email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr)

Η δικλοφαινάκη (DCF, Diclofenac Sodium) είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μη στερεοειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο, δύσκολα βιοδιασπώμενο, το οποίο κατατάσσεται στην κατηγορία των PPCPs (Pharmaceutical and Personal Care Products). Η χρήση του από τον άνθρωπο, έχει οδηγήσει σε αύξηση της συγκέντρωσής του σε χερσαία και υδάτινα οικοσυστήματα, απειλώντας τη βιοποικιλότητά τους. Για το λόγο αυτό συγκαταλέγεται στα CECs (Chemicals of Emerging Concern) και έχει συμπεριληφθεί στην πρώτη Watch List EU του Water Framework Directive. Παρόλα αυτά, οι επιδράσεις του σε φυτικούς οργανισμούς δεν είναι πλήρως γνώστες. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η επίδρασή του στην ρίζα του *Arabidopsis Thaliana* L. (col-0). Για τον σκοπό αυτό, αρτίβλαστα ηλικίας 3 ημερών αναπτύχθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του DCF (0, 0.3, 3, 30, 300 µg/mL), για χρονικό διάστημα 5 ημερών. Φυτά εκτεθειμένα στον παράγοντα DCF και φυτά - μάρτυρες υποβλήθηκαν σε ιστοχημική ανίχνευση με aniline blue, FM 4-64, H<sub>2</sub>DCFDA και Trypan Blue. Τα αντιδραστήρια αυτά ανιχνεύουν αντίστοιχα, αποθέσεις καλλόζης, κυτταρικές μεμβράνες, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και νεκρά κύτταρα. Τα δείγματα που προέκυψαν παρατηρήθηκαν σε μικροσκόπιο φθορισμού και προσδιορίστηκε η κατανομή του ενδοπλασματικού δικτύου (ΕΔ) με μικροσκοπία CLSM, μετά από ανοσοσήμανση. Διαπιστώθηκε μείωση του ρυθμού επιμήκυνσης της ρίζας με την αύξηση της συγκέντρωσης DCF αλλά και αλλοίωση του προτύπου οργάνωσης των διαφόρων δομικών περιοχών της παράλληλα με την εμφάνιση περισσότερων συσσωματωμάτων ΕΔ. Η έντονη παρουσία H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στη μεταβατική ζώνη πιθανόν να οδηγεί στην παρατηρούμενη νέκρωση του ιστού, ενώ η τοπική απόθεση καλλόζης αποτελεί μία αμυντική απόκριση του φυτού. Σύμφωνα λοιπόν, με τα παραπάνω δεδομένα, το DCF ενδεχομένως να οδηγεί σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (PCD, Programmed Cell Death) στα φυτά.

Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από το Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ).

## **THE EFFECTS OF THE ANALGESIC DICLOFENAC ON THE ROOT OF *ARABIDOPSIS THALIANA* L.**

**Peleki E. Maria-Eirini, Christodoulakis S. Nikolaos, Adamakis S. Ioannis-Dimosthenis**

*Division of Botany, Department of Biology, UOA*  
email: [iadamaki@biol.uoa.gr](mailto:iadamaki@biol.uoa.gr)

Diclofenac (DCF, Diclofenac Sodium) is an intensively used, hardly degradable, nonsteroidal anti-inflammatory drug which belongs to the group of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs). Human use has increased its presence in the environment, posing a risk to terrestrial and aquatic biodiversity. Therefore, it was included in the first EU Watch List under the Water Framework Directive and to the group of Chemicals of Emerging Concern (CECs). However, little is known about its effect on plants. Therefore, we aimed to study its effects on roots of *Arabidopsis thaliana* L. (col-0). Three-day-old seedlings were treated with DCF at different concentrations (0, 0.3, 3, 30, 300 µg/mL) for 5 consecutive days. Treated and non- treated plants (control) were histochemically dyed with aniline blue, FM 4-64, H<sub>2</sub>DCFDA and Trypan Blue, which mark respectively the existence of callose, cell membranes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and dead cells. With immunolabelling, we determined under CLSM microscopy, the Endoplasmic reticulum (ER) distribution. By increasing DCF concentrations a decrease in root elongation rate, an alteration in the root zone patterning and more ER aggregates were observed. The high occurrence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the transition zone could be related to the observed tissue necrosis, while the local deposition of callose might be a defense mechanism. It could be supposed that, a PCD response (Programmed Cell Death) in plants by DCF is induced.

*The research was funded by National and Kapodistrian University of Athens.*

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ IRINOTECAN ΕΠΙ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΩΟΘΗΚΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

**Πετροπούλου Αναστασία, Βασιλούδη Δέσποινα, Ασημακόπουλος Βύρων**

*Εργαστήριο Φυσιολογίας & Εργαστήριο Φυσιολογίας Αναπαραγωγής - Τεχνητής Γονιμοποίησης, Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 68100, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα*

Ο καρκίνος των ωοθηκών παρουσιάζει την υψηλότερη θνησιμότητα μεταξύ των γυναικολογικών καρκίνων, κάτι που επιβάλλει την αναζήτηση μεθόδων διάγνωσης και αντιμετώπισής του. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο έλεγχος της επίδρασης του αντικαρκινικού φαρμάκου Irinotecan στον αριθμό και τη ζωτικότητα της ωοθηκικής καρκινικής σειράς SKOV3. Τα κύτταρα καλλιέργηθηκαν σε ζεύγη ελέγχου (χωρίς φάρμακο) και με φάρμακο και ελέγχθηκαν για διαφορές στον αριθμό και τη ζωτικότητα με βάση την παρουσία ή μη Irinotecan, τη διάρκεια καλλιέργειας (24, 48 ή 72h) και τη διαφορά στη συγκέντρωση του φαρμάκου (1, 10 ή 100μg/ml). Ο κυτταρικός αριθμός μετρήθηκε με αιμοκυτταρόμετρο Neubauer και η ζωτικότητα μέσω χρώσης με Trypan blue. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το test Kolmogorov-Smirnov, για εύρεση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των συγκρινόμενων ζευγών ομάδων καλλιέργειών. Τα αποτελέσματα των συγκρίσεων αποκάλυψαν σημαντικές διαφορές στον αριθμό των κυττάρων, ο οποίος γενικά εμφανίζεται μειωμένος παρουσία Irinotecan και σε μεγαλύτερες διάρκειες επώασης. Στην περίπτωση που μεταβάλλεται η συγκέντρωση του φαρμάκου, ο κυτταρικός αριθμός παρουσιάζει τις εξής μεταβολές: κύτταρα που αναπτύχθηκαν υπό τη μεγαλύτερη συγκέντρωση Irinotecan (100μg/ml) έχουν υψηλότερο αριθμό κυττάρων από τις καλλιέργειες με τις άλλες συγκεντρώσεις (1 και 10μg/ml) όταν επωάζονται για 24 και 48h. Αντίθετα όταν η επώαση διαρκεί 72h, οι καλλιέργειες με 100μg/ml Irinotecan έχουν πολύ μικρότερο αριθμό κυττάρων από τις άλλες δύο ομάδες καλλιέργειών. Όσον αφορά τη ζωτικότητα, αυτή παραμένει γενικά υψηλή και χωρίς σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των συγκρινόμενων ομάδων. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα εξάγεται το συμπέρασμα πως το αντικαρκινικό φάρμακο Irinotecan επιδρά στην ανάπτυξη των SKOV3, μειώνοντας τον αριθμό των κυττάρων, ιδίως όταν η συγκέντρωσή του είναι υψηλή και η διάρκεια επώασης μεγαλύτερη των 48h.

## **EFFECTS OF IRINOTECAN ON THE CELL NUMBER AND VIABILITY OF OVARIAN CANCER CELLS**

**Petropoulou Anastasia, Vasiloudi Despoina, Asimakopoulos Byron**

*Laboratory of Physiology & Laboratory of Reproductive Physiology - In Vitro Fertilisation (IVF), Department of Medicine, Democritus University of Thrace, 68100, Alexandroupolis, Greece*

Amongst all gynecologic cancers, ovarian cancer has the highest mortality rates; as a result, new diagnostic and therapeutic methods must be sought to counter that. The purpose of this research was to test the effects of anticancer drug Irinotecan on the cell number and viability of the ovarian cancer cell line SKOV3. The cells were cultured in pairs - without the drug (control culture) and with it, and were tested for differences in cell number and viability based on three factors: the presence or absence of Irinotecan, the duration of the cell culture (24, 48, or 72 hours) and the different drug concentrations used (1, 10 or 100µg/ml). A Neubauer hemocytometer was used to count cell numbers and cell viability was assessed using Trypan blue staining. The Kolmogorov-Smirnov test was used to analyse the results, in order to pinpoint statistically significant differences between the pairs of cell culture groups that were being compared. The comparison results showcased significant differences in cell numbers, which tend to be smaller when Irinotecan is present and in longer culture durations. In the case of different drug concentrations, cell numbers are affected as follows: Cell cultures that were incubated with the highest concentration of Irinotecan (100µg/ml) have a larger cell number than cultures incubated with lower drug concentrations (1 or 10µg/ml) over a period of 24h and 48h. However, when the incubation period is extended to 72h, cultures treated with 100µg/ml Irinotecan have a much smaller cell number than those treated with lower drug concentrations. Cell viability remains generally high, without substantial differences between compared cell culture groups. Based on these results, it is concluded that the anticancer drug Irinotecan does affect the growth of SKOV3 cells by reducing their cell number, especially when administered in high concentrations and when the incubation period lasts for more than 48h.

## **ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΩΝ, ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΔΙΚΛΟΦΕΝΑΚΗΣ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*, ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ/Η ΑΠΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ *TETRASELMIS SUECICA* ΩΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΗΓΗ.**

**Πολίτη Αλεξάνδρα και Νταϊλιάνης Στέφανος**

*Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ζωολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα*

Η παρούσα μελέτη διερευνά τις επιπτώσεις της Δικλοφαινάκης (Diclofenac ή DCF) στο είδος *Mytilus Galloprovincialis*, υπό συνθήκες έλλειψης τροφής και χορήγησης του μικροφύκου *Tetraselmis Suecica*. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε η ικανότητα επιβίωσης των μυδιών στον αέρα (μέθοδος stress on stress), η σταθερότητα των λυσοσωμικών μεμβρανών (NRRT assay), τα επίπεδα των σουπεροξειδικών ανιόντων ( $O_2^{\cdot-}$ ) και οξειδίων του αζώτου (με τη μορφή  $NO_2^{\cdot-}$ ), η λιπιδική υπεροξειδωση (ισοδύναμα μηλονικής διαλδεύδης/MDA), καθώς και η συχνότητα εμφάνισης μικροπυρήνων (MN assay) στα αιμοκύτταρα/αιμόλεμφο μυδιών που εκτέθηκαν για 4 ημέρες σε DCF 20  $\mu\text{g/L}$ , απουσία και/ή παρουσία του μικροφύκου. Αντίστοιχα, προσδιορίστηκε ο αριθμός των κυττάρων, ο ρυθμός ανάπτυξης ( $\mu$ , growth rate) και το ποσοστό αναστολής της ανάπτυξης (% inhibition rate) του μικροφύκου, μετά από έκθεση σε DCF (0.005-20  $\mu\text{g/L}$ ) για διάστημα 24-72h. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι παραπάνω συγκεντρώσεις DCF επηρεάζουν σημαντικά το ρυθμό ανάπτυξης του μικροφύκου (24h inhibition rate «48% στην περίπτωση έκθεσης σε DCF 20  $\mu\text{g/L}$ ), γεγονός που μπορεί να υποδεικνύει τον υποσιτισμό των μυδιών κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας έκθεσης. Άτομα που εκτέθηκαν σε DCF απουσία τροφής έδειξαν μειωμένη ικανότητα επιβίωσης στην ατμόσφαιρα, σε αντίθεση με τα DCF-εκτιθέμενα άτομα παρουσία του μικροφύκου, ενώ σημαντικές κυτταροτοξικές, οξειδωτικές και γενοτοξικές βλάβες προσδιορίστηκαν στα DCF-εκτιθέμενα άτομα σε κάθε περίπτωση. Συμπερασματικά, η χορήγηση του μικροφύκου *Tetraselmis Suecica* δεν φαίνεται να ενισχύει την ανθεκτικότητα των ατόμων, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι τόσο το είδος και η ποσότητα της διαθέσιμης διατροφής, όσο και ο ρυθμός τροφοληψίας των δίθυρων μαλακίων μπορεί να επηρεάσουν σε σημαντικό βαθμό την απόκρισή τους έναντι της φαρμακευτικής ουσίας DCF. Επιπλέον, οι επιπτώσεις της DCF φαίνεται να σχετίζονται με τυχόν διαταραχές που μπορεί να επιφέρει στις διατροφικές σχέσεις των υδρόβιων οργανισμών.

## **INVESTIGATION OF CYTOTOXIC, OXIDATIVE AND GENOTOXIC EFFECTS OF DICLOFENAC ON NON-FED MUSSELS AND/OR MUSSELS FEEDING WITH *TETRASELMIS SUECICA***

**Politi Alexandra and Dailianis Stefanos**

*Division of Animal Biology, Lab of Zoology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500, Patras, Greece*

The present study investigates the cytotoxic, oxidative and genotoxic effects of Diclofenac on the mussel *Mytillus Galloprovincialis* under starvation and/or feeding with the green alga *Tetraselmis Suecica*. Especially, mussels' ability to survive in air (the "stress on stress" method), lysosomal membrane stability (in terms of NRRT assay), superoxide anions and nitric oxides production, lipid peroxidation (in terms of malondialdehyde/MDA) and the formation of nuclear abnormalities (using the micronucleus/ MN assay) were assessed in hemocytes of mussels treated for 4 days with 20 µg/L of DCF, with or without nutrition (*Tetraselmis Suecica*). In parallel, the number of cells, the growth rate (p) and the percentage of the inhibition rate were measured in alga cultured for a period of 72h with different concentrations of DCF (0.005-20 µg/L). The current findings revealed that these DCF concentrations could significantly inhibit algal growth rate (24h inhibition rate «48% in case of exposure to DCF 20 µg/L), thus indicating mussels' malnutrition during the experimental procedure. On the other hand, DCF- treated mussels without food showed reduced LT50 values in contrast with DCF- treated mussels feeding with *Tetraselmis suecica*, while significant cytotoxic, oxidative and genotoxic damages were shown in DCF- treated mussels under any circumstances, compared to values observed in DCF-free mussels in any case. Those findings revealed for the first time that mussels' nutrition with *Tetraselmis Suecica* does not seem to enhance their resistance against cytotoxic, oxidative and genotoxic effects of DCF, thus reinforcing previous evidence that both the type and the quantity of food, as well as mussels' feeding rate could regulate their response against environmental stressors, like DCF. Moreover, DCF mediated adverse effects on aquatic biota seemed to be mediated by alterations within the trophic chain- related nutritional relationships among aquatic organisms.

## ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΑΝΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΜΒΡΥΪΚΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΤΙΣ Β-ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΕΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΥΠΟ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

**Πραβή Αικατερίνη<sup>1</sup>, Γιαννακούλης Μιχαήλ-Ναπολέων<sup>1</sup>, Χονδρού Βασιλική<sup>1</sup>, Κουράκλη-Συμεωνίδου Αλεξάνδρα<sup>2</sup>, Συμεωνίδης Σ. Ανάργυρος<sup>3</sup>, Πατρινός Π. Γεώργιος<sup>4</sup>, Παπαχατζοπούλου Αδαμαντία<sup>5</sup>, Σγουρού Αργυρώ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας, Εργαστήριο Βιολογίας

<sup>2</sup>Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών, Αιματολογικό Τμήμα Παθολογικής Κλινικής, Μονάδα Μεσογειακής Αναιμίας

<sup>3</sup>Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών, Αιματολογικό Τμήμα Παθολογικής Κλινικής

<sup>4</sup>Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωμιατικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας

<sup>5</sup>Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Ιατρικής, Τομέας Βασικών Ιατρικών Επιστημών Ι, Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας

Στο γενετικό υλικό απαντώνται επιγενετικές τροποποιήσεις που αφορούν κυρίως στην μεθυλίωση της κυτοσίνης (C) σε μονήρη CpG δινουκλεοτίδια και σε CpG νησίδες, και εμπλέκονται στην ρύθμιση της μεταγραφής. Διερευνήσαμε την επιγενετική ρύθμιση της φαρμακευτικά επαγόμενης επανέκφρασης της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (HbF) σε ενήλικες ασθενείς που λαμβάνουν είτε υδροξυουρία (HU) είτε αζακυτιδίνη (AZA). Μελετήθηκε το προφίλ μεθυλίωσης του γονιδίου της γ-σφαιρίνης (HBG2) και των τροποποιητικών γονιδίων που δρουν *in trans* και επηρεάζουν την έκφραση των σφαιρινικών γονιδίων τύπου-β, SIN3A, GATA2, ZBTB7A, KLF1 και MYB, σε: α) Ασθενείς με β-αιμοσφαιρινοπάθειες που διακρίνονται σε ανταποκρινόμενους και μη ανταποκρινόμενους στην HU, ανάλογα με τα επίπεδα της HbF στο πλατό έκφρασής της β) Ασθενείς με μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ), οι οποίοι συχνά εκφράζουν HbF υπό την φαρμακευτική επίδραση του απομεθυλιωτικού παράγοντα AZA και γ) Στην αθανатоποιημένη κυτταρική σειρά K562, η οποία εκφράζει επιλεκτικά την HbF έναντι της ενήλικης HbA. Ο προσδιορισμός των επιπέδων μεθυλίωσης των CpGs στην περιοχή του υποκινητή του HBG2 και των τροποποιητικών γονιδίων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Pyrosequencing. Τα κύρια αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συνοψίζονται στα εξής: I) Στους ασθενείς με ΜΔΣ, η AZA προκαλεί πλήρη απομεθυλίωση στα τροποποιητικά γονίδια, η οποία είναι εμφανής ήδη από τους 3 πρώτους κύκλους θεραπείας II) Οι μη ανταποκρινόμενοι ασθενείς με β-αιμοσφαιρινοπάθειες στην HU, παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά υψηλά επίπεδα ενδογενούς μεθυλίωσης στη νησίδα CpG 326 του ZBTB7A συγκριτικά με τους ανταποκρινόμενους ( $p=0,019^*$ ) και τους υγιείς ενήλικες ( $p=0,021^*$ ), καθώς επίσης και απομεθυλίωση της ίδιας νησίδας υπό την πίεση της HU *in vitro* ( $p=0,04^*$ ) III) Ο υποκινητής του HBG2 είναι μεθυλιωμένος σε όλα τα υπό μελέτη δείγματα, ενώ στην κυτταρική σειρά K562 οι αντίστοιχες θέσεις CpG είναι υπομεθυλιωμένες σε ποσοστό 60% και άνω.

## **EPIGENETIC REGULATION OF THE EMBRYONIC HEMOGLOBIN INDUCTION IN B-HEMOGLOBINOPATHIES AND MDS PATIENTS UNDER TREATMENT**

**Pravi Aikaterini<sup>1</sup>, Giannakoulis Michail-Napoleon<sup>1</sup>, Chondrou Vasiliki<sup>1</sup>, Kouraklis-Symeonidis Alexandra<sup>2</sup>, Symeonidis S. Argiris<sup>3</sup>, Patrinos P. George<sup>4</sup>, Papachatzopoulou Adamantia<sup>5</sup>, Sgourou Argyro<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Hellenic Open University, School of Science and Technology, Laboratory of biology*

<sup>2</sup>*University Hospital of Patras, Hematology Division, Dept of Internal Medicine, Thalassemia & Hemoglobinopathies' Unit*

<sup>3</sup>*University of Patras, Medical Faculty, University Hospital of Patras, Hematology Division, Dept of Internal Medicine*

<sup>4</sup>*University of Patras, Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy*

<sup>5</sup>*University of Patras, Medical Faculty, Laboratory of General Biology*

Of the most functional epigenetic modifications obtained at the DNA level is the methylation of cytosines (C) in solitary CpG dinucleotides or within CpG islands, playing an important role in transcriptional regulation. We aimed to investigate the epigenetic mechanisms implicated in the pharmacologically induced reactivation of fetal hemoglobin (HbF) in adult patients who receive either Hydroxyurea (HU) or Azacytidine (AZA). The methylation profile of the  $\gamma$ -globin gene (HBG2) and several HBB-cluster modifier genes, SIN3A, GATA2, ZBTB7A, KLF1 and MYB, which act in trans towards the second hemoglobin inversion from HbF to HbA, was studied in: a)  $\beta$ -hemoglobinopathies patients characterized as responders and non-responders to HU treatment, according to the HbF levels at the plateau b) Patients with myelodysplastic syndromes (MDS) who often express HbF under the pharmacological effect of the demethylating agent AZA and c) The immortalized K562 cell line that selectively expresses HbF against the adult HbA. Detection of the methylation levels across the CpG islands in the promoter region of the HBG2 and the HBB-cluster modifier genes, was performed by the Pyrosequencing CpG assay. The main results of this study are summarized as follows: I) AZA causes complete demethylation in all promoter regions of the studied HBB-cluster modifier genes in patients with MDS, that is evident even from the first 3 cycles of treatment II) The  $\beta$ -hemoglobinopathies patients that do not respond to HU treatment exhibit a significantly elevated level of baseline methylation at the ZBTB7A CpG island 326 in comparison with patients responders to HU ( $p=0,019^*$ ), as well as with healthy individuals ( $p=0,021^*$ ), and a significant DNA hypomethylation pattern in the same CpG island under the pressure of HU *in vitro* ( $p=0,04^*$ ) III) The HBG2 promoter is methylated in all human samples subjected to this study, while the methylation profile shows significant hypomethylation (over 60%) in the K562 cells.

## ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *SIDERITIS* L. ΠΟΥ ΠΩΛΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΓΟΡΑ ΤΗΣ ΚΑΒΑΛΑΣ ΜΕ ΤΕΧΝΙΚΗ DNA BARCODING

**Πύρκα Ιωάννα, Κόκκινη Στέλλα, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος**

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Διατήρηση της Βιοποικιλότητας και Αειφορική Αξιοποίηση Αυτοφυών Φυτών», Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124

Το «τσάι του βουνού», όπως είναι γνωστά τα πολυετή είδη του γένους *Sideritis* L. [section *Empedoclia* (Rafin.) Bentham], χρησιμοποιείται από την αρχαιότητα έως και σήμερα για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Η αυξημένη εμπορική ζήτηση και οι απειλές που δέχονται από την εκτεταμένη συλλογή οι αυτοφυείς πληθυσμοί του, καθιστούν σημαντική την ταυτοποίηση των ειδών που διακινούνται εμπορικά. Το DNA barcoding είναι μια μοριακή μέθοδος η οποία χρησιμοποιεί μικρές περιοχές του γενετικού υλικού των οργανισμών ως δείκτες (barcodes) για τη διάκριση και τη μελέτη της ποικιλότητάς τους. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία με σκοπό την ταυτοποίηση των ειδών του γένους *Sideritis* που εμπορεύονται στην αγορά της Καβάλας, βάσει των δεικτών matK και trnH-psbA. Εξετάστηκαν συνολικά 12 δείγματα, εκ των οποίων τα οκτώ προμηθεύτηκαν από τη λαϊκή αγορά της Καβάλας, δύο συλλέχθηκαν από αυτοφυείς πληθυσμούς και αποτέλεσαν δείγματα αναφοράς και δύο δείγματα, τα οποία εμπορεύονται ως «τσάι του βουνού», προήλθαν από καλλιέργειες. Πριν τη μοριακή τους ταυτοποίηση, όλα τα δείγματα αναγνωρίστηκαν βάσει των μορφολογικών διαγνωστικών τους χαρακτήρων. Τα αποτελέσματα του DNA barcoding έδειξαν πως στη λαϊκή αγορά της Καβάλας πωλούνται δύο διαφορετικοί πληθυσμοί του είδους *S. scardica* Griseb., οι οποίοι δεν ταυτίζονται με τον αυτοφυή πληθυσμό του Παγγαίου που μελετήθηκε, καθώς και δύο διαφορετικοί πληθυσμοί του *S. raeseri* Boiss. & Heldr., οι οποίοι πιθανώς προέρχονται από καλλιέργειες. Οικονομική υποστήριξη υλικοτεχνικής υποδομής: ΕΣΠΑ- Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο της Δράσης ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ (AROMADISTIL-95783).

## **IDENTIFICATION OF PLANTS OF THE GENUS *SIDERITIS* L. WHICH ARE SOLD IN KAVALA'S MARKET USING DNA BARCODING**

**Pyrka Ioanna, Kokkini Stella, Vlachonasios Konstantinos**

*Postgraduate Studies Program "Conservation of Biodiversity and Sustainable Exploitation of Native Plants" Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki*

The "mountain tea", as the perennial species of the genus *Sideritis* L. [section *Empedoclia* (Rafin.) Benth.] are known, have been used from the ancient times until now for their therapeutic properties. The increased commercial demand and the threats they receive due to the excessive collection of their native populations, render the commercially traded species identification important. DNA barcoding is a molecular method that uses small genome sequences of organisms as barcodes to discriminate them and study their diversity. The goal of this project was to identify plant species that are sold in Kavala's market as mountain tea, using DNA barcodes such as *matK* and *trnH-psbA*. Twelve samples were examined, eight of which have been bought from Kavala's flea market, two were collected from native populations and used as control samples and two obtained from "mountain tea" commercial cultivations. Prior to molecular identification, all samples were identified using their morphological diagnostic characters. DNA barcoding results showed that in Kavala's flea market two different populations of *S. scardica* Griseb. are sold, neither of them was identified as the native population of mountain Paggai that was studied, as well as two different populations of *S. raeseri* Boiss. & Heldr., which probably obtained from cultivations.

*Funding: National Strategic Reference Framework (NSRF), Research Funding Programme of the Action RESEARCH-CREATE-INNOVATE (AROMADISTIL-95783).*

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙ-TNF ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΜΕ ΟΛΕΟΚΑΝΘΑΛΗ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΠΟΛΥΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΠΟΝΤΙΚΩΝ

**Ρήγκου Αναστασία<sup>1,4</sup>, Μπαντούνας Φώτης<sup>1,2</sup>, Καραμπέτσου Καλλιόπη<sup>3</sup>, Ντότσικα Ελένη<sup>3</sup>, Απόστολος Αγγελής<sup>4</sup>, Αλέξιος-Λέανδρος Σκαλτσούνης<sup>4</sup>, Τσιτσιλώνη Ουρανία<sup>5</sup>, Χαραλάμπους Σύλβα<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Έρευνας Φλεγμονής, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

<sup>2</sup>Εργαστήριο Διαγονιδιακής Τεχνολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

<sup>3</sup>Εργαστήριο Κυτταρικής Ανοσολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

<sup>4</sup>Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

<sup>5</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Οι αναστολείς του TNF αποτελούν πρώτης γραμμής θεραπεία στη ρευματοειδή αρθρίτιδα είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυαστική θεραπεία με συμβατικά φάρμακα. Ωστόσο, για την επίτευξη μεγαλύτερης αποτελεσματικότητας και μείωσης των ανεπιθύμητων ενεργειών, η βελτιστοποίηση των θεραπευτικών σχημάτων αποτελεί σημαντικό στόχο. Προς αυτή την κατεύθυνση, διερευνώνται συστατικά φυσικών προϊόντων με πιθανή φαρμακευτική δράση. Η ολεοκανθάλη, συστατικό του φαινολικού κλάσματος του παρθένου ελαιολάδου, έχει συσχετισθεί με αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και άλλες δράσεις σε διάφορα *in vitro* και *in vivo* πρότυπα ασθενειών. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της συνδυαστικής θεραπευτικής δράσης του αντι-TNF (Adalimumab) με ολεοκανθάλη στην χρόνια πολυαρθρίτιδα χρησιμοποιώντας το διαγονιδιακό ποντικό Tg197 ο οποίος υπερεκφράζει τον ανθρώπινο TNF-α, αποτελώντας ένα proof-of-concept πρότυπο αξιολόγησης αντι-ρευματικών φαρμάκων. Η θεραπευτική δράση της ολεοκανθάλης ελέγχθηκε σε δύο δόσεις, χωρίς ή σε συνδυασμό με το adalimumab. Το θεραπευτικό σχήμα εφαρμόστηκε στους διαγονιδιακούς ποντικούς σε ηλικία 6 εβδομάδων, για διάστημα 6 εβδομάδων. Η αξιολόγηση της αρθρίτιδας έγινε βάσει κλινικών και ιστοπαθολογικών παραμέτρων. Η παρούσα μελέτη αποτελεί πρώτη αναφορά της *in vivo* δράσης της ολεοκανθάλης σε ζωικό πρότυπο αρθρίτιδας. Τα κλινικά και ιστολογικά ευρήματα έδειξαν ότι το συνδυαστικό σχήμα ολεοκανθάλη 5 mg/Kg με adalimumab οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση της παθολογίας των αρθρώσεων των ποντικών σε σχέση με τη μονοθεραπεία με adalimumab στο ίδιο θεραπευτικό σχήμα. Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε τάση μείωσης των κλινικών και ιστοπαθολογικών παραμέτρων των ποντικών που έλαβαν μονοθεραπεία ολεοκανθάλης έναντι των παραμέτρων των ποντικών χωρίς θεραπεία. Περαιτέρω μελέτη που θα αφορά δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες θα δώσει περισσότερες πληροφορίες για τον τρόπο δράσης της ολεοκανθάλης.

## **STUDY OF THE COMBINATIONAL THERAPEUTIC EFFECT OF ANTI-TNF AGENT WITH OLEOCANTHAL IN CHRONIC POLYARTHRITIS USING TRANSGENIC MICE**

**Rigou Anastasia<sup>1,4</sup>, Badounas Fotis<sup>1,2</sup>, Karampetsou Kalliopi<sup>3</sup>, Dotsika Eleni<sup>3</sup>, Apostolos Angelis<sup>4</sup>, Alexios-Leandros Skaltsounis<sup>4</sup> Tsitsilonis Ourania<sup>5</sup>, Haralambous Sylva<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> *Laboratory of Inflammation Research, Hellenic Pasteur Institute*

<sup>2</sup> *Laboratory of Transgenic Technology, Hellenic Pasteur Institute*

<sup>3</sup> *Laboratory of Cellular Immunology, Hellenic Pasteur Institute*

<sup>4</sup> *Division of Pharmacognosy and Natural Product Chemistry, Department of Pharmacy, National and Kapodistrian University of Athens*

<sup>5</sup> *Division of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens*

TNF inhibitors are first line therapy for rheumatoid arthritis either as monotherapy or in combination therapy with conventional drugs. However, optimization of the therapeutic regimens is an important goal in order to accomplish higher effectiveness and reduced adverse effects. To this direction, compounds derived from natural product with potent pharmaceutical action are under investigation. Oleocanthal, olive oil's phenolic fraction component, has been associated with anti-inflammatory, anti-oxidant and other activities in various *in vitro* and *in vivo* disease models. The aim of this study is to investigate the combinational therapeutic effect of anti-TNF agent (Adalimumab) with oleocanthal in chronic polyarthritis using the Tg197 transgenic mouse which overexpresses human TNF- $\alpha$  being a proof-of-concept model to assess anti-rheumatic drugs. Oleocanthal's therapeutic effect was tested in two different doses and alone or in combination with adalimumab. Transgenic mice were treated for 6 weeks starting at week 6 of age. Arthritis was assessed based on clinical and histopathological parameters. This study is the first report of oleocanthal's *in vivo* effect in an animal model of arthritis. Clinical and histological findings showed that combinational therapy of oleocanthal 5 mg/Kg with adalimumab resulted in higher reduction of joint pathology than adalimumab treatment alone at the same therapeutic regimen. Moreover, a trend in reducing clinical and histopathological parameters with oleocanthal treatment alone compared to untreated mice was observed. Further study including inflammation and oxidative stress markers will provide us with more information about oleocanthal's way of action.

## **ΕΞΕΡΕΥΝΩΝΤΑΣ ΤΙΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΓΟΝΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ-ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΩΝ**

**Ρίζου Α.Ε.Ι., Νάση Γ.Ι., Μπαλτούμας Φ.Α., Τσιολάκη Π.Λ., Οικονομίδου Β.Α.**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15701, Αθήνα*

Το χόριο των μεταξοσκωλήκων είναι μία πρωτεϊνική δομή που παίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στην προστασία του αναπτυσσόμενου εμβρύου από τις περιβαλλοντικές συνθήκες όσο και στη γονιμοποίηση του ωοκυττάρου. Το μεγαλύτερο μέρος (95% της ξηρής του μάζας) αυτής της ιδιαίτερης δομής αποτελείται από πρωτεΐνες οι οποίες κατηγοριοποιούνται σε δύο οικογένειες, τις Α και Β. Κατά την έκκριση τους, θεωρείται ότι οι πρωτεΐνες των δύο οικογενειών αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και σχηματίζουν ινίδια που οργανώνονται περαιτέρω για να σχηματίσουν το χόριο. Το εργαστήριό μας ήταν το πρώτο που πρότεινε ότι τα ινίδια του χορίου των μεταξοσκωλήκων έχουν αμυλοειδογόνες ιδιότητες και χαρακτήρισε το χόριο ως προστατευτικό αμυλοειδές. Ο στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διαλεύκανση του μηχανισμού δημιουργίας του χορίου, μέσω της μελέτης των αλληλεπιδράσεων αμυλοειδογόνων πεπτιδίων- αναλόγων της κεντρικής συντηρητικής περιοχής των πρωτεϊνών του. Από τις *in vitro* αναμειξεις των πεπτιδίων παρατηρήθηκε ένας νέος πληθυσμός αμυλοειδών ινιδίων, όπως φάνηκε από τις ηλεκτρονιογραφίες διέλευσης, τη χρώση με Congo Red, την πολωτική μικροσκοπία, τη φασματοσκοπία υπερερύθρου ATR-FTIR και την περίθλαση ακτίνων-Χ. Επιπλέον, με υπολογιστικές προσομοιώσεις καταγράφηκαν τα γεγονότα αυτοσυγκρότησης των πεπτιδίων, εξετάζοντας το σχηματισμό συμπλόκων ή τον αποχωρισμό τους με την πάροδο του χρόνου. Τα αποτελέσματα της εργασίας συμβάλλουν τόσο προς την κατεύθυνση της αποσαφήνισης του μηχανισμού δημιουργίας του χορίου των μεταξοσκωλήκων όσο και σε πιθανές μελλοντικές εφαρμογές σε νανοϋλικά.

*Η εργασία υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της Δράσης «ΕΡΕΥΝΩ- ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ» και συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση και εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ)» (κωδικός έργου:Τ1ΕΔΚ-00353)*

## **EXPLORING INTERACTIONS OF AMYLOIDOGENIC PEPTIDE-ANALOGUES OF SILKMOTH CHORION PROTEINS**

**Rizou A.E.I., Nasi G.I., Baltoumas F.A., Tsiolaki P.L., Iconomidou V.A.**

*Division of Cell Biology and Biophysics, Department of Biology, School of Sciences, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15701, Athens*

Silkmoth chorion is a proteinaceous structure that plays a significant role both in protecting the embryo from environmental hazards and the fertilization of the silkmoth oocyte. The major part (95% of its dry mass) of this extraordinary structure consists of proteins categorized into two families, namely, A and B. During their secretion, it is assumed that the proteins of the A and B families interact and, subsequently, form fibrils that are further organized to form the chorion structure. Our lab was the first to propose that silkmoth chorion fibrillar structures have amyloidogenic properties and thus, characterized silkmoth chorion as protective/functional amyloid. The aim of this study is to clarify the mechanism of silkmoth chorion formation by studying interactions of amyloidogenic peptide-analogues of the central conservative domain of chorion proteins. Co-aggregation experimental assays identified distinct morphological characteristics under co-incubation conditions, utilizing Congo Red staining and polarized light microscopy, Transmission Electron Microscopy, ATR-FTIR spectroscopy and X-ray fiber diffraction. Also, computational simulations monitored all self-aggregation events, displaying association or disassociation of peptides over the course of time. The study of these interactions is of significant importance toward the elucidation of the mechanism of silkmoth chorion formation and their potential applications in nanomaterials.

*The present work was co-funded by the European Union and Greek national funds through the Operational Program "Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation", under the call "RESEARCH-CREATE-INNOVATE" (project code: T1EDK-00353).*

## **ΧΕΙΜΕΡΙΝΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΝΥΧΤΕΡΙΔΩΝ (ΧΕΙΡΟΠΤΕΡΩΝ) ΣΕ ΕΝΑ ΑΣΤΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ**

**Σαλβαρίνα Ιωάννα<sup>1</sup>, Περιβολιώτη Τριανταφυλλιά-Μαρία<sup>1</sup>, Μπαμπζέλης Δημήτριος<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Τομέας Μετεωρολογίας και Κλιματολογίας, Τμήμα Γεωλογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η έρευνα της συμπεριφοράς των χειροπτέρων (νυχτερίδων) το χειμώνα είναι σχετικά περιορισμένη και στην Ελλάδα ανύπαρκτη. Το χειμώνα τα περισσότερα είδη χειροπτέρων πέφτουν σε ένα είδος χειμέριου ύπνου, από τον οποίο είναι δυνατόν να ξυπνήσουν για να αναζητήσουν τροφή. Ενδιαφέρον έχει η έρευνα της συμπεριφορά τους και των πιθανών μεταβολών με την κλιματική αλλαγή καθώς ενδέχεται να μεταβληθούν και τα διαθέσιμα τροφικά αποθέματα. Η γνώση σχετικά με τη χειμερινή δραστηριότητα των νυχτερίδων θα συνεισφέρει στη λήψη διαχειριστικών μέτρων τόσο για τις νυχτερίδες όσο και για τα έντομα και τα οικοσυστήματα που προτιμούν. Οι νυχτερίδες εκπέμπουν υπερήχους για τον προσανατολισμό τους στο χώρο, την αναζήτηση τροφής και την επικοινωνία μεταξύ τους. Οι υπέρηχοι αυτοί συνήθως έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά ανά είδος που επιτρέπουν την αναγνώριση και την εκτίμηση της παρουσίας και δραστηριότητάς τους. Ο στόχος της παρούσας έρευνας ήταν η διερεύνηση της παρουσίας και δραστηριότητας χειροπτέρων το χειμώνα σε ένα αστικό κέντρο. Έγινε παθητική, ακουστική παρακολούθηση, από τη δύση μέχρι την ανατολή του ηλίου, από τον Νοέμβριο 2018 μέχρι τον Μάρτιο 2019 στον μετεωρολογικό σταθμό του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, στη Θεσσαλονίκη. Διερευνήθηκε η σχέση της δραστηριότητας των χειροπτέρων με τη θερμοκρασία, την υγρασία και την ένταση του ανέμου. Καταγράφηκαν είδη του γένους *Pipistrellus* τα οποία συναντώνται συχνά σε πόλεις. Η χαμηλότερη θερμοκρασία την ώρα της δύσης στην οποία καταγράφηκε δραστηριότητα νυχτερίδων ήταν 2,5°C (τον Ιανουάριο). Δε σημειώθηκε σχέση μεταξύ της δραστηριότητας των νυχτερίδων και της θερμοκρασίας, πιθανώς επειδή το εύρος των θερμοκρασιών ήταν σχετικά μικρό στην περίοδο αυτή. Σημειώθηκε ασθενής αρνητική συσχέτιση με τον άνεμο και όχι με την υγρασία. Η παρακολούθηση είναι σε εξέλιξη. Πρόκειται για πιλοτική έρευνα στο πλαίσιο του έργου «Νυχτερίδες και η σχέση τους με την διαθεσιμότητα και ποιότητα νερού στην Μεσογειακή υπολεκάνη».

## **WINTER ACTIVITY OF BATS (*CHIROPTERA*) IN AN URBAN CENTRE**

**Salvarina Ioanna<sup>1</sup>, Perivolioti Triantafyllia-Maria<sup>1</sup>, Bampzelis Dimitrios<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup>Department of Meteorology and Climatology, School of Geology, Aristotle University of Thessaloniki

Research on bat behaviour in winter is relatively limited and in Greece absent. In winter, most bat species hibernate or fall into torpor, while it is possible to wake up to feed. It is interesting to investigate how their behaviour will alter with climate change as it is possible that resource availability will change. Knowledge on bat winter activity will contribute in taking conservation measures for bats, but also for the insects and ecosystems they prefer. Bats emit ultrasound for their orientation in space, for food search and communication. These ultrasounds have different characteristics between species and help us to identify the species and measure their activity and presence. The goal for the present study was to explore bat winter activity in an urban centre. Passive, acoustic monitoring was conducted from sunset till sunrise, from November 2018 till March 2019, at the meteorological station of the Aristotle University of Thessaloniki, in Thessaloniki. The relationship between the activity of bats and meteorological parameters (temperature, humidity, wind speed) was searched. Species belonging to the genus *Pipistrellus* were recorded, which are often found in cities. The lowest temperature at which bat activity was recorded was 2.5°C (in January). There was no relationship between bat activity and temperature, probably because the range of temperature during the study time was small. There was also no relationship of bat activity to humidity, but weak negative relationship to wind speed. The monitoring is in progress. This is a pilot study within the project "Bats and their relationship to water availability and quality in the Mediterranean sub-basin".

## **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΔΑΤΙΚΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *HELLEBORUS ODORUS* WALDST. SUBSP. *CYCLOPHYLLUS* (A. BRAUN) MAIRE & PETITM.**

**Σαραμετίδης Παναγιώτης Νίκος, Κούτση Παρασκευή Μαρία, Κουρέλης Θεόδωρος, Κατσώρης Παναγιώτης**

*Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Ο Ελλέβορος ο Κυκλόφυλλος είναι φαρμακευτικό φυτό που ευδοκίμει στην ελληνική χλωρίδα και το ριζώμα του περιέχει πληθώρα φαρμακευτικά δραστικών χημικών ενώσεων. Η μέθοδος επεξεργασίας του ριζώματος είναι γνωστή και βιβλιογραφικά τεκμηριωμένη. Η φαρμακευτική όμως χρήση της σκόνης του ριζώματος του φυτού έχει εγκαταλειφθεί από 100-ετίας και πλέον, καθώς εκτιμάται ότι δεν είναι αποδεκτή σε ανάλυση κινδύνου-οφέλους. Ωστόσο, ουδέποτε μελετήθηκε η δράση της στον μεταστατικό καρκίνο. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση υδατικού εκχυλίσματος του αποξηραμένου ριζώματος του φυτού, σε *in vitro* καλλιεργούμενα καρκινικά και φυσιολογικά κύτταρα. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν καρκινικές κυτταρικές σειρές προστάτη PC3 και θυρεοειδούς K1, καθώς και η φυσιολογική κυτταρική σειρά θυρεοειδούς Nthy-ori 3.1. Αρχικά προσδιορίστηκε η IC50 εκχυλίσματος για κάθε κυτταρική σειρά. Διαπιστώθηκε ότι υπάρχει «θεραπευτικό παράθυρο» ανάμεσα στα καρκινικά κύτταρα και τα αντίστοιχα φυσιολογικά τους, καθώς το εκχύλισμα εμφανίζει επιλεκτικότητα στην επαγωγή κυτταρικού θανάτου σε καρκινικά κύτταρα συγκριτικά με τα φυσιολογικά τους. Έπειτα μελετήθηκε η δυναμική επίδραση του όξινου pH του στομάχου στην φαρμακοδυναμική του εκχυλίσματος, μια και η χορήγησή του γίνεται από το στόμα. Εξετάστηκε η πιθανότητα το υδροχλωρικό οξύ του γαστρικού υγρού να επηρεάζει τη δραστηριότητα του εκχυλίσματος και διαπιστώθηκε ότι αυτό εξακολουθεί να διατηρεί την κυτταροτοξική του δράση, καθώς η επώαση των κυττάρων με εκχύλισμα που είχε παραμείνει σε pH 1.5, δεν επέφερε μεταβολή στις τιμές IC50. Τέλος, εκτιμήθηκε η δυναμική επίδραση που επιφέρει, στην κυτταροτοξική δράση του εκχυλίσματος, η παρουσία υψηλής συγκέντρωσης γαλακτικού νατρίου στο θρεπτικό υλικό της κυτταροκαλλιέργειας, λόγω της παρουσίας γαλακτικού στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Συνολικά, τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά για την ενδεχόμενη χρήση του ως αντικαρκινικού φαρμάκου.

## **STUDY OF THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF THE *HELLEBORUS ODORUS* WALDST. SUBSP. *CYCLOPHYLLUS* (A. BRAUN) MAIRE & PETITM. EXTRACT**

**Sarametidis Panagiotis Nikos, Koutsi Paraskevi Maria, Kourelis Theodore, Katsoris Panagiotis**

*Laboratory of Biology, Department of Biology, University of Patras*

*Helleborus Cyclophyllus* is a poisonous pharmaceutical plant indigenous in the Greek flora. Its rhizome contains a plethora of pharmaceutically active chemical compounds. Both the method of processing the rhizome, in order to obtain the pharmacotechnical form of the dried powdered root and the maximum tolerated per os powder dose in humans are well known, determined and bibliographically established. The whole rhizome extract has been obsolete and subsequently abandoned as a modern- medicine medication, as it exhibits an unacceptable risk-benefit analysis profile ratio. However, "the treatment of metastatic cancer" has never been incorporated, among the indications of the dried powdered root therapeutic usage. In the present study, we have evaluated the in vitro cytotoxic effect of the whole rhizome extract on cancer and normal cell lines. Established prostate (PC3) and thyroid (K1) adenocarcinoma cell lines as well as thyroid (Nthy-ori 3.1) normal cell lines were utilized for this purpose. Firstly, the IC50 for each cell line was determined. Our results have revealed a "therapeutic window" among the cancer cells and their respective normal progenitors, as the whole rhizome extract exhibited predilection for inducing cellular death in the cancer cell lines than the normal ones. Secondly, we evaluated the potential negative adverse effect of the gastric acid on the whole rhizome extract's pharmacodynamic properties, in case it will be administered e per os. Incubation of the whole rhizome extract at pH 1.5 ruled out any concern regarding potential gastric acid's detrimental effects overall rhizome extract's cytotoxic properties, as the IC50 values remained inalterable for each cell line. Finally, we studied the potential adverse effect of sodium lactate, since high concentrations of lactic acid are present in tumor cells microenvironment. Our results are encouraging for further investigation concerning the possible use of this extract as anticancer drug.

## **IN VITRO ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ *Satureja Thymbra* L. (Lamiaceae): ΕΝΑ ΠΟΛΥΤΙΜΟ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ-ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟ ΑΥΤΟΦΥΕΣ ΦΥΤΟ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ**

**Σαρροπούλου Βιργινία και Μαλούπα Ελένη**

*Εργαστήριο Προστασίας και Αξιοποίησης Αυτοφυών και Ανθοκομικών Ειδών, Βαλκανικός Βοτανικός Κήπος Κρουσιών, Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης & Φυτογενετικών Πόρων, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός (ΕΛΓΟ)- ΔΗΜΗΤΡΑ, Τ.Θ. 60458, Τ.Κ. 570 01, Θέρμη, Θεσσαλονίκη*

Το είδος *Satureja Thymbra* L. (*Lamiaceae*) ή θρούμπι είναι ένα αυτοφυές μεσογειακό χαμαίφυτο που απαντάται σε ξηρικά φρύγανα και λιβάδια, ασβεστολιθικούς βράχους και πετρώδεις πλαγιές. Απαντάται σε Β.Α. και Α.Κ. Ελλάδα, νησιά Ιονίου και Αιγαίου πελάγους, Κυκλάδες, Πελοπόννησο, Κρήτη, Κάρπαθο, Ν. Πίνδο και Στερεά Ελλάδα. Είναι ένα μελισσοτροφικό και αρωματικό φυτό που χρησιμοποιείται ως ισχυρό αφροδισιακό βότανο με αντιμικροβιακή δράση, εκλεκτό άρτυμα και φυσικό συντηρητικό τροφίμων με χρήση του αιθέριου ελαίου του στην ποτοποιία. Ως κατάλληλα μέτρα διαχείρισης για την προστασία των φυτογενετικών πόρων ενάντια στη γενετική διάβρωση, προτείνεται η *ex situ* διατήρηση σε τράπεζες γενετικού υλικού και η ενίσχυση της καλλιέργειας. Σκοπός διεξαγωγής της εργασίας ήταν η δημιουργία ενός πρωτοκόλλου *in vitro* αναπαραγωγής. Το πειραματικό φυτικό υλικό συλλέχθηκε από το Άγιο Όρος, Β. Ελλάδα. Το πρωτόκολλο απολύμανσης περιλάμβανε την εμβάπτιση των εκφύτων σε 70% αλκοόλη (1 min) και 3% NaOCl (15 min) δίνοντας 61,18% άνοσου υλικού και 92,31% βλαστογένεση μετά από 5 εβδομάδες καλλιέργειας σε MS υπόστρωμα με 30 g/l σακχαρόζη και 7 g/l Plant Agar. Στο στάδιο του πολλαπλασιασμού, η προσθήκη 0,5 mg/l BA στο αρχικό υπόστρωμα εγκατάστασης οδήγησε στην παραγωγή 5,5 βλαστών μήκους 14,24 χιλ. με 13,33% βλαστογένεση (5 εβδομάδες). Στο στάδιο της ριζοβολίας, μελετήθηκε η επίδραση 3 αυξινών (IBA, NAA, IAA) σε διάφορες συγκεντρώσεις και συνδυασμούς. Μετά από 7 εβδομάδες καλλιέργειας σε MS υπόστρωμα με 20 g/l σακχαρόζη και 6,5 g/l Plant Agar, 1 mg/l IBA έδωσε το υψηλότερο ποσοστό ριζοβολίας (58,62%), 0,5 mg/l NAA το μεγαλύτερο αριθμό ριζών (12,13) και 0,1 mg/l IAA το μέγιστο μήκος ριζών (34,35 χιλ.). Το ποσοστό επιτυχούς *ex vitro* επιβίωσης έρριζων μικρομοσχευμάτων μετά από 4 εβδομάδες στην υδρονέφωση σε μείγμα τύρφης (Terrahum):περλίτη (1:1 v/v) ήταν 81,82%. Το μείγμα μεταφύτευσης σε μεγαλύτερου όγκου φυτοδοχεία (0,33 και 2,5 L) περιείχε τύρφη TS2):περλίτη:χώμα (2:½:½ και 2:1:1 v/v, αντίστοιχα).

## **IN VITRO PROPAGATION OF *SATUREJA THYMBRA* L. (LAMIACEAE): A VALUABLE AROMATIC-MEDICINAL NATIVE PLANT OF THE MEDITERRANEAN REGION**

**Sarropoulou Virginia and Maloupa Eleni**

*Laboratory of Protection and Evaluation of Native and Floricultural Species, Balkan Botanic Garden of Kroussia, Institute of Plant Breeding and Genetic Resources, Hellenic Agricultural Organization (HAO) - DEMETER, P.O. Box 60458, P.C. 570 01, Thessaloniki, Greece*

*Satureja Thymbra* L. (*Lamiaceae*) or savory is a native Mediterranean chamaephyte found in xeric phrygana and grasslands, limestone rocks and stony slopes. It is a beekeeping and aromatic plant used as a powerful aphrodisiac herb with anti-microbial action, as a delicious flavor and natural preservative with its essential oil being exploited by the beverage industry. It is found in North-East and East-Central Greece, Ionian and Aegean islands, Cyclades, Peloponnese, Crete, Karpathos, South Pindos and Sterea Ellada. Appropriate management measures for the protection of plant genetic resources against genetic erosion are the ex situ conservation of genetic material in seed banks and the enhancement of cultivation. The purpose of the work was the development of an in vitro propagation protocol. The experimental plant material was collected from Mount Athos, N. Greece. The disinfection protocol involved the immersion of shoot-tip explants in 70% alcohol (1 min) and 3% NaOCl (15 min) giving 61.18% pathogen-free material and 92.31% shoot multiplication after 5 weeks of culture on a MS medium supplemented with 30 g/l sucrose and 7 g/l Plant Agar. At the multiplication stage, adding 0.5 mg/l BA to the initial establishment medium produced 5.5 shoots 14.24 mm long with 13.33% shoot proliferation (5 weeks). For rooting, the effect of 3 auxins (IBA, NAA, IAA) applied at various concentrations and combinations was studied. After 7 weeks of culture on a MS medium with 20 g/l sucrose and 6.5 g/l Plant Agar, 1 mg/l IBA gave the highest rooting (58.62%), 0.5 mg/l NAA the maximum root number (12.13) and 0.1 mg/l IAA the largest root length (34,35 mm). The successful ex vitro survival percentage of rooted microplants after 4 weeks in the mist of the unheated greenhouse containing a peat (Terrahum): perlite (1:1 v/v) mixture was 81.82%. The transplantation mixture into larger volume pots (0.33 and 2.5 L) consisted of peat (TS2): perlite: soil (2:½:½ and 2:1:1 v/v, respectively).

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ *IN VITRO* ΚΑΙ *IN VIVO* ΦΥΤΡΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ *SILENE FABARIA* SUBSP. *DOMOKINA* (*CARYOPHYLLACEAE*)**

**Σαρροπούλου Βιργινία, και Μαλούπα Ελένη**

*Εργαστήριο Προστασίας και Αξιοποίησης Αυτοφυών και Ανθοκομικών Ειδών, Βαλκανικός Βοτανικός Κήπος Κρουσιών, Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης & Φυτογενετικών Πόρων, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός (ΕΛΓΟ) - ΔΗΜΗΤΡΑ, Τ.Θ. 60458, Τ.Κ. 570 01, Θέρμη, Θεσσαλονίκη*

Διερευνήθηκε η επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στη φυτρωτικότητα των σπερμάτων του *Silene Fabaria* subsp. *domokina* (ενδημικό Δομοκού) για την εκτός τόπου διατήρησή του. Σε πειράματα φύτευσης *in vitro* χρησιμοποιήθηκαν σπέρματα 5 ηλικιών: 2,5, 4,5, 7,5, 9,5 ετών με 2 διαφορετικές ημερομηνίες συλλογής, και 11,5 ετών. Τα σπέρματα μετά την απολύμανση τους (100% επιτυχία) καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε θρεπτικό υπόστρωμα MS εμπλουτισμένο με 20 g/l σακχαρόζη (pH:5,8) και 6 g/l Plant Agar. Σε πειράματα φύτευσης *in vivo* (φθινόπωρο) χρησιμοποιήθηκαν σπέρματα 4 ηλικιών (25% μηνών, 26% μηνών, 4 και 7 ετών). *In vitro*, τα σπέρματα ηλικίας 11,5 ετών (συλλογή: 2/10/2008) έδωσαν το υψηλότερο ποσοστό φύτευσης (50%) (15η ημέρα). Τα σπέρματα μικρότερης ηλικίας (2,5 και 4,5 ετών) παρουσίασαν μειωμένη φυτρωτική ικανότητα (28,57-30%) και σε υστέρηση χρονικά (36η ημέρα). Τα σπέρματα ηλικίας 7,5 (συλλογή: 11/8/2010) και 9,5 ετών (9/9/2008) δεν φύτευσαν (συλλογή: Αύγουστος-Σεπτέμβριος). Αντίθετα, τα σπέρματα διαφόρων ηλικιών που συλλέχθηκαν τη περίοδο μέσα Ιουνίου-Ιουλίου (7/7/2015, 11/7/2013, 12/6/2008) φύτευσαν. *In vivo*, τα σπέρματα ηλικίας 26% μηνών έδωσαν το υψηλότερο ποσοστό φύτευσης (91,67%) (14η ημέρα). Τα σπέρματα ηλικίας 25% μηνών και 7 ετών (συλλογή: Αύγουστος) δεν έδωσαν καλά αποτελέσματα. Συνεπώς, για την εγγενή αναπαραγωγή του είδους με σπέρματα συνιστάται *in vitro* η χρήση σπερμάτων ηλικίας 11,5 ετών (συλλογή: αρχές Οκτωβρίου) και *in vivo* σπερμάτων 25-26 μηνών (συλλογή: αρχές Ιουλίου). Η αποθήκευση σπερμάτων στην τράπεζα σπερμάτων του εργαστηρίου (4-5°C υγρασία 5%) έως 11,5 ετών για *in vitro* δοκιμές και έως 4 ετών για *in vivo* εξασφαλίζει τη βιωσιμότητα τους, δίνοντας 50% φύτευση σε διάστημα 2 εβδομάδων. Η φύτευση σπερμάτων μεγαλύτερης ηλικίας υπερτερεί *in vitro* και αυτών μικρότερης ηλικίας *in vivo*. Η φύτευση σπερμάτων *S. Fabaria* subsp. *domokina* ευνοείται περισσότερο σε *in vivo* συνθήκες θερμοκηπίου σε γλάστρες που περιέχουν μίγμα τύρφης (Terrahum): περλίτη: χώματος (2:2:1 v/v).

## **EFFECT OF STORAGE LIFE ON *IN VITRO* AND *IN VIVO* SEED GERMINATION ABILITY OF *SILENE FABARIA* SUBSP. *DOMOKINA* (*CARYOPHYLLACEAE*)**

**Sarropoulou Virginia and Maloupa Eleni**

*Laboratory of Protection and Evaluation of Native and Floricultural Species, Balkan Botanic Garden of Kroussia, Institute of Plant Breeding and Genetic Resources, Hellenic Agricultural Organization (HAO) - DEMETER, P.O. Box 60458, P.C. 570 01, Thessaloniki, Greece*

The effect of storage life on seed germination of *Silene Fabaria* subsp. *domokina* (endemic of Domokos) was studied for its ex-situ conservation. For in vitro germination trials, 5 seed ages (2.5, 4.5, 7.5, 9.5 years with 2 different collection dates, and 11.5 years) were used. The seeds after their disinfection (100% success) were cultured in vitro in a MS nutrient medium supplemented with 20 g/l sucrose (pH: 5.8) and 6 g/l Plant Agar. For *in vivo* germination trials (in autumn), 4 seed ages (25% months, 26% months, 4 and 7 years) were used. In vitro, 11.5 year-aged seeds (collection: 2/10/2008) gave the highest germination rate (50%) (15th day of culture). Younger seeds (2.5 and 4.5 years) showed reduced germination rate (28.57-30%) and lag time (36th day of culture). Both the 7.5 year-aged (collection: 11/8/2010) and 9.5 year-aged seeds (9/9/2008) did not germinate (collection: August-September period). On the contrary, the seeds of various ages collected between mid-June and mid-July (7/7/2015, 11/7/2013, 12/6/2008) were germinated. In vivo, the highest germination rate (91.67%) (day 14) was observed in the 26 % month-aged seeds. Seeds of 25 % month and 7 year-aged (collection: August) did not give good results. Therefore, the use of 11.5 year-aged seeds (collection: beginning of October) is recommended for in vitro germination and 25-26 month-aged seeds (collection: beginning of July) for in vivo germination. Long-term storage of *S. fabaria* subsp. *domokina* at the laboratory seed bank (4-5°C, humidity 5%) up to 11.5 years (in vitro trials) and up to 4 years (*in vivo* trials) ensures their viability, giving 50% germination over 2 weeks. Germination of older seeds is superior under in vitro conditions and that of younger seeds under in vivo conditions. The germination of *S. Fabaria* subsp. *domokina* seeds is favored more under unheated greenhouse *in vivo* conditions (autumn) within pots containing a peat moss (Terrahum):perlite:soil substrate mixture (2:2:% v/v ratio).

## **ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΡΥΘΡΩΝ ΚΑΙ ΛΕΥΚΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΣΤΟ ΑΙΜΑ ΤΙΛΑΠΙΑΣ**

**Σπηλιοπούλου Ειρήνη, Σταθοπούλου Παρασκευή, Βλάχος Νικόλαος, Μεντέ Ελένη, Βερίλλης Παναγιώτης**

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

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μέτρηση και η μορφολογική μελέτη των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και ο υπολογισμός της μεταξύ τους αναλογίας στο είδος *Oreochromis Niloticus* των εσωτερικών υδάτων. Αρχικά, συλλέχθηκε δείγμα περιφερειακού αίματος από τρεις ενήλικες αρσενικές τιλάπιες. Η αιμοληψία έγινε από την ουραία φλέβα ύστερα από την αναισθητοποίηση τους σε διάλυμα φαινοξαιθανόλης. Ένα μέρος του αίματος τοποθετήθηκε σε μπουκαλάκια αιμοληψίας με ηπαρίνη, ενώ μια σταγόνα αίματος χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία επιχρισμάτων αίματος. Τα επιχρίσματα αίματος που δημιουργήθηκαν στέγνωσαν στον αέρα και μονιμοποιήθηκαν σε 100% αλκοόλη. Ακολούθησε η χρώση κατά Giemsa και η παρατήρηση τους σε οπτικό μικροσκόπιο. Σε κάθε δείγμα, μετρήθηκαν στα ερυθρά αιμοσφαίρια ο μικρός και ο μεγάλος άξονας του πυρήνα ( $3,04 \pm 0,47\mu\text{m}$  και  $5,36 \pm 0,02\mu\text{m}$ ), ο μικρός και ο μεγάλος άξονας όλου του κυττάρου ( $7,58 \pm 4,5\mu\text{m}$  και  $12,33 \pm 1,46\mu\text{m}$ ), υπολογίστηκε η επιφάνεια του πυρήνα και του κυττάρου ( $12,72 \pm 2,82\mu\text{m}^2$  και  $74,33 \pm 35,40\mu\text{m}^2$ ) και έγινε διαφοροποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων. Επίσης, υπολογίστηκε η αναλογία ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων. Όσον αφορά τα λευκά αιμοσφαίρια, τα λεμφοκύτταρα βρίσκονται σε ποσοστό 78% , τα ουδετερόφιλα σε ποσοστό 16% ενώ τα μονοκύτταρα ανέρχονται σε ποσοστό 5%. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αποτελούν το 95 % των κυττάρων του αίματος, ενώ τα λευκά το 5%. Σε κανένα δείγμα δεν παρατηρήθηκαν μικροπυρηνίσκοι στα ερυθρά αιμοσφαίρια και δεν βρέθηκαν ηωσινόφιλα και βασεόφιλα. Ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων με την βοήθεια αιματοκυτταρόμετρου υπολογίστηκε σε  $1,31 \pm 0,37 \times 10^6$  ανά ml αίματος.

## **ERYTHROCYTES AND LEUCOCYTES MORPHOLOGY IN TILAPIA BLOOD**

**Spiliopoulou E., Stathopoulou P., Vlachos N., Mente E. , Berillis P.**

*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly*

The aim of this study is to count the erythrocytes and leucocytes in *Oreochromis niloticus*' blood and determine their morphology. Peripheral blood samples from three adult male Nile tilapias were taken from the caudal vessel with a syringe. Three blood smears were prepared. The blood smears were allowed to air dry, fixed for 2 minutes with 100% ethanol and stained with Giemsa. The slides were examined under oil- immersion at 100X magnification. Erythrocyte nuclear major axis and minor axis ( $3.04 \pm 0.47\mu\text{m}$  and  $5.36 \pm 0.02\mu\text{m}$ ), erythrocyte major axis and minor axis ( $7.58 \pm 4.51\mu\text{m}$  and  $12.33 \pm 1.46\mu\text{m}$ ), nuclear and whole erythrocyte area ( $12.72 \pm 2.82\mu\text{m}^2$  and  $74.33 \pm 35.40\mu\text{m}^2$ ) were measured. For each fish differentiation and classification of the leucocytes occurred. Therefore, at least 100 leucocytes of each fish were recorded. Lymphocytes were 78% of the total leucocytes, neutrophils were 16% and monocytes 5%. Micronucleus, eosinophils and basophils did not exist in any sample. Erythrocytes represented the 95% of the total blood cells and the leucocytes the 5%. The number of the erythrocytes was calculated with the use of a hemocytometer ( $1.31 \pm 0.37 \times 10^6$  per ml of blood).

## ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ $Fe_3O_4$ ΣΕ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ *CARASSIUS GIBELIO*

**Σταμκοπούλου Δήμητρα, Μπόμπορη Δήμητρα, Καλογιάννη Μάρθα**

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.*

Η χρήση οργανισμών ως βιοενδείκτες, έχει αποκτήσει μεγάλο νόημα στις σύγχρονες μελέτες βιο-παρακολούθησης υδάτινων οικοσυστημάτων. Στα πλαίσια αυτά, διερευνήθηκε η χρήση του ψαριού *Carassius gibelio* ως βιοενδείκτη της ρύπανσης λιμναίων οικοσυστημάτων. Έγινε εστίαση στην τοξικότητα που δυνητικά εμφανίζουν τα νανοσωματίδια μαγνητίτη ( $Fe_3O_4$ -NPs) σε αυτό. Τα συγκεκριμένα έχουν εφαρμογές στην ιατρική και τη βιομηχανία και η απελευθέρωσή τους προκαλεί ανησυχία σχετικά με τις επιπτώσεις τους στο οικοσύστημα. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εκτίμηση των επιδράσεων των  $Fe_3O_4$ -NPs σε βιοχημικούς και γενεοτοξικούς βιομάρτυρες στα βράγχια και στο ήπαρ του *Carassius gibelio*, για 8 ημέρες, ώστε να προταθούν ασφαλή όρια χρήσης των συγκεκριμένων νανοσωματιδίων. Με εξέταση της κατακράτησης Neutral Red χρωστικής από λυσοσώματα αιμοκυττάρων, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της μέσης απόκρισης (EC50) στα 390 mg/g. Στη συνέχεια, εκτέθηκαν ψάρια για 8 ημέρες σε 300 mg/g  $Fe_3O_4$ -NPs και μετά από απομόνωση του ήπατος και των βραγχίων, ελέγχθηκε η ακεραιότητα του DNA (μέθοδος των κομητών), η παραγωγή πρωτεϊνικών καρβονυλικών ομάδων (μέθοδος ELISA) και η συσσώρευση προϊόντων της υπεροξειδωσής των λιπιδίων ως ποσοστό μαλονδιαλδεΐδης (MDA). Τα αποτελέσματα έδειξαν μεταβολές σε όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν, συγκριτικά με τους ιστούς της ομάδας ελέγχου, υποδηλώνοντας ότι τα  $Fe_3O_4$ -NPs στις συγκεκριμένες συνθήκες, επάγουν επιβλαβείς αντιδράσεις στη φυσιολογία των ζώων. Συμπεραίνεται ότι οι παράμετροι/ βιομάρτυρες που μελετήθηκαν θα μπορούσαν να προταθούν σε μελέτες βιο-παρακολούθησης των υδάτινων οικοσυστημάτων, έναντι των νανοσωματιδίων.

## **EFFECTS OF Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NANOPARTICLES ON OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN TISSUES OF CARASSIUS GIBELIO FISH**

**Stamkopoulou Dimitra, Bobori Dimitra, Kaloyianni Martha**

*Laboratory of Animal Physiology, Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece*

Use of animals as bioindicators, has great application in bio-monitoring studies of aquatic ecosystems. For this purpose, the use of fresh water fish *Carassius gibelio* as bioindicators for lake ecosystems has been explored. Focus was placed on the possible toxicity that can be induced by magnetite nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs). They have applications in fields like medicine and industry and their release in the environment has raised concern regarding their effect on ecosystems. The aim of the present study was to assess the effects of low dose of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs on biochemical and genotoxic biomarkers, on gills and liver of the model *C. gibelio*, for 8 days. The retention of Neutral Red dye from haemocyte lysosomes was monitored and the half effective concentration was calculated to be 390 mg/g. Then, fish were exposed for 8 days to 300 mg/g Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs and after the retrieval of liver and gill tissue, the DNA integrity (by comet assay), the production of protein carbonyls (by the ELISA method) and the accumulation of lipid peroxidation products (MDA percentage) was determined. The results indicated that there was an increase in all monitored parameters compared to the tissues of the control group. Therefore, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs under the certain circumstances can induce toxic effects on animal physiology. It is concluded that the studied parameters/biomarkers could be suggested in biomonitoring studies of aquatic ecosystems against nanoparticles. Furthermore, thorough investigation of magnetite NPs toxicity mechanisms and behavior is further required to ensure their safe use and disposal.

## **ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΝΟΣ ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΛΟΓΗ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΖΟΥΝ ΤΗ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΗΣ Α-ΣΥΝΟΥΚΛΕΙΝΗΣ**

**Στυλιανοπούλου Ηλέκτρα, Αβραμίδου Γεωργία, Κίρτσιος Στράτος, Γρηγορίου Ε. Μαρία, Σκάβδης Γιώργος, Παλαιολόγου Κατερίνα**

*Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας Ανάπτυξης & Μοριακής Νευροβιολογίας, Εργαστήριο Μοριακής Ρύθμισης & Ανάπτυξης Διαγνωστικής Τεχνολογίας, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής και OMIC-ENGINE-The Greek National Infrastructure on Synthetic Biology*

*email: [gskavdis@mbg.duth.gr](mailto:gskavdis@mbg.duth.gr), [apalaiol@mbg.duth.gr](mailto:apalaiol@mbg.duth.gr)*

Η νόσος του Parkinson χαρακτηρίζεται από τον επιλεκτικό εκφυλισμό και την απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας. Το κύριο ιστοπαθολογικό χαρακτηριστικό της νόσου είναι η παρουσία κυτταροπλασματικών εγκλείστων, των σωματίων Lewy, με συστατικό συσσωματώματα μιας μικρής προσυναπτικής πρωτεΐνης, της α-συνουκλεΐνης (α-συν). Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι τόσο τα ινίδια της α-συν όσο και τα ολιγομερή της είναι τοξικά για τα κύτταρα, ενώ επιπλέον, εκτός από την νόσο του Parkinson, η συσσωμάτωση της α-συν έχει κομβικό ρόλο και στην ανάπτυξη άλλων νευροεκφυλιστικών νοσημάτων που είναι γνωστές ως συνουκλείνοπάθειες. Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται ο σχεδιασμός, η κατασκευή και ο έλεγχος ενός βιοαισθητήρα που αξιοποιεί το σύστημα της συμπληρωματικότητας της λουσιφεράσης (split luciferase). Πειράματα αξιολόγησης δείχνουν ότι ο βιοαισθητήρας είναι δυνατόν να αξιοποιηθεί για την ταυτοποίηση και τη διαλογή μορίων με την ικανότητα να παρεμποδίζουν τη συσσωμάτωση της α-συν τα οποία, στη συνέχεια μπορούν να μελετηθούν περαιτέρω για την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της νόσου του Parkinson αλλά και των συνουκλείνοπαθειών συνολικότερα.

## **DEVELOPMENT OF A BIOSENSOR FOR TESTING AND SCREENING OF CANDIDATE MOLECULES INHIBITING A-SYNUCLEIN AGGREGATION**

**Stylianopoulou Electra, Avramidou Georgia, Kirtsios Stratos, Grigoriou E. Maria, Skavdis George, Palaiologou Katerina**

*Laboratory of Developmental Biology & Molecular Neurobiology, Laboratory of Molecular Regulation & Development of Diagnostic Technology, Department of Molecular Biology & Genetics, and OMIC-ENGINE-The Greek National Infrastructure on Synthetic Biology*  
email: [gskavdis@mbg.duth.gr](mailto:gskavdis@mbg.duth.gr), [apalaiol@mbg.duth.gr](mailto:apalaiol@mbg.duth.gr)

Parkinson's disease is characterized by the selective degeneration and progressive loss of the dopaminergic neurons of the substantia nigra. The main histopathological feature of the disease is the presence of Lewy particles, cytoplasmic aggregates, consisting of a small presynaptic protein,  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ -syn). Previous studies have shown that both  $\alpha$ -syn fibrils as well as  $\alpha$ -syn oligomers are toxic to the cells. Moreover, in addition to Parkinson's disease,  $\alpha$ -syn aggregation has key role in the development of other neurodegenerative diseases known as synucleinopathies. In this work we present the design, the construction and the testing of a biosensor using the split luciferase system. A series of evaluation experiments showed that the biosensor can be used to identify and screen molecules with the ability to inhibit the aggregation of  $\alpha$ -syn which can then be further studied for the development of more effective treatment for Parkinson's disease and for the synucleinopathies.

## ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΑ ΑΣΠΟΝΔΥΛΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΑΛΙΕΙΑ ΤΗΣ ΣΟΥΠΙΑΣ ΣΤΟΝ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ

**Συμεωνίδου Ξένη, Χρηστίδης Γεώργιος, Κομπογιάννη Ειρήνη-Φωτεινή, Αντωνιάδου Χρυσάνθη, Βουλτσιάδου Ελένη, Καρύδας Θεοφάνης, Χιντήρογλου Χαρίτων-Σαρλ, Γκάνιας Κωνσταντίνος**

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Το απορριπτόμενο αλίευμα αποτελεί, συνήθως, σημαντικό ποσοστό του συνολικού αλιεύματος στην παράκτια αλιεία. Αρκετά είδη θαλάσσιων ζώων συλλαμβάνονται παράλληλα με τον αλιευτικό στόχο και επιστρέφονται στη θάλασσα, λόγω μη εμπορικής χρήσης, μικρού μεγέθους ή μικρής αφθονίας. Πολλά ασπόνδυλα απορρίπτονται συστηματικά λόγω χαμηλής εμπορικής αξίας. Στον Θερμαϊκό κόλπο εντοπίζονται τα σημαντικότερα παράκτια αλιευτικά πεδία της σουπιάς *Sepia officinalis* L. 1758, στην Ελληνική επικράτεια. Η παράκτια αλιεία της σουπιάς γίνεται με δίχτυα κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής της περιόδου (χειμώνας-άνοιξη). Η παρούσα εργασία στοχεύει στη μελέτη της σύνθεσης των ασπονδύλων που συλλαμβάνονται και απορρίπτονται κατά την παράκτια αλιεία της σουπιάς στον Θερμαϊκό Κόλπο, ώστε να αποτιμηθεί το περιβαλλοντικό της αποτύπωμα. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά 25 δειγματοληψίες (Φεβρουάριος, Μάρτιος 2019) στην παράκτια ζώνη Ν. Μηχανιώνας- Αγγελοχωρίου. Χρησιμοποιήθηκαν μανωμένα δίχτυα (διαγώνια απόσταση ματιού 72 mm εσωτερικού και 360 mm μανού) που ποντίστηκαν σε αμμόδεις και λασπώδεις πυθμένες με λειμώνες φανερογάμων, που αποτελούν τα τυπικά πεδία αλιείας της σουπιάς στην περιοχή, σε βάθη 5-7 m (5 δίχτυα × 10 m). Το σύνολο των απορριπτόμενων ασπόνδυλων οργανισμών προσδιορίστηκε σε επίπεδο είδους και εκτιμήθηκε η αφθονία, η βιομάζα, καθώς και οι βασικοί βιομετρικοί χαρακτήρες κάθε οργανισμού. Συνολικά, προσδιορίστηκαν 30 είδη, τα κυριότερα από τα οποία ήταν τα γαστερόποδα *Hexaplex trunculus*, *Bolinus brandaris*, *Cerithium* sp., τα εχινόδερμα *Sphaerechinus granularis*, *Paracentrotus lividus*, *Astropecten aranciacus*, καθώς και κάποια καρκινοειδή (κυρίως *Anomura*). Αξίζει να σημειωθεί η συχνή παρουσία αποικιών του σκληρακτίσιου *Cladocora caespitosa*, ενός είδους που συμβάλλει σημαντικά στην τοπική βιοποικιλότητα και χαρακτηρίζεται ως μηχανικός οικοσυστήματος.

## **INVERTEBRATE DISCARDS IN COASTAL SMALL-SCALE FISHERY OF CUTTLIFISH IN THERMAIKOS GULF**

**Symeonidou Xenii, Christidis Georgios, Kompogianni Eirini-Foteini, Antoniadou Chrysanthi, Voultziadou Eleni, Karidas Theofanis, Chintiroglou Chariton-Sarl, Ganiias Konstantinos**

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

In small-scale coastal fishery, by-catch is usually a significant proportion of the total catch. Several marine animals captured along with the target-species are thrown back to the sea due to their low commercial value, small size or low abundance. Several invertebrates are typically discarded, mainly due to their low commercial value. In the Greek territory, the most important fishing grounds of the cuttlefish *Sepia officinalis* L.1758 are found in Thermaikos Gulf. The coastal fishing of cuttlefish is taking place during its reproductive period (winter-spring) with nets. This study aims to analyze the composition of invertebrates discarded in the coastal fishery of cuttlefish in Thermaikos Gulf, in order to evaluate the ecological footprint of this fishing method. Twenty-five samplings were completed (February-March 2019), in the coastal zone of N. Michaniona-Aggelochori, using trammel nets (diagonal eye opening 72 mm and 360 mm of the inner and the outer net, respectively). Trammel nets (5 nets × 10 m) were set on the typical fishery fields of the cuttlefish in this area, i.e. sandy or muddy substrates with meadows, in depths of 5-7 m. All discarded invertebrates were collected and identified to the species level, while abundance, biomass and the basic biometric characters of each organism were recorded. In total, 30 species were identified. The gastropods *Hexaplex trunculus*, *Bolinus brandaris*, *Cerithium* sp., the echinoderms *Sphaerechinus granularis*, *Paracentrotus lividus*, *Astropecten aranciacus* and some crustaceans (mostly Anomura) were the most dominant species both in abundance and biomass. Worth mentioning is the frequent presence of the scleractinian coral *Cladocora caespitosa*, which is an ecosystem engineering organism, enhancing local biodiversity.

## **ΜΕΛΕΤΗ ΚΙΝΗΣΗΣ ΑΤΟΜΩΝ ΚΑΦΕ ΑΡΚΟΥΔΑΣ ΣΤΟΥΣ ΝΟΜΟΥΣ ΓΡΕΒΕΝΩΝ ΤΡΙΚΑΛΩΝ ΦΛΩΡΙΝΗΣ**

**Συνάπαλος Αντώνιος , Σγαρδέλης Στέφανος**

*Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα*

Η καφέ αρκούδα (*Ursus arctos*) είναι το μεγαλύτερο χερσαίο σαρκοφάγο της Ευρώπης και είναι αυστηρά προστατευόμενο είδος στις περισσότερες χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η παραπάνω πρακτική έχει οδηγήσει στην σταθεροποίηση και αύξηση του πληθυσμού σε αρκετές χώρες ανάμεσα στις οποίες είναι και η Ελλάδα. Στο πλαίσιο προγραμμάτων σταθεροποίησης και μακροχρόνιας διατήρησης των πληθυσμών της αρκούδας η μελέτη των προτύπων κίνησης των ζώων παρέχει σημαντική πληροφορία σχετικά με τα χωροχρονικά πρότυπα χρήσης του οικοτύπου. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τηλεμετρικά δεδομένα από 20 αρκούδες (16 στην περιοχή των Γρεβενών-Τρικάλων και 4 στην περιοχή του Αμυνταίου). Οι περιοχές αποτελούνται από μωσαϊκό ενδιαιτημάτων που περιλαμβάνουν τεχνητές, γεωργικές και δασικές εκτάσεις. Αρχικά ελέγχθηκε αν το πρότυπο κίνησης είναι τυχαίο. Στην συνέχεια υπολογίστηκε η μέση ταχύτητα μετακίνησης ανά τύπο ενδιαιτήματος, περίοδο της ημέρας και εποχή. Με την χρήση μοντέλων μικτών επιδράσεων διερευνήθηκε η επίδραση των παραπάνω παραγόντων στη μέση ταχύτητα μετακίνησης. Ο τελικός στόχος είναι η διερεύνηση των προτύπων κίνησης των ζώων στα διαφορετικά ενδιαιτήματα. Η κίνηση του ζώου δεν μπορεί να περιγραφεί ως τυχαίος περίπατος. Σε ορισμένες περιπτώσεις η κίνηση προσομοιάζει στο πρότυπο αυτοσυσχετιζόμενης (κατευθυνόμενης) κίνησης και σε άλλες στο πρότυπο κίνησης Levy. Στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές μέσης ταχύτητας παρατηρούνται την εποχή των «Φρούτων» (17 Ιουλίου-31 Αυγούστου) και τη νυχτερινή περίοδο της ημέρας. Γενικά τα αποτελέσματα μας φαίνεται να συμφωνούν με προγενέστερες μελέτες που αναφέρουν αυξημένη νυχτερινή δραστηριότητα του είδους σε περιοχές με ανθρώπινη παρουσία.

## **MOVEMENT RESEARCH OF INDIVIDUAL BROWN BEARS IN THE REGIONAL UNITS OF TRIKALA, GREVENA, FLORINA**

**Synapalos Antonios, Sgardelis Stefanos**

*Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece*

Brown bear (*Ursus arctos*) is the largest land carnivore of Europe and is under "strict" protection laws in the majority of the European Union countries. This policy has led to a stable and increasing population in many of those countries including Greece. In the context of stabilization and long-term conservation of bear populations the research of the species' movement patterns provides us with important information regarding the spatio-temporal patterns of habitat use. In the current project we used telemetry data from 20 brown bears (16 in Grevena and Trikala areas and 4 in Amyntaio area). The study area consist of a mosaic of habitats that include artificial, agricultural forests and semi natural areas. Firstly, the movement pattern was checked for randomness. Subsequently we calculated the mean velocity per habitat, day period and season. Finally we investigated the effect of the above factors on mean velocity using mixed effect models. Our final goal is the investigation of the animal's movement patterns in the different habitats. Animal movement cannot be described as a random walk. In some circumstances the movement relates to the correlated random walk and in others the Levy walk. We observed, statistically important, higher mean velocity values in the "Fruits"(17 July-31 August) season and in the night period. Generally our results seem to coincide with earlier research that reports higher nocturnal activity in areas with human presence.

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΚΕΤΑΜΟΛΗΣ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΕΜΒΡΥΩΝ ΚΑΙ ΛΑΡΒΩΝ ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)**

**Σφαιροπούλου Βασιλική, Χουσιδής Ιερεμίας, Αλίβερτης Δημήτριος, Λεονάρδος Δ. Ιωάννης**

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

Η παρακεταμόλη αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα μη συνταγογραφούμενα αναλγητικά φάρμακα παγκοσμίως. Η καθημερινή και συχνά αλόγιστη χρήση της αποτελεί κίνδυνο όχι μόνο για τους χρήστες της αλλά και για τα υδάτινα οικοσυστήματα, καθώς μεγάλες ποσότητές της καταλήγουν στον υδροφόρο ορίζοντα μέσω των αστικών λυμάτων. Στην παρούσα εργασία διεξήχθη έλεγχος της θνησιμότητας και επίδρασης της παρακεταμόλης στη μορφολογία και τη συμπεριφορά του οργανισμού-μοντέλου *Danio rerio*. Αποχωρισμένα έμβρυα *Danio rerio* 24 ωρών μετά την εκκόλαψη εκτέθηκαν σε συγκεντρώσεις καθαρής παρακεταμόλης εύρους 0,1 mg/L - 30 mg/L επί τέσσερις ημέρες (96h) σύμφωνα με το πρωτόκολλο τοξικολογικού ελέγχου ZFET προκειμένου να καταγραφούν η θνησιμότητα και οι μορφολογικές ανωμαλίες τους στο στερεοσκόπιο. Μετά το πέρας αυτών των ημερών οι λάρβες τοποθετήθηκαν στο σύστημα συμπεριφορικού ελέγχου *DanioVision* (Noldus) όπου μετρήθηκαν οι βασικές παράμετροι της κινητικότητάς τους τόσο στο φώς όσο και στο σκοτάδι. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα παρατηρείται ότι ακόμη και στις πιο αυξημένες συγκεντρώσεις δεν παρατηρήθηκαν ιδιαίτερες μορφολογικές ανωμαλίες ενώ παρατηρήθηκε και χαμηλή τοξικότητα. Ο έλεγχος της συμπεριφοράς των λαρβών έδειξε αυξημένη δραστηριότητα των λαρβών που εκτέθηκαν σε παρακεταμόλη ιδίως στο σκοτάδι σε σχέση με τις μη εκτεθειμένες. Με βάση τα παραπάνω, υπάρχουν ενδείξεις ότι η παρακεταμόλη επηρεάζει τη συμπεριφορά των εμβρύων που εκτίθενται σε αυτή ωστόσο η τοξικότητά της σε μικρές συγκεντρώσεις ενδέχεται να είναι αρκετά περιορισμένη.

## **MORPHOLOGY AND BEHAVIOR ALTERATIONS OF ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) EMBRYOS AND LARVAE AFTER EXPOSURE TO PARACETAMOL**

**Sfairopoulou Vasiliki, Chousidis Ieremias, Alivertis Dimitrios, Leonardos D. Ioannis**

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

Paracetamol is one of the most widely used over-the-counter medicines around the world. The often thoughtless, everyday use of paracetamol can pose as a threat not only for the consumer but also for the aquatic life, since large quantities are discarded in the aquatic ecosystems through urban waste. In the present study, the mortality and paracetamol-induced effects on the behavior and morphology of *Danio rerio* embryos was tested. Dechorionated zebrafish embryos were exposed at 24 hours post fertilization to pure paracetamol concentrations from 0,1 mg/L to 30 mg/L for four days according to the ZFET protocol in order to record their mortality and morphological anomalies via stereoscopy. Afterwards, the behavior of the larvae in both light and dark conditions was studied through the use of the DanioVision observation apparatus (Noldus). Results showed that even in the highest tested concentrations morphological anomalies were rather few and the observed toxicity was rather low too. According to the behavioral analysis, the activity of the exposed larvae was slightly higher than the activity of the control ones, especially in dark conditions. In conclusion, there has been some suspicion that paracetamol could have an effect on the behavior (more particularly on the swimming activity) of exposed zebrafish embryos but still the toxicity in such low concentrations might be very low.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΕΛΑΤΗΣ (*ABIES SP.*) ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΔΕΙΚΤΗ PCR-RFLP ΣΤΟ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΙΚΟ DNA

**Τασιούλη Αικατερίνη, Σαρροπούλου Πολυξένη, Σίσκας Ευάγγελος, Δρούζας Ανδρέας Δ.**

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

Το γένος *Abies* αποτελεί ένα ευρέως εξαπλούμενο γένος με τα ταχα του να αυτοφύονται σε όλη την Ευρώπη, τη Β. Αμερική, τη Β. Αφρική και την Ασία. Ο φυσικός υβριδισμός μεταξύ των ειδών του γένους, ως αποτέλεσμα της γεωγραφικής αλληλοεπικάλυψης των πληθυσμών, δημιουργεί δυσκολίες στην ταξινόμησή τους. Σημαντικό εργαλείο σε τέτοιες περιπτώσεις αποτελούν οι μοριακοί δείκτες με τη χρήση των οποίων μπορούν να εξαχθούν αξιόπιστες πληροφορίες σημαντικές για τον ταξινομικό προσδιορισμό των ειδών. Στην Ελλάδα συναντώνται τρία ταχα του γένους *Abies*: η Κεφαλληνιακή (*Abies cephalonica*), η Λευκή (*Abies alba*) και η Υβριδογενής ελάτη (*Abies x borisii-regis*) με εκτεταμένη εξάπλωση σε ορεινές περιοχές της νότιας Ελλάδας η πρώτη, σποραδικά κατά μήκος των βορείων συνόρων η δεύτερη, ενώ η Υβριδογενής ελάτη εμφανίζεται σε μικτούς πληθυσμούς, κυρίως, στην κεντρική και βόρεια Ελλάδα. Η Κεφαλληνιακή ελάτη διακρίνεται από τη Λευκή σε μια σειρά μορφολογικών χαρακτήρων, ενώ συνδυασμός ή ενδιάμεσα μορφολογικά χαρακτηριστικά των δυο ειδών παρατηρούνται στην Υβριδογενή ελάτη. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η γενετική ποικιλότητα πληθυσμών ελάτης της Κεντρικής Ελλάδας στο χλωροπλαστικό DNA. Αρχικά πραγματοποιήθηκε ενίσχυση της περιοχής tmV-trnH με PCR και στη συνέχεια εφαρμόστηκε δείκτης PCR-RFLP που διαφοροποιεί τη Λευκή από την Κεφαλληνιακή ελάτη, λόγω ενός πολυμορφισμού που έχει ως αποτέλεσμα την παρουσία διαφορετικού αλληλομόρφου για το κάθε είδος. Οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν εμφάνισαν και τα δύο αλληλόμορφα, ενώ μεγαλύτερη συχνότητα σε όλους του πληθυσμούς είχε το χαρακτηριστικό αλληλόμορφο της Κεφαλληνιακής ελάτης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αντίστοιχα αποτελέσματα από μελέτες όπου εφαρμόστηκαν μορφολογικοί δείκτες, όσον αφορά την εξάπλωση των τριών παραπάνω ταχα στις περιοχές των πληθυσμών που μελετήθηκαν.

## **GENETIC VARIABILITY OF FIR POPULATIONS (*ABIES* SP.) FROM CENTRAL GREECE IN A CHLOROPLAST DNA PCR-RFLP MARKER**

**Tasiouli Aikaterini, Sarropoulou Polyxeni, Siskas Evangelos, Drouzas Andreas D.**

*Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, P.O. Box 104,54124 Thessaloniki, Greece*

The genus *Abies* is widely spread and its taxa are having their natural distribution throughout Europe, N. America, N. Africa and Asia. The natural hybridization among the species of this genus, as a result of the populations' distribution overlap, induces difficulties to their classification. Molecular markers have been a tool of high importance in such situations towards the deduction of reliable information for the taxonomic classification of species. In Greece, three taxa of the genus *Abies* can be found; the Greek fir (*Abies cephalonica*), the Silver fir (*Abies alba*) as well as the King Boris fir (*Abies x borisii-regis*), with the first one showing a wide distribution in mountainous areas of southern Greece, the second one sporadically along the northernmost borders of Greece, while the King Boris fir is found in mixed populations with the above species, mainly, in Central and Northern Greece. The Greek fir is discriminated by the Silver fir in a series of morphological characters, while a combination or intermediate morphological characters of the two species are found on the King Boris fir. In the present work, we studied the genetic variability at the chloroplast DNA of fir populations in Central Greece. Firstly, the trnV-trnH fragment was amplified with PCR and then a PCR-RFLP marker was employed, which discriminates the Silver fir from the Greek fir due to a polymorphism which results in the presence of different alleles for each species. Both these alleles were found in the populations studied, with the allele of Greek fir showing a higher frequency in all populations. These results are in accordance with respective results from studies employing morphological markers, as concerns the distribution of the above three taxa for the regions of the populations studied.

## Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΕΩΝ ΤΩΝ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ NAT/NCS2

**Τατσάκη Αικατερίνη, Σμπούκη Παρασκευή-Αριάδνη, Φριλίγγος Ευστάθιος**

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

Η μελέτη των διαφορών εξειδίκευσης μεταξύ διαμεμβρανικών μεταφορέων πουρινών από διαφορετικούς οργανισμούς είναι ένα πεδίο έρευνας με δυνατότητες εφαρμογών (α) στην κατανόηση της μοριακής βάσης διαφορών εξειδίκευσης μεταξύ εξελικτικά διαφορετικών ομάδων οργανισμών, (β) στον σχεδιασμό/επιλογή κυτταροτοξικών αναλόγων πουρινών με μεγαλύτερη εξειδίκευση έναντι κυττάρων-στόχων, (γ) βελτίωση της δράσης συγκεκριμένων χημειοθεραπευτικών αναλόγων πουρινών βάσει της ανάλυσης των μηχανισμών πρόσληψης των φαρμάκων αυτών από βακτήρια του μικροβιώματος. Οι έως τώρα μελέτες διαφορών εξειδίκευσης στηρίζονται αποκλειστικά σε συγκριτική ανάλυση σημερινών ομολόγων. Στην παρούσα εργασία εφαρμόζεται μία διαφορετική προσέγγιση, που βασίζεται σε διερεύνηση της εξελικτικής βάσης των διαφορών εξειδίκευσης μετά από φυλογενετική ανάλυση και ανασύνθεση προγονικών αλληλουχιών (ancestral reconstruction approach). Ειδικότερα, η εργασία μας αναφέρεται στην εξέλιξη των εξειδικεύσεων της οικογένειας NAT/NCS2 (Nucleobase-Ascorbate Transporter/Nucleobase-Cation Symporter-2), της κυριότερης και εξελικτικά ευρύτερης οικογένειας μεταφορέων πουρινών-πυριμιδινών, και εστιάζεται στον φυλογενετικό κλάδο που περιλαμβάνει τους μεταφορείς ξανθίνης και/ή ουρικού οξέος. Από λεπτομερή φυλογενετική ανάλυση των ομολόγων αυτού του κλάδου εξήχθη η αλληλουχία *AncXanQ* για τον κοινό πρόγονο της ομάδας των υψηλής συγγένειας βακτηριακών μεταφορέων ξανθίνης. Η προγονική αυτή αλληλουχία συντέθηκε με γονιδιακή σύνθεση, εκφράσθηκε σε *E. coli* και βρέθηκε ότι αντιστοιχεί σε μια περμεάση ευρείας εξειδίκευσης, που μεταφέρει ξανθίνη αλλά και γουανίνη και αναγνωρίζει σε πειράματα ανταγωνισμού ένα μεγάλο ρεπερτόριο αναλόγων πουρινών. Η μετάβαση από έναν τέτοιο γενικό μεταφορέα πουρινών (*AncXanQ*) στους σημερινούς ειδικούς μεταφορείς ξανθίνης όπως ο *XanQ* της *E. coli* διερευνάται τώρα στο εργαστήριό μας με στοχευμένη μεταλλαξιγένεση βάσει σύγκρισης των αλληλουχιών και προσομοιώσεων των δομών των αντίστοιχων ομολόγων.

## **EVOLUTION OF SUBSTRATE SPECIFICITIES IN MEMBRANE TRANSPORTERS OF THE NAT/NCS2 FAMILY**

**Tatsaki Ekaterini, Sbouki Paraskevi-Ariadne, Frillingos Stathis**

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

Analyzing the different substrate preferences of membrane nucleobase transporters from distinct organisms constitutes a research field with potential applications in (a) elucidating the molecular basis of major substrate differences among evolutionarily divergent groups of organisms, (b) designing/selecting cytotoxic nucleobase analogs (antimetabolites) that act specifically against particular cell targets, (c) improving the efficacy of specific purine-related chemotherapeutics based on analysis of the mechanisms of uptake of these drugs from the human microbiome. To date, all studies on the substrate selectivity differences have been based on horizontal comparisons of present-day homologs of transporters. We now present a different strategy, based on an attempt to elucidate the evolutionary basis of the different substrate preferences using extensive phylogenetic analysis and resurrection of ancestral sequences. In particular, our work refers to analysis of the evolution of substrate selectivity in NAT/NCS2 (Nucleobase-Ascorbate Transporter/Nucleobase-Cation Symporter-2), the major and evolutionarily most widespread family of purine and pyrimidine transporters, with focus on the monophyletic cluster that encompasses the xanthine and/or uric acid permeases. We performed phylogenetic analysis of this cluster and reconstructed AncXanQ, predicted as the common ancestor of a subgroup that includes all the high- affinity xanthine-specific transporters. The AncXanQ sequence was synthesized by gene synthesis, expressed in *E. coli* and found to be a broad-specificity permease that can transport both xanthine and guanine and recognize a wide range of purine analogs. The evolutionary path from the more promiscuous ancestral permease to the modern xanthine-specific permeases exemplified by XanQ of *E. coli* is currently under investigation in our lab by using site-directed mutagenesis based on the differences and molecular simulations of the corresponding homologs.

## **ΝΕΑ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΑ ΠΟΛΥΜΟΡΦΑ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΕΤΩΝ p-COUMARIC ACID ΚΑΙ trans-RESVERATROL**

**Τριανταφυλλίδης Δημήτρης-Παναγιώτης<sup>1</sup>, Παρθένιος Νικόλαος<sup>1</sup>, Σπηλιοπούλου Μαρία<sup>1</sup>,  
Βαλμάς Αλέξανδρος<sup>1</sup>, Beckers Detlef<sup>2</sup>, Degen Thomas<sup>2</sup>, Pop Mihaela<sup>3</sup>, Fitch Andrew<sup>4</sup>,  
Καραβασίλη Φωτεινή<sup>1</sup>, Μαργιωλάκη Ειρήνη<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Πανεπιστήμιο Πατρών,

<sup>2</sup>Malvern PANalytical

<sup>3</sup>TerraCrystal

<sup>4</sup>European Synchrotron Radiation Facility

Η παρούσα εργασία μελετά τον κρυσταλλικό πολυμορφισμό της ανθρώπινης ινσουλίνης σε συγκρυστάλλωση με τους φαινολικούς προσδέτες p-coumaric acid και *trans-resveratrol*, σε ένα εύρος pH (5.20-8.00), μέσω πειραμάτων περίθλασης ακτίνων-Χ από πολυκρυσταλλικό υλικό (XRPD). Εντοπίστηκαν τέσσερα διαφορετικά κρυσταλλικά πολύμορφα, δύο μονοκλινούς, τα οποία δεν έχουν αναφερθεί προηγουμένως στη βιβλιογραφία, ένα εξαγωνικής και ένα κυβικής συμμετρίας. Το ένα εκ των δύο μονοκλινών πολυμόρφων παρουσιάζει το πιο αποδοτικό πακετάρισμα μορίων ινσουλίνης ανά μονάδα όγκου κρυστάλλου, από οποιοδήποτε άλλο μονοκλινές ινσουλινικό πολύμορφο που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία και θα μπορούσε να έχει ιδιαίτερο φαρμακευτικό ενδιαφέρον. Η συλλογή των δεδομένων περίθλασης έγινε σε τρία διαφορετικά όργανα για να αξιοποιηθούν τα πλεονεκτήματα της εκάστοτε διάταξης. Το screening πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακό περιθλασίμετρο, ενώ δεδομένα υψηλής ευκρίνειας συλλέχθηκαν από εγκαταστάσεις σύγχροτρον: στο σταθμό ID22 του ESRF, ενώ τα πιο αντιπροσωπευτικά δείγματα μετρήθηκαν, επίσης, στο σταθμό X04SA του SLS. Στον τελευταίο, η χρήση του ανιχνευτή Mythen II, που επέτρεψε τον εντοπισμό μικρών, προηγουμένως μη-ανιχνεύσιμων προσμείξεων και βελτίωσε σημαντικά την ευκρίνεια (d-spacing resolution) των δεδομένων, ακόμα και για δείγματα χαμηλής ποιότητας, που δεν έχουν ισχυρό σήμα περίθλασης.

## **CRYSTAL POLYMORPHISM OF HUMAN INSULIN INDUCED BY p-COUMARIC ACID AND trans-RESVERATROL**

**Triandafillidis Dimitris-Panagiotis<sup>1</sup>, Parthenios Nikolaos<sup>1</sup>, Spiliopoulou Maria<sup>1</sup>, Valmas Alexandros<sup>1</sup>, Beckers Detlef<sup>2</sup>, Degen Thomas<sup>2</sup>, Pop Mihaela<sup>3</sup>, Fitch Andrew<sup>4</sup>, Karavassili Fotini<sup>1</sup>, Margiolaki Irene<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*University of Patras,*

<sup>2</sup>*Malvern PANalytical*

<sup>3</sup>*TerraCrystal*

<sup>4</sup>*European Synchrotron Radiation Facility*

This study focuses on the polymorphism of human insulin upon binding of the phenolic derivatives p-coumaric acid and trans-resveratrol over a pH range (5.20-8.00). By employing powder diffraction, we were able to yield an exact and unambiguous picture of insulin's structural behavior. Four distinct polymorphs were identified, two of which were previously unknown, and their in-between transitions were meticulously studied. One of the novel monoclinic polymorphs displays the highest packaging efficiency among every other insulin polymorph of the same space group reported in literature and could be of great pharmacological interest. Data collection was performed on a variety of instrumental setups and a systematic comparison of the acquired data is presented. A laboratory diffractometer was used for initial screening and high-resolution data were collected on ID22 at ESRF. The most representative samples were additionally measured on X04SA at SLS, employing the Mythen II detector, which allowed the detection of minor, previously untraceable impurities and dramatically improved the d-spacing resolution even for poorly diffracting samples.

## **ΒΙΟΓΕΝΗ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΑΠΟ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟ-ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΩΝ ΔΡΑΣΕΩΝ ΣΕ ΚΟΛΟΝΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ**

**Τρυφωνοπούλου Ελένη, Σπυριδοπούλου Κατερίνα, Αϊνδελής Γεώργιος, Χλίχλια Αικατερίνη**

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

Το σελήνιο είναι ένα ευεργετικό ιχνοστοιχείο που λαμβάνεται μέσω της διατροφής και έχει αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και ανοσοενισχυτική δράση. Επίσης, υπάρχουν ενδείξεις ότι το σελήνιο έχει προστατευτική δράση έναντι διαφόρων τύπων καρκίνου. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, διάφορα προβιοτικά στελέχη συσσωρεύουν στοιχειακό σελήνιο, όταν εκτεθούν σε υψηλές συγκεντρώσεις συγκεκριμένων σεληνιούχων αλάτων. Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε βιογενής σύνθεση και απομόνωση νανοσωματιδίων στοιχειακού σεληνίου από το προβιοτικό στέλεχος *Lactobacillus casei* ATCC393. Επιπλέον, διερευνήθηκαν οι *in vitro* αντι-πολλαπλασιαστικές και προ-αποπτωτικές δράσεις των απομονωμένων νανοσωματιδίων σεληνίου, σε σχέση με το εμπλουτισμένο με σελήνιο στέλεχος και το απλό στέλεχος *L. casei* σε κολονικά καρκινικά κύτταρα ανθρώπινης προέλευσης. Ο αποπτωτικός κυτταρικός θάνατος διερευνήθηκε εφαρμόζοντας διάφορες βιολογικές δοκιμασίες που βασίζονται σε μικροσκοπία φθορισμού, κυτταρομετρία ροής και ενεργότητα κασπασών. Τα αποτελέσματά μας υποστηρίζουν ότι τα βιογενή νανοσωματίδια σεληνίου, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, επάγουν ισχυρή προ-αποπτωτική δράση συγκριτικά με τον εμπλουτισμένο ή τον απλό λακτοβάκιλλο. Κρίνεται σκόπιμο να συνεχιστεί περαιτέρω η έρευνα προκειμένου να διευκρινιστούν οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην προ-αποπτωτική δράση των βιογενών νανοσωματιδίων σεληνίου.

## **BIOGENIC SELENIUM NANOPARTICLES ISOLATED FROM A PROBIOTIC STRAIN: INVESTIGATION OF PRO-APOPTOTIC EFFECTS INDUCED IN COLON CARCINOMA CELLS**

**Tryfonopoulou Eleni, Spyridopoulou Katerina, Aindelis Georgios, Chlichlia Katerina**

*Laboratory of Molecular Immunology, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, University Campus, 68100 Alexandroupolis*

Selenium is an essential trace element with well-documented antioxidant, antiinflammatory and immunostimulatory effects. In addition, there is evidence that selenium has a preventive role against various types of cancer. Recent studies have demonstrated that several probiotic strains are able to biotransform and accumulate elemental selenium nanoparticles when they are exposed to high concentrations of selenium salts. In the present study, elemental selenium nanoparticles were biologically synthesized and isolated from the probiotic strain *Lactobacillus casei* ATCC393. Consequently, we investigated the *in vitro* anti-proliferative and pro-apoptotic effects of isolated selenium nanoparticles on human colon carcinoma cells as compared to selenium-enriched or simple *L. casei*. Apoptotic cell death was examined using different biological assays based on fluorescence microscopy, flow cytometry and caspase activity. Our results suggest that, under the examined conditions, biogenic selenium nanoparticles induce a strong pro-apoptotic effect, as compared to selenium-enriched or simple *L. casei*. Additional research is expected to further clarify the mechanisms involved in the pro-apoptotic effect of biogenic selenium nanoparticles.

## **ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΔΟΜΗΤΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ (IDRS) ΚΑΙ ΒΡΑΧΕΩΝ ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ ΜΟΤΙΒΩΝ (SLiMS) ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ZNF217**

**Τσάκωνα Δήμητρα<sup>1,2</sup>, Γάλλιου Παναγώτα-Αγγελική<sup>2</sup>, Παπανικολάου Α. Νικόλαος<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Τομέας Βιολογικών Επιστημών και Προληπτικής Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

e-mail: [papanikn@med.auth.gr](mailto:papanikn@med.auth.gr)

Η ανθρώπινη ογκοπρωτεΐνη ZNF217, προϊόν του γονιδίου znf217 που βρίσκεται στην χρωμοσωμική περιοχή 20q13, βρίσκεται ενισχυμένη σε πολλούς διαφορετικούς όγκους. Τα προβλεπόμενα αρχιτεκτονικά χαρακτηριστικά της πρωτεΐνης περιλαμβάνουν οκτώ δακτυλίους ψευδαργύρου τύπου C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> και μια καρβοξυτελική περιοχή πλούσια σε προλίνη. Η ZNF217 είναι μεταγραφικός παράγοντας και λειτουργεί ως πρωτεΐνη ικρίωμα που προσλαμβάνει μεθυλάσες/απακετυλάσες και απομεθυλάσες προς τον σχηματισμό συμπλόκων καταστολής της μεταγραφής. Οι αδόμητες περιοχές (IDRs) έχουν σημαντικό ρόλο σε κρίσιμες κυτταρικές διεργασίες, όπως η ρύθμιση της μεταγραφής. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η *in silico* εύρεση των αδόμητων περιοχών της πρωτεΐνης ZNF217 και η πρόβλεψη των λειτουργιών τους στα εναλλακτικά σηματοδοτικά μονοπάτια του καρκίνου. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν πως η πρωτεΐνη ZNF217 είναι μερικώς αδόμητη, ειδικά στο καρβοξυτελικό της άκρο, aa 735-1048, καθώς και πως περιλαμβάνει συνολικά οκτώ αδόμητες περιοχές. Επίσης, χαρτογραφήσαμε την κατανομή των παρανοηματικών μεταλλάξεων, που βρέθηκαν σε διάφορους τύπους καρκίνου πάνω στην αλληλουχία της ZNF217, με στόχο την εύρεση συσχέτισης των αδόμητων περιοχών της ZNF217 με εναλλακτικά μονοπάτια του καρκίνου. Βρήκαμε ότι το 73,7% των παρανοηματικών μεταλλάξεων βρίσκονται σε αδόμητες περιοχές. Χρησιμοποιώντας ως κριτήρια την υποκυτταρική θέση, τις εξελικτικά συντηρημένες θέσεις και τις μεταφραστικές τροποποιήσεις προχωρήσαμε σε περαιτέρω ανάλυση των αδόμητων περιοχών. Η ανάλυση αυτή υπέδειξε 132 βραχεία γραμμικά μοτίβα (SLiMs), τα οποία συσσωρεύονται σε 24 υποπεριοχές της πρωτεΐνης. Τέλος, με βάση τις παραπάνω προβλέψεις, κατασκευάσαμε ένα νέο δίκτυο αλληλεπιδράσεων της ZNF217.

## **IDENTIFICATION OF INTRINSICALLY DISORDERED REGIONS AND SHORT LINEAR MOTIFS (SLIMS) IN THE HUMAN TRANSCRIPTION FACTOR ZNF217**

**Tsakona Dimitra<sup>1,2</sup>, Galliou Panagiota-Angeliki<sup>2</sup>, Papanikolaou A. Nikolaos<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Laboratory of Biological Chemistry, Department of Medicine, Division of Biological Sciences and Preventive Medicine, School of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Macedonia, Thessaloniki, Greece*  
email: [papanikn@med.auth.gr](mailto:papanikn@med.auth.gr)

The human oncoprotein ZNF217, a product of the *znf217* oncogene, is in chromosomal region 20q13 and is frequently amplified in many different tumors. Predicted architectural features of ZNF217 include eight (8) zinc fingers of C2H2 type and a proline rich C-terminal region. ZNF217 is a transcription factor and acts as a scaffold protein that recruits methylases/deacetylases and demethylases to form transcriptional repressor complexes. Intrinsically Disordered Regions (IDRs) have important roles in crucial cellular processes, including regulation of transcription. The aim of this *in silico* study was to identify IDRs in ZNF217 protein and predict their function in cell signaling pathways altered in cancer. We demonstrated that ZNF217 protein is partially disordered, including eight (8) major IDRs, particularly in its C-terminus, aa 735-1048. To discover possible correlations between the ZNF217 disordered regions and altered cancer cell pathways, we mapped the distribution of missense mutations related to various cancer types, on structured and disordered sites, showing that 73.7% are in disordered regions. Further analysis of IDRs, using sub-cellular co-localization, evolutionary and post-translational modification filtering features, revealed 132 instances of Short Linear Motifs (SLiMs) which accumulate in 24 subregions. Finally, based on these predictions, we reconstructed a new interaction network of ZNF217.

## **ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ GCN5 ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΗΣ ΑΥΞΙΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ *ARABIDOPSIS THALIANA***

**Τσιλιμίγκα Φωτεινή<sup>1,2</sup>, Πούλιος Στυλιανός<sup>1</sup>, Μαλλιούρα Αρετή<sup>1</sup>, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος Ε.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών - Εφαρμογές της Βιολογίας «Βιοτεχνολογία-Μοριακή και Μικροβιολογική Ανάλυση Προϊόντων και Τροφίμων», Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Η GENERAL CONTROL NON DEREPRESSIBLE 5 (GCN5) είναι μία ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών που στοχεύει σε μεγάλο αριθμό γονιδίων και απαιτείται για την ακετυλίωση του N-τελικού άκρου των καταλοίπων λυσίνης της ιστόνης H3 στο *Arabidopsis*. Η GCN5 δρα μέσω πολυπρωτεϊνικών συμπλόκων όπως το SAGA και ADA και αλληλεπιδρά άμεσα με τους μεταγραφικούς προσαρμοστές ADA2a και ADA2b, οι οποίοι ενισχύουν τη δράση της. Μεταλλάξεις στο GCN5 οδηγούν σε πλειοτροπικούς φαινοτύπους, όπως είναι ο νανισμός, η απώλεια κυριαρχίας κορυφής, η παραλλαγή στον τρόπο ανάπτυξης του μεριστώματος, των φύλλων και της ρίζας. Η ανάπτυξη της ρίζας ελέγχεται από φυτικές ορμόνες που ρυθμίζουν το πρότυπο της γονιδιακής έκφρασης. Η αυξίνη είναι μία από τις κύριες φυτικές ορμόνες, που ρυθμίζει μεταξύ άλλων την κυτταρική επιμήκυνση της ρίζας στο *Arabidopsis*. Μετακινείται πολικά κατά την αύξηση του φυτού μέσω των πρωτεϊνών μεταφοράς αυξίνης PIN ακολουθώντας τόσο βασιπεταλική όσο και ακροπεταλική φορά. Για τη μελέτη της επίδρασης του GCN5 στην κατανομή της αυξίνης σε όλα τα στάδια αύξησης της ρίζας, οι διαγονιδιακές σειρές DR5rev::GFP και PIN1::PIN1-GFP εισήχθησαν σε μεταλλάγματα *gcn5-1*. Παρατηρήθηκε μειωμένη σηματοδότηση και μεταφορά αυξίνης στη ρίζα του *gcn5-1* σε σχέση με τον άγριο τύπο. Παράλληλα, μελέτη της γονιδιακής έκφρασης στη ρίζα, έδειξε ότι τόσο στο *gcn5-1* όσο και στο *ada2b-1*, γονίδια που σχετίζονται με την ομοιόσταση και τη μεταφορά της αυξίνης μειορρυθμίζονται σε σχέση με τον άγριο τύπο. Συμπερασματικά, η GCN5 αποτελεί θετικό ρυθμιστή της σηματοδότησης της αυξίνης στη ρίζα ρυθμίζοντας τη μεταφορά της μέσω της PIN1.

## **THE EFFECT OF THE HISTONE ACETYLTRANSFERASE GCN5 ON AUXIN SIGNALING AND TRANSPORT AT THE ROOT GROWTH OF *ARABIDOPSIS THALIANA***

**Tsilimigka Foteini<sup>1,2</sup>, Poullos Stylianos<sup>1</sup>, Mallioura Areti<sup>1</sup>, Vlachonasios Konstantinos E.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Botany, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Postgraduate Program of Studies - Applications in Biology "Biotechnology-Molecular and Microbiological Analysis of Products and Foods", School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

GENERAL CONTROL NON DEREPRESSIBLE 5 (GCN5) is a histone acetyltransferase that targets a large number of genes and is essential for the acetylation of N-terminal of Lysine residues in histone H3 in *Arabidopsis*. GCN5 interacts with the transcriptional coactivators ADA2a and ADA2b, which enhance its activity, as part of multiprotein complexes, such as SAGA and ADA. Mutations in GCN5 result in pleiotropic phenotypes including dwarfism, loss of apical dominance, serrated leaves and alterations in the growth of meristem, leaves and roots. Root development is regulated by plant hormones that modulate gene expression pattern. Auxin is one of the main plant hormones that regulate cell proliferation in the roots of *Arabidopsis*. Auxin moves polarized both basipetally and acropetally during plant growth via auxin transport proteins PIN. In order to study the effects of GCN5 on the distribution of auxin at different stages of root growth, the transgenic lines DR5rev::GFP and PIN1::PIN1-GFP were introduced into *gcn5-1* mutants. Both auxin signaling and transport was reduced in *gcn5-1* relative to wild type roots. Furthermore, gene expression analysis showed that genes associated with auxin homeostasis and transport are downregulated in the roots of both *gcn5-1* and *ada2b-1* mutants relative to the wild type. In conclusion, GCN5 acts as a positive regulator of auxin signaling and promotes auxin transport to the roots via PIN1 proteins.

## **ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΚΑΡΠΟΥ ΣΕ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΤΗΣ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ-ΘΡΑΚΗΣ**

**Τσίρκα Θεοδώρα, Κουρκουτάς Ιωάννης, Σκάβδης Γεώργιος, Γρηγορίου Μαρία**

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής και OMIC-ENGINE, Αλεξανδρούπολη, Δραγάνα, 68100*

Η παραγωγή οίνων υψηλής ποιότητας εξαρτάται κυρίως από την ποικιλία της αμπέλου, τα εδαφοκλιματολογικά, τα τοπογραφικά χαρακτηριστικά και τη διαχείριση του αμπελώνα αλλά και από τις εναρκτήριες μικροβιακές καλλιέργειες και τα προϊόντα μεταβολισμού τους που διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος, όπως η γεύση, το χρώμα, το άρωμα και η περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Τις τελευταίες δεκαετίες ωστόσο, η βιομηχανική οινοποίηση στηρίζεται σχεδόν εξ' ολοκλήρου στην προσθήκη κατά τη ζύμωση εμπορικά διαθέσιμων καλλιεργειών, με αποτέλεσμα να μην αξιοποιούνται ουσιαστικά τα βακτήρια και οι ζύμες (μικροβίωμα) του σταφυλιού. Πρόσφατες μελέτες του μικροβιώματος του αμπελιού και της οινοποίησης σε Ιταλία, Ισπανία, Γαλλία και Πορτογαλία παράλληλα με μεταβολομικές αναλύσεις των παραγόμενων οίνων, έχουν αναδείξει συσχετίσεις μεταξύ μελών του μικροβιώματος και διακριτών μεταβολιτών του οίνου οι οποίοι συνδέονται με ιδιαίτερα γευστικά και αρωματικά χαρακτηριστικά προσδίδοντας του μια «τοπική» ταυτότητα και κατά συνέπεια υψηλότερη προστιθέμενη αξία. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η προκαταρκτική ανάλυση του μικροβιώματος του σταφυλιού με αλληλούχιση επόμενης γενιάς της περιοχής 16S rRNA, για την ταυτοποίηση των βακτηρίων, και των περιοχών ITS, για την ταυτοποίηση των μυκήτων, από τις ποικιλίες Ασύρτικο, Μαυρούδι και Ξυνόμαυρο από αμπελώνες της Ανατολικής Μακεδονίας-Θράκης με στόχο, πέραν της αποτύπωσης του μικροβιώματος κάθε ποικιλίας και τη συσχέτισή του με την περιοχή του αμπελώνα, την ταυτοποίηση αυτόχθονων στελεχών της μικροβιακής χλωρίδας που είναι δυνατόν μετά την απομόνωσή τους, να αξιοποιηθούν σε εναρκτήριες καλλιέργειες προσδίδοντας ιδιαίτερα τοπικά χαρακτηριστικά στους παραγόμενους οίνους.

## **MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE GRAPE MICROBIOME IN VINICULTURE VARIETIES OF EASTERN MACEDONIA-THRACE**

**Tsirka Theodora, Kourkoutas Ioannis, Skavdis Georgios, Grigoriou Maria**

*Department of Molecular Biology & Genetics, and OMIC-ENGINE- The Greek National Infrastructure on Synthetic Biology. Alexandroupolis, Dragana, 68100*

The production of high quality wines depends on the vine variety, the soil, the climate, the topography and the management of the vineyard, but also on the starter microbial cultures and their metabolic products, which have key role in shaping the phenotypic characteristics of the final product, such as flavor, color, aroma and sugar content. In the recent decades however, industrial winemaking is almost entirely based on the use of commercially available starter cultures. Recent molecular analyses of the grape and must microbiome in Italy, Spain, France and Portugal, along with the metabolic characterization of the produced wines, have revealed distinct correlations between members of the microbiome and wine metabolites, associated with particular flavor and aromatic characteristics, giving to the final product a "local" character and, thus, higher added value. In this work we present the preliminary analysis of the grape microbiome using next generation sequencing of the 16S rRNA region for the identification of bacteria and of the ITS regions for the identification of fungi in three Greek varieties, namely Asyrtiko, Mavroudi and Xinomavro from vineyards located in Eastern Macedonia - Thrace aiming, in addition to the identification of the microbial community of each variety and its correlation with the vineyard location, to isolate indigenous strains of the microbial flora that may be exploited to be used as starter cultures for the production of wines with local phenotypic characteristics.

## **ELIXIR-GR: ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΑΠΟ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΕΥΡΟΥΣ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ**

**Τσιφιντάρης Μαργαρίτης, Τσέτσος Φώτιος, Μαρκάκη Μαρία, Γαλάνης Αλέξης, Πάσχου Περιστέρα**

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Τα εργαλεία βιοπληροφορικής χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο για τις δυνατότητες που προσφέρουν στην ταχύτητα της ανάλυσης και επεξεργασίας μεγάλου όγκου βιολογικών δεδομένων και την αποτελεσματική μείωση του συνολικού κόστους των αναλύσεων. Τα περισσότερα από αυτά είναι διαθέσιμα δωρεάν, ωστόσο ο χειρισμός αυτών των εργαλείων τις περισσότερες φορές είναι αρκετά περίπλοκος και απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζουμε ένα εργαλείο το οποίο αυτοματοποιεί τη χρήση της τεχνικής Linkage Disequilibrium Score Regression (LDSC). Η τεχνική αυτή ποσοτικοποιεί τη συνεισφορά της πολυγονιδιακής βάσης ενός φαινοτύπου στα αποτελέσματα, σε σύγκριση με άλλους παράγοντες, χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα (summary statistics) από Μελέτες Συσχέτισης Εύρους Γονιδιώματος (Genome-Wide Association Studies - GWAS). Η LDSC χρησιμοποιείται ευρέως και για την εκτίμηση της γενετικής συσχέτισης και της κληρονομησιμότητας μεταξύ διαφόρων ασθενειών (ή γενικώς δυαδικών φαινοτύπων). Ο σκοπός αυτής της μελέτης είναι να κάνει διαθέσιμη προς χρήση αυτήν την μέθοδο σε οποιοδήποτε χρήστη χωρίς να απαιτούνται γνώσεις προγραμματισμού. Τέλος, θα δημιουργηθεί μια online πλατφόρμα σε περιβάλλον Galaxy ώστε να κάνει ευκολότερη την χρήση και την προσβασιμότητα αυτού του εργαλείου. Η εργασία αυτή υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της Πράξης «ELIXIR-GR: Η Ελληνική Ερευνητική Υποδομή για Διαχείριση και Ανάλυση Δεδομένων στις Βιοεπιστήμες» (MIS 5002780) που εντάσσεται στη Δράση «Ενίσχυση των Υποδομών Έρευνας και Καινοτομίας» και χρηματοδοτείται από το Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία» στο πλαίσιο του ΕΣΠΑ 2014-2020.

## **ELIXIR-GR: ESTIMATING SNP-BASED GENETIC CORRELATION AND HERITABILITY IN GWAS**

**Tsifintaris Margaritis, Tsetsos Fotis, Markaki Maria, Galanis Alexis, Paschou Peristera**

*Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace*

Bioinformatics tools are getting popular due to their ability to analyze vast amounts of biological data quickly and cost-effectively. The extraction of valuable information from biological data through various computer-based tools, the majority of which are freely available, reduces the computational time required and conserves resources. However, handling these tools is often quite complicated and requires skilled staff. In this study we present a tool that automates the use of the Linkage Disequilibrium Score Regression (LDSC). LDSC is a technique that distinguishes the contribution of the polygenic effects from other confounding factors, such as population stratification, using the summary statistics from Genome-Wide Association Studies (GWAS). The LDSC technique calculates the genetic correlation using regression analysis to examine the relationship between linkage disequilibrium (LD) scores and the test statistics of the SNPs from the GWAS. It is also widely used to calculate the genetic correlation and co-heritability of binary phenotypes. The purpose of this study is to make this method available to any user with no requirement for programming knowledge. Finally, an online platform in a Galaxy environment will be created to ease the accessibility and the handling of this tool.

*We acknowledge support of this work by the project "ELIXIR-GR: Hellenic Research Infrastructure for the Management and Analysis of Data from the Biological Sciences" (MIS 5002780) which is implemented under the Action "Reinforcement of the Research and Innovation Infrastructure", funded by "Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation" (NSRF 2014-2020).*

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ $TiO_2$ ΣΕ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΨΑΡΙΟΥ *CARASSIUS GIBELIO*

**Τσουμάκη Τσουρούφλη Παρασκευή, Μπόμπορη Δήμητρα, Καλογιάννη Μάρθα**

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων/Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη*

Τα τελευταία χρόνια, τα νανοσωματίδια (NPs) θεωρούνται ως ένα νέο είδος ρυπαντή. Η εκτεταμένη παραγωγή και χρήση τους δημιουργεί περιβαλλοντικές ανησυχίες σχετικά με την τύχη, τη διανομή και τις επιπτώσεις τους στα οικοσυστήματα και στην ανθρώπινη υγεία. Τα νανοσωματίδια του διοξειδίου του τιτανίου ( $TiO_2$ -NPs) είναι από τα πιο κοινά χρησιμοποιούμενα NPs οξειδίων μετάλλων σε βιομηχανικά προϊόντα και είναι ένα από τα πέντε ευρέως χρησιμοποιούμενα NPs σε καταναλωτικά προϊόντα. Η χρήση των  $TiO_2$ -NPs οφείλεται στην υψηλή σταθερότητά τους, στις αντιδιαβρωτικές και φωτοκαταλυτικές τους ιδιότητες. Επειδή το υδάτινο περιβάλλον αποτελεί έναν από τους τελικούς αποδέκτες NPs, στην παρούσα εργασία διερευνήσαμε τις επιδράσεις των  $TiO_2$ -NPs στα βράγχια και στο ήπαρ του *Carassius gibelio*, μετά από την ενσωμάτωσή τους στην τροφή των ψαριών, για 8 ημέρες. Η συγκέντρωση των  $TiO_2$ -NPs, η οποία χρησιμοποιήθηκε στα πειράματά μας, ήταν 260 mg/g και ήταν ίση με το μισό της τιμής της  $EC_{50}$ , που εκτιμήθηκε με τη μέθοδο neutral red retention (NRR). Προκειμένου να εκτιμηθούν τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες στους ιστούς των εκτεθειμένων ψαριών εξετάστηκαν δύο παράμετροι/βιομάρτυρες, η υπεροξειδωση των λιπιδίων (MDA assay) και η ακεραιότητα του DNA (comet assay). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκθεση στα  $TiO_2$ -NPs προκάλεσε στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ) αύξηση των επιπέδων των παραπάνω εξεταζόμενων παραμέτρων και στους δύο εκτεθειμένους ιστούς, υποδεικνύοντας ότι τα  $TiO_2$ -NPs προκαλούν επιβλαβείς επιδράσεις στη φυσιολογία των ζώων. Οι συγκεκριμένοι βιομάρτυρες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες βιο-παρακολούθησης των υδάτινων οικοσυστημάτων, ως προς την επιβάρυνσή τους με NPs.

## **EFFECTS OF TiO<sub>2</sub> NANOPARTICLES ON PARAMETERS RELATED TO OXIDATIVE STRESS IN THE TISSUES OF PRUSSIAN CARP (CARASSIUS GIBELIO)**

**Tsoumaki Tsouroufli Paraskevi, Bobori C. Dimitra, Kaloyianni Martha**

*Laboratory of Animal Physiology/Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece*

In recent years, nanoparticles (NPs) are considered as a new kind of pollutant source. Their widespread production and utilization raise environmental concerns about their fate, distribution and effects on ecosystems and thereafter on human health. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPs) are among the most commonly used metal oxides nanoparticles in industrial products and are in the top five nanoparticles used in consumer products. This wide use of TiO<sub>2</sub>-NPs is due to their high stability, anticorrosive and photocatalytic properties. Because the aquatic environment constitutes one of the ultimate recipients for nanoparticles, in the current study we investigated the effects of TiO<sub>2</sub>-NPs on gills and liver of the prussian carp (*Carassius gibelio*). TiO<sub>2</sub>-NPs were incorporation into feed pellets used for feeding fish for 8 days. The concentration of TiO<sub>2</sub>-NPs, which was used in our experiments was 260 mg/g. The latter was estimated by the neutral red retention (NRR) assay and it was equal to the half of EC50 value. Two parameters were examined in this study in order the levels of oxidative stress in the tissues of exposed prussian carps to be estimated, the lipid peroxidation (by MDA assay) and the DNA integrity (by comet assay). The results revealed that the exposure to TiO<sub>2</sub>-NPs caused a statistically significant (p0.05) increase in the levels of the above tested parameters in both exposed tissues, in relation to controls, indicating that TiO<sub>2</sub>-NPs induce harmful effects on animal physiology. According to our results, these biomarkers could be suggested in biomonitoring studies of aquatic ecosystems, against nanoparticles.

## **ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΤΗ ΣΙΛΙΜΠΙΝΙΝΗ ΣΕ ΠΡΟΚΛΙΝΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**

**Τσοχανταρίδης Ηλίας, Θεολογίδης Βασίλειος, Παππά Αγλαΐα**

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα*

Οι αλδεϋδικές αφυδρογονάσες (ALDHs) είναι μια υπεροικογένεια πολυλειτουργικών NAD(P)<sup>+</sup>-εξαρτώμενων ενζύμων, τα οποία καταλύουν την οξείδωση ενδογενών και εξωγενών αλδεϋδικών υποστρωμάτων προς τα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα τους. Τα ένζυμα αυτά έχουν σημαντικό μεταβολικό και κυτταροπροστατευτικό ρόλο έναντι του οξειδωτικού στρες. Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης πληθώρας ALDH ισομορφών σε διάφορους τύπους καρκίνου αποδεικνύουν πως τα ένζυμα αυτά έχουν καθοριστικό ρόλο στην κυτταρική επιβίωση και στην εξέλιξη του καρκίνου. Συγκεκριμένες ισομορφές της οικογένειας των ALDH, έχουν χαρακτηριστεί ως δείκτες καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Υψηλή ενεργότητα της αλδεϋδικής αφυδρογονάσης έχει συσχετιστεί με τις ιδιότητες των βλαστικών κυττάρων όπως η ικανότητα αυτοανανέωσης, κλωνογονικής αύξησης και ανθεκτικότητας στα φάρμακα. Η σιλιμπινίνη είναι ένα φλαβονοειδές, κύριο συστατικό της σιλιμαρίνης, που απομονώνεται από το φυτό *Silybum marianum* και παρουσιάζει ενδιαφέρον λόγω της αντικαρκινικής της δράσης. Η συγκεκριμένη έρευνα επικεντρώθηκε στην *in vitro* μελέτη δύο ισομορφών της υπεροικογένειας των αλδεϋδικών αφυδρογονασών, την ALDH1A1 και την ALDH3A1. Αρχικά, ελέγχθηκε η κυτταροτοξικότητα της σιλιμπινίνης σε καρκινικά κύτταρα πνεύμονα (A549) μέσω της τεχνικής SRB. Έπειτα, επιβεβαιώθηκε πως η επίδραση του φυσικού προϊόντος προκαλεί μείωση τόσο στα μεταγραφικά όσο και στα μεταφραστικά επίπεδα των συγκεκριμένων ισοενζύμων, ενώ μέσω της τεχνικής *realtime* PCR παρατηρήθηκε πως η σιλιμπινίνη επάγει τη μείωση διάφορων δεικτών καρκινικών βλαστικών κυττάρων όπως των *ErCAM*, *ABCG2* και *SOX2*. Με αυτόν τον τρόπο μπορούμε να θεωρήσουμε τη σιλιμπινίνη ως ένα πολλά υποσχόμενο φυσικό προϊόν, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων έναντι των καρκινικών βλαστικών κυττάρων.

## **SILIBININ DOWNREGULATES CANCER STEM CELL MARKERS IN HUMAN NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA CELLS**

**Tsochantaridis Ilias, Theologidis Vasileios, Pappa Aglaia**

*Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece*

Aldehyde dehydrogenases (ALDHs) are intracellular NAD(P)<sup>+</sup>-dependent enzymes that catalyze the oxidation of a wide range of endogenous and exogenous aldehyde substrates to their corresponding acids. They possess both metabolic and cytoprotective role against oxidative stress. The high expression levels of an emerging number of ALDHs in various cancer tissues suggest that these enzymes have pivotal roles in cancer cell survival and progression. Certain ALDH members have been characterized as cancer stem cell (CSC) markers such as ALDH1A1 and ALDH3A1. High ALDH activity has been linked with stem-like features, such as self-renewal, clonogenic growth, tumor-initiating capacity and drug resistance. Silibinin is a flavonolignan, the major active constituent of silymarin, a standardized extract of the milk thistle (*Silybum marianum*) seeds. Silibinin has been shown to exhibit antioxidant and anticancer activities. At first, we assessed the cytotoxicity profile of silibinin on A549 cell line using SRB assay. Next, we demonstrated that silibinin induces the decrease of both transcriptional and translational levels of ALDH1A1 and ALDH3A1. Gene expression analysis by real-time PCR confirmed that this natural product down-regulates various lung cancer stem cell markers such as EpCAM, ABCG2 and SOX2. Therefore, our study indicates that silibinin could emerge as promising agent for developing new therapeutic approaches on cancer stem cell therapy.

## **Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΛΔΕΥΔΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ 1Α1 ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΥΣ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΣΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΣΤΟΥ**

**Τσοχανταρίδης Ηλίας, Θεολογίδης Βασίλειος, Παππά Αγλαΐα**

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα*

Οι αλδεϋδικές αφυδρογονάσες (ALDHs) είναι μια υπεροικογένεια πολυ-λειτουργικών NAD(P)-εξαρτώμενων ενζύμων, τα οποία καταλύουν την οξείδωση ενδογενών (λιπίδια, αμινοξέα, βιταμίνες) και εξωγενών (αιθανόλη, φάρμακα) αλδεϋδών στα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα τους. Τα ένζυμα αυτά, διαθέτουν επίσης μεταβολικό ρόλο συνεισφέροντας στην αντι-οξειδωτική άμυνα του οργανισμού, μέσω της απενεργοποίησης ποικίλων αλδεϋδών και του καταβολισμού συγκεκριμένων ξενοβιοτικών. Η υψηλή δραστηριότητα της ALDH1A1 χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια ως δείκτης των κυτταρικών πληθυσμών που προέρχονται από καρκινικούς ιστούς πλούσιους σε καρκινικά βλαστικά κύτταρα. Αυξημένες ενδείξεις επιδεικνύουν ότι η ALDH1A1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης των καρκινικών βλαστικών κυττάρων, αλλά μπορεί να συμμετέχει επίσης σε ρυθμιστικές λειτουργίες που σχετίζονται με την κυτταρική αυτοανανέωση, την ανάπτυξη, την διαφοροποίηση και την χήμειο- και ακτινοανθεκτικότητα. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η δημιουργία μιας *in vitro* μεθόδου για τον λειτουργικό χαρακτηρισμό της ALDH1A1 στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα μαστού. Το cDNA του γονιδίου της ALDH1A1 ενσωματώθηκε παροδικά σε κύτταρα αδenoκαρκινώματος του μαστού (MCF7). Η δράση της ALDH1A1 στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στον κυτταρικό κύκλο, στην απόπτωση, στην αυτοφαγία και στην έκφραση διάφορων δεικτών καρκινικών βλαστικών κυττάρων εκτιμήθηκε μέσω των τεχνικών *alamar blue*, κυτταρομετρία ροής, PCR πραγματικού χρόνου και *western blot*. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι ο κυτταρικός ρόλος της ALDH1A1 μπορεί να εκτιμηθεί μέσω ενός απλού συστήματος παροδικής διαμόλυνσης και στηρίζουν την σχέση της ALDH1A1 με σημαντικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς κυτταρικής αύξησης. Η ενδελεχής κατανόηση των μοριακών μηχανισμών μέσω των οποίων η ALDH1A1 επηρεάζει τις κυτταρικές λειτουργίες θα ανοίξει τον δρόμο για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις στο πεδίο της ογκολογίας.

## **EXPRESSION OF ALDEHYDE DEHYDROGENASE 1A1 INFLUENCES MAJOR CELL GROWTH REGULATORY MECHANISMS IN HUMAN BREAST CANCER CELLS**

**Tsochantaridis Ilias, Theologidis Vasileios, Pappa Aglaia**

*Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece*

Aldehyde dehydrogenases (ALDHs) are a family of nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate) (NAD(P)<sup>+</sup>)-dependent enzymes that catalyze the oxidation of endogenous (lipids, amino acids and vitamins) and exogenous (ethanol and drugs) aldehydes to their corresponding carboxylic acids. Moreover, they have a vital metabolic role contributing to the anti-oxidative defense, through the deactivation of several reactive aldehydes, and the catabolism of certain xenobiotics. Over the past decade, high activity of the ALDH1A1 isoform has been increasingly used as a selectable marker for cell populations from cancer tissues enriched in cancer stem-like cells (CSC). Increasing evidence suggests that ALDH1A1 may be used as a marker for CSCs, but also may be involved in regulating functions related to cell self-renewal, expansion, differentiation, and drug- and radiation-resistance. The aim of the study was to establish an in vitro method for the functional characterization of ALDH1A1 in human breast cancer cells. The cDNA of the wild type (wt) ALDH1A1 gene was transiently transfected in the ALDH1A1-deficient breast adenocarcinoma MCF-7 cell line. The effects of ALDH1A1 on cell proliferation, cell cycle, apoptosis, autophagy and expression of various CSC markers were analyzed by alamar blue staining, annexin-V staining, flow cytometry, real-time polymerase chain reaction or western blotting. Our results show that the cellular role of ALDH1A1 can be assessable in a simple transient transfection system and support the influence of ALDH1A1 on major cell growth regulating mechanisms. A thorough understanding of the molecular mechanisms by which ALDH1A1 influences cellular functions will likely open new therapeutic strategies in the field of oncology.

## **ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *SEPIA OFFICINALIS* (LINNAEUS, 1758) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ**

**Φειδάντσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Ευθυμιάδης Γεώργιος<sup>1</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>2</sup>, Βαφείδης Δημήτριος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, 38445, Νέα Ιωνία, Βόλος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Η κλιματική αλλαγή έχει άμεσες επιπτώσεις στους θαλάσσιους οργανισμούς που αφορούν κυρίως τις κυτταρικές λειτουργίες και τη φυσιολογία, και μπορεί να μεταβάλουν την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και τη θνησιμότητα τους. Οι αλλαγές του κλίματος μπορεί να έχουν διαφορετική επίπτωση χωρικά με αποτέλεσμα να εντοπίζονται περιοχές με ευνοϊκότερες κλιματικές συνθήκες (refugia). Σκοπός της παρούσας εργασίας, βάσει βιοχημικών και φυσιολογικών αποκρίσεων, είναι ο εντοπισμός και η οριοθέτηση τέτοιων περιοχών με στόχο τη διατήρηση σημαντικά εμπορικών θαλάσσιων ειδών. Υπό αυτό το πρίσμα, συλλέχτηκαν εποχικά (χειμώνας, άνοιξη, καλοκαίρι, φθινόπωρο) άτομα του είδους *Sepia officinalis* (σουπιά) από το Θερμαϊκό, Παγασητικό και Βιστωνικό κόλπο. Σε δείγματα βραγχίων και μανδύα έγινε φασματοφωτομετρική ανάλυση της δραστικότητας ενζύμων της αντιοξειδωτικής άμυνας όπως δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), καταλάση (CAT) και ρεδουκτάση της γλουταθειόνης (GR). Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν κάποια αλλαγή στη δραστικότητα των ενζύμων μεταξύ των εποχικών δειγματοληψιών του καλοκαιριού (π.χ. CAT μανδύας - Παγασητικός: δε βρέθηκε δείγμα, Θερμαϊκός:  $48,71 \pm 2,78$ , Βιστωνικός:  $45,34 \pm 7,92$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ), της άνοιξης (π.χ. CAT μανδύας - Παγασητικός:  $72,06 \pm 14,08$ , Θερμαϊκός:  $50,01 \pm 5,1$ , Βιστωνικός:  $47,08 \pm 8,38$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) και του φθινοπώρου (π.χ. CAT μανδύας - Παγασητικός:  $76,12 \pm 7,17$ , Θερμαϊκός:  $45,13 \pm 5,45$ , Βιστωνικός:  $52,32 \pm 5,34$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). Όσον αφορά τις τοποθεσίες συλλογής, υψηλότερες τιμές δραστικότητας παρατηρήθηκαν στον Παγασητικό (π.χ. άνοιξη - μανδύας, SOD:  $16,08 \pm 2,28$   $\text{U}/\text{min.g.wet.wt}$ , CAT:  $72,06 \pm 14,08$ , GR:  $0,13 \pm 0,02$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ), και χαμηλότερες στο Βιστωνικό (π.χ. άνοιξη - μανδύας, SOD:  $12,12 \pm 1,28$   $\text{U}/\text{min.g.wet.wt}$ , CAT:  $47,08 \pm 8,38$ , GR:  $0,09 \pm 0,02$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). Η ανάλυση επιπλέον βιοχημικών και μοριακών δεικτών θα δώσει μια σαφέστερη εικόνα για τον προσδιορισμό των "refugia" για το παραπάνω είδος.

Μεταδιδακτορική υποτροφία με δωρεά του Ιδρύματος Σταύρος Νιάρχος

## **ANTIOXIDANT DEFENSE OF THE SPECIES *SEPIA OFFICINALIS* (LINNAEUS, 1758) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA**

**Feidantsis Konstantinos<sup>1</sup>, Efthymiadis Georgios<sup>1</sup>, Michaelidis Basile<sup>2</sup>, Vafidis Dimitrios<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, 38445, Nea Ionia, Volos, University of Thessaly*

<sup>2</sup>*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

Changes in environmental variables have a direct impact on marine organisms that primarily affect the cellular functions and physiology of individuals, and thus resulting to changes in their growth, reproduction and mortality. Climate changes may have different spatial impact, and as a result, areas with more favorable climatic conditions (refugia) can be identified. The aim of the present study, based on biochemical and physiological responses, is the demarcation of these areas and the preservation of commercially important marine species. Under this prism, individuals of the species *Sepia officinalis* (cuttlefish) from Thermaikos, Pagasitikos and Vistonikos gulf were collected seasonally (winter, spring, summer, autumn). The phasmatophotometric analysis of the activity of enzymes of the antioxidant defence such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione reductase (GR) was performed in the gills and mantle tissue. The results showed no variations between the seasonal summer (e.g. CAT mantle - Pagasitikos: sample not found, Thermaikos: 48,71±2,78, Vistonikos: 45,34±7,92 µmoles/min.g.wet.wt), spring (e.g. CAT mantle - Pagasitikos: 72,06±14,08, Thermaikos: 50,01±5,1, Vistonikos: 47,08±8,38 µmoles/min.g.wet.wt) and autumn (e.g. CAT mantle - Pagasitikos: 76,12±7,17, Thermaikos: 45,13±5,45, Vistonikos: 52,32±5,34 µmoles/min.g.wet.wt) samplings. Regarding collection sites, higher activity levels for antioxidant enzymes were observed in Pagasitikos (e.g. spring – mantle, SOD: 16,08±2,28 U/min.g.wet.wt, CAT: 72,06±14,08, GR: 0,13±0,02 µmoles/min.g.wet.wt), and lower in Vistonikos (e.g. spring – mantle, SOD: 12,12±1,28 U/min.g.wet.wt, CAT: 47,08±8,38, GR: 0,09±0,02 µmoles/min.g.wet.wt). The analysis of additional biochemical and molecular markers is expected to provide a clearer picture for the definition of "refugia" for the above species.

*Postdoctoral scholarship funded by the Stavros Niarchos Foundation*

## ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *VENUS VERRUCOSA* (LINNAEUS, 1758) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

Φειδάντσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Ζόγκαρης Δημήτριος<sup>1</sup>, Τσενικλής Χαρίλαος<sup>1</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>2</sup>, Βαφείδης Δημήτριος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, 38445, Νέα Ιωνία, Βόλος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Η κλιματική αλλαγή έχει άμεσες επιπτώσεις στους θαλάσσιους οργανισμούς που αφορούν κυρίως τις κυτταρικές λειτουργίες και τη φυσιολογία, και μπορεί να μεταβάλουν την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και τη θνησιμότητα τους. Οι αλλαγές του κλίματος μπορεί να έχουν διαφορετική επίπτωση χωρικά με αποτέλεσμα να εντοπίζονται περιοχές με ευνοϊκότερες κλιματικές συνθήκες (refugia). Σκοπός της παρούσας εργασίας, βάσει βιοχημικών και φυσιολογικών αποκρίσεων, είναι ο εντοπισμός και η οριοθέτηση τέτοιων περιοχών με στόχο τη διατήρηση σημαντικά εμπορικών θαλάσσιων ειδών. Υπό αυτό το πρίσμα, συλλέχτηκαν εποχικά (χειμώνας, άνοιξη, καλοκαίρι, φθινόπωρο) άτομα του είδους *Venus verrucosa* (κυδώνι) από το Θερμαϊκό, Παγασητικό και Βιστωνικό κόλπο. Σε δείγματα βραγχίων και μυός έγινε φασματοφωτομετρική ανάλυση της δραστικότητας ενζύμων του βασικού μεταβολισμού όπως αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος (L-LDH), αφυδρογονάση του β-υδροξυάκυλο-CoA (HOAD) και συνθετάση του κιτρικού οξέος (CS). Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των δραστικότητων των ενζύμων κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (π.χ. HOAD βράγχια - Παγασητικός:  $1,07 \pm 0,09$ , Θερμαϊκός:  $0,78 \pm 1,13$ , Βιστωνικός:  $0,71 \pm 0,07$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) σε σχέση με τις δειγματοληψίες της άνοιξης (π.χ. HOAD βράγχια - Παγασητικός:  $1,77 \pm 0,2$ , Θερμαϊκός:  $1,21 \pm 0,07$ , Βιστωνικός:  $1,13 \pm 0,29$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) και του φθινοπώρου (π.χ. HOAD βράγχια - Παγασητικός:  $2,15 \pm 0,16$ , Θερμαϊκός:  $1,79 \pm 0,04$ , Βιστωνικός:  $1,38 \pm 0,13$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). Όσον αφορά τις τοποθεσίες συλλογής, υψηλότερες τιμές δραστικότητας παρατηρήθηκαν στον Παγασητικό (π.χ. άνοιξη - βράγχια, L-LDH:  $1,67 \pm 0,28$ , HOAD:  $1,77 \pm 0,2$ , CS:  $16,57 \pm 0,8$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ), και χαμηλότερες στο Βιστωνικό (π.χ. άνοιξη - βράγχια, L-LDH:  $1,23 \pm 0,18$ , HOAD:  $1,13 \pm 0,29$ , CS:  $13,51 \pm 1,23$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). Η ανάλυση επιπλέον βιοχημικών και μοριακών δεικτών θα δώσει μια σαφέστερη εικόνα για τον προσδιορισμό των "refugia" για το παραπάνω είδος.

Μεταδιδακτορική υποτροφία με δωρεά του Ιδρύματος Σταύρος Νιάρχος.

## **METABOLIC RESPONSES OF THE SPECIES *VENUS VERRUCOSA* (LINNAEUS, 1758) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA**

**Feidantsis Konstantinos<sup>1</sup>, Zogaris Dimitrios<sup>1</sup>, Tseniklis Chariolos<sup>1</sup>, Michaelidis Basile<sup>2</sup>, Vafidis Dimitrios<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, 38445, Nea Ionia, Volos, University of Thessaly*

<sup>2</sup>*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

Changes in environmental variables have a direct impact on marine organisms that primarily affect the cellular functions and physiology of individuals, and thus resulting to changes in their growth, reproduction and mortality. Climate changes may have different spatial impact, and as a result, areas with more favorable climatic conditions (refugia) can be identified. The aim of the present study, based on biochemical and physiological responses, is the demarcation of these areas and the preservation of commercially important marine species. Under this prism, individuals of the species *Venus verrucosa* (clam) from Thermaikos, Pagasitikos and Vistonikos gulf were collected seasonally (winter, spring, summer, autumn). The phasmatophotometric analysis of the activity of basic metabolic enzymes such as lactate dehydrogenase (L-LDH),  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HOAD) and citrate synthetase (CS) was performed in the gills and muscle tissue. The results showed a decrease in their enzymatic activity during the summer sampling (e.g. HOAD gills - Pagasitikos:  $1.07 \pm 0.09$ , Thermaikos:  $0.78 \pm 1.13$ , Vistonikos:  $0.71 \pm 0.07$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) in relation to the spring (e.g. HOAD gills - Pagasitikos:  $1.77 \pm 0.2$ , Thermaikos:  $1.21 \pm 0.07$ , Vistonikos:  $1.13 \pm 0.29$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) and autumn (e.g. HOAD gills - Pagasitikos:  $2.15 \pm 0.16$ , Thermaikos:  $1.79 \pm 0.04$ , Vistonikos:  $1.38 \pm 0.13$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) samplings. Regarding collection sites, higher activity levels for metabolic enzymes were observed in Pagasitikos (e.g. spring – gills, L-LDH:  $1.67 \pm 0.28$ , HOAD:  $1.77 \pm 0.2$ , CS:  $16.57 \pm 0.8$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ), and lower in Vistonikos (e.g. spring – gills, L-LDH:  $1.23 \pm 0.18$ , HOAD:  $1.13 \pm 0.29$ , CS:  $13.51 \pm 1.23$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). The analysis of additional biochemical and molecular markers is expected to provide a clearer picture for the definition of "refugia" for the above species.

*Postdoctoral scholarship funded by the Stavros Niarchos Foundation.*

## ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *HOLOTHURIA TUBULOSA* (GMELIN, 1791) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

Φειδάντσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Λιάκου Ελένη<sup>1</sup>, Πανταζής Χρήστος<sup>1</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>2</sup>, Βαφειδής Δημήτριος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, 38445, Νέα Ιωνία, Βόλος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Η κλιματική αλλαγή έχει άμεσες επιπτώσεις στους θαλάσσιους οργανισμούς που αφορούν κυρίως τις κυτταρικές λειτουργίες και τη φυσιολογία, και μπορεί να μεταβάλουν την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και τη θνησιμότητα τους. Οι αλλαγές του κλίματος μπορεί να έχουν διαφορετική επίπτωση χωρικά με αποτέλεσμα να εντοπίζονται περιοχές με ευνοϊκότερες κλιματικές συνθήκες (refugia). Σκοπός της παρούσας εργασίας, βάσει βιοχημικών και φυσιολογικών αποκρίσεων, είναι ο εντοπισμός και η οριοθέτηση τέτοιων περιοχών με στόχο τη διατήρηση σημαντικά εμπορικών θαλάσσιων ειδών. Υπό αυτό το πρίσμα, συλλέχθηκαν εποχικά (χειμώνας, άνοιξη, καλοκαίρι, φθινόπωρο) άτομα του είδους *Holothuria tubulosa* (ολοθούριο) από το Θερμαϊκό, Παγασητικό και Βιστωνικό κόλπο. Σε δείγματα βραγχίων και μυός έγινε φασματοφωτομετρική ανάλυση της δραστηριότητας ενζύμων της αντιοξειδωτικής άμυνας όπως δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), καταλάση (CAT) και ρεδουκτάση της γλουταθειόνης (GR). Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν κάποια αλλαγή στη δραστηριότητα των ενζύμων μεταξύ των εποχικών δειγματοληψιών του καλοκαιριού (π.χ. SOD μυς - Παγασητικός:  $0,87 \pm 0,18$ , Θερμαϊκός:  $0,89 \pm 0,12$ , Βιστωνικός:  $1,03 \pm 0,16$  U/min.g.wet.wt), της άνοιξης (π.χ. SOD μυς - Παγασητικός:  $1 \pm 0,13$ , Θερμαϊκός:  $1,1 \pm 0,23$ , Βιστωνικός:  $1,02 \pm 0,26$  U/min.g.wet.wt) και του φθινοπώρου (π.χ. SOD μυς - Παγασητικός:  $0,86 \pm 0,14$ , Θερμαϊκός:  $0,96 \pm 0,15$ , Βιστωνικός:  $1,09 \pm 0,16$  U/min.g.wet.wt), αλλά ούτε και μεταξύ των τοποθεσιών συλλογής (π.χ. Παγασητικός άνοιξη – βράγχια, SOD:  $1,74 \pm 0,32$  U/min.g.wet.wt, CAT:  $345,57 \pm 48,57$ , GR:  $0,43 \pm 0,05$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ , Θερμαϊκός άνοιξη – βράγχια, SOD:  $1,65 \pm 0,32$  U/min.g.wet.wt, CAT:  $398,89 \pm 33$ , GR:  $0,39 \pm 0,08$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ , Βιστωνικός άνοιξη – βράγχια, SOD:  $1,67 \pm 0,06$  U/min.g.wet.wt, CAT:  $376,74 \pm 53,99$ , GR:  $0,42 \pm 0,05$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). Η ανάλυση επιπλέον βιοχημικών και μοριακών δεικτών θα δώσει μια σαφέστερη εικόνα για τον προσδιορισμό των "refugia" για το παραπάνω είδος.

Μεταδιδακτορική υποτροφία με δωρεά του Ιδρύματος Σταύρος Νιάρχος.

## **ANTIOXIDANT DEFENSE OF THE SPECIES *HOLOTHURIA TUBULOSA* (GMELIN, 1791) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA**

**Feidantsis Konstantinos<sup>1</sup>, Liakou Eleni<sup>1</sup>, Pantazis Christos<sup>1</sup>, Michaelidis Basile<sup>2</sup>, Vafidis Dimitrios<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, 38445, Nea Ionia, Volos, University of Thessaly*

<sup>2</sup>*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

Changes in environmental variables have a direct impact on marine organisms that primarily affect the cellular functions and physiology of individuals, and thus resulting to changes in their growth, reproduction and mortality. Climate changes may have different spatial impact, and as a result, areas with more favorable climatic conditions (refugia) can be identified. The aim of the present study, based on biochemical and physiological responses, is the demarcation of these areas and the preservation of commercially important marine species. Under this prism, individuals of the species *Holothuria tubulosa* (sea cucumber) from Thermaikos, Pagasitikos and Vistonikos gulf were collected seasonally (winter, spring, summer, autumn). The phasmatophotometric analysis of the activity of enzymes of the antioxidant defence such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione reductase (GR) was performed in the gills and muscle tissue. The results showed no variations neither between the seasonal summer (e.g. SOD muscle - Pagasitikos:  $0.87 \pm 0.18$ , Thermaikos:  $0.89 \pm 0.12$ , Vistonikos:  $1.03 \pm 0.16$  U/min.g.wet.wt), spring (e.g. SOD muscle - Pagasitikos:  $1 \pm 0.13$ , Thermaikos:  $1.1 \pm 0.23$ , Vistonikos:  $1.02 \pm 0.26$  U/min.g.wet.wt) and autumn (e.g. SOD muscle - Pagasitikos:  $0.86 \pm 0.14$ , Thermaikos:  $0.96 \pm 0.15$ , Vistonikos:  $1.09 \pm 0.16$  U/min.g.wet.wt) samplings, nor between collection sites (e.g. Pagasitikos spring – gills, SOD:  $1.74 \pm 0.32$  U/min.g.wet.wt, CAT:  $345.57 \pm 48.57$ , GR:  $0.43 \pm 0.05$   $\mu$ moles/min.g.wet.wt, Thermaikos spring – gills, SOD:  $1.65 \pm 0.32$  U/min.g.wet.wt, CAT:  $398.89 \pm 33$ , GR:  $0.39 \pm 0.08$   $\mu$ moles/min.g.wet.wt, Vistonikos spring – gills, SOD:  $1.67 \pm 0.06$  U/min.g.wet.wt, CAT:  $376.74 \pm 53.99$ , GR:  $0.42 \pm 0.05$   $\mu$ moles/min.g.wet.wt). The analysis of additional biochemical and molecular markers is expected to provide a clearer picture for the definition of "refugia" for the above species.

*Postdoctoral scholarship funded by the Stavros Niarchos Foundation.*

## ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *CALLINECTES SAPIDUS* (RATHBUN, 1896) ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΟΙΚΟΤΟΠΟΥΣ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ

Φειδάντσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>, Μπαλά Μαρία<sup>1</sup>, Μιχαηλίδης Βασίλειος<sup>2</sup>, Βαφείδης Δημήτριος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, 38445, Νέα Ιωνία, Βόλος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Η κλιματική αλλαγή έχει άμεσες επιπτώσεις στους θαλάσσιους οργανισμούς που αφορούν κυρίως τις κυτταρικές λειτουργίες και τη φυσιολογία, και μπορεί να μεταβάλουν την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και τη θνησιμότητα τους. Οι αλλαγές του κλίματος μπορεί να έχουν διαφορετική επίπτωση χωρικά με αποτέλεσμα να εντοπίζονται περιοχές με ευνοϊκότερες κλιματικές συνθήκες (refugia). Σκοπός της παρούσας εργασίας, βάσει βιοχημικών και φυσιολογικών αποκρίσεων, είναι ο εντοπισμός και η οριοθέτηση τέτοιων περιοχών με στόχο τη διατήρηση σημαντικά εμπορικών θαλάσσιων ειδών. Υπό αυτό το πρίσμα, συλλέχθηκαν εποχικά (χειμώνας, άνοιξη, καλοκαίρι, φθινόπωρο) άτομα του είδους *Callinectes sapidus* (μπλε καβούρι) από το Θερμαϊκό, Παγασητικό και Βιστωνικό κόλπο. Σε δείγματα βραγχίων και μυός έγινε φασματοφωτομετρική ανάλυση της δραστηριότητας ενζύμων του βασικού μεταβολισμού όπως αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος (L-LDH), αφυδρογονάση του β-υδροξυάκυλο-CoA (HOAD) και συνθετάση του κιτρικού οξέος (CS). Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των δραστηριοτήτων των ενζύμων κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (π.χ. L-LDH βράγχια - Παγασητικός:  $5,67 \pm 0,97$ , Θερμαϊκός:  $3,87 \pm 1,07$ , Βιστωνικός:  $5,87 \pm 1,24$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) σε σχέση με τις δειγματοληψίες της άνοιξης (π.χ. L-LDH βράγχια - Παγασητικός:  $10,28 \pm 2,39$ , Θερμαϊκός:  $8,35 \pm 0,59$ , Βιστωνικός:  $8,29 \pm 2,2$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) και του φθινοπώρου (π.χ. L-LDH βράγχια - Παγασητικός:  $15,51 \pm 2,03$ , Θερμαϊκός:  $13,06 \pm 3,03$ , Βιστωνικός:  $15,43 \pm 1,53$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). Όσον αφορά τις τοποθεσίες συλλογής, υψηλότερες τιμές δραστηριότητας παρατηρήθηκαν στον Παγασητικό (π.χ. άνοιξη - βράγχια, L-LDH:  $10,28 \pm 2,39$ , HOAD:  $0,93 \pm 0,01$ , CS:  $1,36 \pm 0,07$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ), και χαμηλότερες στο Βιστωνικό (π.χ. άνοιξη - βράγχια, L-LDH:  $8,29 \pm 2,1$ , HOAD:  $0,61 \pm 0,09$ , CS:  $0,97 \pm 0,04$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). Η ανάλυση επιπλέον βιοχημικών και μοριακών δεικτών θα δώσει μια σαφέστερη εικόνα για τον προσδιορισμό των "refugia" για το παραπάνω είδος.

Μεταδιδακτορική υποτροφία με δωρεά του Ιδρύματος Σταύρος Νιάρχος.

## **METABOLIC RESPONSES OF THE SPECIES *CALLINECTES SAPIDUS* (RATHBUN, 1896) AT DIFFERENT HABITATS OF THE NORTH AEGEAN SEA**

**Feidantsis Konstantinos<sup>1</sup>, Bala Maria<sup>1</sup>, Michaelidis Basile<sup>2</sup>, Vafidis Dimitrios<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, 38445, Nea Ionia, Volos, University of Thessaly*

<sup>2</sup>*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

Changes in environmental variables have a direct impact on marine organisms that primarily affect the cellular functions and physiology of individuals, and thus resulting to changes in their growth, reproduction and mortality. Climate changes may have different spatial impact, and as a result, areas with more favorable climatic conditions (refugia) can be identified. The aim of the present study, based on biochemical and physiological responses, is the demarcation of these areas and the preservation of commercially important marine species. Under this prism, individuals of the species *Callinectes sapidus* (blue crab) from Thermaikos, Pagasitikos and Vistonikos gulf were collected seasonally (winter, spring, summer, autumn). The phasmatophotometric analysis of the activity of basic metabolic enzymes such as lactate dehydrogenase (L-LDH),  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HOAD) and citrate synthetase (CS) was performed in the gills and muscle tissue. The results showed a decrease in their enzymatic activity during the summer sampling (e.g. L-LDH gills - Pagasitikos:  $5.67 \pm 0.97$ , Thermaikos:  $3.87 \pm 1.07$ , Vistonikos:  $5.87 \pm 1.24$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) in relation to the spring (e.g. L-LDH gills - Pagasitikos:  $10.28 \pm 2.39$ , Thermaikos:  $8.35 \pm 0.59$ , Vistonikos:  $8.29 \pm 2.2$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) and autumn (e.g. L-LDH gills - Pagasitikos:  $15.51 \pm 2.03$ , Thermaikos:  $13.06 \pm 3.03$ , Vistonikos:  $15.43 \pm 1.53$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ) samplings. Regarding collection sites, higher activity levels for metabolic enzymes were observed in Pagasitikos (e.g. spring – gills, L-LDH:  $10.28 \pm 2.39$ , HOAD:  $0.93 \pm 0.01$ , CS:  $1.36 \pm 0.07$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ), and lower in Vistonikos (e.g. spring – gills, L-LDH:  $8.29 \pm 2.1$ , HOAD:  $0.61 \pm 0.09$ , CS:  $0.97 \pm 0.04$   $\mu\text{moles}/\text{min.g.wet.wt}$ ). The analysis of additional biochemical and molecular markers is expected to provide a clearer picture for the definition of "refugia" for the above species.

*Postdoctoral scholarship funded by the Stavros Niarchos Foundation.*

## ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΖΜΡΤΙ1C ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ, ΚΡΙΣΙΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ ΜΕ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ

**Φίγγου Ελευθερία<sup>1\*</sup>, Παπαμιχαήλ Λητώ<sup>1\*</sup>, Τοκαμάνη Μαρία<sup>1</sup>, Γκέκας Φώτης<sup>2</sup>, Συναπίδου Ευαγγελία<sup>2</sup>, Τοκατλίδης Ιωάννης<sup>2</sup>, Σανδαλτζόπουλος Ραφαήλ<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, ΔΠΘ, 68100 Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης, ΔΠΘ, 68200, Ορεστιάδα, Ελλάδα

\*Ισότιμη συνεισφορά

email: [rmsandal@mbg.duth.gr](mailto:rmsandal@mbg.duth.gr)

Το ZmPtilc (AY708048) είναι μια κινάση, η οποία επάγεται από την αλατότητα. Ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών Pti, που συμμετέχει στις αποκρίσεις των φυτών στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Επίσης, συμβάλλει στην παραγωγή των ROS και είναι πιθανό να συμμετέχει στη διαδικασία ανάπτυξης των ιστών. Σε πείραμα αγρού, το οποίο βασίστηκε στην αξιολόγηση ατομικών φυτών σε συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού, 31 καθαρές σειρές αξιολογήθηκαν σε συνθήκες επάρκειας και έλλειψης εδαφικής υγρασίας. Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου ελήφθησαν φυσιολογικές μετρήσεις και στο τέλος υπολογίστηκε η απόδοση κάθε φυτού ξεχωριστά. Σύμφωνα με τις μετρήσεις αυτές, επιλέχθηκαν οι πέντε σειρές με την υψηλότερη και οι πέντε με τη χαμηλότερη απόδοση και στις δύο μεταχειρίσεις. Στα φύλλα των επιλεγμένων σειρών πραγματοποιήθηκε qPCR ώστε να προσδιοριστούν τα επίπεδα έκφρασης του Zmptilc. Εντοπίστηκε ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης και των επιπέδων έκφρασης του Zmptilc στην κανονική και τη μειωμένη άρδευση. Το ZmPtilc δρα μέσω της Pto-μεσολαβούμενης σηματοδότησης στη ντομάτα, στοχεύοντας τρεις μεταγραφικούς παράγοντες (Pti4/5/6). Για να μελετήσουμε το πιθανό μηχανισμό του προφίλ έκφρασης του ptilc ακολουθήσαμε τρεις διαφορετικές κατευθύνσεις. Αρχικά, ερευνήσαμε το ενδεχόμενο ύπαρξης πιθανών πολυμορφισμών στο γονίδιο ptilc σε 6 σειρές, οι οποίοι θα μπορούσαν να διαφοροποιήσουν τις δύο ομάδες καθαρών σειρών. Επιπλέον ανακαλύψαμε δύο νησίδες CpG εντός του γονιδίου zmptilc και πραγματοποιήσαμε MSP σε δύο σειρές και αλληλούχηση. Επίσης, ερευνήσαμε το προφίλ έκφρασης της ανοδικής κινάσης ZmPto. Η μελέτη μας για το γονίδιο zmPtilc υποδεικνύει πως το γονίδιο είναι πιθανό να εμπλέκεται σε μονοπάτια κρίσιμα για την προσαρμογή στην καταπόνηση από την έλλειψη νερού. Ο μηχανισμός υπερέκφρασης του θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένας μοριακός μάρτυρας για την επιλογή καθαρών σειρών καλαμποκιού που έχουν την ικανότητα να επιτύχουν υψηλότερες αποδόσεις σε συνθήκες έλλειψης νερού.

## ZMPTI1C DIFFERENTIAL EXPRESSION IS RELATED WITH REGULATORY PATHWAYS CRITICAL FOR THE ADAPTATION AND HIGH CROP PRODUCTION UNDER LOW IRRIGATION CONDITIONS

**Figgou Eleftheria<sup>1‡</sup>, Papamichail Lito<sup>1‡</sup>, Tokamani Maria<sup>1</sup>, Gkekas Fotis<sup>2</sup>, Sinapidou Evaggelia<sup>2</sup>, Tokatlidis Ioannis<sup>2</sup>, Sandaltzopoulos Raphael<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>*Dep. of Molecular Biology and Genetics, Democritus Un. of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece*

<sup>2</sup>*Dep. of Agricultural Development, Democritus University of Thrace, 68200 Orestiada, Greece*

<sup>‡</sup>*Equal Contribution*

*email: [rmsandal@mbg.duth.gr](mailto:rmsandal@mbg.duth.gr)*

ZmPti1c (GeneBank: AY708048) is a salt inducible kinase. It belongs to the Pti (Pto- interacting) protein family that has multiple roles in response to biotic and abiotic stress. Also, this family contributes to the production of reactive oxygen species and may participate in tissue development. In a field study, 31 corn inbred lines were grown at ultra-low-density under normal and water-stress regimes. During the growing season physiological traits and grain yield per plant were measured. Five lines were selected for best (High Group) and five for lowest (Low Group) performance under both treatments based on these measurements. qPCR was performed in the leaves of the selected lines to investigate the expression levels of ZmPti1c. Interestingly, there was a strong negative correlation between Zmpti1c differential expression under normal versus low irrigation conditions and yield. ZmPti1c acts through a Pto-mediated signal transduction pathway in tomato by targeting three transcription factors (Pti4/5/6). In order to investigate pti1c expression behaviour, our study was expanded in three directions. At first, we searched for the existence of zmpti1c polymorphisms in 6 lines (3 high and 3 low) that could differentiate the two groups. In addition, we discovered 2 CpG islands in the zmpti1c gene and performed methylation-specific PCR (MSP) followed by sequencing in two lines. Finally, we covered the gene expression profile for the upstream kinase, ZmPto. Our study suggests that zmPti1c is involved in regulatory pathways critical for the adaptation to water-deficit stress. Thus, its overexpression could serve as a molecular marker valuable for the selection of maize lines with improved yield and enhanced tolerance to low irrigation.

## **ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ *LIPPIA CITRIODORA* ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΥΡΙΟΤΕΡΗΣ ΕΝΩΣΗΣ ΤΟΥ, ΤΗΣ ΚΙΤΡΑΛΗΣ, ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Φίτσιου Ελένη, Ρούπας Άγγελος, Αραμπατζής Στέφανος, Βλάχου Δήμητρα, Παππά Αγλαΐα**

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη*

Το αιθέριο έλαιο *Lippia citriodora* (λουίζα), είναι ένα ανθοφόρο φυτό που ανήκει στην οικογένεια Verbenaceae. Υπάρχουν αναφορές για παραδοσιακές φαρμακευτικές χρήσεις του ως ηρεμιστικό ή για πεπτικές/καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η διερεύνηση των αντι-πολλαπλασιαστικών ιδιοτήτων του αιθέριου ελαίου της λουίζας και της κυρίαρχης ένωσης στο έλαιο, της κιτράλης, *in vitro*. Μελετήθηκαν οι επιδράσεις τους στον πολλαπλασιασμό, τον κυτταρικό κύκλο, καθώς και την επαγωγή κυτταρικού θανάτου (απόπτωση, αυτοφαγία και νεκρόπτωση) σε προκλινικά μοντέλα ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου. Το αντιπολλαπλασιαστικό δυναμικό του αιθέριου ελαίου ή της κιτράλης ελέγχθηκε στις κυτταρικές σειρές Caco2 και HT-29, χρησιμοποιώντας την δοκιμασία SRB. Διεξήχθη ανάλυση κυτταρικού κύκλου με ποσοτικοποίηση του περιεχομένου DNA μετά από χρώση με ιωδιούχο προπίδιο μέσω κυτταρομετρίας ροής. Τα γονιδιακά και τα πρωτεϊνικά επίπεδα έκφρασης σημαντικών ρυθμιστών κυτταρικού θανάτου αναλύθηκαν με τη χρήση ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο και Western blotting, αντίστοιχα. Το αιθέριο έλαιο και η κιτράλη, παρουσίασαν ισχυρή αντι-πολλαπλασιαστική δράση *in vitro*. Η ανάλυση κυτταρομετρίας ροής υπέδειξε παύση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M μετά από επώαση με το έλαιο ή την κιτράλη. Τα δεδομένα έδειξαν, επίσης, ότι ούτε το έλαιο, ούτε η κιτράλη προκαλούν εξαρτώμενο από κασπάση κυτταρικό θάνατο στα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου (στο εύρος των συγκεντρώσεων και των χρονικών σημείων που χρησιμοποιήθηκαν), ενώ το έλαιο της λουίζας δεν μετέβαλε σημαντικά την έκφραση ρυθμιστικών πρωτεϊνών, που σχετίζονται με απόπτωση, εκτός των πρωτεϊνών, survivin, claspin, TRAILR2, clusterin, HSP60 και Fas. Η διερεύνηση των επιπέδων γονιδιακής έκφρασης ρυθμιστικών πρωτεϊνών της νεκρόπτωσης ή της αυτοφαγίας υπέδειξε, ότι η τελευταία οδός πιθανόν να εμπλέκεται στις διαμεσολαβούμενες δράσεις του ελαίου της λουίζας ή της κιτράλης. Η τρέχουσα έρευνα εστιάζεται προς αυτή την κατεύθυνση.

## **CYTOTOXIC EFFECTS AND MODE OF ACTION OF LIPPIA CITRIODORA ESSENTIAL OIL AND ITS MAJOR COMPONENT, CITRAL, ON HUMAN COLON CARCINOMA CELLS**

**Fitsiou Eleni, Roupas Aggelos, Arabatzis Stefanos, Vlachou Dimitra, Pappa Aglaia**

*School of Health Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis*

*Lippia citriodora*, commonly known as lemon verbena, is a flowering plant belonging to the Verbenaceae family. It has been used in traditional medicinal as a sedative or a therapeutic agent for digestive and cardiovascular abnormalities. The aim of this study was to investigate the anti-proliferative properties of the essential oil of Greek *Lippia citriodora* plants and its major component, citral, in vitro. The effect of lemon verbena oil and citral on proliferation, cell cycle and cell death pathways (apoptosis, autophagy and necroptosis) was investigated in preclinical models of human colon carcinoma. The anti-proliferative potential of the essential oil or citral was studied using the human colon cancer cell lines, Caco2 and HT-29, by employing the SRB assay. Cell cycle analysis was performed by quantitation of DNA content using propidium iodide staining by flow cytometry. Gene expression and protein expression levels were analyzed using real-time quantitative PCR and western blotting respectively. The lemon verbena essential oil and its major compound, citral, exhibited potent antiproliferative activity in vitro. Flow cytometry analysis revealed a G2/M arrest of colon cancer cells after treatment with the oil or citral. Our data also suggested that neither the oil nor citral induced caspase-dependent cell death in colon cancer cells (at the range of concentrations and time points used), while the lemon verbena oil did not alter significantly the expression of a number of proteins related to apoptosis, apart from the proteins survivin, claspin, TRAILR2, clusterin, HSP60 and Fas. An investigation of the gene expression levels of protein regulators related to necroptosis and autophagy revealed that the latter pathway may be involved in the mediated actions of citral and lemon verbena oil. Current research is focused towards this direction.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ TP53 ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΣΤΑ ΛΕΜΦΩΜΑΤΑ

**Φύκα Αικατερίνη<sup>1,4</sup>, Ψαθά Κωνσταντίνα<sup>3</sup>, Kollipara Laxmikanth<sup>5</sup>, Ρασιδάκης Γεώργιος<sup>6</sup>, Ορφανουδάκη Γεωργία<sup>3</sup>, Δράκος Ηλίας<sup>7</sup>, Sickmann Albert<sup>5</sup>, Αϊβαλιώτης Μιχάλης<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τομέας ΒΕ.Π.Ι., Ιατρική Σχολή, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη, Ελλάδα,

<sup>2</sup>Ομάδα Λειτουργικής Πρωτεϊνωματικής ανάλυσης και Βιολογίας Συστημάτων, ΚΕΔΕΚ Α.Π.Θ., Balkan Center, Κτίρια Α και Β, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>3</sup>Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας - ΙΤΕ, Ηράκλειο, Ελλάδα

<sup>4</sup>Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα,

<sup>5</sup>Leibniz- ISAS, e.V., Dortmund, Germany

<sup>6</sup>Τμήμα Παθολογίας και Κυτταρολογίας, Karolinska University Hospital and Karolinska Institute, Radiumhemmet, Stockholm, Sweden

<sup>7</sup>Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Ελλάδα

Η παρούσα εργασία στοχεύει στη μελέτη της σχέσης του σηματοδοτικού μονοπατιού της TP53 με μηχανισμούς κυτταρικής γήρανσης στα λεμφώματα. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν τρεις κυτταρικές σειρές μοντέλα λεμφώματος (ALCL, HL, MCL) πριν/μετά τη Nutlin-3a (N3a)-επαγόμενη ενεργοποίηση της αγρίου τύπου TP53. Πραγματοποιήθηκε συγκριτική μεταγραφωματική, πρωτεϊνωματική και βιοπληροφορική ανάλυση -/+N3a και επιλογή πρωτεϊνών σχετικές με μηχανισμούς κυτταρικής γήρανσης χρησιμοποιώντας λέξεις-κλειδιά. Συνολικά εντοπίστηκαν 634 σχετικές πρωτεΐνες όπου το 74% και το 11% ήταν κοινές στο πρωτεϊνωμα και στο μεταγράφημα των τριών κυτταρικών σειρών, αντίστοιχα. Από αυτές, το 13% του πρωτεϊνώματος και το 15% του μεταγραφώματος σημείωσαν αύξηση μετά τη N3a στις τρεις κυτταρικές σειρές, ενώ μείωση παρουσίασαν το 9% και 3%, αντίστοιχα. Κατηγοριοποίηση των πρωτεϊνών αυτών σύμφωνα με όρους Γονιδιακής Οντολογίας έδειξε ότι και στα δύο επίπεδα μεταγραφώματος/πρωτεϊνώματος υπάρχει κυτταροειδική διαφοροποίηση έπειτα από την N3a-επαγόμενη TP53-ενεργοποίηση, ενώ πολλές πρωτεΐνες ρυθμίζοντας διάφορα μονοπάτια, ενδέχεται να συμβάλλουν στη γήρανση λεμφωματικών κυττάρων επιβραδύνοντας την ογκογένεση. Ενδεικτικά, μεταξύ αυτών ήταν η αποακετυλάση SIRT1, που σύμφωνα με μελέτες έχει βρεθεί ότι διατηρεί σταθερό το μέγεθος των τελομερών μέσω της επιδιόρθωσης DNA-βλαβών και αναστέλλοντας την αυτοακετυλίωση της TIP60 αποακετυλιώνει την TP53 οδηγώντας σε λεμφώματα. Στα αποτελέσματά μας, τα πρωτεϊνικά της επίπεδα μετά από N3a εμφάνισαν ελαφρά μείωση στο MCL. Η TP53 σχετίζεται με τη διατήρηση του μήκους των τελομερών και την απόκριση σε DNA-βλάβες, ενώ η αποακετυλίωση της λυσίνης της 382 από τη SIRT1 ρυθμίζει την κυτταρική γήρανση. Στα αποτελέσματά μας, η TP53 βρέθηκε αυξημένη σε όλες τις κυτταρικές σειρές και ιδιαίτερα στο MCL. Η TERT ρυθμίζει αρνητικά την κυτταρική γήρανση και στα αποτελέσματά μας εντοπίστηκε σημαντικά αυξημένη στο HL. Η μελέτη όλων των απορρυθμισμένων πρωτεϊνών είναι σε εξέλιξη.

## **STUDY OF THE EFFECT OF THE TP53 ACTIVATION ON CELLULAR MECHANISMS OF SENESCENCE IN LYMPHOMAS**

**Fyka Aikaterini<sup>1,4</sup>, Psatha Konstantina<sup>3</sup>, Kollipara Laxmikanth<sup>5</sup>, Rassidakis Georgios<sup>6</sup>, Orfanoudaki Georgia<sup>6</sup>, Drakos Elias<sup>7</sup>, Sickmann Albert<sup>5</sup>, Aivaliotis Michalis<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>*Laboratory of Biological Chemistry, Faculty of Health Sciences, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Functional Proteomics and Systems Biology (FunPATH) - Center for Interdisciplinary Research and Innovation (CIRI-AUTH)*

<sup>3</sup>*IMBB-FORTH, Heraklion, Greece*

<sup>4</sup>*Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Greece*

<sup>5</sup>*Leibniz- ISAS, e.V., Dortmund, Germany*

<sup>6</sup>*Karolinska University Hospital & Karolinska Institute, Stockholm, Sweden,*

<sup>7</sup>*School of Medicine, University of Crete, Heraklion, Greece*

This study aims to study the relationship of the TP53 signaling pathway with senescence mechanisms in lymphomas. For this purpose, three cell lines models of lymphoma (ALCL, HL, MCL) were used before/after Nutlin-3a (N3a)-induced activation of the wild-type TP53. Comparative transcriptomics, proteomics and bioinformatics analysis +/- N3a and selection of proteins related to senescence mechanisms using keywords were performed. Totally, 634 related proteins were identified, where 74% and 11% were common in the proteome and the transcriptome of the three cell lines, respectively. Of these, 13% of the proteome and 15% of the transcriptome were upregulated after N3a in the three cell lines, while 9% and 3% were downregulated, respectively. Classification of these proteins according to Gene Ontology terms showed that there is cytospecific differentiation both at transcriptomic/proteomic levels after the N3a-induced TP53-activation, whereas many proteins by regulating several pathways may contribute to the aging of lymphoma cells by slowing down tumorigenesis. Indicatively, among these was the deacetylase SIRT1, which according to previous studies was found to maintain stable the telomere length through repairing DNA damage and through inhibition of the autoacetylation of TIP60, SIRT1 deacetylates TP53 leading to lymphomas. In our results, its protein levels after N3a were slightly downregulated in MCL. TP53 is related to the maintenance of telomere length and response to DNA damage, while deacetylation of lysine 382 by SIRT1 regulates senescence. In our results, TP53 was found to be upregulated in all cell lines and particularly in MCL. TERT negatively regulates senescence and in our results was significantly upregulated in HL. The study of all deregulated proteins is in progress.

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΕΙΔΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΗΗRNPA3 ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗΣ

**Χανής Θεόδωρος<sup>1</sup>, Μαργαρίτα Ανδρεάδου<sup>2</sup>, Κοντογιάννης Δημήτρης<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Ανοσοβιολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών "Αλέξανδρος Φλέμινγκ", 16672, Βάρη, Ελλάδα.

Η ηhRNPA3 είναι μία σχετικά ανεξερεύνητη RBP της οικογένειας ηhRNPA/B. Πρόσφατες βιοχημικές αναλύσεις δείχνουν το ρόλο της στον μεταμεταγραφικό έλεγχο mRNA του στρές και των ανοσοαπαντήσεων μέσω αλληλεπίδρασης της με RBPs που προσδένουν δομές πλούσιες σε AU. Ωστόσο, οι κυτταρικές και ιστικές αντιδράσεις που ενδέχεται να καθορίζουν οι λειτουργίες της παραμένουν άγνωστες. Στόχος μας είναι η ανάλυση της ιστοειδικής έκφρασης και η συσχέτιση της με συγκεκριμένες κυτταρικές λειτουργίες. Για το σκοπό αυτό αναλύθηκαν διαγονιδιακά μεταλλάγματα μυών όπου η κωδική περιοχή ενός εκ των αλληλίων της ηhRNPA3 έχει αντικατασταθεί με την κωδική περιοχή του γονιδίου lacZ(β-γαλακτοζιδάσης). Απομονώθηκε ένα σύνολο οργάνων για ψύξη και τεμαχισμό σε κρουτομές και ζωντανά κύτταρα από λεμφικά όργανα και περιφερικό αίμα. Η ενεργότητα του μάρτυρα lacZ ανιχνεύτηκε σε κρουτομές οργάνων με ειδικό πρωτόκολλο χρώσης με το υπόστρωμα X-Gal και μικροσκοπική ανάλυση, ενώ σε ζωντανά κύτταρα με πρωτόκολλο χρώσης με το υπόστρωμα FDG και κυτταρομετρία ροής. Παράλληλα απομονώθηκαν αντίστοιχα εκχυλίσματα από όργανα και κύτταρα για ανάλυση της ολικής πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι η ηhRNPA3 παρουσιάζει ένα επιλεκτικό πρότυπο έκφρασης σε επίπεδο οργάνων αλλά και ιστών. Υψηλή έκφραση ανιχνεύτηκε σε κύτταρα του νευρικού ιστού, πολλαπλασιαζόμενα επιθηλία των κρυπών του λεπτού και του παχέως εντέρου, διαφοροποιημένα επιθηλία του πνεύμονα και των νεφρών, καρδιομυοκύτταρα καθώς και του συνόλου των ενδοθηλιακών σε όλα τα όργανα. Ωστόσο η έκφραση της ηhRNPA3 υπολείπεται σε πολλούς ιστούς καθώς και αρκετών ανοσοκυττάρων. Εξαιρεση αποτελούν τα περιφερικά μονοκύτταρα μακροφάγα όπου η έκφραση της ηhRNPA3 είναι υψηλή και μεταβλητή σε καταστάσεις προφλεγμονώδους και εναλλακτικής ενεργοποίησης. Φαίνεται ότι το επιλεκτικό πρότυπο έκφρασης του γονιδίου της ηhRNPA3 διαφέρει από το καθολικό πρότυπο έκφρασης των περισσότερων RBPs επιτρέποντας την ιστοειδική λειτουργική ανάλυσή της σε επίπεδο φυσιολογίας/παθολογίας.

## THE SPECIFICITY OF RIBONUCLEOPROTEIN HNRNPA3'S EXPRESSION AS REVEALED VIA A TRANSGENIC REPORTER APPROACH

**Chanis Theodoros<sup>1</sup>, Margarita Andreadou<sup>2</sup>, Kontoyiannis L. Dimitris<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Thessaloniki, Greece*

<sup>2</sup>*Division of Immunology, Biomedical Sciences Research Center "Alexandros Fleming", 16672, Vari, Greece.*

HnRNPA3 is a member of the hnRNPA/B family of unknown function. Recent biochemical data indicate that hnRNPA3 may be involved in the post-transcriptional control of mRNAs driving stress and immune responses, via interactions with RBPs binding to AU-rich elements. However, an analysis of hnRNPA3 expression in cellular constituents within tissue compartments has not been performed. The aim of this study was to analyze the organ, tissue and cell specific expression of the hnRNPA3 gene. To do so, we utilized transgenic mice bearing an allele with a replacement of the coding region of the hnRNPA3 gene by the coding region of a beta-galactosidase (lacZ) reporter gene. Organs were collected from these mice and processed into cryosections and histochemical analysis of lacZ activity via a staining protocol using Xgal as a substrate. In parallel, cells from lymphoid organs and peripheral blood were used for a staining using FDG as a substrate and flow-cytometric analysis. To correlate our measurements to classical approaches we also isolated cell and tissue extracts for immunoblots. We demonstrate that the expression of hnRNPA3 is specific at the level of organs and tissues. High expression of hnRNPA3 was detected in neuronal cells, proliferating epithelial cells in the crypts in the intestine, differentiated epithelial cells in lungs and kidneys, cardiomyocytes and in a variety of endothelial cells in most organs. In contrast, the expression of hnrnpA3 in the remaining tissues was quite low including immune compartments. Peripheral monocytes/macrophages exceptionally displayed high hnRNPA3 expression, particularly within the context of classical and alternative activation. We demonstrate that the expression pattern of hnRNPA3 is quite specific and different from most of the RBPs which display a ubiquitous expression pattern. Our results pave the way further investigations about the tissue-specific functions of this RBP in the contexts physiology and pathology.

## ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΕ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΜΙΚΡΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ (ΤΕΧΝΗΤΟΙ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΙ) ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΑΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

**Χαραλάμπος Νικολίνα<sup>1</sup>, Φοινίρης Στέλιος<sup>1</sup>, Κωμοδρόμου Άνδρεα<sup>1</sup>, Ντάικου Ιωάννα<sup>2</sup>, Λυμπεράτος Γεράσιμος<sup>2,3</sup>, Νταϊλιάνης Στέφανος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ζωολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Επιστημών Χημικής Μηχανικής (ΙΤΕ/ΙΕΧΜΗ), Σταδίου 10 Πλατάνη, 26504, Πάτρα

<sup>3</sup>Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου, 15780, Αθήνα

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην παρακολούθηση της επεξεργασίας των αστικών λυμάτων που δέχεται ένας τεχνητός υδροβιότοπος (constructed wetland/CW) στην περιοχή της Ανδρίτσαινας (Νομός Ηλείας). Συγκεκριμένα, ανεπεξέργαστα (προ- επεξεργασμένα/εισερχόμενα λύματα) και επεξεργασμένα λύματα (έξοδος από δεξαμενή εξισορρόπησης) συλλέχθηκαν κατά τους μήνες Οκτώβριο, Δεκέμβριο 2018 και Ιανουάριο 2019. Μετά από φυσικοχημική ανάλυση (προσδιορισμός τιμής pH, αλατότητας, αγωγιμότητας, ολικού και διαλυτού COD, TSS και VSS), τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν σε δοκιμές τοξικότητας διάρκειας 72 h, με τη χρήση των μικροφυκών *Chlorococum* sp. και *Scenedesmus* sp., με ημερήσια μέτρηση της πυκνότητας, του ρυθμού αύξησης και του ποσοστού αναστολής της ανάπτυξης/αύξησης των εκτιθέμενων μικροφυκών σε κάθε περίπτωση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι καλλιέργειες των μικροφυκών παρουσίασαν σημαντικές διαφοροποιήσεις του ρυθμού αύξησής τους, ανάλογα με την τοξικότητα του λύματος στο οποίο εκτέθηκαν για χρονικό διάστημα 24-72h, με τη μεγαλύτερη ευαισθησία να παρατηρείται στην περίπτωση των ανεπεξέργαστων λυμάτων, ειδικότερα στην περίπτωση του μικροφύκου *Scenedesmus* sp. Επιπλέον, η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έδειξε σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των COD, TSS και VSS και των τιμών τοξικότητας (72h % αναστολής της αύξησης/72h %IC50) που μετρήθηκαν στα 2 μικροφύκη, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι η σύσταση των λυμάτων μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το βαθμό απόκρισης των μικροφυκών. Συμπερασματικά, δεδομένου ότι η κατασκευή αποκεντρωμένων CWs) σε μικρές πληθυσμιακά περιοχές αποτελεί μια κοινή πρακτική για την επεξεργασία αστικών αποβλήτων, η συστηματική παρακολούθηση/καταγραφή της ορθής λειτουργίας τους με τη χρήση μικροφυκών μπορεί να αποτελέσει μια αξιόπιστη, οικονομική και περιβαλλοντικά φιλική μέθοδο εκτίμησης της ποιότητας των παραγόμενων εκροών, συμβάλλοντας ουσιαστικά στην αειφόρο ανάπτυξη των περιοχών και στη Δημόσια Υγεία.

## **ESTIMATION OF SEWAGE TREATMENT IN SMALL-SCALE CONSTRUCTIONS (CONSTRUCTED WETLANDS) USING ABIOTIC AND BIOLOGICAL DATA**

**Charalambous Nikolina<sup>1</sup>, Foiniris Stelios<sup>1</sup>, Komodromou Andrea<sup>1</sup>, Ntaikou Ioanna<sup>2</sup>, Lyberatos Gerasimos<sup>2,3</sup>, Dailianis Stefanos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Division of Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Patras, GR-26500, Patras, Greece*

<sup>2</sup>*Laboratory of Environmental Biotechnology, FORTH/ICE-HT, 10 Stadiou st, Platani, 26 504 Patra, Greece*

<sup>3</sup>*Department of Synthesis and Development of Industrial Processes, School of Chemical Engineering, National Technical University, Iroon Polytechniou 9, Zografou GR-15780, Athens, Greece*

Since constructed wetlands (CWs), could be a highly effective practice for the treatment of domestic/household wastewaters, the systematic monitoring of their operational efficiency is of great concern for ensuring environmental and human sustainability. In this context, the present study aimed to evaluate the operational efficiency of a CW located at Andritsaina/Krestena municipality (Western Greece, Peloponnese, Greece), using both chemical and biological data from wastewater samples collected from 2 operational CW units (preliminary treated wastewaters entering into the CW basins with broadleaf cattail *Typha latifolia*/raw-CWs samples and mixed effluents from the adjustment tank/ treated-CWs samples, respectively). Specifically, freshwater algal species (*Chlorococcum* sp., *Scenedesmus* sp.) were used for determining critical toxic endpoints, after their treatment/exposure to each type of samples, collected in October-December 2018, and January 2019. The obtained data were further interpreted with physicochemical parameters, e.g. COD, TSS, VSS, commonly measured in both raw- and treated-CWs samples, for elucidating potent relationships, commonly linked with CW operational efficiency and wastewater strength/toxic potency over time. According to the results, all species tested showed different susceptibility against samples from the 2 operational CW units, thus being more vulnerable, at least in case of *Scenedesmus* sp., to raw-CWs samples. Statistically speaking, the obtained physicochemical parameters, such as total COD, dissolved COD, TSS and VSS currently measured in all samples could regulate the obtained toxic endpoints in both algae species. Those preliminary findings revealed that the application of algal bioassays could be a useful low-cost effective tool for assessing both CWs treatment process efficiency through the evaluation of wastewaters' toxic potential, thus contributing to the environmental sustainability and human health.

## **ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ GSK3B ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ: ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ**

**Χαρίτου Βασιλική<sup>1</sup>, Ζούγρος Αλέξανδρος<sup>1</sup>, Μιρελή Μαρία<sup>1</sup>, Ρούπου Ειρήνη<sup>1</sup>, Χατζηανδρέου Ηλένια<sup>1</sup>, Παπασιδέρη Ισιδώρα<sup>2</sup>, Λάζαρης Ανδρέας<sup>1</sup>, Σαέττα Αγγελική<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Μικράς Ασίας 75 Γουδή

<sup>2</sup> Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια

Η GSK3P αποτελεί συστατικό του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt. Το Wnt απορρυθμίζεται πολύ συχνά στον καρκίνο του παχέος εντέρου, γεγονός που καθιστά το μονοπάτι έναν πολλά υποσχόμενο στόχο για την θεραπεία του καρκίνου.

Μελετήθηκαν τα σχετικά επίπεδα έκφρασης του γονιδίου GSK3B σε δείγματα καρκίνου παχέος εντέρου σε σχέση με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των όγκων για την ανάδειξη του γονιδίου ως πιθανό προγνωστικό δείκτη.

Για την μελέτη των σχετικών επιπέδων έκφρασης mRNA του GSK3B σε 102 καρκινικά δείγματα παχέος εντέρου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ημιποσοτικής PCR πραγματικού χρόνου και τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με τη μέθοδο AACT2. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το λογισμικό SPSS v24. Τέλος, τα αντίστοιχα πρωτεϊνικά επίπεδα έκφρασης αναλύθηκαν σε 26 δείγματα με Western Blot. Παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση GSK3B mRNA στο 32% των δειγμάτων και μειωμένη έκφραση στο 37% των δειγμάτων. Στατιστικά σημαντική συσχέτιση της έκφρασης του mRNA της GSK3B παρατηρήθηκε με την κατηγορία T του όγκου ( $p=0.041$ ).

Παρατηρήθηκε απορρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της GSK3B σε σημαντικό ποσοστό των δειγμάτων. Επίσης, η συσχέτιση της έκφρασης του γονιδίου με την κατηγορία T του όγκου υποδεικνύει την πιθανή του σημασία ως δείκτη επιθετικής βιολογικής συμπεριφοράς του όγκου.

## **EXPRESSION OF THE GENE GSK3B IN COLORECTAL CANCER: ASSOCIATION WITH CLINICOPATHOLOGICAL CHARACTERISTICS**

**Charitou Vasiliki<sup>1</sup>, Zougros Alexandros<sup>1</sup>, Michelli Maria<sup>1</sup>, Roupou Eirini<sup>1</sup>, Chatziandreou Ilenia<sup>1</sup>, Papisideri Isidora<sup>2</sup>, Lazaris Andreas<sup>1</sup>, Sietta Angelica<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*1st Department of Pathology, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Mikras Asias 75 Goudi*

<sup>2</sup>*Division of Cell Biology and Biophysics, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupoli Ilisia*

GSK3P is a component of the Wnt signaling pathway. Wnt pathway is often deregulated in colorectal cancer and as a result it is considered as a promising therapeutic target.

Relative expression levels of GSK3B were studied in colorectal cancer samples in relation to the clinicopathological characteristics of the tumors to indicate its potential significance as a prognostic marker.

Relative expression levels of GSK3B in 102 colorectal cancer samples were determined with semiquantitative Real Time PCR and the results were analyzed with AACT2 method. For the statistical analysis the program SPSS v24 was used. Finally, the relevant protein expression levels were determined in 26 samples with Western Blot.

Overexpression of GSK3B mRNA was observed in 32% and underexpression in 37% of the samples respectively. Statistically significant correlation was observed between GSK3B mRNA expression and tumor T category ( $p=0.041$ ).

Deregulation of GSK3B expression was observed in a significant subset of patients. Furthermore, the correlation between the GSK3B expression and tumor T category indicates its possible role as a biomarker for the aggressive biological behavior of the tumor.

## **ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΣΑΡΩΤΗ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΟΜΩΝ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ**

**Χαριτωνίδου Κατερίνα και Γκάνιας Κωνσταντίνος**

*Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ελλάδα*

Με τη δυνατότητα ψηφιοποίησης των ιστολογικών τομών έχει γίνει τεράστια πρόοδος στην ποιότητα απεικόνισης και στο χρόνο επεξεργασίας τους. Παραδοσιακά οι αναλύσεις γίνονται με άμεση παρατήρηση στο μικροσκόπιο, απαιτώντας πολύ χρόνο για τις μετρήσεις και μειώνοντας την πιθανότητα ακρίβειας των αποτελεσμάτων. Με τη δυνατότητα ψηφιοποίησης των ιστολογικών τομών μειώθηκε ο χρόνος χρήσης του μικροσκοπίου και αυξήθηκε η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Επομένως, οι μετρήσεις πραγματοποιούνται ευκολότερα και σχεδόν αυτόματα χρησιμοποιώντας ειδικά λογισμικά ψηφιακής ανάλυσης εικόνας. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να γίνει σύγκριση μεταξύ δύο μεθόδων ψηφιοποίησης τομών για να διακριθούν τυχόν ποσοτικές αποκλίσεις. Η πρώτη μέθοδος περιλαμβάνει την παραγωγή φωτομωσαϊκών από τη σύνθεση μεγάλου αριθμού ψηφιακών φωτογραφιών από το σύνολο της τομής. Η δεύτερη μέθοδος συνίσταται στη χρήση ψηφιακού σαρωτή (slide scanner) όπου η ιστολογική τομή φωτογραφίζεται πολύ γρήγορα σε μία εικόνα πολύ υψηλής ανάλυσης. Χρησιμοποιήθηκαν ιστολογικές τομές από 17 ωοθήκες από σκουμπρί του Ατλαντικού, *Scomber scombrus*, ενός από τα πιο εμπορικά είδη ψαριών της Ευρωπαϊκής αλιείας. Για τη σύγκριση των δύο μεθόδων χρησιμοποιήθηκε ο αριθμός των κενών ωοθυλακίων (postovulatory follicles, profs) έτσι όπως προκύπτει από την εφαρμογή της στερεολογικής μεθόδου του Weibel. Τα κενά ωοθυλάκια επιλέχθηκαν καθώς για την αναγνώρισή τους είναι σημαντική μια εικόνα υψηλής ανάλυσης, λόγω της συρρίκνωσης και της ομοιότητας τους με άλλες δομές. Μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων ψηφιοποίησης τομών δε βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση ( $p > 0.05$ ).

## **APPLYING SLIDE SCANNER TO MICROSCOPIC ANALYSIS OF FISH REPRODUCTIVE TISSUE**

**Charitonidou Katerina and Ganias Konstantinos**

*Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Greece*

The ability of digitization of histological sections has made great progress in image quality and in processing time. Traditionally, the analyses have been done with direct observation under the microscope which is time consuming and reduce the potential accuracy of the results. The digitization of histological sections has decreased the time of microscope use and increase the accuracy of the results, as the measurements are made easier and almost automatic using special softwares of digital resolution images. The aim of the present study is the comparison of two methods of histological sections digitization to distinguish any quantitative deviations. The first method is the creation of photomosaic pictures by composing a large number of digital pictures from the entire section. The second method consists in the use of a digital scanner (slide scanner) where the histological section is captured very quickly in a very high-resolution image. Histological sections from 17 ovaries of the species Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, were analysed. This species is one of the most commercial fish stocks of the Europe fisheries. The number of the postovulatory follicles (pofs) were used for the comparison between the two methods applying the stereological method by Weibel. Pofs were selected because a high-resolution image is important for their recognition, due to their shrinkage and similarity with other structures. The results show that there is no statistically significant difference between the two methods ( $p > 0.05$ ).

## ΓΕΝΟΤΟΞΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΖΝΟ-ΑΓ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΧΟΥΜΙΚΩΝ

**Χατζηπαναγιώτου Σοφία<sup>1</sup>, Ευθυμίου Ιωάννα<sup>1</sup>, Νικολακοπούλου Ελευθερία<sup>1</sup>, Μουζουράκης Ελευθέριος<sup>3</sup>, Γεωργίου Γιάννης<sup>3</sup>, Βλαστός Δημήτρης<sup>1</sup>, Νταϊλιάνης Στέφανος<sup>2</sup>, Δεληγιαννάκης Ιωάννης<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Πατρών, 30100 Αγρίνιο

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Εργαστήριο Ζωολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

<sup>3</sup>Τμήμα Φυσικής, Τομέας Φυσικής Στερεάς Κατάστασης και Φυσικής Υλικών και Επιφανειών, Εργαστήριο Φυσικοχημείας Υλικών και Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110, Ιωάννινα

Στην παρούσα έρευνα εξετάστηκε η πιθανή γενotoξική και κυτταροτοξική δράση σύνθετων νανοσωματιδίων (nanoparticles/NPs) οξειδίου του ψευδαργύρου-αργύρου (ZnO-Ag NPs), μεγέθους 49 nm (ZnO) - 9 nm (Ag), με την παρουσία χουμικών (Humic-Acid-Like-Polycondensate, HALP και Leonardite Humic Acid, LHA) σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων, εφαρμόζοντας την τεχνική των μικροπυρήνων (micronuclei, MN) με τη χρήση κυτταροχαλασίνης-B (Cytokinesis-Block Micronucleus assay, CBMN assay). Η συγκεκριμένη τεχνική, ανιχνεύει χρωμοσωματικές βλάβες (θραύση ή/και απώλεια χρωμοσωμάτων) οι οποίες εμφανίζονται ως μικρές πυρηνικές δομές, μικροπυρήνες, στο κυτταρόπλασμα διπύρηνων μεσοφασικών κυττάρων. Τα ZnO-Ag NPs παρασκευάστηκαν με τη χρήση της τεχνικής Flame Spray Pyrolysis, ενώ το μέγεθός τους προσδιορίστηκε με τη χρήση δεδομένων περίθλασης ακτίνων-Χ. Εξετάστηκε ο συνδυασμός ZnO-Ag NPs - HALP σε συγκεντρώσεις 0.5-0.8, 5-8, 10-16, 20 - 32 μg/mL και ο συνδυασμός ZnO-Ag NPs - LHA σε συγκεντρώσεις 0.5-2, 5-20, 10-40, 20-80 μg/mL. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα ZnO-Ag NPs σε συνδυασμό με τα χουμικά δεν επάγουν στατιστικά σημαντικά αυξημένες συχνότητες MN σε καμία από τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις, γεγονός που υποδηλώνει απουσία γενotoξικής δράσης. Αναλύοντας το δείκτη κυτταροτοξικότητας (Cytokinesis Block Proliferation index, CBPI index), διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση συγκριτικά με το μάρτυρα σε όλες τις περιπτώσεις, γεγονός που υποδεικνύει κυτταροτοξική δράση των μιγμάτων στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις και πειραματικές συνθήκες.

## **GENOTOXIC AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF NOVEL ZNO-AG NANOPARTICLES IN HUMAN LYMPHOCYTES IN THE PRESENCE OF HUMIC ACIDS**

**Chatzipanagiotou Sofia<sup>1</sup>, Efthimiou Ioanna<sup>1</sup>, Nikolakopoulou Eleftheria<sup>1</sup>, Mouzourakis Eleftherios<sup>3</sup>, Georgiou Yiannis<sup>3</sup>, Vlastos Dimitris<sup>1</sup>, Dailianis Stefanos<sup>2</sup>, Deligiannakis Yiannis<sup>3</sup>**

*<sup>1</sup>Department of Environmental and Natural Resources Management, University of Patras, GR-30100 Agrinio, Greece*

*<sup>2</sup>Division of Animal Biology, Lab of Zoology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500, Patras, Greece*

*<sup>3</sup>Division of Solid State Physics and Physics of Materials and Surfaces, Lab of Physical Chemistry of Materials and Environment, Department of Physics, University of Ioannina, GR-45110, Greece*

The main goal of the present study was to assess the genotoxic and cytotoxic potential of composite zinc oxide-silver nanoparticles (ZnO-Ag NPs, 49 nm (ZnO) - 9 nm (Ag)) in cultured human lymphocytes, with humic acids (HALP, LHA), by applying the Cytokinesis-Block micronucleus (CBMN) assay with the use of cytochalasin-B. The latter method investigates the presence of micronuclei (MN) originating from acentric chromosome fragments or whole chromosomes that are unable to migrate to the poles during the anaphase stage of cell division. ZnO-Ag NPs were manufactured through Flame Spray Pyrolysis and the NPs size was calculated using X-Ray diffraction data. The combination of ZnO-Ag NPs-HALP was studied at the concentrations 0.5-0.8, 5-8, 10-16, 20-32 µg/mL as well as the combination of ZnO-Ag NPs - LHA at 0.5-2, 5-20, 10-40, 20-80 µg/mL. According to the results of the present study, ZnO-Ag NPs combination with both HAs did not induce statistically significant MN frequencies at any of the tested concentrations, thus indicating the absence of genotoxic phenomena. On the other hand, ZnO-Ag NPs mixture with both HAs demonstrated a statistically significant cytotoxicity, as revealed by the decreased CBPI (Cytokinesis- block proliferation index) values in all cases. The results of our study demonstrated a lack of genotoxic potential and the induction of cytotoxicity by the ZnO-Ag NPs and HAs mixtures in the specific concentrations and experimental conditions.

## **ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΝΟΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ *L. PARACASEI* ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Χονδρού Πελαγία, Ράθωση Μαρίνα, Γαλάνης Αλέξης\***

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη*

Με τον όρο προβιοτικοί χαρακτηρίζονται οι ζωντανοί μη παθογόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι όταν χορηγηθούν σε κατάλληλες ποσότητες έχουν θετική επίδραση στην υγεία του ατόμου. Οι μηχανισμοί δράσης τους περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων την ενίσχυση της λειτουργίας τους επιθηλιακού φραγμού, την ανταγωνιστική δράση έναντι παθογόνων και τη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης των κυττάρων του ξενιστή. Εφαρμόζοντας το μοντέλο του ραχιαίου αεροθύλακα σε πειραματικό μοντέλο ποντικών έχουμε καταδείξει σε προηγούμενη μελέτη μας το ανοσορυθμιστικό δυναμικό ενός νέο προβιοτικού στελέχους *Lactobacillus paracasei*. Πιο συγκεκριμένα επίδραση με το εν λόγω στέλεχος προκάλεσε στρατολόγηση ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων και σημαντική αύξηση έκφρασης κυτοκινών και χημοκινών. Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκαν με RT-PCR, τα επίπεδα έκφρασης των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών IL-1β, IL-6 και TNF-α και των χημοκινών CXCL-2, sICAM και TIMP-1 μετά από χορήγηση του προβιοτικού στελέχους για διάφορα χρονικά διαστήματα σε καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα επίπεδα έκφρασης της IL-1β έφτασαν στο μέγιστο επίπεδο μετά από 10 ώρες, ενώ για τις IL-6 και TNF-α μετά από 12 ώρες και μετά μειώθηκαν. Αντίστοιχα και για τις χημοκίνες, τα επίπεδα έκφρασης των CXCL-2, TIMP-1 και sICAM αυξήθηκαν στο μέγιστο μετά από 12 ώρες. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και με την μέθοδο της SANDWICH ELISA σε επίπεδο πρωτεΐνης.

## **EVALUATION OF THE IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF A PROBIOTIC *LACTOBACILLUS* STRAIN ON A COLORECTAL CANCER CELL LINE**

**Chondrou Pelagia, Rathosi Marina, Galanis Alex\***

*Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Health Sciences, Democritus University of Thrace*

Probiotics are defined as live, non-pathogenic microorganisms which, when administered in adequate quantity, have a positive impact on host's health. They are thought to promote host's health by enhancing the integrity of the epithelial intestinal barrier, antagonizing pathogenic bacteria and modulating the pro- and antiinflammatory responses in the gut. In a previous study, by employing the six-day-old epithelium-enclosed air pouch mouse model, a well characterized in vivo model of inflammation, we demonstrated the immunomodulatory potential of a novel probiotic *Lactobacillus paracasei* strain. The administration of bacterial strain *L. paracasei* to the air pouch resulted in a rapid accumulation of leukocytes and enhanced expression of a panel of cytokines and chemokines in the airpouch exudates. In the present study, the expression levels of pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6 και TNF- $\alpha$  as well as chemokines CXCL-2, TIMP-1 and sICAm were investigated following administration of *L. paracasei* to colon cancer cells and RT-PCR analysis. The results showed that IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  increased to the maximum level at 10, 12 and 12 hours respectively and then decreased. Moreover, CXCL-2, TIMP-1 και sICAM, increased to the maximum level at 12 hours. The results were further confirmed by SANDWICH ELISA at protein level.

## ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΒΟΛΗΣ ΤΟΥ RNA EDITING ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ALS

**Χριστοφορίδου Γεωργία<sup>1</sup>, Μπέκας Νικόλαος<sup>1</sup>, Δημητριάδης Αθανάσιος<sup>2</sup>, Κανατά Ειρήνη<sup>2</sup>, Ξανθόπουλος Κωνσταντίνος<sup>3</sup>, Σκλαβιάδης Θεόδωρος<sup>2</sup>, Ντάφου Δήμητρα<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιολογίας Ανάπτυξης, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Εργαστήριο Νευροεκφυλιστικών Νοσημάτων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>3</sup>Τομέας Φαρμακογνωσίας-Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (ALS) επηρεάζει τους κινητικούς νευρώνες και προσβάλλει 450,000 άτομα κάθε χρόνο παγκοσμίως. Είναι κυρίως σποραδική (sALS) ενώ μικρό ποσοστό των περιστατικών της είναι οικογενή (fALS). Τόσο η sALS όσο και η fALS εμφανίζουν παρόμοια κλινικά και παθολογικά χαρακτηριστικά. Η στοιχειοθεσία του RNA (RNA editing) είναι επιγενετική τροποποίηση που προκαλεί RNA:DNA διαφοροποιήσεις μέσω απαμίνωσης του RNA και καταλύεται από μέλη των ενζυμικών οικογενειών APOBEC (C-U editing) και ADAR (A-I editing). Υποθέτουμε ότι τροποποιήσεις του RNA editing παρατηρούνται στην ALS και συνεισφέρουν στην έναρξη και εξέλιξη της νόσου. Για αυτό το σκοπό, αξιοποιήσαμε δεδομένα αλληλούχισης νέας γενιάς (RNA-seq) από ασθενείς με ALS και δείγματα ελέγχου. Εφαρμόσαμε εδραιωμένες μεθόδους βιοπληροφορικής ανάλυσης για την ανίχνευση υψηλής πιστότητας θέσεων editing και καθορίσαμε τα συνολικά πρότυπα editing (editome). Με στατιστικές αναλύσεις ανιχνεύσαμε διαφοροποιήσεις των προτύπων editing στην ALS και οπτικοποιήσαμε τα αποτελέσματά μας. Εφαρμόσαμε αναλύσεις διαφορικής γονιδιακής έκφρασης με επακόλουθη κατάταξη των διαφορικά εκφρασμένων γονιδίων (gene ranking) και εκτίμηση των σχετιζόμενων κυτταρικών μονοπατιών. Επιλέξαμε στόχους με διαφορετικό editing με βάση την κατάταξή τους και τον πιθανό τους ρόλο σε μονοπάτια παθογένειας της νόσου. Επί του παρόντος επεξεργαζόμαστε δείγματα ασθενών με ALS και υγιών ατόμων για να επαληθεύσουμε πειραματικά τις επιλεγμένες θέσεις editing, εφαρμόζοντας εδραιωμένες μεθόδους κλωνοποίησης και αλληλούχισης (Sanger). Επακόλουθη λειτουργική μελέτη του διαφορικού editing στην παθογένεση της ALS θα γίνει με κατευθυνόμενο editing σε ανθρώπινα επαγόμενα βλαστοκύτταρα (iPSCs) διαφοροποιημένα προς νευρωνικά δίκτυα. Εκτιμούμε ότι τα αποτελέσματά μας θα συμβάλλουν στην κατανόηση της παθογένειας της ALS, αναδεικνύοντας πιθανούς διαγνωστικούς ή/και θεραπευτικούς στόχους.

## INVESTIGATING THE ROLE OF RNA EDITING IN ALS PATHOGENESIS

**Christoforidou Georgia<sup>1</sup>, Bekas Nikolaos<sup>1</sup>, Dimitriadis Athanasios<sup>2</sup>, Kanata Eirini<sup>2</sup>,  
Xanthopoulos Konstantinos<sup>3</sup>, Sklaviadis Theodoros<sup>2</sup>, Dafou Dimitra<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Developmental Biology, Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup>Laboratory of Neurodegenerative Diseases, School of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>3</sup>Department of Pharmacognosy-Pharmacology, School of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Aristotle University of Thessaloniki

ALS (Amyotrophic Lateral Sclerosis) affects 450,000 people per year, worldwide. It is characterized by death of motor neurons in the brain and spinal cord. Most of ALS cases are sporadic (sALS) and only a small percentage is familial (fALS); mutations in the c9Orf72 gene are among the most common genetic changes associated with fALS. Both sALS and fALS share common clinicopathological traits. RNA editing is a post-transcriptional modification that diversifies the transcriptome and proteome inducing RNA-DNA differences through RNA deamination. RNA editing in mammals is mediated by members of the APOBEC (C-U editing) and ADAR (A-I editing) enzyme families. Our working hypothesis is that disrupted editing occurs in ALS affected tissues and contributes to the onset and further progress of the disease. To confirm this hypothesis, we utilized publicly available RNA-seq data from control, sALS and c9Orf72 fALS brain tissues. Using established bioinformatics analyses pipelines, appropriate algorithms, statistical analyses and data visualization, we established global and differential RNA editing profiles per condition and RNA-editing enzyme. We also performed differential gene expression, gene ranking and pathway analyses. We have selected specific, differentially edited targets, based on their ranking score and their potential role in disease related mechanisms. These targets are currently processed to experimentally verify true editing events in human autopsy material, through established methods of cloning and Sanger sequencing. Further functional validation of the potential role of experimentally verified targets in ALS pathogenesis will be performed. Targeted site directed RNA editing in human iPSCs that will be differentiated towards neural networks will be used for functional validations of selected targets. We anticipate that our results will shed more light in ALS pathogenetic mechanisms, providing novel targets with diagnostic and/or therapeutic potential.

## **ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΓΟΝΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΝΕΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΔΙΣΘΕΝΟΥΣ ΧΑΛΚΟΥ-ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ**

**Χρονόπουλος Δημήτριος<sup>1</sup>, Χαλέβας Ελευθέριος<sup>1</sup>, Χατζηδημητρίου Αντώνιος<sup>2</sup>, Πανταζάκη Αναστασία<sup>2</sup>, Λιτσαρδάκης Γεώργιος<sup>3</sup>, Σαγνού Μαρίνα<sup>3</sup>, Πελεκάνου Μαρία<sup>4</sup>, Λιαλιάρης Θεόδωρος<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Βιοεπιστημών και Εφαρμογών, Εθνικό Κέντρο Επιστημονικής Έρευνας Δημόκριτος", 15310 Αθήνα, Ελλάδα

<sup>3</sup>Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>4</sup>Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

<sup>5</sup>Εργαστήριο Υλικών Ηλεκτροτεχνίας, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Τα φλαβονοειδή (ΦΛ) είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά, συλλέκτες ελεύθερων ριζών, χηλικοί παράγοντες μετάλλων και αναστολείς λιπιδικής υπεροξειδωσης που εμφανίζουν διάφορες ευεργετικές βιολογικές δραστηριότητες. Η χρυσίνη είναι μια φλαβόνη που βρίσκεται στο μέλι και στην πρόπολη και διερευνάται ενεργά για τις πιθανές βιολογικές επιδράσεις της κατά της νόσου του Parkinson και του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, καθώς και για τη ρύθμιση των διαύλων σηματοδότησης πολλαπλών κυττάρων. Έρευνες σχετικά με τον κεντρικό ρόλο των σταθερών συμπλοκών χαλκού Cu(II) με φυσιολογικά υποστρώματα όπως ΦΛ, στη φυσιολογία των κυττάρων ως καταλυτικοί συμπαράγοντες, στην οξειδοαναγωγική χημεία της μιτοχονδριακής αναπνοής, της απορρόφησης σιδήρου, της απομάκρυνσης ελεύθερων ριζών και της σταυρωτής σύνδεσης ελαστίνης, έχει παράσχει νέες γνώσεις στην κατανόηση της ενδοκυτταρικής διακίνησης και της κατανομής του χαλκού σε μοριακά επίπεδα. Σε αυτό το έργο συντέθηκαν δύο νέα υβριδικά σύμπλοκα Cu(II)-χρυσίνης, απομονώθηκαν και φυσικοχημικά χαρακτηρίστηκαν διαμέσου περιθλάσεως ακτίνων Χ απλού κρυστάλλου, μετρήσεων FT-IR, UV-Vis, φθορισμού, TGA και ESI-MS. Η αξιολόγηση της γονοτοξικότητας μέσω της καταμέτρησης των Χρωματιδιακών Ανταλλαγών (ΧΑ), της κυτταροστατικότητας με βάση τον Δείκτη Ρυθμού Πολλαπλασιασμού (ΔΡΠ), και της κυτταροτοξικότητας με βάση τον Μιτωτικό Δείκτη (ΜΔ) στις καλλιέργειες ανθρώπινων περιφερικών λεμφοκυττάρων, βρέθηκε ότι είναι σημαντικά υψηλότερη τόσο στα ΦΛ, όσο και στα σύμπλοκα χαλκού Cu(II). Η ιρινοτεκάνη (CPT) χρησιμοποιήθηκε επίσης ως πρότυπος γονοτοξικός παράγοντας και ο συνδυασμός φλαβονοειδούς ή συμπλόκων χαλκού Cu(II) με CPT, παρείχε ένα μηχανισμό με τον οποίο μπορεί να ελεγχθεί η έκταση της γενετικής βλάβης. Τα νέα υβριδικά υλικά παρουσιάζουν αυξημένη διαλυτότητα και βιοδιαθεσιμότητα και αυξημένη γονοτοξική δραστηριότητα σε σύγκριση με την ελεύθερη χρυσίνη και μπορούν δυνητικά να δώσουν αξιόλογες βιολογικές εφαρμογές και προοπτικές.

## **INDUCED GENOTOXICITY PRODUCED BY FLAVONOIDS AND NOVEL Cu(II)-FLAVONOID COMPLEXES IN HUMAN LYMPHOCYTES**

**Chronopoulos Dimitrios<sup>1</sup>, Halevas Eleftherios<sup>1</sup>, Hatzidimitriou Antonios<sup>2</sup>, Pantazaki Anastasia<sup>2</sup>, Litsardakis Georgios<sup>3</sup>, Sagnou Marina<sup>3</sup>, Pelecanou Maria<sup>4</sup>, Lialiaris Theodoros<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Lab. of Genetics, Faculty of Medicine, Dimokrition University of Thrace, Alexandroupolis, Greece

<sup>2</sup>Institute of Biosciences & Applications, National Centre for Scientific Research "Demokritos", 15310 Athens, Greece

<sup>3</sup>Laboratory of Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

<sup>4</sup>Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

<sup>5</sup>Laboratory of Materials for Electrotechnics, Department of Electrical Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

Flavonoids (FL) are potent antioxidants, free radical scavengers, metal chelators, and lipid peroxidation inhibitors exhibiting several beneficial biological activities. The flavonoid chrysin is a flavone found in honey and propolis, and actively investigated for its potential biological effects against Parkinson's disease and the proliferation of cancer cells, as well as on the regulation of multiple cell signaling pathways. Research on the pivotal role of stable Cu(II)-complexes (CuCo) with physiological substrates such as FL, in cell physiology as catalytic cofactors in the redox chemistry of mitochondrial respiration, iron absorption, free radical scavenging, and elastin crosslinking have provided new insights in the field of copper homeostasis and in particular into the understanding of intracellular trafficking and distribution of copper at molecular levels. In this work two novel hybrid Cu(II)-chrysin complexes were synthesized, isolated and physico-chemically characterized through single crystal X-ray diffraction, FT-IR, UV-Vis, fluorescence, TGA, and ESI-MS measurements. Evaluation of genotoxicity by means of the frequency of Sister Chromatid Exchanges (SCEs), of cytostaticity based on the Proliferating Rate Indices (PRIs) and cytotoxicity based on the Mitotic Indices (MIs) in human peripheral lymphocyte cultures, were all found to be significantly higher in both FL and CuCo. Irinotecan (CPT) was also utilized as standard genotoxic agent and the combination of FL or CuCo plus CPT provided a mechanism by which the extent of the genetic damage can be modulated. The novel hybrid materials exhibit enhanced solubility and bioavailability, and increased anticancer activity compared with free chrysin and potentially give rise to fruitful bioapplications and perspectives.

## **Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ ADA2B ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΓΙΒΒΕΡΕΛΛΙΝΩΝ ΣΤΟ ΑΝΘΟΣ ΤΟΥ *ARABIDOPSIS THALIANA***

**Ψαθά Αικατερίνη, Πούλιος Στυλιανός, Βλαχονάσιος Κωνσταντίνος**

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

Αλλαγές στη δομή της χρωματίνης σχετίζονται με τη μεταγραφική δραστηριότητα και τη γονιδιακή έκφραση, μέσω μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων των ιστονών. Ανάμεσα στις κύριες τροποποιήσεις των ιστονών βρίσκεται η ακετυλίωση καταλοίπων λυσίνης. Η ακετυλίωση πραγματοποιείται από ένζυμα γνωστά ως ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (HAT- Histone Acetyl Transferase), τα οποία συμμετέχουν σε πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα όπως το SAGA (Spt-Ada-Gcn5- Acetyltransferase). Η πρωτεΐνη GCN5 αποτελεί την καταλυτική υπομονάδα του συμπλόκου SAGA, η ενεργότητα της οποίας ενισχύεται από την πρωτεΐνη ADA2. Μεταλλάγματα *ada2b* στο *Arabidopsis thaliana* εμφανίζουν νανισμό καθώς και αναπτυξιακά προβλήματα σε πολλά φυτικά όργανα. Τα άνθη των μεταλλαγμάτων *ada2b*, χαρακτηρίζονται από κοντούς στήμονες και θυμίζουν άνθη φυτών που έχουν χαμηλά επίπεδα της ορμόνης γιββερελλίνης (GA). Οι βιοενεργές μορφές των γιββερελλινών ελέγχουν την επιμήκυνση του ανθήρα και των στημόνων. Ο σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης των μεταλλαγμάτων *ada2b* στην έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση και σηματοδότηση των γιββερελλινών. Βρέθηκε ότι άνθη του *ada2b-1* παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στη βιοσύνθεση των γιββερελλινών, που υποδεικνύει ότι πιθανόν τα επίπεδα των γιββερελλινών είναι χαμηλά. Ακόμη, βρέθηκε ότι η έκφραση του υποδοχέα των γιββερελλινών, *GID1A* (GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1) και του γονιδίου *RGA* (REPRESSOR of *ga1-3*) παραμένει σταθερή. Συμπερασματικά, τα παραπάνω πειράματα υποδεικνύουν ότι στα άνθη του *Arabidopsis thaliana* το ADA2b αποτελεί θετικό ρυθμιστή των γονιδίων που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση των γιββερελλινών.

## **THE EFFECT OF TRANSCRIPTIONAL COACTIVATOR ADA2B ON THE EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN GIBBERELLIN BIOSYNTHESIS AND SIGNALLING IN THE FLOWER OF *ARABIDOPSIS THALIANA***

**Psatha Aikaterini, Poullos Stylianos, Vlachonasios Konstantinos**

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

Changes in chromatin structure is correlated with transcriptional activity and gene expression mediated by post-translational histone modifications. One of the major histone modifications is acetylation of lysine residues. Acetylation is carried out by enzymes known as histone acetyltransferases (HAT), often found in multiprotein complexes such as SAGA (Spt-Ada-Gcn5-Acetyltransferase). GCN5 is the catalytic subunit of SAGA, whose activity is enhanced by the ADA2 protein. *Arabidopsis thaliana* *ada2b* mutants are dwarfs and display multiple developmental problems in many plant organs. The flowers of the *ada2b* mutants are characterized by short stamens, reminiscence of flowers from plants with low levels of gibberellin (GA) hormone. The bioactive forms of gibberellins control the elongation of the anther and the stamen. The purpose of this study was to investigate the effect of *ada2b* mutants on gene expression involved in the biosynthesis and signaling of gibberellins. Flowers of *ada2b-1* mutant was found to have decreased expression of genes involved in the biosynthesis of gibberellins, indicating that the level of gibberellins are low. Moreover, the expression of the gibberellin receptor GID1A and the expression of RGA (DELLA protein), was similar to wild type flowers. Therefore, we conclude that in flowers of *Arabidopsis thaliana*, ADA2b is a positive regulator of genes involved in gibberellin biosynthesis.

## **ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΦΥΚΟΥΣ *CHLORELLA VULGARIS* ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΗΣ FRRF ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ**

**Ψαθάς Ευάγγελος<sup>1</sup>, Κούτρα Ελένη<sup>1</sup>, Κορνάρος Μιχαήλ<sup>2</sup>, Γραμματικόπουλος Γεώργιος<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504 Πάτρα, Ελλάδα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος (LBET), Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26504 Πάτρα, Ελλάδα

Η μέθοδος ταχείας επαγωγής του φθορισμού της χλωροφύλλης (OJIP-transient) χρησιμοποιείται σε μεγάλο φάσμα εφαρμογών για την ανάλυση των χαρακτηριστικών της ροής της ενέργειας στα δύο φωτοσυστήματα και μεταξύ άλλων σε καλλιέργειες μικροφυκών που σχετίζονται με βιοτεχνολογικές εφαρμογές. Σε προηγούμενες μελέτες της ερευνητικής ομάδας αποτέλεσε μέθοδο επιλογής αλλά και παρακολούθησης καλλιεργειών μικροφυκών που χρησιμοποιήθηκαν για την απορρύπανση αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων. Τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα υπέδειξαν την ανάγκη για λεπτομερέστερη καταγραφή των φωτοσυνθετικών χαρακτηριστικών του φύκου *Chlorella vulgaris* κάτω από συνθήκες αυτότροφες ή και μιξότροφες. Ως μία αρχική προσέγγιση έγινε καταγραφή της καθαρής και της συνολικής ταχύτητας φωτοσύνθεσης καθώς και της ταχύτητας αναπνοής σε καλλιέργειες *C. vulgaris* απουσία ή παρουσία γλυκόζης. Επιπροσθέτως, καταγράφηκαν οι κινητικές OJIP καθώς και παράμετροι με τη μέθοδο Fast Repetition Rate Fluorometry (QA reoxidation, S-States κ.λ.π) που ελέγχθηκαν έναντι των μετρήσεων του JIP-test. Η ανάπτυξη της καλλιέργειας παρουσία γλυκόζης ήταν ραγδαία όπως άλλωστε αναμενόταν. Η μεγαλύτερη φωτοσυνθετική ταχύτητα παρουσία γλυκόζης εμφανίστηκε μόνο στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας, μέχρι να καταναλωθεί η γλυκόζη και συνοδεύτηκε από μεγαλύτερη φωτοχημική απόδοση του PSII. Στη συνέχεια εξισώθηκε με τις χαμηλές τιμές της αυτότροφης καλλιέργειας. Η ταχύτητα αναπνοής είχε την ίδια τάση αλλά η μείωσή της ήταν σταδιακή. Τέλος, παρουσία γλυκόζης, καταγράφηκε μεγαλύτερη δυνατότητα μεταφοράς ηλεκτρονίων από την QA στην QB (QA reoxidation) και περισσότερα δραστικά ενεργά κέντρα PSII (S-states).

## **PHOTOSYNTHETIC CHANGES IN CHLORELLA VULGARIS CULTURES WHEN SUPPLEMENTED WITH GLUCOSE AND ASSESSMENT OF FRRF PARAMETERS**

**Psathas Evangelos<sup>1</sup>, Koutra Eleni<sup>1</sup>, Kornaros Michael<sup>2</sup>, Grammatikopoulos George<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, University of Patras, 26504 Patras, Greece

<sup>2</sup>Laboratory of Biochemical Engineering and Environmental Technology (LBEET), Department of Chemical Engineering, University of Patras, 26504 Patras, Greece

Fast chlorophyll a fluorescence transients (JIP-test) are widely used to analyze the energy flow round and between the two photosystems. Among other applications it has been lately used in biotechnology studies incorporating algal cultures. In previous studies of our research team, JIP-test was the choice method for both probing and screening microalgae cultures used for wastewater remediation. After evaluation of the results, it was obvious that further experimentation and more detailed photosynthesis characterization was needed, especially for *Chlorella vulgaris* in autotrophic or mixotrophic cultivation. As an initial approach, the net and the total photosynthetic rate as well as respiration rate were measured in *C.vulgaris* batch cultures with or without addition of glucose in culture medium. In addition, the OJIP kinetics as well as parameters derived from Fast Repetition Rate Fluorometry (QA reoxidation, S-States, etc.) were recorded. The FRRF parameters were compared to corresponding parameters of the JIP-test. Microalgal growth in the medium supplemented with glucose was much higher than the control as it was expected. The higher photosynthetic rate, accompanied by higher photochemical efficiency of PSII, occurred only during the initial stage of cultivation until glucose was exhausted. Subsequently, photosynthesis decreased and rates were similar in both cultures. Respiration exhibited the same trends, however, with a rather gradual decrease. The addition of glucose resulted in higher electron transfer efficiency from QA to QB (QA reoxidation) and in higher ratio of active to inactive PSII reaction centers (S-states).

# ΧΟΡΗΓΟΙ

*Lab Supplies  
Scientific*

