

**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ  
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΠΡΑΚΤΙΚΑ - PROCEEDINGS**

**22<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου  
22<sup>nd</sup> Panhellenic Conference**

**Σκιάθος, 25-28 Μαΐου 2000  
Skiathos Island, May 25 - 28, 2000**

***ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ***

***ABSTRACTS***

## ***Mycoplasma agalactiae*. ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΙΣΟΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΑΝΟΣΟΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ**

**Αβραμίδης Ν., Π. Βικτωράτος, Μ. Γιάγκου, Α. Χατζηπέτρου-  
Κουρουνάκη**

**Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης & Μορ. Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.**

Το *Mycoplasma agalactiae* (*Ma*) είναι υπεύθυνο για τη νόσο της αγαλαξίας των κατοικίδιων ζώων η οποία συνοδεύεται από μαστίτιδα, αρθρίτιδα, κερατίτιδα, έχει δε μεγάλες οικονομικές επιπτώσεις στην κτηνοτροφία. Στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση και η ενίσχυση της ανοσολογικής απόκρισης που επάγεται από το *Ma* με τη χρήση ανοσοενισχυτικών ώστε να παρασκευαστεί εμβόλιο κατά της νόσου. Ποντίκια της φυλής BALB/c εμβολιάστηκαν ενδοπεριτοναϊκά με αδρανοποιημένα *Ma* παρουσία ή απουσία ανοσοενισχυτικών. Ακολούθησε προσδιορισμός των επιπέδων των anti-*Ma* αντισωμάτων και διαφόρων κυτοκινών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο εμβολιασμός μόνο με *Ma* προκαλεί ασθενή επαγωγή της IFN- $\gamma$ , της IL-12 και της IL-6, και συνοδεύεται από χαμηλή παραγωγή αντισωμάτων κυρίως IgG2a και IgG3. Αντίθετα, ο εμβολιασμός με *Ma* παρουσία ανοσοενισχυτικών προκαλεί αύξηση της παραγωγής των αντισωμάτων και διαφορές ως προς τον κύριο ισότυπο των IgG ανοσοσφαιρινών. Η παραπάνω διαφορές συνδέονται με αντίστοιχες μεταβολές κυτοκινών, οι οποίες ως γνωστό ρυθμίζουν τον μηχανισμό εναλλαγής τάξης. Έτσι, λοιπόν, το FCA επάγει τις IL-4, IL-10, IL-5 με αποτέλεσμα την έκκριση κυρίως αντισωμάτων IgG1. Αντίθετα, το poly I:C αυξάνει τα IgG2a και IgG3 ενισχύοντας την παραγωγή των IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ . Οι IL-10, IL-5, IL-6 και IL-12 φαίνεται να εμπλέκονται στην αύξηση των IgG2b με τη χορήγηση του poly A:U, ενώ ο LPS προάγει κυρίως την έκκριση της IL-10, IL-12, TNF- $\alpha$  και των IgG3 αντισωμάτων. Τα παραπάνω δείχνουν ότι τα ανοσοενισχυτικά επάγουν ισχυρές αποκρίσεις και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικά εμβολίου κατά του *Ma*. Επίσης, η ρύθμιση του προτύπου των κυτοκινών καταδεικνύεται ως ο κυριότερος μηχανισμός επιλογής του ισότυπου των αντισωμάτων από τα ανοσοενισχυτικά.

## ***Mycoplasma agalactiae*. REGULATION OF CYTOKINE AND ANTIBODY ISOTYPE PROFILE BY ADJUVANTS**

**Avramidis N., P. Victoratos, M. Yiangou, L. Hadjipetrou-Kourounakis**

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

*Mycoplasma agalactiae* (*Ma*) is the major cause of contagious agalactia associated with agalactia, mastitis, arthritis and kerato-conjunctivitis in small ruminants and remarkable economic loss. The aim of the present study was to investigate the modulating effects of different adjuvants on the immune response triggered by immunization with *Ma* in order to be components of a future vaccine. BALB/c mice were inoculated with inactivated cells of *Ma* alone or mixed with different adjuvants. The effects of adjuvants were analysed with respect to antibody-secreting cell levels, isotype induction pattern and cytokine profile. The results showed that immunization with *Ma* alone mounted low levels of IFN- $\gamma$ , IL-12 and IL-6 followed by a relatively weak IgG2a and IgG3 response. Treatment with *Ma* mixed with each adjuvant resulted in a stronger antibody response and changes of IgG isotype pattern. These changes were associated with differences in the production of cytokines that influence the isotype selection process. Thus, FCA increased IgG1 antibodies by inducing IL-4, IL-10 and IL-5, while poly I:C augmented IgG2a and IgG3 by IFN- $\gamma$ , IL-12 and TNF- $\alpha$  secretion. Finally, IL-10, IL-5, IL-6 and IL-12 are involved in the IgG2b response mounted by poly A:U, while IL-10, IL-12 and TNF- $\alpha$  are implicated in the IgG3 response induced by LPS. In the light of these data, adjuvants are candidates for future vaccines against *Ma*. Additionally, our results further support the concept that adjuvants direct isotype-switching process via of certain cytokine pattern.

## ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΑΛΥΣΙΔΩΝ ΤΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΤΥΠΟΥ IV ΜΕ ΙΝΤΕΓΚΡΙΝΕΣ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΤΥΠΟΥΣ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Αγγέλη Α.<sup>1</sup>, Π. Κίτσιου<sup>1</sup>, Α. Boutaud<sup>3</sup>, Β. Hudson<sup>3</sup>, Α. Michael<sup>2</sup>  
Ε. Τσιλιμπάρη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”, Αθήνα, <sup>2</sup>Department of  
Pediatrics, University of Minnesota, <sup>3</sup>University of Kansas City,  
Biostratum

Το κολλαγόνο τύπου IV (tIV), απαντά στη βασική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων και αποτελείται από τρεις α αλυσίδες. Κάθε α αλυσίδα αποτελείται από μια αμινοτελική περιοχή, μια κεντρική κολλαγενική και μια καρβοξυτελική, μη κολλαγενική, (NC1). Η πιο διαδεδομένη σύσταση του tIV είναι η (α1)<sub>2</sub>α2. Τέσσερις νέες ισομορφές κολλαγόνου έχουν κλωνοποιηθεί πρόσφατα, οι α3, α4, α5 και α6, και ένας πιθανός συνδυασμός τους είναι ο (α3)<sub>2</sub>α4 που ανευρίσκεται κυρίως στο νεφρό. Με ανοσοϊστοχημικές μελέτες, έχει παρατηρηθεί εκλεκτική εντόπιση των ισομορφών του κολλαγόνου σε διάφορες περιοχές του νεφρού. Η ισομορφή (α3)<sub>2</sub>α4, είναι ο κύριος τύπος tIV στη βασική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων του αγγειώδους σπειράματος (GEC), ενώ η (α1)<sub>2</sub>α2 κυριαρχεί στη βασική μεμβράνη των κυττάρων του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου (HK-2). Η σημασία της εκλεκτικής αυτής εντόπισης των ισομορφών (α3)<sub>2</sub>α4 και (α1)<sub>2</sub>α2 δεν είναι γνωστή. Οι κυτταρικοί υποδοχείς του κολλαγόνου είναι οι ιντεγκρίνες, διαμεμβρανικοί υποδοχείς 2 υπομονάδων, α και β. Εξετάσαμε ιντεγκρίνες από διάφορους τύπους νεφρικών κυττάρων (GEC, HK-2). Τα κύτταρα λύθηκαν και τα λύματα αλληλεπέδρασαν με ανασυνδυασμένα τμήματα των ισομορφών α1(NC1) και α3(NC1), με χρωματογραφία συγγένειας. Παρατηρήσαμε ότι, οι ιντεγκρίνες β1, α3, και α2 από τα GEC αλληλεπιδρούν εκλεκτικά με το α3(NC1), 260%, 160% και 130% περισσότερο σε σχέση με το α1(NC1), αντιστοίχως. Αντίθετα οι ιντεγκρίνες β1, α3 και α1 από τα HK-2, αναγνωρίζουν αποκλειστικά το α1(NC1). Συμπεραίνουμε ότι μια λειτουργία των ισομορφών αλυσίδων του tIV είναι η διαφορική αναγνώριση ιντεγκρινών.

## DIFFERENTIAL RECOGNITION OF RENAL INTEGRINS BY ISOFORM COLLAGEN IV CHAINS.

Aggeli A.<sup>1</sup>, P. Kitsiou<sup>1</sup>, A. Boutaud<sup>3</sup>, B. Hudson<sup>3</sup>, A. Michael<sup>2</sup>,  
E. Tsilibary<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biology, NCSR, "Demokritos", Agia Paraskevi. <sup>2</sup>Department of Pediatrics, Medical School, University of Minnesota, <sup>3</sup>University of Kansas City, Biostratum.

Collagen type IV is found in basement membranes and is composed of three  $\alpha$  chains. Each chain contains an aminoterminal, a central, collagenous, and a carboxyterminal, non collagenous, (NC1), region. The main isoform collagen IV is  $(\alpha 1)_2\alpha 2$ . Four new isoforms of collagen type IV have been identified and cloned:  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ ,  $\alpha 6$ , and a possible new composition of collagen IV is  $(\alpha 3)_2\alpha 4$  which is found mainly in kidney. Isoform  $(\alpha 3)_2\alpha 4$ , on immunofluorescence, is found to be present much more abundantly than  $(\alpha 1)_2\alpha 2$  isoform in kidney's glomerular basement membrane (GBM), underlying the glomerular epithelial cells (GEC). The basement membrane underlying the epithelial cells of the proximal tubules (HK-2), contains the isoform  $(\alpha 1)_2\alpha 2$ . Integrins are the cellular receptors of collagen IV composed of one  $\alpha$  and one  $\beta$  subunit. The functional significance of the selective collagen IV distribution is not known. In this research we examine the preferential binding of isoforms of collagen IV with different isoforms of integrins. Therefore we investigated the interactions between integrins from GEC and HK-2 renal cells and recombinant isoform chains of the  $\alpha 1$ (NC1) and  $\alpha 3$ (NC1) variety by affinity chromatography. Integrins  $\beta 1$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 2$  from glomerular epithelial cells preferentially recognized the  $\alpha 3$ (NC1) isoform, approximately 260%, 160% and 130% more than the  $\alpha 1$ (NC1), respectively. On the contrary,  $\beta 1$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 1$  subunits from proximal tubular epithelial cells recognized the  $\alpha 1$ (NC1) only and there was no recognition for  $\alpha 3$ (NC1) isoform. We conclude that one function of isoform chains of collagen IV is interaction with integrins possibly to initiate specific signaling pathways.

## ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ p38-MAPK ΑΠΟ α- ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΤΟΥ *Rana ridibunda*

Αγγελή Ι.Κ., Κ. Γαϊτανάκη, Α. Λάζου\* και Ισ. Μπέης

Τομέας Φυσ. Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας Ε.Κ.Π.Α.

\*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Είναι γνωστό ότι η διέγερση μέσω α-αδρενεργικών υποδοχέων προκαλεί υπερτροφία στην καρδιά των θηλαστικών και ότι στην ανάπτυξη του υπερτροφικού φαινοτύπου πιθανόν να εμπλέκονται οι ενεργοποιούμενες από μιτογόνα πρωτεϊνικές κινάσες (MAPKs). Μέχρι σήμερα, υπάρχει ασάφεια ως προς την ύπαρξη α-αδρενεργικών υποδοχέων στην καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*. Στην παρούσα εργασία έγινε μια πρώτη προσπάθεια για τη μελέτη της επίδρασης ενός α-αδρενεργικού αγωνιστή στην ενεργοποίηση της p38-MAPK στην απομονωμένη εμποτισμένη καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*. Πειράματα με επίδραση 50μM φαινυλεφρίνης έδειξαν ότι ο αγωνιστής αυτός ενεργοποιεί άμεσα τη μελετούμενη κινάση (~10,4 φορές σε σχέση με το μάρτυρα), ενώ στη συνέχεια παρατηρείται σταδιακή μείωση (50% στα 5') και πλήρους απενεργοποίησή της στα 30'. Μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του αγωνιστή στην ενεργοποίηση της κινάσης έδειξε ότι μέγιστη ενεργοποίηση προκαλείται σε συγκέντρωση  $10^{-8}$ M (~12 φορές, σε σχέση με το μάρτυρα). Η ενεργοποίηση αυτή αναστέλλεται πλήρως με τη χρήση ειδικού αναστολέα της p38-MAPK (SB 203580) σε συγκέντρωση 10 μM. Με χρήση ειδικών αδρενεργικών ανταγωνιστών βρέθηκε ότι η πραζοσίνη (α1-αδρενεργικός ανταγωνιστής) σε συγκέντρωση 10 μM αναστέλλει πλήρως την ενεργοποίηση που επάγεται από τη φαινυλεφρίνη, ενώ η προπρανολόλη (β-αδρενεργικός ανταγωνιστής) σε συγκέντρωση 10 μM δεν επιφέρει καμία απολύτως αναστολή. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η επαγωγή της ενεργοποίησης της p38-MAPK από τη φαινυλεφρίνη γίνεται αποκλειστικά μέσω των α-αδρενεργικών υποδοχέων. Περαιτέρω μελέτες με χρήση αγωνιστών και ανταγωνιστών ειδικών για τους διάφορους υποτύπους αδρενεργικών υποδοχέων πιστεύουμε ότι θα αποσαφηνίσουν το μηχανισμό ρύθμισης των μονοπατιών σηματοδότησης στην καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*.

**p38-MAPK ACTIVATION BY  $\alpha$ -ADRENERGIC STIMULATION  
IN THE HEART OF *Rana ridibunda***

**Aggeli I.K., C. Gaitanaki, A. Lazou\* & Is. Beis**

**Department of Animal & Human Physiology, School of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens  
\*Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, University  
of Thessaloniki, 54006 Thessaloniki**

It is widely known that stimulation via  $\alpha$ -adrenergic receptors causes hypertrophy in the mammalian heart and that MAPKs probably contribute to the development of the hypertrophic phenotype. The presence of  $\alpha$ -adrenergic receptors in the amphibian *Rana ridibunda* heart remains unclear. In the present study we made a preliminary effort to investigate the effect of an  $\alpha$ -adrenergic agonist (phenylephrine) on the p38-MAPK activation, in the perfused heart of the amphibian *Rana ridibunda*. Phenylephrine at a concentration of 50  $\mu$ M activates p38-MAPK (~10.4 fold relative to controls) from as early as 30 sec. These activation levels decrease gradually (50% at 5 min) and reach control values at 30 min. Studying the phenylephrine dose response curve we found that maximal activation was attained at  $10^{-8}$ M (~12 fold relative to controls). SB 203580 (10  $\mu$ M), a selective p38-MAPK inhibitor, totally abolished this activation. In hearts perfused with 10  $\mu$ M prazosin (an  $\alpha_1$ -adrenergic antagonist) activation by phenylephrine was totally inhibited while in hearts perfused with 10  $\mu$ M propranolol (a  $\beta$ -adrenergic antagonist) no inhibition was detected. These results show that activation of p38-MAPK by phenylephrine is mediated exclusively via  $\alpha$ -adrenergic receptors. We believe that further studies with selective agonists and antagonists to the diverse adrenergic receptor subtypes will clarify the regulation mechanism of signal transduction pathways in the *Rana ridibunda* heart.

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΩΣΜΩΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗΝ p38-MAPK ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΟΥ *Rana ridibunda*

Αγγελή Ι.Κ., Κ. Γαϊτανάκη, Ισ.Μπέης

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε.Κ.  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα.

Τα αμφίβια, σε αντίθεση με άλλα σπονδυλωτά (πτηνά, θηλαστικά) είναι εξώθερμοι οργανισμοί και αντιμετωπίζουν *in vivo* ποικίλες συνθήκες περιβαλλοντικού στρες. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη του μηχανισμού ενεργοποίησης της ενεργοποιούμενης από μιτογόνα p38-MAPK, στην απομονωμένη εμποτιζόμενη καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*, κάτω από συνθήκες μηχανικής υπερφόρτωσης (θερμικό και ωσμωτικό στρες). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η υποθερμία (15°C) ενεργοποιεί την p38, με μέγιστη απόκριση στα 15' [~6,8 φορές, σε σχέση με το μάρτυρα (25°C)] ενώ η υπερθερμία (42°C) προκαλεί μέγιστη ενεργοποίησή της μόλις στα 30" (~8 φορές, σε σχέση με το μάρτυρα). Και στις δύο περιπτώσεις η ενεργοποίηση διατηρείται για 30'. Η μελέτη της επίδρασης της ωσμωτικής ανισορροπίας (που προκαλείται με περίσσεια είτε NaCl είτε KCl) έδειξε ότι και στις δύο περιπτώσεις επάγεται άμεση ενεργοποίηση της p38 (30") κατά 9 και 7 φορές αντίστοιχα (σε σχέση με το μάρτυρα) ενώ εμποτισμός της καρδιάς με φυσιολογικό ορό αμφιβίων (NaCl 0,6% w/v) δεν προκαλεί καμία ενεργοποίηση. Επιπλέον, η σορβιτόλη (0.5M), γνωστός ενεργοποιητής της p38 στην καρδιά των θηλαστικών, βρέθηκε να ενεργοποιεί μέγιστα την p38 στα 15' (~11 φορές) στην καρδιά του *Rana ridibunda*, ενώ επανεμποτισμός με φυσιολογικό διάλυμα, μειώνει σταδιακά τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της κινάσης. Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης φαίνεται ότι μορφές στρες που έμμεσα προκαλούν μηχανική υπερφόρτωση των καρδιακών κυττάρων επάγουν την ενεργοποίηση-φωσφορυλίωση της p38-MAPK, η οποία με τη σειρά της μπορεί να φωσφορυλιώνει άλλα ενδοκυτταρικά υποστρώματα με σκοπό τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης.



## **THE EFFECT OF OSMOTIC AND THERMAL STRESS ON THE p38-MAPK IN THE HEART OF *Rana ridibunda***

**Aggeli I.K., C. Gaitanaki & Is. Beis**

**Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 15781 Athens**

Amphibians, in contrast to other vertebrates (aves and mammals) are ectotherms and face *in vivo* a variety of stressful environmental conditions. The aim of the present study was the investigation of p38-MAPK activation mechanism, in the perfused heart of the amphibian *Rana ridibunda*, under conditions of mechanical overload (thermal and osmotic stress). Results show that hypothermia (15°C) activates p38, with maximal values been attained at 15 min (~6.8 fold, relative to controls, 25°C) whereas hyperthermia (42°C) maximally activates p38 from as early as 30 sec (~8 fold relative to controls). In both cases, activation levels remain elevated for 30 min. Studies of the effect of osmotic imbalances (caused by excess of either NaCl or KCl) showed that in both cases, p38 is activated from as early as 30 sec (~9 and ~7 fold, respectively, relative to controls) whilst perfusion of the heart with normal amphibian saline (0.6% w/v NaCl) has no effect. Furthermore, sorbitol (0.5 M) a known p38 activator in the mammalian heart, maximally activated p38 at 15 min (~11 fold) in the *Rana ridibunda* heart, while reperfusion with normal buffer, causes the gradual decrease of the kinase phosphorylation levels. These results show that forms of stress that indirectly provoke mechanical strain of cardiac myocytes, activate p38-MAPK, which in turn may phosphorylate other intercellular substrates in order to achieve cellular homeostasis.

## Η ΣΠΕΡΜΙΝΗ ΑΝΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΠΕΠΤΙΔΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ, ΑΛΛΑΖΟΝΤΑΣ ΤΗ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ-ΔΟΤΗ

Αμάραντος Ι. και Δ. Α. Καλπαζής

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,  
26500 Πάτρα

Με σκοπό τη διερεύνηση του φαινομένου της διεγερτικής και ανασταλτικής δράσεως των πολυαμινών επί της πεπτιδυλοτρανσφεράσης (Ptase), συντέθη ένα φωτοδραστικό ανάλογο της σπερμίνης, η ABA-σπερμίνη, και χρησιμοποιήθηκε για τη φωτοσήμανση AcPhe-tRNA ελεύθερου ή δεσμευμένου στην P-θέση του ριβοσώματος. Η φωτο-σήμανση βελτίωσε την ικανότητα του AcPhe-tRNA να δεσμεύεται στο ριβόσωμα, αλλά μείωσε την καταλυτική ικανότητα του σχηματιζόμενου ριβοσωματικού συμπλόκου (σύμπλοκο C). Ανάλυση αποτύπωσης έδειξε ότι οι κατά προτίμηση περιοχές δεσμεύσεως της ABA-σπερμίνης σ' ελεύθερο AcPhe-tRNA, είναι το στέλεχος του αντικωδικονίου και το D-στέλεχος. Δεσμευμένο AcPhe-tRNA στο ριβόσωμα απουσία μεταφραστικών παραγόντων (Μ.Π), παρουσίαζε αυξημένη συγγένεια σύνδεσης με την ABA-σπερμίνη και επιπρόσθετες θέσεις δεσμεύσεως στο ΤψC-στέλεχος/θηλειά, καθώς και στον 3'-κλώνο του στελέχους υποδοχής. Παρουσία Μ.Π, φωτοσήμανση του συμπλόκου C σε μικρή συγκέντρωση ABA-σπερμίνης είχε διεγερτική δράση στις καταλυτικές ιδιότητες του συμπλόκου, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις είχε ανασταλτική επίδραση. Αιτία της διεγέρσεως ήταν η δέσμευση της ABA-σπερμίνης στο ριβόσωμα, καθώς και η μειωμένη χημική συγγένεια της περιοχής ΤψC-στέλεχος/θηλειάς του AcPhe-tRNA για ABA-σπερμίνη. Πιθανώς, η σύνδεση των πολυαμινών στο στέλεχος του αντικωδικονίου προάγει τη δέσμευση του tRNA στο ριβόσωμα, ενώ η σύνδεση στο ΤψC-στέλεχος / θηλειά και στο στέλεχος υποδοχής ωθεί το αμινοακυλο-άκρο του tRNA σε περιοχή του καταλυτικού κέντρου της Ptase, λιγότερο δραστική. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώθηκε με ηλεκτροφορητικές μελέτες, καθώς και πειράματα προστασίας από κεθοξάλη.

*Ευχαριστήρια αναφορά. Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας & Τεχνολογίας (99ΕΔ/605), καθώς και το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο.*

## **SPERMINE INHIBITS THE ACTIVITY OF PEPTIDYL-TRANSFERASE BY CAUSING CONFORMATIONAL CHANGES IN THE DONOR-SUBSTRATE**

**Amarantos I. & D.L. Kalpaxis**

**Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, GR-26500 Patras, Greece**

Polyamines cause both stimulatory and inhibitory effects on peptidyltransferase (Ptase), depending on the experimental conditions used. To further investigate the above effects, a photoreactive derivative of spermine, ABA-spermine, was synthesized and used for photolabeling of AcPhe-tRNA, free in solution or bound at the ribosomal P-site. Cross-linking of ABA-spermine to AcPhe-tRNA improved its binding to ribosomes, whereas resulted in a species of AcPhe-tRNA·poly(U)-ribosome complex (complex C) of low catalytic activity. Footprinting analysis showed that the anticodon stem, as well as the D-stem, are preferable polyamine binding sites in AcPhe-tRNA free in solution. When AcPhe-tRNA was non-enzymatically bound at the ribosomal P-site, ABA-spermine linked with higher affinity to AcPhe-tRNA, while additional cross-linking sites appeared in the T $\psi$ C-stem/loop and in the 3'-strand of the acceptor stem. In the presence of translation factors, photolabeling at low concentrations of ABA-spermine stimulated the catalytic activity of complex C, with higher concentrations being inhibitory. The stimulatory effect was closely related with the binding of ABA-spermine to ribosomes, and was characterized by a moderate reactivity of the T $\psi$ C-stem/loop of AcPhe-tRNA with the photoprobe. The above results can be explained by assuming that attachment of polyamines in the anticodon stem of tRNA improves its binding at the P-site, while binding of polyamines around the T $\psi$ C-stem/loop and the 3'-strand of the acceptor stem orientates the aminoacyl group of tRNA towards a less active position of the Ptase catalytic center. The above hypothesis was further supported by gel mobility shift assays and kethoxal probing experiments.

*Acknowledgements. This work was supported by a grant (99EA/605) from the General Secretariat of Research & Technology / Ministry of Development of Greece, and from the European Social Fund.*

## ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ-ΞΑΝΘΙΝΗΣ ΤΟΥ *A. nidulans* ΣΕ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΠΟΥΡΙΝΩΝ

Αμίλλης Σ., Μ. Κουκάκη και Γ. Διαλλινάς

Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Αθηνά 15784, Ελλάδα

Χρησιμοποιούμε το μεταφορέα ουρικού οξέος-ξανθίνης (UapA) του ασκομύκητα *A. nidulans* ως αντιπροσωπευτικό μόριο της οικογένειας μεταφορέων πουρινών-πυριμιδινών-ασκορβικού για μελέτες που αφορούν σχέσεις δομής-λειτουργίας. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να χρησιμοποιήσουμε το κρυοεναίσθητο στέλεχος *uapA*-Q449E και μέσω μεταλλαξιγένεσης να επιλέξουμε μεταλλαγές που μετατρέπουν το μεταφορέα UapA σε υψηλής απόδοσης μεταφορέα όλων των πουρινών. Επιλέξαμε 10 κατασταλτικές μεταλλαγές (S1-S10) που επιτρέπουν στο αρχικό στέλεχος να αναπτύσσεται σε ουρικό οξύ σαν μοναδική πηγή αζώτου στους 25°C. Φυσιολογικές μελέτες και μετρήσεις ραδιοσημασμένων πουρινών επιβεβαίωσε ότι όλα τα στελέχη που φέρουν κατασταλτικές μεταλλαγές έχουν αποκτήσει την ικανότητα πρόσληψης ξανθίνης και ουρικού οξέως, ενώ τα S1,2,5,6,8,9 και S10 έχουν επίσης αποκτήσει την ικανότητα, σε διαφορετικό βαθμό, πρόσληψης υποξανθίνης, αδενίνης και γουανίνης. Για να εξετάσουμε εάν οι κατασταλτικές μεταλλαγές χαρτογραφούνται εντός του UapA απομονώσαμε το αρχικό αλληλίο *uapA*-Q449E από το γονιδίωμα του *A. nidulans* με τη διαδικασία της "διάσωσης" πλασμιδίου. Τα πλασμίδια που απομονώθηκαν από τα στελέχη S1,4,6,7 και S8 επανεισήχθησαν σε στέλεχος *uapA* και έδειξαν να είναι ικανά να επαναπροσδώσουν τους αρχικούς φαινότυπους των κατασταλτικών μεταλλαγών. Η μεταλλαγή S8 βρέθηκε ότι αντιστοιχεί στην αντικατάσταση F569S, στο τελευταίο διαμεμβρανικό τμήμα α-έλικας της πρωτεΐνης. Οι παραπάνω μελέτες δείχνουν ότι ο εξειδικευμένος μεταφορέας οξειδωμένων πουρινών μπορεί να μετατραπεί σε υψηλής απόδοσης μεταφορέα όλων των πουρινών μέσω ελάχιστων αντικαταστάσεων αμινοξέων στην αλληλουχία του. Γνωρίζοντας τη σημασία των πουρινών και πυριμιδινών ως αντικά, αντιπαρασιτικά και αντικαρκινικά φάρμακα, οι παραπάνω παρατηρήσεις αναμένεται να αποδειχθούν χρήσιμες σε μελέτες μοριακής φαρμακολογίας που αφορούν στη χρήση και το σχεδιασμό αναλόγων φαρμάκων.

**SUPPRESSION OF THE RELAXED SPECIFICITY  
MUTATION Q449E CONVERTS THE URIC-ACID-  
XANTHINE TRANSPORTER OF *A. nidulans* INTO  
A HIGHLY EFFICIENT GENERAL PURINE  
TRANSPORTER**

**Amillis S., M. Koukaki & G. Diallinas**

**Department of Botany, School of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, 15781 Athens, Greece**

We have been using the *A. nidulans* uric acid-xanthine transporter UapA as a prototype to perform studies addressing structure-function relationships in the ubiquitous nucleobase-ascorbate transporter family conserved from microorganisms to humans (1-2). In this work we used the cryosensitive *uapA*-Q449E relaxed specificity mutant to achieve, through further mutagenesis, a highly efficient transporter for all purines. We obtained 10 revertants (S1-S10) able to grow well on uric acid or xanthine as sole nitrogen sources. Replica plating and uptake studies showed that among the suppressors, S1,2,5,6,8,9,10, acquired the ability to transport novel substrates such as adenine, hypoxanthine and guanine. In order to examine whether these novel phenotypes were due to intragenic second-site mutations in the *uapA* locus we "rescued", from the genome of *A. nidulans*, the original plasmid carrying the *uapA*-Q449E allele. "Properly" excised rescued plasmids from S1, S4, S6, S7 and S8 were used to retransform a *uapA*<sup>-</sup> strain and transformants were analyzed on various purines as nitrogen sources. In all cases, the suppressor phenotype was reproduced confirming that the suppressor mutations should be located within the *uapA* plasmid sequences. The *uapA* sequence on the plasmid carrying suppressor mutation S8 was determined and led to the identification of a single transition resulting in mutation F569S within the last transmembrane  $\alpha$ -helical region of the protein. This finding shows that a highly specific uric acid-xanthine transporter can be converted, with a minimal number of amino acid substitutions, to a general purine transporter. Given the importance of nucleobases as powerful antiviral, antiparasitic and anticancer drugs, such findings are expected to have an impact on molecular pharmacology studies addressing rational drug design and application.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ, ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ, ΣΑΚΧΑΡΩΝ  
ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΟΥ ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙ-  
ΣΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΤΟ  
ΧΕΡΣΑΙΟ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟ *ALBINARIA COERULEA*  
(GASTROPODA: CLAUSELIDAE)**

**Αναγνωστοπούλου Π.<sup>1</sup>, Π. Παφίλης<sup>1</sup>, Σ. Γκιώκας<sup>2</sup> και Σ.Δ. Βαλάκος<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολ. Ζώων και Ανθρώπου, <sup>2</sup>Μουσείο Ζωολογίας, Τμήμα  
Βιολογίας, Ε. & Κ. Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15781**

Η *Albinaria coerulea* είναι βραχόβιο και έντονα ασβεστόφιλο σαλιγκάρι που εξαπλώνεται στο χώρο των Κυκλάδων, των Δωδεκανήσων και των παραλίων της Μικράς Ασίας. Στη Βραυρώνα παρατηρείται η μοναδική του εμφάνιση στην ηπειρωτική Ελλάδα που πιθανόν είναι αποτέλεσμα ανθρωπόχωρης διασποράς. Η *Albinaria coerulea* χαρακτηρίζεται, όπως και τα περισσότερα από 90 είδη του γένους, από εκτεταμένη περίοδο διαθέρισης, από τα τέλη Απριλίου μέχρι τις αρχές Οκτωβρίου. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου τα άτομα της σχηματίζουν επίφραγμα, προσκολλώνται στην επιφάνεια των βράχων ή και των ξυλωδών τμημάτων των θάμνων, σχηματίζοντας συχνά ομάδες μερικών δεκάδων ατόμων. Η παραπάνω στρατηγική επιτρέπει στο συγκεκριμένο ξηρόφιλο είδος να αντέχει στις έντονα ξηρές συνθήκες κατά τη διάρκεια της θερμής και άνυδρης περιόδου του έτους. Η μόνη μεταβολική δραστηριότητα κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου σχετίζεται με την ωρίμανση του γεννητικού συστήματος σε άτομα που έχουν ολοκληρώσει το σχηματισμό του κελύφους τους. Μετά το τέλος αυτής της περιόδου τα άτομα του πληθυσμού (το είδος αυτό όπως και η πλειονότητα των πνευμονοφόρων γαστεροπόδων είναι ερμαφρόδιτα) ζευγαρώνουν και μετά από 20 περίπου ημέρες γεννούν 5-7 αυγά. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν οι ετήσιοι κύκλοι των λιπιδίων, πρωτεϊνών, σακχάρων και προϊόντων του αναερόβιου μεταβολισμού αυτού του πνευμονοφόρου γαστεροπόδου έτσι ώστε να διαπιστωθεί με μεγαλύτερη ακρίβεια η συσχέτιση των μεταβολικών διεργασιών με τον κύκλο ζωής και τις οικολογικές απαιτήσεις και προσαρμογές του συγκεκριμένου είδους. Αντίστοιχες μελέτες για τα χερσαία μαλάκια είναι λιγοστές, και για το συγκεκριμένο γένος απουσιάζουν παντελώς. Σύμφωνα με τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο, φαίνεται ότι το επίπεδο των λιπιδίων παρουσιάζει μια έντονη ελάττωση κατά τους θερινούς μήνες οπότε το ζώο βρίσκεται σε διαθέριση. Κάτι ανάλογο παρατηρείται και στο ποσοστό των σακχάρων αν και από τον 8<sup>ο</sup> και καθόλη τη διάρκεια του χειμώνα μέχρι και τον 4<sup>ο</sup> που αρχίζει η πτώση, έχουμε μια σταθερή αύξηση στην ποσότητα τους. Οι πρωτεΐνες παρουσιάζονται σταθερές με αμελητέες αυξομειώσεις κατά τον ετήσιο κύκλο. Στην περίπτωση του γαλακτικού οξέος έχουμε μια σαφή αύξηση του ποσοστού του κατά τη διάρκεια των μηνών της διαθέρισης.

**STUDY OF LIPIDS , PROTEINS, SUGARS, AND  
PRODUCTS OF ANAEROBIC METABOLISM DURING  
THE YEAR, ON THE LAND SNAIL *ALBINARIA COERULEA*  
(GASTROPODA CLAUSILIDAE)**

**Anagnostopoulou P.<sup>1</sup>, P. Pafilis<sup>1</sup>, S. Giokas<sup>2</sup> & S.D. Valakos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, University  
of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens, Greece

<sup>2</sup>Zoological Museum, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis 15781 Athens - Greece

*Albinaria coerulea* is a rock dwelling and strongly calciculous snail, which distributes in the islands of Cyclades, Dodecanese and in the coasts of Asia Minor. In the area of Vraurona is observed the unique presence of the species in mailland, perhaps due to anthropochorous dispersion. *A. coerulea* is characterized, like most of the 90 species of the genus, from an extended period of estivation, from the end of April to the begin of October. During this period the animals create an operculum and they are attached to the surface of rocks or on the woody parts of bushes, forming groups of some tens of items. This strategy permits the species to stand a long period of aridity. The only metabolic activity during this period is related with the maturation of the genetic system in individuals that have already completed the formation of the husk. After the end of estivation, the members of the population (in this species like in the majority of pulmonates, animals are anbisexual) are copulating and 10 days later give birth to 5-7 eggs. To the present research, in a period of a whole year, lipids, proteins, sugars and products of the anaerobic metabolism have been tested. The main aim was to confirm the correlation between the metabolic procedures and the circle of life of *A.coerulea* and the ecological demands and adaptations of this particular species. Similar studies for the terrestrial mollusks are very few and for this genus are thoroughly absent. According to these analyses which are taken place to the laboratory it seems that the level of lipids are declining impressively during the summer months, when the animal is in estivation. Something similar is also observed in the proportions of the sugars but after the 8<sup>th</sup> month and until the 4<sup>th</sup> (duration from autumn to spring, including winter) when their quantity is also declining, we have a stable increase. Whereas proteins seem to maintain their percentages within the whole year with a few fluctuations. As far as lactic acid is concerned we have a clear augmentation of its level during estivation.

## ΣΧΕΣΕΙΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΩΝ ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΗ ΦΥΛΗ AVENEAE

Ανδρέου Α., Α. Δρόσου, Α. Κατσιώτης, Η. Ηλιόπουλος, Μ. Λουκάς

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

Τα ρετρομεταθετά στοιχεία αποτελούν ένα μεγάλο μέρος - σε μερικές περιπτώσεις περισσότερο από 40%- όλων των φυτικών γονιωμάτων που έχουν μελετηθεί ως τώρα. Χρησιμοποιώντας εκκινητές, από δύο συντηρημένες περιοχές της αμινοξικής ακολουθίας της ανάστροφης μεταγραφάσης των ρετρομεταθετών απομονώθηκαν ακολουθίες (περίπου 265 bp) με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης. Οι ακολουθίες των ρετρομεταθετών στοιχείων χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό φυλογενετικών σχέσεων στα διπλοειδή ( $2n=2x=14$ ) είδη *Avena clauda* ( $C_pC_p$ ), *A. strigosa* ( $A_sA_s$ ) και *Helictotrichon pubescens*, στα τετραπλοειδή ( $2n=4x=28$ ) *A. barbata* (AABB), *A. magna* (AACC) και *Arrhenatherum elatius* και στα εξαπλοειδή ( $2n=6x=42$ ) *A. sativa* (AACDD), *A. sterilis* (AACDD) που ανήκουν στη φυλή Aveneae της οικογένειας Poaceae. Οι ακολουθίες κλωνοποιήθηκαν σε pUC18/19 και αναγνωρίστηκαν με την τεχνική λήξης του πολυμερισμού με διδεοξυ τριφωσφορικά νουκλεοτίδια. Εκτιμήθηκαν οι γενετικές αποστάσεις των συνολικά 16 νουκλεοτιδικών ακολουθιών και των αμινοξικών ακολουθιών που προκύπτουν και κατασκευάστηκαν δένδρογράμματα με το φυλογενετικό πρόγραμμα Phylip. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι υπάρχει ομαδοποίηση μεταξύ ακολουθιών που ανήκουν στο ίδιο γονίωμα, γεγονός που υποδηλώνει πιθανή συντήρηση των ακολουθιών των ρετρομεταθετών στα διαφορετικά γονιώματα. Αλληλουχίες που εμφανίζουν υψηλά ποσοστά ομοιότητας μεταξύ διαφορετικών γενών και αλληλουχίες συντηρημένες στο επίπεδο του είδους παρέχουν πληροφορίες για τις εξελεκτικές σχέσεις μεταξύ των γενών και των 2x, 4x, 6x ειδών του γένους *Avena* αντίστοιχα.



## RELATIONSHIPS AMONG SPECIES IN TRIBE AVENEAЕ USING SEQUENCES OF RETRO- TRANSPOSON ELEMENTS

Andreou A., A. Drossou, A. Katsiotis, E. Eliopoulos, M. Loukas

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

Retrotransposons make up a large fraction -sometimes more than 40%- of all plant genomes investigated so far. Oligonucleotide primers for PCR were derived from two highly conserved amino acid sequence domains of retrotransposon reverse transcriptase. The obtained sequences were about 265bp and were used to describe phylogenetic relationships among *Avena* diploid species ( $2n=2x=14$ ) (*A. clauda*-C<sub>p</sub>C<sub>p</sub>, *A. strigosa*-A<sub>s</sub>A<sub>s</sub>) tetraploid species ( $2n=4x=28$ ) (*A. barbata*-AABB, *A. magna*-AACCC), hexaploid species ( $2n=6x=42$ ) (*A. sativa*-AACCCDD, *A. sterilis*-AACCCDD), *Helictotrichon pubescens* ( $2n=2x=14$ ) and *Arrhnenatherum elatius* ( $2n=4x=28$ ), all belonging to tribe Aveneae of family Poaceae. Sequences were cloned to pUC18/19 and the products were sequenced using the dideoxy chain terminator reaction. The genetic distances of 16 nucleotide sequences and their derived aminoacid sequences were calculated and dendrograms were constructed using the phylogenetic program Phylip. According to the results, sequences belonging to the same genome are clustered possibly indicating conservation of retrotransposon sequences within different genomes. Sequences showing high homology among genera and conserved sequences within the genus *Avena* provide evolutionary information for the genera and for 2x, 4x, 6x *Avena* species respectively.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΕΥΠΛΟΕΙΔΟΓΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΔΡΟΧΛΩΡΟΘΕΙΑΖΙΔΙΟΥ (HYDROCHLOROTHIAZIDE, HCTZ) ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ, *IN VITRO*

Ανδριανόπουλος Κ., Γ. Στεφάνου, Ν. Α. Δημόπουλος.

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Το HCTZ [6-χλώρο-3, 4-δίδρο-2H-1,2,4-βενζοθειαζίν-7-θειοαμίδ 1, 1-διοξειδίο] χρησιμοποιείται ως διουρητικό και αντιυπερτασικό φάρμακο. Η παρούσα εργασία αφορά τη μελέτη του μηχανισμού δημιουργίας ανευπλοειδικών φαινομένων, χρωμοσωματικής απώλειας και μη απόχωρισμού, από τη δράση της φαρμακευτικής ένωσης υδροχλωροθειαζίδιο (HCTZ) σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων, *in vitro*. Η ανίχνευση των ανευπλοειδικών φαινομένων γίνεται σε μεσοφασικά, διπύρηνα κύτταρα. Ακολουθείται η μέθοδος της αναστολής της κυτταροκίνησης (cytocinesis-block method) σε συνδυασμό με *in situ* υβριδοποίηση με φθοριοχρώματα (FISH). Υπολογίζεται επίσης η συχνότητα των μικροπυρήνων και ο ρυθμός διαίρεσης των λεμφοκυττάρων. Ο μηχανισμός της χρωμοσωματικής απώλειας εξετάστηκε στο σύνολο των χρωμοσωμάτων χρησιμοποιώντας ανιχνευτή συμπληρωματικό του κεντρομερικού  $\alpha$ -satellite DNA. Ειδικότερα, εξετάστηκαν τα χρωμοσώματα X, 8, 13/21 εάν περιλαμβάνονται μεταξύ εκείνων που οδηγούνται σε απώλεια. Επίσης εξετάστηκε εάν συμμετέχουν σε φαινόμενα μη αποχωρισμού. Ως ανιχνευτής χρησιμοποιήθηκε  $\alpha$ -satellite DNA συμπληρωματικό του κεντρομέρους των αντίστοιχων χρωμοσωμάτων.

Τα προκαταρκτικά αποτελέσματά μας έδειξαν, ότι το HCTZ προκαλεί αύξηση της συχνότητας των μικροπυρήνων και μείωση του ρυθμού πυρηνικής διαίρεσης. Η ανάλυση του περιεχομένου των μικροπυρήνων έδειξε, ότι το HCTZ προκαλεί χρωμοσωματική απώλεια. Τα χρωμοσώματα τα οποία φαίνεται ότι χάνονται είναι τα X και 8, ενώ αντίθετα τα 13/21 δεν φαίνεται να επηρεάζονται. Το HCTZ προκαλεί επίσης μη αποχωρισμό σε ρυθμό εντονότερο από τη χρωμοσωματική απώλεια. Στο φαινόμενο του μη αποχωρισμού συμμετέχουν και τα τέσσερα εξετασθέντα χρωμοσώματα. Το X χρωμόσωμα φαίνεται, ότι συμμετέχει σε μεγαλύτερο βαθμό.

## HYDROCHLOROTHIAZIDE (HCTZ) ANEUGENIC ACTIVITY AS REVEALED IN HUMAN LYMPHOCYTE CULTURES TREATED *IN VITRO*

Andrianopoulos C., G. Stephanou, N.A. Demopoulos

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

Hydrochlorothiazide [6-Chloro-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide 1,1-dioxide] has been widely used as a diuretic and antihypertensive drug. The ability of hydrochlorothiazide (HCTZ) to cause aneuploidy, chromosome loss and non disjunction, was evaluated in human lymphocyte cultures treated *in vitro*. The aneugenic effect was investigated in binucleated interphase cells as revealed after the application of cytokinesis-block method, in combination with fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The frequency of micronucleus and the nuclear division index of lymphocytes were also studied. The mechanism of chromosome loss was determined by FISH using an alphoid satellite pancentromeric probe for all human chromosomes. The induction of chromosome missegregation, chromosome loss and non-disjunction, by HCTZ was also estimated by FISH, using chromosome specific centromeric probes as X, 8, 13/21 in binucleated interphase cells. Our preliminary results have shown that: (i) the compound is able to cause micronucleus formation and cell cycle delay in human lymphocyte cultures treated *in vitro* (ii) The event leading to formation of micronucleus is chromosome loss. The chromosomes X and 8 seem to be more sensitive in chromosome loss than 13/21 (iii) Non-disjunction is also caused by HCTZ. Chromosome X seems to participate in a higher ratio than chromosomes 8 and 13/21. (iv) Comparison of the two different aneuploidy mechanisms indicated, that non-disjunction events occur more frequently than chromosome loss.

## ΔΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΕΙΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΕΝΑΝ ΦΟΡΕΑ α- ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΓΓΕΝΟΥΣ ΔΥΣΕΡΥΘΡΟ- ΠΟΙΗΤΙΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Αντωνέλου Μ.Χ., Παπασιδέρη Ι.Σ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας  
Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784

Εξετάζεται με μεθόδους κυτταρικής και μοριακής βιολογίας η παθοφυσιολογία της ερυθροειδικής σειράς σε ένα άτομο με κλινική διάγνωση συγγενούς δυσερυθροποιητικής αναιμίας το οποίο φέρει μια μεταλλαγή υπεύθυνη για α-Μεσογειακή αναιμία στο α2 γονίδιο της σφαιρίνης. Στο φωτονικό μικροσκόπιο εντοπίστηκε έντονη περιφερική ερυθροβλάστωση, ανισοποικιλοκυττάρωση και κυτταρική θραύση. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης παρατηρούνται διάφοροι τύποι κυτταροπλασματικών ιζημάτων, ηλεκτρονιόπυκνοι σχηματισμοί και μεμβρανική αστάθεια. Βιοχημική ανάλυση του κυτταροπλάσματος και των μεμβρανών, αποκάλυψε: 1) την ύπαρξη έκτοπων πεπτιδίων, ορισμένα εκ των οποίων χαρακτηρίστηκαν ανοσολογικώς, 2) ανεπάρκεια βασικών μεμβρανικών πρωτεϊνών, 3) ανοσοκατανομή των σιαλικών οξέων στις γλυκοφορίνες της μεμβράνης και 4) αύξηση της προσδετικότητας κύριων κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών στη μεμβράνη. Μοριακή ανάλυση του γενετικού τόπου των α-σφαιρινών έδειξε ότι η μεταλλαγή βρίσκεται σε “ψευδομοζυγωτία”, πιθανόν δηλαδή σχετίζεται με κάποια έλλειψη σε θέση trans. Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) σε αιμόλυμα δικτυοερυθροκυττάρων αποκάλυψε ότι, στα πρώιμα ερυθροειδικά κύτταρα παρατηρείται αύξηση στον λόγο α/β των σφαιρινικών αλυσίδων, γεγονός που δεν δικαιολογείται από τον γονότυπο της α-Μεσογειακής αναιμίας, αλλά μάλλον αποδίδεται στη συγγενή δυσερυθροποίηση στον μυελό. Συμπερασματικά, οι συνέπειες του συνδυασμού των δύο ανεξάρτητων γενετικών βλαβών φαίνονται πλειοτροπικές και αντίρροπες.

*Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από τη ΓΓΕΤ (πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ- 5060/1999 στην  
Επίκ. Καθ. Ι. Παπασιδέρη).*

## **STRUCTURAL AND FUNCTIONAL DEFECTS OF THE ERYTHROID CELLS IN A CARRIER OF $\alpha$ - THALASSEMIA WITH CONGENITAL DYSERYTHROPOIETIC ANEMIA**

**Antonelou M.H., I.S. Papassideri & L.H. Margaritis**

**University of Athens, Faculty of Biology, Department of Cell Biology & Biophysics, Panepistimiopolis, Athens 15781**

The pathophysiology of the erythroid cells in a patient with clinical history of congenital dyserythropoietic anemia, who also carries an  $\alpha$ 2-globin gene mutation responsible for a-thalassemia, is studied, by means of cellular and molecular biology approaches. Light microscope images of blood smears, revealed peripheral erythroblastosis, anisopoikilocytosis and cell fragmentation. Under transmission electron microscopy, the red blood cells exhibited various types of precipitates throughout the cytoplasm, electron-dense material and membrane instability.

Biochemical analysis of erythroid membrane and cytoplasm, revealed: 1) a range of aberrant peptides, some of which were immunologically characterized, 2) basic membrane protein deficiencies, 3) maldistribution of sialic acids in the glycoporphins and 4) increased attachment of cytoplasmic proteins in the membrane. DNA analysis in the  $\alpha$ -globin gene region, revealed a mutation in "pseudohomozygosity", probably in combination with a deletion in trans. HPLC of hemolyzed reticulocytes, showed an increase of the  $\alpha/\beta$  globin chains ratio, which is not in agreement with the a-thalassemia genotype but may be attributed to the congenital dyserythropoietic anemia. These results suggest that the consequences of the combination of these genetic defects are pleiotropic and counterbalancing.

*This project was financed by the Greek GSRT (program PENED-5060/1999 to Ass. Prof. I. Papassideri)*

**ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ ΣΥΝΕΣΤΙΑΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΤΗΣ  
ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ  
ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΣΤΑ ΔΙΑΙΡΟΥΜΕΝΑ  
ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΠΤΕΡΟΦΥΤΟΥ *Asplenium nidus***

**Αποστολάκος Π.<sup>1</sup>, Η. Quader<sup>2</sup>, Β. Γαλάτης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

<sup>2</sup>University of Hamburg, Institute of General Botany, D-22609  
Hamburg, Germany

Με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού μελετήθηκε η οργάνωση των μικροσωληνίσκων (ΜΣ) και του ενδοπλασματικού δικτύου (ΕΔ) στα διαιρούμενα κύτταρα του πτεροφύτου *Asplenium nidus*. Διαπιστώθηκε ότι μεγάλες ποσότητες ΕΔ εντοπίζονται στην περιοχή των πόλων και στο εσωτερικό της ατράκτου, στην περιοχή του φραγμοπλάστη καθώς και στην επιφάνεια της κυτταρικής πλάκας.

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της οργάνωσης των ΜΣ στα διαιρούμενα κύτταρα συνοψίζονται στα εξής: 1) Δημιουργείται ατελής προπροφασική ζώνη ΜΣ. 2) Η προφασική άτρακτος δημιουργείται από την αρχή της προπρόφασης. 3) ΜΣ της προφασικής ατράκτου συμμετέχουν στην οργάνωση της μεταφασικής ατράκτου. 4) Η μεταφασική άτρακτος αποτελείται αποκλειστικά από δέσμες ΜΣ κινητοχώρων 5) Οι interzonal ΜΣ της αναφασικής ατράκτου δημιουργούνται στην περιοχή των πόλων. 6) Η θέση των πυρήνων στα θυγατρικά κύτταρα καθορίζεται από ένα σύστημα περιπυρηνικών ΜΣ. 7) Οι περιφερειακοί ΜΣ στα θυγατρικά κύτταρα φαίνεται να σχηματίζονται στην επιφάνεια του θυγατρικού τοιχώματος.

Τα παραπάνω υποστηρίζουν ότι η οργάνωση των ΜΣ στα διαιρούμενα κύτταρα του πτεροφύτου που μελετήθηκε διαφέρει από εκείνη των αντιστοίχων κυττάρων των αγγειοσπέρμων. Αυτή είναι παρόμοια με την οργάνωση των ΜΣ των διαιρούμενων κυττάρων βρυοφύτων και γυμνοσπέρμων φυτών.

**ORGANIZATION OF MICROTUBULES AND ENDOPLASMIC RETICULUM IN DIVIDING LEAF CELLS OF THE FERN *Asplenium nidus*. A CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPE STUDY**

**Apostolakos P.<sup>1</sup>, H. Quader<sup>2</sup>, B. Galatis<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Department of Botany, University of Athens, 157 84 Athens**

**<sup>2</sup>University of Hamburg, Institute of General Botany, D-22609 Hamburg, Germany**

This work deals with the microtubule (Mt) and endoplasmic reticulum (ER) organization in dividing leaf cells of the fern *Asplenium nidus*, after immunolabeling of tubulin and of the ER residential proteins displaying the HDEL signal. We show that the ER undergoes a continuous, definite reorganization during the cell cycle. Large quantities of ER are localized in the polar regions in the interior of the metaphase and anaphase spindle, in the phragmoplast and along the cell plate plane. The preferential ER accumulation in the interzonal region during anaphase/telophase transition is described here for the first time.

With respect to Mt organization during the cell cycle the following particular features not found in angiosperms were observed in the fern examined: 1) The preprophase Mt band (PMB) remains incomplete during most of preprophase/ prophase stage. 2) The prophase spindle is formed at the beginning of preprophase and changes conformation during prophase. 3) Mt bundles from the prophase spindle seem to become incorporated into the forming metaphase spindle. 4) The metaphase spindle consists exclusively of kinetochore Mt-bundles. 5) The interzonal Mt array of the anaphase spindle probably emerges from the polar regions. 6) The perinuclear Mt array in post-cytokinetic cells seems to be involved in positioning of the daughter nuclei. 7) The cortical Mts in daughter cells reappear on the daughter wall surface.

The observations presented show that Mt organization in dividing cells of the examined fern is more similar to those of the dividing bryophyte and gymnosperm cells, than that of dividing angiosperm tissue cells.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΟΥ *Bacillus sphaericus* ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ

Απόσογλου Σ.Γ. και Σ. Ι. Κολιάης

Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Το *Bacillus sphaericus* είναι ένα σποριογόνο βακτήριο του εδάφους που παράγει τοξικές πρωτεΐνες (τοξίνες) ενάντια στα κουνούπια και επομένως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιολογικό εντομοκτόνο για την καταπολέμησή τους. Σκοπός της μελέτης αυτής είναι η απομόνωση και ο καθορισμός της ετερογένειας δειγμάτων του βακτηρίου *B. sphaericus* από τον Ελλαδικό χώρο, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει στην ταυτοποίηση τοξικών στελεχών. Το *B. sphaericus* απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε από δείγματα εδάφους που αντιπροσωπεύουν πολλές περιοχές του Ελλαδικού χώρου. Εβδομήντα πέντε από τα 103 δείγματα του βακτηρίου που απομονώθηκαν χαρακτηρίστηκαν με βάση το πολυπεπτιδικό πρότυπο των βλαστικών κυττάρων τους. Από τη μελέτη αυτή προέκυψαν 38 διαφορετικοί ηλεκτροφορέτυποι που είχαν ποικίλες διαφορές μεταξύ τους. Ηλεκτροφόρηση του πλασμιδιακού DNA 15 δειγμάτων με διαφορετικά πολυπεπτιδικά πρότυπα έδωσε ζώνες μικρού και μεγάλου μοριακού μεγέθους. Ηλεκτροφόρηση του ολικού DNA 38 αντιπροσωπευτικών δειγμάτων με διαφορετικά πολυπεπτιδικά πρότυπα, μετά από πέψη με το ένζυμο περιορισμού *EcoRI*, εμφάνισε ποικιλία προτύπων περιορισμού ανάμεσα στα δείγματα. Ανάλυση των παραπάνω 38 αντιπροσωπευτικών δειγμάτων με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) φανέρωσε την απουσία των γονιδίων για τις γνωστές τοξίνες btx και mtx-1 του *B. sphaericus* από τα δείγματα αυτά. Η μεγάλη ποικιλία στα πρότυπα που προκύπτουν από τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνει ένα μεγάλο βαθμό ετερογένειας στα δείγματα του *B. sphaericus*. Μελέτες τοξικότητας των δειγμάτων αυτών στα κουνούπια ενδέχεται να αποκαλύψουν την παρουσία τοξικών στελεχών με άγνωστα μέχρι στιγμής γονίδια τοξικών πρωτεϊνών του βακτηρίου αυτού.



## **A STUDY OF THE HETEROGENEITY OF *Bacillus sphaericus* FROM GREECE**

**Aptosoglou S.G. & S.I. Koliais**

**Laboratory of General Microbiology, Department of Biology, Aristotelian University of Thessaloniki**

*Bacillus sphaericus* is a spore-forming soil bacterium that produces toxic proteins against mosquitoes. It can therefore be used as a biological mosquitocide. The scope of the present study was the isolation and determination of the heterogeneity *B. sphaericus* from Greece. This could lead to the identification of toxic strains. *B. sphaericus* was isolated and identified from soil samples corresponding to many parts of Greece. 75 of the 103 isolates of this bacterium were characterized according to the polypeptide profiles of their vegetative cells. This study revealed 38 different electrophoretotypes. Electrophoresis of the plasmid DNA of 15 isolates with different polypeptide profiles gave bands of plasmid DNA of high and low electrophoretic mobility. Electrophoresis of the *Eco*RI-digested total DNA of 38 representative isolates with different polypeptide profiles showed a variety of restriction patterns among the isolates. PCR analysis of the above 38 isolates revealed the absence of the genes of the known toxins btx and mtx-1 of *B. sphaericus* in these isolates. The great variety in the patterns resulting from this study suggests a great heterogeneity among the Greek *B. sphaericus* isolates. Toxicity assays of the present isolates against mosquitoes may reveal the presence of toxic strains of this bacterium possessing novel toxin genes.

## Η ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΕΤΑΛΩΝ

**Αργυρόπουλος Α.Φ. και Σ. Ριζοπούλου**

**Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη 15781 Αθήνα**

Στην εργασία αυτή παρατηρήθηκαν τα επιδερμικά κύτταρα πετάλων (σε ορισμένες περιπτώσεις τεπέλων) από άνθη φυτικών ειδών της Ελληνικής χλωρίδας. Η μελέτη των πετάλων έγινε μικροσκοπικά, σ' επιφανειακές κι εγκάρσιες τομές του φυτικού υλικού. Παρατηρήθηκε ότι τα επιδερμικά κύτταρα παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία μεταξύ πετάλων διαφορετικών ανθέων, όπως επίσης μεταξύ διαφορετικών σημείων ενός πετάλου, σε ορισμένα άνθη (π.χ. τα επιδερμικά κύτταρα στην άνω και κάτω επιφάνεια πετάλων *Eruca sativa*). Στα πέταλα των περισσότερων ανθέων παρατηρήθηκαν στόματα, τα καταφρακτικά κύτταρα των οποίων φαίνονται, όσον αφορά τη δομή και τη δυναμική τους, όμοια με τα καταφρακτικά κύτταρα των στοματικών συμπλόκων των φύλλων. Παρατηρήθηκε αγγειακό σύστημα σε όλα τα πέταλα, με επικρατούντα τα ελικόγλυπτα αγγεία. Επίσης, στα επιδερμικά κύτταρα μερικών πετάλων βρέθηκαν τρίχες, κυτταρικά έγκλειστα (κρυσταλλώδεις αδένες), ενώ στα πέταλα άλλων φυτικών ειδών παρατηρήθηκαν κύτταρα με ραφίδες.

*Αυτό το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών.*

## **THE MORPHOLOGY OF EPIDERMAL CELLS IN PETALS**

**Argyropoulos A.F. & S. Rhizopoulou**

**Section of Botany, Biology Department, University of Athens,  
Panepistimiopolis, 157 81 Athens - Greece**

In the present study, epidermal cells of petals from flowers of plant species growing in the Mediterranean ecosystem, have been observed. It appears that the epidermal cells of petals differ among species, as well as between areas of the same petal. It is likely that guard cells can be observed in the majority of petals (from various flowers). Extensive vessels characterize all petals, though, the helical vessels predominate. Also, on the surface of several petals trichomes and crystal inclusions have been observed.

*This research was supported by the Special Research Account of Athens University.*

## ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΝΟΣ ΦΥΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ-ΞΑΝΘΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Aspergillus nidulans*

Αργυρού Ε.<sup>1</sup>, Γ. Διαλλινάς<sup>2</sup>, Ν. Schultes<sup>3</sup> και Β. Σοφianoπούλου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Ινστιτούτο Βιολογίας, Αγία Παρασκευή, 15310, Αθήνα, Ελλάδα <sup>2</sup>Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15180, Ελλάδα, <sup>3</sup>Department of Biochemistry & Genetics, The Connecticut Agricultural Experiment Station, New Haven CT 06511, USA.

Οι νουκλεοτιδικές βάσεις και το ασκορβικό οξύ παίζουν σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη και αύξηση των φυτών. Ωστόσο, ελάχιστα είναι γνωστά για τους μεταφορείς που είναι υπεύθυνοι για την κυτταρική πρόσληψη και ανακατανομή των μεταβολιτών αυτών. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζουμε τη λειτουργική ανάλυση της πρωτεΐνης Lpe1 του καλαμποκιού η οποία είναι όμοια με μεταφορείς πουρινών-ασκορβικού μικροοργανισμών και θηλαστικών, εκφράζοντάς την στον ασκομύκητα *Aspergillus nidulans*. Το γονίδιο *lpe1* κλωνοποιήθηκε σε κατάλληλο φορέα έκφρασης και εισήχθη σε μεταλλαγμένο στέλεχος του *A. nidulans* που έχει χάσει την ενδογενή ικανότητα μεταφοράς πουρινών. Τα μετασηματισμένα στελέχη απέκτησαν την ικανότητα πρόσληψης ουρικού οξέως και ξανθίνης. Βιοχημικές, γενετικές και μοριακές μελέτες έδειξαν ότι η ικανότητά τους αυτή οφείλεται στην έκφραση του φυτικού γονιδίου *lpe1* και εξαρτάται από τον αριθμό αντιγράφων του γονιδίου που έχουν ενσωματωθεί στο γονιδίωμα του *A. nidulans*. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι η υπερέκφραση της Lpe1 σε στελέχη που φέρουν >10 αντίγραφα του *lpe1* οδηγεί σε μειωμένο ρυθμό αύξησης του *A. nidulans* σε διάφορες πηγές αζώτου και την πλήρη απώλεια της ικανότητας μεταφοράς ουρικού οξέος και ξανθίνης. Η κινητική ανάλυση της πρόσληψης ξανθίνης έδειξε ότι η Lpe1 παρουσιάζει ιδιαίτερη εξειδίκευση για τις οξειδωμένες πουρίνες, τις οποίες δεσμεύει με υψηλή συνάφεια και μεταφέρει με εξαιρετική απόδοση. Επιπλέον η δράση της Lpe1 φαίνεται να αναστέλλεται παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ασκορβικού οξέος. Η τελευταία παρατήρηση, καθώς και η ομοιότητα της Lpe1 με μεταφορείς πουρινών, πυριμιδινών και ασκορβικού μικροοργανισμών και θηλαστικών, υποδεικνύουν ότι η εξειδίκευση των πρωτεϊνών της οικογένειας αυτής καθορίζεται από ένα μικρό αριθμό αμινοξέων της αλληλουχίας τους. Η παρατήρηση αυτή ίσως αποδειχτεί εξαιρετικά ωφέλιμη στο σχεδιασμό και την επανεκτίμηση φαρμάκων που έχουν σαν βάση τους τη δομή βάσεων και ασκορβικού οξέος.

## FUNCTIONAL IDENTIFICATION OF A PLANT URIC ACID-XANTHINE TRANSPORTER IN THE MODEL FUNGUS *Aspergillus nidulans*

Argyrou E.<sup>1</sup>, G. Diallinas<sup>2</sup>, N. Schultes<sup>3</sup> and V. Sophianopoulou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.C.S.R. "Demokritos", Institute of Biology, 15310 Aghia Paraskevi, Attiki, Greece, <sup>2</sup>Microbiology laboratory, Department of Biology, University of Athens, Athens 15701, Greece and <sup>3</sup>Department of Biochemistry & Genetics, The Connecticut Agricultural Experiment Station, New Haven CT 06511, USA

Although nucleobase and ascorbate biochemistry play important roles in plant growth and development, little is known on their intra- and inter-cellular transport. Here we describe the functional analysis of Lpe1, a protein from maize similar to nucleobase-ascorbate transporters (1-3), by functional expression in *Aspergillus nidulans*. Upon introduction of the *lpe1* gene, cloned into an appropriate expression vector, into an *A. nidulans* mutant strain lacking its endogenous capacity to transport purines, transformants isolated acquired the capacity to transport uric acid and xanthine. Further biochemical, genetic and molecular analyses showed that the capacity for uric acid-xanthine transport was directly dependent on the number of *lpe1* copies integrated in the genome of *A. nidulans*. Interestingly, over-expression of Lpe1 from >10 gene copies resulted in transformants with pleiotropically reduced growth rates on various nitrogen sources and the absolute inability to transport purines. Further kinetic analysis established that Lpe1 is a specific, high-affinity (Km approx. 25  $\mu$ M), high-capacity transporter for xanthine and uric acid. Most interestingly, competition studies showed that high concentrations of ascorbic acid inhibit Lpe1 transport activity. This finding and the observation that Lpe1 is similar to both microbial nucleobase transporters and mammalian ascorbate transporters strongly suggest that the specificity of members of this family of proteins for nucleobases or ascorbate is determined by a low number of amino acid changes in their primary sequences. The significance of this observation might prove important in the design and reevaluation of drugs related to nucleobases or ascorbate.

1. De Koning, H. and Diallinas, G. (2000) Mol Membr Biol, in press

2. Diallinas, G. et al., (1998) *EMBO J.* 17, 3827 – 3837.

3. Schultes, N. et al., (1996) *Plant Cell* 8, 463-475.

*This work was partially supported by "Αμφοτέρων" and "ΠΕΝΕΔ 99" to V.S. and "ΕΑΚΕ" to G.D.*

**ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ CuZn ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗΣ ΔΙΣ-  
ΜΟΥΤΑΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΕΙΔΟΣ *Drosophila sechellia* ΣΕ  
ΚΥΤΤΑΡΑ *Escherichia coli* ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝ-  
ΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΩΝ  
ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ PARAQUAT**

**Αρχοντάκη Κ., Κ. Τσερπίσταλη, Σ. Τσάκας, Μ. Λουκάς  
Η. Ηλιόπουλος**

**Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55**

Η CuZn υπεροξειδική δισμουτάση (CuZn SOD ) αποτελεί ένα από τα κύρια αμυντικά συστήματα των οργανισμών έναντι της τοξικής δράσης των όξινων ριζών μετατρέποντας το υπεροξειδικό ανιόν ( $O_2^{\cdot-}$ ) σε  $H_2O_2$  και  $O_2$ . Στην εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε η έκφραση του γόνου της CuZn Sod του είδους *Drosophila sechellia* σε βακτηριακά κύτταρα με στόχο τη μελέτη της δράσης της υπό την επίδραση τοξικών παραγόντων.

Προκειμένου να απομονωθεί μόνο η κωδική περιοχή του γόνου της CuZn SOD, ο γόνος ενισχύθηκε με την τεχνική της αντίστροφης μεταγραφής (RT-PCR) με μήτρα το πληροφοριακό RNA και με τη χρησιμοποίηση κατάλληλων εκκινήτων. Η κλωνοποίηση έγινε στο φορέα έκφρασης pET-20b(+) και ελέγχθηκε με νουκλεοτιδική ανάλυση η εισαγωγή του γόνου στο σωστό αναγνωστικό πλαίσιο και η τυχόν παρουσία υποκαταστάσεων που μπορούν να μεταβάλλουν την αμινοξική αλληλουχία κατά τη μετάφραση του γόνου. Η έκφραση πραγματοποιήθηκε σε κύτταρα AD494(DE3)pLysS. Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη εντοπίστηκε μετά από ηλεκτροφόρηση του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος των βακτηριακών κυττάρων σε πηκτή πολυακρυλαμίδης 15%. Επιπλέον διαπιστώθηκε η ενεργότητα της ανασυνδυασμένης CuZn SOD με ειδική μέθοδο επιλεκτικής χρώσης.

Η επίδραση του paraquat (ως παράγοντα δημιουργίας όξινων ριζών) σε καλλιέργειες ανασυνδυασμένων βακτηριακών κυττάρων μαρτυρά τη σχετικά αυξημένη ανθεκτικότητά τους έναντι των βακτηριακών κυττάρων που δεν υπερεκφράζουν τη CuZn SOD (στέλεχος – μάρτυρας). Η ανθεκτικότητα αυτή σχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση του paraquat στις καλλιέργειες που αναπτύσσονται τα κύτταρα.

**OVEREXPRESSION OF CuZn SUPEROXIDE  
DISMUTASE FROM *Drosophila sechellia* in *Escherichia coli*  
AND TOLERANCE STUDIES OF TRANSFORMED  
CELLS IN PARAQUAT**

**Arxontaki, K., K. Tserpistali, S. Tsakas, M. Loukas,  
E. Eliopoulos**

**Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology,  
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, Athens 118 55, Greece**

CuZn superoxide dismutase (CuZn SOD) protects the organisms against the toxic reactive oxygen metabolites by catalyzing the conversion of superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) to  $H_2O_2$  and  $O_2$ . In this study the gene of the CuZn SOD from *Drosophila sechellia* has been cloned and expressed in bacterial cells in order to study the protein's function.

The gene has been amplified using the RNA of the *D.sechellia*, a properly designed pair of primers and the reverse transcription technique (RT-PCR), in order to amplify only the coding region of the gene. The amplification product was cloned to the plasmid pET-20b(+). The clone was sequenced to determine the gene insertion in the right reading frame and to make sure the absence of nucleotide substitutions that can change the amino acid sequence during the translation of the cloned gene. The expression was made in AD494(DE3)pLysS cells and the induction took place for 5 hours in addition of IPTG in the LB liquid medium. The overexpressed recombinant protein was localized with electrophoresis of the bacterial protein extract in 15% polyacrylamide gel. In addition it was detected that the expressed protein was active using a selective assay applicable to acrylamide gels for superoxide dismutase.

The effect of paraquat (a herbicide that causes the production of oxygen free radicals) in bacterial cells with the recombinant CuZn SOD gene, results in relatively higher resistance in regard with the effect of paraquat in bacterial cells that do not overexpress the CuZn SOD (non recombinant cells). This effect is directly associated with the concentration of paraquat added to the liquid medium in which the bacterial cells are incubated.

## ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΥΠΟ-ΟΜΑΔΟΣ *melanogaster* ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Drosophila* ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΙΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΤΟΥ ΓΟΝΟΥ ΤΗΣ CuZn ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗΣ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗΣ

Αρχοντάκη Κ., Π. Καστάνης, Σ. Τσάκας, Μ. Λουκάς,  
Η. Ηλιόπουλος

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Στην εργασία αυτή προσδιορίστηκαν οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες του γόνου της CuZn υπεροξειδικής δισμουτάσης (CuZn SOD) 1550 βάσεων περίπου στα είδη της υποομάδος *melanogaster* και σύμφωνα με τα μοριακά αυτά δεδομένα αναλύονται οι φυλογενετικές σχέσεις των ειδών της υποομάδος αυτής. Στην περίπτωση όπου για την κατασκευή των φυλογενετικών δέντρων λήφθηκαν υπόψη μόνο οι αλληλουχίες του ιντρονίου της CuZn SOD, χρησιμοποιήθηκε παράλληλα η αντίστοιχη αλληλουχία του είδους *D. virilis* ως εξωτερικό είδος. Το αποτέλεσμα που προκύπτει από την ανάλυση αυτή συνοψίζεται στο διαχωρισμό των ειδών σε δύο συμπλέγματα με μικρές μόνο διαφοροποιήσεις. Συμπερασματικά η τοπολογία που προκύπτει από τη μελέτη αυτή είναι σύμφωνη με την κατάταξη των ειδών που έχει μέχρι τώρα καθοριστεί με βάση τόσο μορφολογικά όσο και μοριακά δεδομένα.

Η αμινοξικές αλληλουχίες της πρωτεΐνης CuZn SOD των ειδών της υποομάδος *melanogaster*, που προκύπτει από τη μετάφραση των εξονίων, αποκαλύπτουν ένα υψηλό ποσοστό συντήρησης. Ο πολυμορφισμός περιορίζεται στο 3.9% του συνόλου των αμινοξικών θέσεων και δεν εντοπίζεται σε αμινοξέα με πρωτεύοντα λειτουργικό ή δομικό ρόλο. Η σύγκριση της αμινοξικής αλληλουχίας της CuZn SOD των ειδών της υποομάδος *melanogaster* με την αντίστοιχη αλληλουχία των ειδών *Bos taurus* και *Xenopus laevis*, των οποίων η τριτοταγής δομή έχει αναλυθεί, αποκαλύπτει ότι όλα τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου είναι συντηρημένα, καθώς και ότι οι υποκαταστάσεις περιορίζονται σε θέσεις όπου η αλλαγή ηλεκτρονικού φορτίου ή πολικότητας δεν φαίνεται σημαντική.



## PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *Drosophila melanogaster* SUBGROUP SPECIES BASED ON CuZn SUPEROXIDE DISMUTASE GENE SEQUENCES

Arxontaki K., P. Kastanis, S. Tsakas, M. Loukas, E. Eliopoulos

Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology,  
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, Athens 118 55, Greece.

Phylogenetic relationships among the *Drosophila melanogaster* subgroup species were analyzed using sequences of the CuZn superoxide dismutase (CuZnSOD) gene of approximately 1550 nucleotide long. Phylogenetic analysis was performed using the whole region and separately the intron sequences of the gene. Both phylogenetic trees of the examined species revealed almost the same topology separating the species in distinct clusters. When using the CuZn SOD gene intron sequences and the respective sequences of *D.virilis* as an outgroup two main phylogenetic clusters are formed. The first include the species [*D. melanogaster* (*D. mauritiana* (*D. simulans*, *D. sechellia*))] and the second the pairs [*D. orena*, *D. erecta*] and [*D. teissieri*, *D. yakuba*]. Using several phylogenetic algorithms the only difference remains to the local topology of the triplet species. Conclusively the inferred topology generally agrees with the classification that has been proposed until now based on morphological and molecular data.

The amino acid sequences of the CuZn SOD of the *D. melanogaster* subgroup species reveal a high conservation pattern. The variation sites are only the 3.9% of the total amino acid sequence and they are positioned in the structure in areas not affecting function or the major 3D structural elements. The comparison of the drosophila's CuZn SOD amino acid sequences with the CuZn SOD of the *Bos taurus* and *Xenopus laevis*, which 3D structure has been elucidated, shows a high conservation on all the protein's functionally important amino acids and substitutions that do not change charge or polarity of the amino acids.

## ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΩΝ ΣΕ ΔΥΟ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ ΕΝΤΟΜΑ, ΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ, *Ceratitis capitata*, ΚΑΙ ΤΟ ΔΑΚΟ, *Bactrocera oleae*

Αυγουστίνος Α.<sup>1</sup>, Η. Στρατικόπουλος<sup>1</sup>, Κ.Α. Μαθιόπουλος<sup>1</sup>,  
Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου<sup>2</sup>, Α. Μίντζας<sup>1</sup> και Α. Ζαχαροπούλου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστημίου Πατρών

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Οι μικροδορυφόροι είναι μικρές, διαδοχικές επαναλήψεις μιας απλής νουκλεοτιδικής αλληλουχίας και αποτελούν κοινό χαρακτηριστικό των ευκαρυωτικών γονιδιωμάτων. Ο μεγάλος αριθμός τους, η τυχαία κατανομή τους στο γονιδίωμα, καθώς και ο υψηλός βαθμός πολυμορφισμού που τους χαρακτηρίζει, τους καθιστούν ιδιαίτερα χρήσιμους τόσο στη γενετική ανάλυση όσο και σε πληθυσμιακές μελέτες. Ο τρόπος κληρονομιάς τους, ως συνυπερέχοντες Μενδελικοί χαρακτήρες, σε συνδυασμό με τον υψηλό βαθμό πολυμορφισμού διευκολύνει τη γενετική χαρτογράφησή τους μέσω του γενετικού ανασυνδυασμού. Χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτές τα συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια (AT)<sub>15</sub>, (GC)<sub>15</sub>, (AC)<sub>15</sub> και (GA)<sub>15</sub>, έγινε διαλογή σε ειδικές γονιδιωματικές βιβλιοθήκες που κατασκευάστηκαν από ώριμα άτομα και για τα δύο είδη εντόμων, *Ceratitis capitata* και *Bactrocera oleae*. Η απομόνωση και περαιτέρω ανάλυση των θετικών κλώνων έδειξε τη παρουσία ενός σημαντικού αριθμού μικροδορυφόρων και για τα δύο είδη. Παράλληλα, η ανάλυση της πρωτοδιάταξης των κλώνων αυτών αποκάλυψε τη φύση και το μέγεθος των διαφόρων μικροδορυφόρων. Επιπλέον, *in situ* υβριδοποίηση στα πολυταινικά χρωμοσώματα των ειδών αυτών, καθόρισε και τη θέση τους στα χρωμοσώματα. Αν κι ένας αριθμός μικροδορυφορικών κλώνων που εξετάστηκαν έδειξαν να εντοπίζονται σε πολλαπλές θέσεις στο γονιδίωμα, εν τούτοις βρέθηκαν και κλώνοι με μοναδική θέση. Ο βαθμός πολυμορφικότητας συγκεκριμένων μικροδορυφορικών κλώνων προσδιορίστηκε μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε γονιδιωματικό DNA και επακόλουθης ηλεκτροφόρησης των προϊόντων PCR. Το DNA προερχόταν από ώριμα άτομα διαφόρων εργαστηριακών στελεχών, καθώς και από άτομα προερχόμενα από φυσικούς πληθυσμούς. Η *in situ* υβριδοποίηση των μικροδορυφορικών δεικτών στα πολυταινικά χρωμοσώματα, καθώς και η πολυμορφική τους φύση καθιστά δυνατή τη συσχέτιση των γενετικών και κυτταρολογικών χαρτών, διευκολύνοντας έτσι την κατασκευή λεπτομερών κυτταρογενετικών χαρτών στα δύο αυτά είδη.

**ISOLATION AND ANALYSIS OF MICROSATELLITE REPEATS IN TWO INSECT SPECIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, MEDFLY, (*Ceratitis capitata*) AND DACUS (*Bactrocera oleae*).**

**Avgustinos A.<sup>1</sup>, H. Stratikopoulos<sup>1</sup>, K.D. Mathiopoulos<sup>1</sup>, P. Mavragani-Tsipidou<sup>2</sup>, A. Mintzas<sup>1</sup> & A. Zacharopoulou<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Biology, University of Patras

<sup>2</sup>Department of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

Microsatellites are tandem arrays of simple sequence repeats that are common in eukaryotic genomes. Their great number, their random distribution in the genome and the high degree of polymorphism that characterizes them, makes them extremely useful not only in genetic analysis but also in population studies. Their codominant inheritance in combination with the high degree of polymorphism facilitates their genetic mapping through recombination. Screening of specific genomic DNA libraries from adults of both species (medfly and dacus) was performed using the synthetic oligonucleotides (AT)<sub>15</sub>, (GC)<sub>15</sub>, (AC)<sub>15</sub> and (GA)<sub>15</sub> as probes. The isolation and further analysis of positive clones demonstrated the presence of a large number of microsatellites in both species.

Furthermore, nucleotide sequence analysis revealed the nature and the length of each microsatellite. Additional studies using *in situ* hybridization on the polytene chromosomes of these species defined their exact position on the chromosomes. Despite the fact that a number of the examined microsatellite clones were localized at multiple sites on the chromosomes, there were also clones that mapped at a unique site on the genome. The degree of polymorphism of specific microsatellite clones was determined by PCR and subsequent electrophoresis of genomic DNA from adults from both species, either from laboratory strains or natural populations. The *in situ* hybridization of the microsatellite markers on the polytene chromosomes as well as their polymorphic nature will greatly facilitate the construction of detailed cytogenetic maps in both species.

## ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΥΠΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ ΣΟΓΙΑΣ

**Βαρσαμή Ζ.Μ., Ε.Α. Κατσίφας και Α.Δ. Καραγκούνη**

**Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη 15781 Αθήνα**

Σόγια είναι η κοινή ονομασία του φυτού *Γλυκίνη*, το οποίο έχει ιδιαίτερη οικονομική αξία. Οι ΜΥΛΟΙ ΣΟΓΙΑΣ Α.Ε. είναι η μεγαλύτερη ελληνική βιομηχανία που εισάγει καρπούς σόγιας από τις Η.Π.Α. για την παραγωγή λαδιού και αλευριού από σόγια. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι τα προϊόντα της σόγιας εκτός από τη διατροφική τους αξία έχουν επιπρόσθετα και ορισμένες ωφέλιμες επιδράσεις στην υγεία. Το αλεύρι σόγιας που παράγεται από την ελληνική βιομηχανία, είναι μια θαυμάσια πηγή πρωτεΐνης υψηλής ποιότητας (42-44%) και υδρογονανθράκων, έχει λίγα κεκορεσμένα λίπη και καθόλου χοληστερόλη. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των καρπών της σόγιας, παραμένει σαν απόβλητο ένας σωρός από ξυλώδεις προσμίξεις.

Οι ξυλώδεις προσμίξεις της σόγιας χρησιμοποιήθηκαν για έναν εκτεταμένο μικροβιακό έλεγχο και απομονώθηκαν αρκετά στελέχη βακτηρίων, ζυμών και μυκήτων. Επιλέχθηκε το στέλεχος *Paecilomyces variotii*. Είναι γνωστό ότι τα στελέχη του *Paecilomyces variotii* έχουν χρησιμοποιηθεί για τον εμπλουτισμό αρκετών αποβλήτων σε μικροβιακή πρωτεΐνη εξαιτίας της ικανότητάς τους να αναπτύσσονται σε μια ποικιλία πολύ επιβαρημένων βιομηχανικών αποβλήτων. Το στέλεχος που απομονώθηκε χρησιμοποιήθηκε σαν εμβόλιο σε πειράματα στερεών ζυμώσεων, όπου το υπόστρωμα ήταν οι ξυλώδεις προσμίξεις της σόγιας που προηγουμένως είχαν αλεστεί. Τα ζυμωμένα προϊόντα εξετάστηκαν ως προς τον εμπλουτισμό τους σε συνολικό πρωτεϊνικό περιεχόμενο με τον *Paecilomyces variotii* κάτω από διάφορες φυσικοχημικές συνθήκες. Σκοπός μας ήταν να εμπλουτίσουμε το αλεύρι της σόγιας με τα ζυμωμένα προϊόντα, ώστε να αυξηθεί το συνολικό πρωτεϊνικό περιεχόμενό του.

## MICROBIAL TREATMENT OF SOYA INDUSTRY BY-PRODUCTS

Varsami Z.M., E.A. Katsifas & A.D. Karagouni

Section of Botany, Department of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis 15781 Athens

Soya is the common name of the plant *Glycine max* which has a particular financial value. MYLOI SOYA Ltd. is the biggest Greek industry that imports soya beans from U.S.A. for the production of soya flour and oil. Recent research has indicated that soya products have several beneficial effects on health in addition to its nutritional benefits. Soya flour produced by the Greek industry, is an excellent source of high quality protein (42-44%) and hydrocarbons, is low in saturated fats and cholesterol free. During soya beans sieving, a bulk of soya stems remains as a waste.

The soya stems waste was used for an extensive microbial screening and several strains of bacteria, yeasts and fungi were isolated. A *Paecilomyces variotii* strain was selected. It is known that strains of *Paecilomyces variotii* have been utilised for the enrichment in microbial protein in several wastes because of their excellent ability to grow in a variety of highly polluting industrial effluents. The isolated strain has been used as inoculum in solid state fermentation experiments using grated soya stems as substrate. In fermented products were examined for their enrichment in total protein content with *P. variotii* under various physicochemical conditions.

Our aim was to use these fermented products as an enrichment of soya flavour in order to increase the total protein content.

## ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ $\alpha$ 1-ΟΞΙΝΗΣ ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΡΘΡΙΚΟΥ ΥΜΕΝΑ

Βασιλειάδου Κ., Λ. Χατζηπέτρου και Μ. Γιάγκου

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,  
Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006, Θεσ/νίκη

Η Πειραματική Αρθρίτιδα (ΑΑ) των αρουραίων, είναι ως ένα μοντέλο αυτοανοσίας για την ρευματοειδή αρθρίτιδα του ανθρώπου. Χαρακτηριστική ανοσοβιολογική παράμετρος της ΑΑ είναι και διάφορες πρωτεΐνες οξείας φάσης, όπως η  $\alpha$ 1-όξινη γλυκοπρωτεΐνη (ΑGP). Προηγούμενες μελέτες μας έδειξαν: α) ότι το δηλητήριο της μέλισσας (HBV) προκαλεί καταστολή της ΑΑ στους αρουραίους και μειώνει τα επίπεδα της ΑGP στα αρχικά στάδια επαγωγής της νόσου, και β) ότι η ΑGP πιθανά συμμετέχει στο μηχανισμό επαγωγής αρθρίτιδας. Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η μελέτη της πιθανής τοπικής δράσης της ΑGP στις αρθρώσεις των ΑΑ αρουραίων. Αυτό μελετήθηκε με δύο τρόπους: με τη δημιουργία ραχιαίου αεροθύλακα σε φυσιολογικούς και ΑΑ αρουραίους, και τοπικά στην άρθρωση (αρθρική μεμβράνη) φυσιολογικών και ΑΑ αρουραίων. Ως παράγοντας καταστολής της ΠΑ χρησιμοποιήθηκε το HBV. Το μοντέλο του ραχιαίου αεροθύλακα επιλέχθηκε γιατί προσομοιάζει ικανοποιητικά τις διεργασίες που συντελούνται στην άρθρωση. Παρατηρήθηκε ότι στο αρθρικό υγρό των ΑΑ αρουραίων και στον ορό υπάρχουν αυξημένα επίπεδα ΑGP, ιδιαίτερα στις 14 και 21 ημέρες. Επίσης αυξημένα ήταν και τα επίπεδα της πρωτεΐνης αυτής στο εξίδρωμα του αεροθύλακα. Επιπλέον, η χορήγηση του HBV που καταστέλλει την ΑΑ των αρουραίων, προκαλεί ελάττωση της ΑGP. Η ΑGP που ανιχνεύεται στο αρθρικό υγρό πιθανά να παράγεται από μακροφάγα που εντοπίζονται στον αρθρικό υμένα. Με ανοσοκυτταροχημική μέθοδο ανιχνεύθηκαν κύτταρα που παράγουν ΑGP στο αρθρικό υγρό. Στα αρθρικά ζώα ο αριθμός των κυττάρων που παράγουν ΑGP είναι περίπου επταπλάσιος συγκριτικά με τα φυσιολογικά και το δηλητήριο της μέλισσας μειώνει τον αριθμό των θετικών αυτών κυττάρων σε ένα ποσοστό 50%. Επίσης, ο αριθμός των κυττάρων που παράγουν ΑGP και IL-6 στον αρθρικό υμένα, όπως προέκυψε από ανοσοανίχνευση, είναι αρκετά μεγάλος. Τα αποτελέσματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι η ΑGP συμμετέχει στο μηχανισμό επαγωγής της αρθρίτιδας και αυτό γίνεται πιθανά με την παραγωγή της ΑGP τοπικά, από μακροφάγα του αρθρικού υμένα.

## **PRODUCTION OF A1-ACID GLYCOPROTEIN (AGP) BY SYNOVIAL CELLS**

**Vasileiadou K., L. Xatzipetrou-Kourounakis & M. Yiangou**

**Department of Genetics, Development & Molecular Biology,  
School of Biology, Aristotelian University, 54006, Thessaloniki, Greece**

Adjuvant Arthritis (AA) in rats is considered to be an experimental model of autoimmunity. It resembles Rheumatoid Arthritis (RA) in human. Specific immunological parameters in AA are many acute phase proteins such as a1-acid glycoprotein (AGP). Our previous studies have shown that a) Honey bee venom (HBV) suppresses AA symptoms in rats and reduces AGP's levels, and b) AGP is possible to participate in the induction mechanism of arthritis.

The purpose of this study is to detect any local action of AGP on the synovial membrane of AA rats. First, we used air pouch's model in normal and AA rats. Then we used immunocytochemistry technics to study the production of AGP locally on synovial membrane of normal and AA rats.

Levels of AGP in the synovial fluid of AA rats were higher especially on 14<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day post FCA injection. The same pattern was found in the extracts from air pouches. Furthermore, HBV suppresses AA symptoms and reduces AGP levels. We think that AGP in synovial fluid is produced by macrophages of the synovial membrane. With immunocytochemistry we detected cells, which produce AGP in synovial fluid. In AA animals the number of these AGP positive cells is higher than in normal rats. HBV reduces this number of positive cells about 50%. We have also detected many AGP and IL-6 positive cells on synovial membrane.

These results, support our previous observations suggesting that AGP is involved somehow in the pathogenesis of arthritis and this occurs possibly with the production of this protein locally by macrophages of synovium.

## ***Bactrocera oleae*: ΘΕΡΜΟΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ**

**Βεργανελάκη Α., Β. Τάτση, Ι. Καρπουχτσής  
και Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου**

**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006, Θεσ/νίκη**

Το έντομο *Bactrocera oleae* (*Dacus oleae*), ο γνωστός δάκος της ελιάς, θεωρείται ως ένα από τα πλέον βλαβερά έντομα, δεδομένου ότι προκαλεί τεράστιες καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή. Η καταπολέμηση και ο έλεγχος του, μέχρι σήμερα, γίνεται αποκλειστικά με τη χρήση χημικών εντομοκτόνων. Οι γνωστές καταστροφές, που επιφέρουν οι ουσίες αυτές στο οικοσύστημα, κάνουν επιτακτική την ανάγκη ανεύρεσης μεθόδων βιολογικού ελέγχου. Η αποτελεσματικότητα τέτοιων μεθόδων, εξαρτάται άμεσα από τη γνώση της βιολογίας του εντόμου αυτού. Είναι γνωστό ότι η θερμοκρασία ως περιβαλλοντικός παράγοντας επηρεάζει τη βιωσιμότητα, τα φυσιολογικά συστήματα και τον κύκλο ζωής όλων των οργανισμών. Παρά το γεγονός ότι παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις, οι ζωικές δραστηριότητες περιορίζονται σε ένα μικρό εύρος τιμών, το οποίο διαφέρει μεταξύ των οργανισμών. Η αντοχή ενός οργανισμού στην άνοδο της θερμοκρασίας είναι μεγάλης σημασίας τόσο για την επιβίωση του όσο και για την ολοκλήρωση του κύκλου ζωής του.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ανθεκτικότητα του *B. oleae*, του εργαστηριακού στελέχους, σε υψηλές θερμοκρασίες. Το στέλεχος αυτό διατηρείται στο εργαστήριό μας σε συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  και σχετικής υγρασίας 65-70%. Συγκεκριμένα, αυγά, προνύμφες και ενήλικα άτομα του *B. oleae* εκτέθηκαν σε διαφορετικές τιμές θερμοκρασίας για διάφορα χρονικά διαστήματα και υπολογίστηκε η τιμή  $LT_{50}$  (lethal temperature 50%) για κάθε αναπτυξιακό στάδιο, δηλαδή η θερμοκρασία που προκαλεί θάνατο στο 50% των ατόμων. Ως σύστημα ελέγχου χρησιμοποιήθηκε το εργαστηριακό στέλεχος *Drosophila melanogaster*, που διατηρείται στις ίδιες συνθήκες, με σκοπό τη σύγκριση των δύο πληθυσμών ως προς την θερμοανθεκτικότητά τους.



## ***Bactrocera oleae*: THERMOTOLERANCE**

**Verganelaki A., V. Tatsi, I. Karpouhtsis  
& P. Mavragani-Tsipidou**

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

*Bactrocera oleae* is a major pest of the olive fruit causing great economic losses in all Mediterranean countries. Although, there is a considerable interest in biological control, its control, up to now, is based exclusively on chemical insecticides. However, their disadvantages on the ecosystem call for the need of the development of methods of its biological control. The knowledge of the biology of this insect is essential for the development of such methods. It is well known that temperature is an environmental factor which affects the physiology and the life cycle of the organisms. In the present study the thermo-tolerance of eggs, larvae and adults of the standard laboratory population of *B. oleae* was examined. The LT<sub>50</sub> (lethal temperature 50%), which is the temperature that causes death to the 50% of the treated individuals of each developmental stage was estimated. *Drosophila melanogaster* was used as a reference system.

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ Α ΙΣΟΜΟΡΦΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΕΚΔΥΣΟΝΗΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟ- ΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ *Ceratitis capitata*

Βέρρας Μ., Α. Ζαχαροπούλου και Α. Μίντζας

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Πατρών

Η εκδυσόνη ρυθμίζει πληθώρα αναπτυξιακών και φυσιολογικών διαδικασιών στα έντομα ελέγχοντας την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων στόχων. Η δράση αυτή επιτυγχάνεται μέσω της δέσμευσής της με τον ενδοκυτταρικό υποδοχέα της (EcR) ο οποίος αποτελεί μέλος της υπεροικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων. Στη *D. melanogaster*, ο υποδοχέας της εκδυσόνης βρίσκεται σε τρεις ισομορφές (A, B1 και B2) οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους μόνο στο ακραίο τμήμα της αμινοτελικής περιοχής τους και παρουσιάζουν χρονοειδικά και ιστοειδικά πρότυπα έκφρασης. Σε προηγούμενες μελέτες είχε χαρακτηριστεί η EcR-B1 ισομορφή της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata*. Στην παρούσα εργασία περιγράφεται η απομόνωση και ο χαρακτηρισμός της Α ισομορφής του EcR της μεσογειακής μύγας.

Με βάση το τμήμα της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας της CcEcR-B1 που αντιστοιχεί στην κοινή περιοχή των διαφόρων ισομορφών, σχεδιάστηκαν κατάλληλοι εκκινητές. Οι εκκινητές αυτοί χρησιμοποιήθηκαν σε αντιδράσεις 5' RACE, σε poly(A) RNA από διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια, με στόχο την κλωνοποίηση αμινοτελικών τμημάτων και άλλων ισομορφών. Από τις αντιδράσεις αυτές κλωνοποιήθηκαν διάφορα προϊόντα και προσδιορίστηκε η πρωτοδιάταξη τους. Ένα από αυτά, με μέγεθος 735 bp, έδειξε 100% νουκλεοτιδική ταυτότητα στην 3' περιοχή του με την CcEcR-B1 ισομορφή ενώ η 5' περιοχή του ήταν διαφορετική. Σύγκριση της αμινοξικής αλληλουχίας η οποία προκύπτει από τη μετάφραση αυτού του EcR cDNA με όλες τις ισομορφές που έχουν απομονωθεί από διάφορα έντομα, έδειξε ότι η νέα αυτή CcEcR ισομορφή παρουσιάζει υψηλότερη ομολογία με την EcR-A ισομορφή της *D. melanogaster* ενώ η ομολογία με τις Α ισομορφές άλλων εντόμων είναι μικρότερη. Καμία ομολογία δεν παρατηρήθηκε με οποιαδήποτε από τις Β ισομορφές. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η CcEcR ισομορφή η οποία απομονώθηκε είναι ομόλογη της EcR-A ισομορφής της *Drosophila*.

## CHARACTERIZATION OF THE ECDYSONE RECEPTOR A ISOFORM OF THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY *Ceratitis capitata*

Verras M., A. Zacharopoulou & A. Mintzas

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

The steroid hormone ecdysone, co-ordinates a wide array of developmental and physiological processes in insects by regulating the expression of specific target genes. This action is achieved through binding to its intracellular receptor (EcR), which is a member of the nuclear receptor superfamily. In *D. melanogaster*, the ecdysone receptor has three isoforms (A,B1,B2), which differ only in their N-terminal region and present stage-specific and tissue-specific expression patterns. Homologous molecules have also been isolated and characterized from several insect species and a few other arthropod species. In previous studies we have isolated and characterized the EcR-B1 isoform of the mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (medfly). In the present study we describe the cloning and characterization of the A isoform of the medfly ecdysone receptor.

We designed specific primers from the nucleotide sequence of the medfly EcR-B1 that corresponds to the common region of the different isoforms. These primers were used in 5' RACE reactions using as a template poly(A) RNA from different developmental stages, in order to obtain novel products that correspond to the N-terminal regions of other isoforms than B1. A number of products were obtained and analysed by sequencing. One of them, with a size of 735 bp, showed 100% nucleotide identity in its 3' region to CcEcR-B1 sequence while about two thirds of its 5' region were different. Comparison of the deduced amino acid sequence of this medfly EcR cDNA, with all EcR isoforms that have been isolated from different insect species, showed that the novel CcEcR is most similar to the *D. melanogaster* EcR-A and less similar to the A isoforms of the other insects. In addition, no similarity was observed to any of the B EcR isoforms. These data indicate that the isolated CcEcR is the homologue of the *D. melanogaster* EcR-A isoform.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΜΙΑΣ α-  
ΤΥΠΟΥ ΥΠΟΜΟΝΑΔΑΣ ΤΟΥ 20S ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ  
ΠΡΩΤΕΪΝΑ-ΣΩΝ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ  
*Ceratitis capitata***

**Βέρρας Μ., Κ. Καλόσακα, Α. Ζαχαροπούλου και Α. Μίντζας**

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

Το σύστημα ουμπικιτίνης/συμπλόκου πρωτεϊνασών είναι υπεύθυνο για την αποδόμηση των περισσότερων πρωτεϊνών των ευκαρυωτικών κυττάρων και σχετίζεται με πολλές φυσιολογικές λειτουργίες όπως ο κυτταρικός κύκλος, η διαφοροποίηση και η ανάπτυξη, η μεταβίβαση σήματος, ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος και η απόκριση σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Στο σύστημα αυτό, πρωτεΐνες που πρόκειται να αποδομηθούν συνδέονται με αλυσίδες μορίων ουμπικιτίνης οι οποίες λειτουργούν ως σινιάλο για την αναγνώριση, δέσμευση και αποδόμηση των πρωτεϊνών από το 26S πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο. Ο καταλυτικός πυρήνας του 26S συμπλόκου ονομάζεται 20S σύμπλοκο πρωτεϊνασών και διαθέτει τη δομή ενός κυλινδρικού σωλήνα ο οποίος αποτελείται από 14 εξωτερικές παρόμοιες υπομονάδες α-τύπου και από 14 εσωτερικές, επίσης παρόμοιες, υπομονάδες β-τύπου. Στα έντομα, η δομή και η λειτουργία του συμπλόκου των πρωτεϊνασών έχει μελετηθεί κυρίως στη *D. melanogaster* και πολύ λιγότερο στα υπόλοιπα είδη εντόμων. Η μεσογειακή μύγα, *Ceratitis capitata*, αποτελεί έναν οργανισμό μοντέλο δεδομένου ότι είναι το καλύτερα μελετημένο είδος, σε γενετικό και μοριακό επίπεδο, μεταξύ των διπτέρων οικονομικής σημασίας. Στην παρούσα εργασία περιγράφεται ο δομικός χαρακτηρισμός ενός cDNA το οποίο κωδικοποιεί μία α-τύπου υπομονάδα του 20S συμπλόκου πρωτεϊνασών της μεσογειακής μύγας. Με στόχο την απομόνωση υψηλά εκφραζόμενων mRNAs, έγιναν αντιδράσεις PCR σε μια cDNA βιβλιοθήκη τρίτου προνυμφικού σταδίου που έδωσαν μία σειρά από cDNAs διαφόρων μεγεθών. Ένα από αυτά, μεγέθους 1005 bp απομονώθηκε από πήκτωμα αгарόζης και κλωνοποιήθηκε σε κατάλληλο φορέα pGEM-T (Promega). Η ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του έδειξε ότι περιέχει ένα ανοιχτό αναγνωστικό πλαίσιο 240 κωδικών και κωδικοποιεί ένα πολυπεπίδιο το οποίο παρουσιάζει σημαντική ομολογία (περίπου 70% ταυτότητα) με την α5 υπομονάδα του 20S συμπλόκου πρωτεϊνασών της *D. melanogaster*.

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF A 20S  
PROTEASOME  $\alpha$ -TYPE SUBUNIT OF THE  
MEDITERRANEAN FRUIT FLY *Ceratitis capitata***

**Verras M., K. Kalosaka, A. Zacharopoulou & A. Mintzas**

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

The ubiquitin/proteasome system is responsible for the degradation of the bulk of cellular proteins in eukaryotes and is involved in many different physiological functions such as cell cycle, differentiation and development, signal transduction, programmed cell death, stress response and immune response. In this system, targeted proteins are tagged by the covalent attachment of chains of ubiquitin, marking them as substrates for a large multisubunit complex called the 26S proteasome. The catalytic core of the 26S proteasome is termed 20S proteasome, which has the structure of a hollow cylinder consisting of fourteen outer and structurally similar  $\alpha$ -type subunits and fourteen inner and structurally similar  $\beta$ -type subunits. In insects, the structure and function of the proteasome has been studied mainly in *D. melanogaster* and much less in other insect species. The mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (medfly), a major agricultural pest, is a model organism among all fruit flies of economic importance since it is the best studied species at the genetic and molecular level. In this study we report the structural characterization of a cDNA encoding a 20S proteasome  $\alpha$ -type subunit of the medfly. PCR-screening of a third instar medfly cDNA library for abundant mRNAs, yielded a number of different size cDNAs. A 1005 bp cDNA was isolated from agarose gel and subcloned to a pGEM-T PCR-cloning vector (Promega). Complete sequencing of the insert revealed that it had an open reading frame of 240 amino acids encoding a polypeptide with significant homology (70% identity) to the 20S proteasome  $\alpha 5$  subunit of *D. melanogaster*.

## ΖΩΟΠΛΑΓΚΤΟΝΙΚΕΣ ΒΙΟΚΟΙΝΩΝΙΕΣ ΚΑΙ ΩΚΕΑΝΟ-ΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΤΟΝ ΣΑΡΩΝΙΚΟ

Βερροϊόπουλος Γ., Σ. Κατσανεβάκης, Α. Κατσαρού, Α. Κατρανίτσας,  
Γ. Κατής, Μ. Αποστολοπούλου,

Τομέας Ζωολογίας -Θαλάσσιας Βιολογίας, Ε.Κ.Π.Α, Αθήνα, 15784

Η εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του μαθήματος της Πλαγκτο-  
νολογίας του Μεταπτυχιακού Ωκεανογραφίας. Στόχος ήταν η αποτύπωση  
της κατάστασης του μεσοζωοπλαγκτού και των ωκεανογραφικών  
παραμέτρων, μετά τη λειτουργία του σταθμού της Ψυτάλλειας.

**Μεθοδολογία.** Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε τον Νοέμβριο 1999  
[Δίκτυο WP2 κάθετες σύρσεις 50⇒0 m] σε 7 σταθμούς στον εσωτερικό  
Σαρωνικό κόλπο. Το μεσοζωοπλαγκτό μελετήθηκε σε επίπεδο είδους  
(Κωπήποδα, Κλαδοκεραιωτά) ή ομάδας. Μετρήθηκαν: θερμοκρασία,  
αλατότητα, διαφάνεια, χλωροφύλλες, θρεπτικά άλατα, καρροτενοειδή,  
αιωρούμενη σωματιδιακή ύλη, βιομάζα, οργανική ύλη μεσοζωοπλαγκτού.

**Αποτελέσματα.** Η θερμοκρασία και η αλατότητα παρουσίασαν ομοιό-  
μορφες τιμές (22°C, 38,5‰) σε όλους τους σταθμούς. Η αιωρούμενη  
σωματιδιακή και οργανική σωματιδιακή ύλη κυμαίνονται από 8,59 ως  
23,48 και 1,49 ως 3,56 mg/l αντίστοιχα με μέγιστα στα νότια της  
περιοχής δειγματοληψίας. Τα θρεπτικά άλατα παρουσίασαν έντονες  
διακυμάνσεις (Νιτρώδη 0,042 ως 0,997, Νιτρικά 0,069 ως 2,435μg-atN/l,  
Φωσφορικά 0,13 ως 1,03μg-atP/l, με υψηλότερες τιμές στην Ψυτάλλεια.  
Οι Chl α, β, γ από 0,29 ως 0,87, από 0,00 ως 0,12 και από 0,02 ως 0,17  
και τα καρροτενοειδή από 0,10 ως 0,33 μg/l, η βιομάζα από 3,765 ως  
27,641 και η οργανική Ύλη από 2,72 ως 21,308 mg/l, ο αριθμός των  
ατόμων/m<sup>3</sup> (981 ως 9158) παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές στον  
σταθμό Ψυτάλλεια και νοτίως αυτού. Σύμφωνα με τα ρεύματα την  
περίοδο δειγματοληψίας, τα πλούσια σε θρεπτικά άλατα νερά της  
Ψυτάλλειας, μεταφέρονται νότια εμπλουτίζοντας τις υδάτινες μάζες της  
περιοχής. Τα Κωπήποδα (48 ως 72%) και τα Κλαδοκεραιωτά (11 ως  
31%) αποτελούν τις κυρίαρχες ομάδες μεσοζωοπλαγκτού με επικρα-  
τούντα είδη τα *Paracalanus parvus*, *Oncaea mediterranea*, *Oithona*  
*plumifera* και *Penilia avirostris* αντίστοιχα.

## ZOOPLANKTON AND OCEANOGRAPHIC PARAMETERS IN INNER SARONICOS GULF

Verriopoulos G., S. Katsanevakis, A. Katsarou, A. Katranitsas,  
G. Katis and M. Apostolopoulou

Dep. of Zoology - Marine Biology, University of Athens, Athens, 15784

This research is part of the course: of Planktonology (Postgraduate Studies in Oceanography). The purpose was to monitor the status of zooplanktonic communities and oceanographic parameters of inner Saronicos after the functioning of Psitallia Water purification Station.

**Methodology.** The sampling [WP2 net, vertical hauls 50-0m] was performed in Nov. 99 in 7 stations of the inner Saronicos. Mesozooplankton was studied as species [copepods, cladocerans] or groups. Temperature, salinity, water transparency, chlorophylls, nutrients, suspended matter, zooplankton biomass and organic matter content were also measured.

**Results:** Temperature and Salinity showed similar levels in all Stations [22°C, 38,5‰]. The suspended inorganic and organic matter fluctuated from 8,59 to 23,48 and 1,49 to 3,56 mg/l reciprocally with maximum to the south of the sampling area. The nutrients presented strong fluctuations [nitrites 0,042 to 0,997, nitrates 0,069 to 2,435 µg-at N/l, phosphates 0,13 to 1,03 µg-at P/l with maximum at Psitallia. Chlorophylls  $\alpha, \beta, \gamma$  from 0,29 to 0,87, from 0,00 to 0,12 and from 0,02 to 0,17 reciprocally and carotenoids from 0,10 to 0,33 µg/l, biomass from 3,765 to 27,641 and organic matter content from 2,72 to 21,308 mg/l as well as the number of individuals /m<sup>3</sup> [981 to 9158] showed the higher levels at Psitallia and the area south of it. According to the direction of currents at the sampling period, the rich in nutrients, waters of Psitallia are transported to the south enriching the area. Copepods [48 to 72 %] and cladocerans {11 to 31 %} are the main zooplanktonic groups with more abundant species: *Paracalanus parvus*, *Oncaea mediterranea*, *Oithona plumifera* and *Penilia avirostris* reciprocally.

## ΔΥΟ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΜΕ ΑΣΥΝΗΘΙΣΤΑ ΜΑΚΡΑ ΕΠΙΒΙΩΣΗ

Βογιατζής Ν.<sup>1</sup>, Κ. Σαμαράς<sup>2</sup>, Ο. Κωβαίου<sup>1</sup> & Κ. Χατζηϊωαννίδης<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής και <sup>2</sup>Νεογνολογικό Τμήμα Β' Παιδιατρικής  
Κλινικής Α.Π.Θ., Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ Θεσσαλονίκης

Παρουσιάζουμε δύο περιπτώσεις χρωμοσωμικών ανωμαλιών με ασυνήθιστα μακρά επιβίωση. Η πρώτη περίπτωση αφορά νεογνό κορίτσι δύο (2) ωρών που προσκομίσθηκε στο Νεογνολογικό Τμήμα της Β' Παιδιατρικής Κλινικής λόγω πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών. Γεννήθηκε κατόπιν καισαρικής τομής λόγω ισχιακής προβολής έπειτα από κύηση 39 εβδομάδων. Παρουσίαζε διάφορες συγγενείς διαμαρτίες όμοιες του τριπλοειδισμού. Ο καρυότυπος ήταν παθολογικός 69, XXX (τριπλο-ειδισμός). Το βρέφος απεβίωσε σε ηλικία 5,5 μηνών (164 ημέρες). Τα νεογνά με τριπλοειδισμό πεθαίνουν συνήθως αμέσως μετά τη γέννησή τους ή ζουν 2-3 ημέρες. Στην προσιτή σε μας βιβλιογραφία βρήκαμε μόνο δύο άλλες περιπτώσεις που ήταν μακροβιότερες από τη δική μας, ένα αγόρι που έζησε 10 ½ μήνες και ένα κορίτσι που έζησε 7 μήνες.

Η δεύτερη περίπτωση αφορά κορίτσι με τρισωμία 13. Η ασθενής γεννήθηκε το 1990 και ζει μέχρι και σήμερα. Κατά τη γέννηση παρουσίαζε όλα τα χαρακτηριστικά της τρισωμίας 13. Ο καρυότυπος ήταν 47, XX+13. Η ασθενής παρουσιάζει πολύ βαριά ψυχοκινητική καθυστέρηση. Στη διάρκεια της ζωής της παρουσίασε πολλαπλά κατάγματα λόγω φυσιοθεραπείας, χρόνια αναπνευστικά προβλήματα, πρόωμη ήβη σε ηλικία 9 ετών (εμφάνιση εμμηνου ρύσεως). Οι ασθενείς με τρισωμία 13 πεθαίνουν συνήθως στο 1<sup>ο</sup> εξάμηνο της ζωής τους. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται πολύ λίγες περιπτώσεις που έχουν ξεπεράσει τη δεκαετία επιβίωσης.



## **TWO CASES OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES WITH UNUSUAL LONG SURVIVAL**

**Voyiatzis N.<sup>1</sup>, C. Samaras<sup>2</sup>, O. Kovayou<sup>1</sup> & C. Hatzioannidis<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Laboratory of Cytogenetics, <sup>2</sup>nd Dept of Pediatrics, AHEPA Hospital,  
University of Thessaloniki**

**<sup>2</sup>Neonatology Dept, <sup>2</sup>nd Dept of Pediatrics, AHEPA Hospital, University of  
Thessaloniki**

We present two cases of chromosomal abnormalities characterized by unusual long survival. The first case concerns a newborn female, who was brought in the Neonatology Department of 2nd Pediatric Clinic, (immediately after birth) because of multiple congenital abnormalities. It was born with Caesarian section after an uneventful 39-week pregnancy. It was presented with multiple congenital abnormalities, characteristic of triploidy. The baby's GTG banded karyotype was abnormal: 69, XXX (triploidy). The baby died at the age of 5,5 months (164 days). Neonates with triploidy usually die immediately after delivery or 2-3 days later. Only two other cases with longer survival have been reported so far; a boy who died at the age of 10,5 months and a girl who died at the age of 7 months.

The second case refers to a girl with trisomy 13. She was born in 1990 and is still alive. Her GTG banded karyotype was 47, XX+13. The patient has severe mental retardation. During her life she had presented fractures because of intense physiotherapy, repeated infections of the respiratory tract, precocious puberty. Patients with trisomy 13 usually die during the first six months of their life. A few cases that have surpassed a decade of survival have been reported so far.

## Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ – ΕΜΠΕΙΡΙΕΣ 20 ΧΡΟΝΩΝ

**Βογιατζής Ν., Ο. Κωβαίου, Ε. Κονδύλης, Χ. Λαμπροπούλου**

**Εργαστήριο Γενετικής Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής Α.Π.Θ., Νοσοκομείο  
ΑΧΕΠΑ Θεσσαλονίκης**

Στην παρούσα εργασία γίνεται ανασκόπηση της δραστηριότητας του εργαστηρίου Κυτταρογενετικής της Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Α.Π.Θ. (Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ) το χρονικό διάστημα 1980-1999. Κατά την περίοδο αυτή προσήλθαν 2792 άτομα για ανάλυση καρυότυπου. Απαντήσεις δόθηκαν σε 2709 άτομα, ενώ σε 83 περιπτώσεις δεν αναπτύχθηκαν οι καλλιέργειες και δεν έγινε δυνατό να επαναληφθούν οι αιμοληψίες. Οι αιτίες παραπομπής των περιστατικών στο εργαστήριο Κυτταρογενετικής διακρίνονται στις εξής κατηγορίες: Άτομα ύποπτα για σύνδρομο Down (7,56%), νεογνά με συγγενείς διαμαρτίες (8,85%), παιδιά με δυσμορφίες, με ή χωρίς νοητική υστέρηση (15,69%), άτομα με υπογοναδισμό (20,09%), νεογνά με αμφίβολα εξωτερικά γεννητικά όργανα (0,97%), γονείς και συγγενείς παιδιών με χρωμοσωμικές ανωμαλίες ή συγγενείς διαμαρτίες που απεβίωσαν χωρίς να ελεγχθούν (5,30%), ζευγάρια με προβλήματα αναπαραγωγής (20,49%) και διάφορα αίτια (18,09%). Παθολογικός καρυότυπος βρέθηκε σε 347 άτομα (12,81%). Με τη βοήθεια του εργαστηρίου έγινε δυνατή η διάγνωση ή επιβεβαίωση διαφόρων συνδρόμων με χρωμοσωμική ανωμαλία. Δόθηκαν επίσης οι ανάλογες γενετικές συμβουλές στις οικογένειες των παιδιών με σύνδρομο, στους ασθενείς με υπογοναδισμό, στα ζευγάρια με προβλήματα αναπαραγωγής και έγινε σωστός καθορισμός του φύλου, όπου έπρεπε.

## **THE CONTRIBUTION OF CYTOGENETICS IN CLINICAL PRACTICE – 20 YEARS' EXPERIENCE**

**Voyiatzis N., O. Kovayou, E. Kondylis, C. Lambropoulou**

**Laboratory of Cytogenetics, 2<sup>nd</sup> Dept of Pediatrics, AHEPA Hospital,  
University of Thessaloniki.**

The purpose of this study is to present an review of the activities of the Laboratory of Cytogenetics, of the 2<sup>nd</sup> Pediatric Clinic of AHEPA Hospital, University of Thessaloniki, during the years 1980-1999. During this period of time 2792 karyotype analyses were performed.

Results were given to 2709 patients, whereas in 83 cases the culture of the cells was unsuccessful. The indications for the chromosomal examination were the following: suspected Down syndrome (7,56%), newborns with birth defect (8,85%), children with abnormalities with or without mental retardation (15,69%), persons with hypogonadism (20,09%), newborns with ambiguous genitalia (0,97%), parents or relatives of children with chromosomal disorders or congenital abnormalities who died without being examined (5,30%), couples with infertility problems (20,49%) and miscellaneous reasons (18,09%). Pathological karyotype was found in 347 patients (12,81%). Apart from the diagnosis and/or the conformation of syndromes with chromosomal disorders, a significant task of the Laboratory of Cytogenetics in a Pediatric Clinic, is the genetic counseling of families having children with chromosomal syndromes, of persons with hypogonadism, of couples with infertility problems and also the determination of sex and counseling for the breeding of the infant with ambiguous genitalia.

## ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ IN SITU ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΤΟΥ cDmPO ΚΛΩΝΟΥ ΣΤΗΝ *Drosophila melanogaster*

Woitek S.H., Ο.Α.Κωνσταντή και Α.Χ.Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Κουπόνια, 15784, Αθήνα

Η χοριογένεση στη *Drosophila melanogaster* λαμβάνει χώρα κατά την ωογένεση και ειδικότερα στα ωοθυλάκια σταδίων 11-14. Το χόριο προστατεύει το αυγό και το έμβρυο από το περιβάλλον και υποστηρίζει σημαντικές λειτουργίες της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Η σκλήρυνση του χορίου οφείλεται στο σχηματισμό δεσμών δι- και τρι- τυροσίνης μεταξύ των χοριοϊκών πρωτεϊνών. Χρώση με ο-διαμινοβενζιδίνη και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> τομών ωοθυλακίων ηλεκτρονικού και φωτονικού μικροσκοπίου αποδεικνύει ότι το ένζυμο που καταλύει το σχηματισμό τέτοιων δεσμών είναι μια υπεροξειδάση. Τα παραπάνω αποτελέσματα επαληθεύονται με βιοχημικές μεθόδους: SDS-PAGE ανάλυση και ανίχνευση υπεροξειδικής ενεργότητας. Η υπεροξειδάση μελετάται τόσο σε βιοχημικό όσο και σε μοριακό/γενετικό επίπεδο. Μέχρι τώρα στα έντομα είναι γνωστά τρία γονίδια που κωδικοποιούν για υπεροξειδάση: α) η υπεροξειδασίνη που εντοπίζεται στο ωοκύτταρο, β) ο cDmPo κλώνος που απομονώθηκε από μια εμβρυονική βιβλιοθήκη *D. melanogaster* και γ) υπεροξειδάση που εντοπίζεται στα τροφοκύτταρα των ωοθυλακίων νεαρών σταδίων. Πραγματοποιήθηκαν RT αντιδράσεις με μήτρα mRNA από ωοθυλάκια σταδίων 11-14 και εκκινητές που κατασκευάστηκαν σύμφωνα με συντηρημένες περιοχές υπεροξειδασών για έντομα και θηλαστικά. Ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας έδειξε 100% ομολογία με τον cDmPO κλώνο. Κατασκευάστηκε μια cDNA βιβλιοθήκη με σκοπό την απομόνωση ολόκληρου του κλώνου. Ακολούθησε Southern ανάλυση καθώς επίσης και ανάλυση του προτύπου έκφρασης με Northern. Η ανίχνευση και εντοπισμός του γονιδίου έγινε με πειράματα in situ υβριδισμού. Τα παραπάνω αποτελέσματα σε συνδυασμό με RT PCR αντιδράσεις σε mRNA ωοθυλακίων 13 και 14 προτείνουν ότι ο cDmPO κλώνος κωδικοποιεί την υπεροξειδάση του χορίου.

*Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα TMR No ERB4061PL970047 στον Καθηγητή Α.Χ.Μαργαρίτη*

## MOLECULAR CHARACTERIZATION AND IN SITU LOCALIZATION OF cDmPO CLONE IN *Drosophila melanogaster*

Woitek S.H., O.Konstandi & L.H.Margaritis

Dept. Cell Biol. & Biophysics, Fac. Biol., Univ. of Athens, Panepistimopolis, Kouponia, Athens, GR-15701, Greece

Choriogenesis occurs in *Drosophila melanogaster* follicles of stages 11 to 14 during oogenesis. The chorion protects the laid egg and the embryo from the environment and supports important procedures for the embryonic development. The hardening of the chorion (the outermost layer of the eggshell) is due to the formation of di- and tri-tyrosin bonds between the chorion proteins. Treatment with o-diaminobenzidine and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of follicle sections for TEM and light microscopy proves that the responsible enzyme catalysing the formation of such bonds is a peroxidase. Those results were also verified via biochemical studies through SDS-PAGE electrophoresis and peroxidase activity specific staining. The peroxidase is studied at the molecular/genetical level as well as at the biochemical level. So far three peroxidase genes are known: a) peroxidasin, an enzyme matrix protein that is localized in the oocyte, b) the DmPO gene isolated from an embryonic cDNA library and c) a peroxidase gene localized in nurse cells of the early stages of the follicle development. RT reactions were performed using mRNA from staged follicles (11-14) as template and primers that were raised according to conserved regions of mammalian and insect peroxidases. Sequencing of the PCR products revealed that the Flqu product exhibits 100% homology with the cDmPO clone. A cDNA library was constructed from choriogenic follicles that was screened against the Flqu product to isolate a full length clone. The Flqu clone was characterized by Northern and Southern analysis. The localization of the Flqu clone was determined by in situ hybridization. These results suggest that the cDmPo clone codes for the chorion peroxidase.

*This work was supported by a TMR grant N° ERB4061PL970047 to Prof. L.H. Margaritis.*

## ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΧΙΤΙΝΟΛΥΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

**Βοργιάς Κ.Ε., Ε. Χριστοδούλου, Α. Ζης, Ε. Ανδρονόπουλου, Κ. Παλιακάσης, Α. Μυλωνά, Ε. Στεφανίδη, Α. Μηλαίου**

**Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιοχημείας-Μοριακής Βιολογίας, Πανεπιστημιούπολη-Ζωγράφου, 15784 Αθήνα, τηλ 7272514 φαξ 7274158, email: cvorgias@biology.db.uoa.gr**

Η χιτίνη είναι το πλέον διαδεδομένο φυσικό πολυμερές κυρίως στους υδάτινους βιότοπους, σε αντίθεση με την κυτταρίνη που κυριαρχεί στα χερσαία οικοσυστήματα. Το εργαστήριό μας ασχολείται τα τελευταία χρόνια με τη διαλεύκανση της δομής και της λειτουργίας των βακτηριακών ενζύμων που αποικοδομούν χιτίνη. Στα πλαίσια των ερευνητικών αυτών δραστηριοτήτων έχουμε διαλευκάνει τη δομή δύο βακτηριακών ενζύμων, της χιτινάσης Α και της χιτοβιάσης, και γνωρίζουμε τον ενζυμικό μηχανισμό αποικοδόμησης του υποστρώματος. Στο επίπεδο κατάλυσης τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου έχουν προσδιορισθεί και ο μηχανισμός κατάλυσης είναι όξινη κατάλυση υποβοηθούμενη από το υπόστρωμα. Στο επίπεδο δομής και λειτουργίας της χιτινάσης Α από *Serratia marcescens* μελετούμε τη λειτουργία των μη καταλυτικών περιοχών του ενζύμου με γενετική μηχανική με σκοπό να διαλευκάνουμε τη λειτουργία τους σε σχέση με την αναγνώριση του υποστρώματος, τη σταθερότητα και το κατάλληλο δίπλωμα του μορίου στο χώρο. Παράλληλα, έχουμε κλωνοποιήσει μια θερμοσταθερή χιτινάση (chi40) από *Streptomyces thermoviolaceus*, υπερεκφράσει και καθάρισε για περαιτέρω ανάλυση. Πρόσφατα, εντοπίσαμε και απομονώσαμε ένα καινούργιο υπερθερμοσταθερό χιτινολυτικό ένζυμο (chi70) από το αρχαιοβακτήριο *Thermococcus chitonophagus*.

1. Perrakis, A., Tews, I., Dauter, Z., Oppenheim, A., Chet, I., Wilson, K. S. and Vorgias, C. E. (1994) Crystal structure of a bacterial Chitinase at 2.3 Å resolution Structure 2, 1169-1180.
2. Tews, I., Perrakis, A., Dauter, Z., Oppenheim, A., Wilson, K. S. and Vorgias, C. E. (1996) Bacterial Chitinase structure provides insight into catalytic mechanism and the basis of Tay-Sachs disease. Nature Structural Biology 3, 638-648.

## STRUCTURE AND FUNCTION STUDIES ON THE CHITINOLYTIC SYSTEM IN BACTERIA

Vorgias C.E., E. Christodoulou, A. Zees, E. Andronopoulou,  
C. Paliakasis, A. Milona, E. Stefanidi, A. Mileou

National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology,  
Department of Biochemistry-Molecular Biology, Panepistimiopolis-  
Zographou, 15784 Athens, tel: 7274514, fax: 727158,  
email:cvorgias@biology.db.uoa.gr

Chitin (N-acetyl-glucosamine homopolymer with glycosidic bonds in  $\beta$ -conformation) is the most abundant natural polymer that mainly exists in the marine biotopes in contrast to cellulose that is abundant in the terrestrial ecosystems. During the last years our laboratory is working on the elucidation of the structure-function relationships of the bacterial enzymes that are able to degrade chitin. We have determined the X-ray structure of two bacterial enzymes, the Chitinase A and Chitobiase from *Serratia marcescens* and decipher the enzymatic mechanism of chitin degradation. The amino acid residues responsible for the enzymatic catalysis were determined and the mechanism of chitin hydrolysis was found to be substrate assisted acid catalysis. Our current studies are concentrated on the elucidation of the function of the non-catalytic domains of Chitinase A from *Serratia marcescens* by employing genetic engineering and domain dissection. This study has the task to correlate the existence of the non-catalytic domains of the enzyme with the enzymatic activity, stability, substrate recognition and folding. In a parallel project, we have cloned, overexpressed and purified a thermostable chitinase (chi40) from the thermophilic bacterium *Streptomyces thermoviolaceus*. Currently we have detected another chitinase (chi70) from the hyperthermophilic anaerobic archaeon *Thermococcus chitonophagus*.

### References

1. Perrakis, A., Tews, I., Dauter, Z., Oppenheim, A., Chet, I., Wilson, K. S. and Vorgias, C. E. (1994) Crystal structure of a bacterial Chitinase at 2.3 Å resolution Structure 2, 1169-1180.
2. Tews, I., Perrakis, A., Dauter, Z., Oppenheim, A., Wilson, K. S. and Vorgias, C. E. (1996) Bacterial Chitobiase structure provides insight into catalytic mechanism and the basis of Tay-Sachs disease. Nature Structural Biology 3, 638-648.

## Η ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΣΑΥΡΑΣ *PODARCIS ERHARDII* ΣΕ ΜΙΚΡΑ ΝΗΣΙΑ ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ

Γερμανού Α., Π. Παφίλης, Ζ. Γιαννόπουλος και Σ.Δ. Βαλάκος

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθήνας, 157 81 Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσσια

Σε αυτή την μελέτη, εξετάζεται η ποικιλότητα στα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά στους νησιωτικούς πληθυσμούς της σαύρας *Podarcis erhardi*. Η *Podarcis erhardi* εξαπλώνεται στη νότια βαλκανική χερσόνησο. Στην Ελλάδα βρίσκεται στην Ανατολική Πελοπόννησο, στο μεγαλύτερο μέρος της υπόλοιπης ηπειρωτικής Ελλάδας στην πλειοψηφία των νησιών του Αιγαίου και στην Κρήτη.

Το ζευγάρι στην *Podarcis erhardi* αρχίζει νωρίς την άνοιξη και φτάνει τα μέγιστα τον Απρίλιο μέχρι τα μέσα Μαΐου. Μεγάλα αναπαραγωγικά αυγά εμφανίζονται από τον Μάρτιο μέχρι τον Ιούνιο. Το μέσο μέγεθος της γέννας είναι περίπου τρία αυγά. Οι στεριανοί πληθυσμοί έχουν μεγαλύτερο μέγεθος γέννας από ότι οι νησιωτικοί. Επίσης οι νησιωτικοί πληθυσμοί έχουν μεγαλύτερη αναπαραγωγική περίοδο.

Τα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά των σαυρών μπορεί να διαφέρουν ανάμεσα σε πληθυσμούς του ίδιου είδους. Αυτές οι διαφορές αποδίδονται κύρια στο υψόμετρο και στο γεωγραφικό πλάτος. Επίσης στους πληθυσμούς των ερπετών υπάρχουν διαφορές στην αναπαραγωγή σαν ανταπόκριση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Για παράδειγμα πολλά είδη μειώνουν το μέγεθος της γέννας αλλά γεννούν μεγαλύτερα αυγά σε φτωχά, από τροφικής άποψης, περιβάλλοντα.

Η ευρεία κατανομή της *P.erhardi* σε μια μεγάλη ποικιλία νησιών δίνει τη δυνατότητα να μελετηθούν οι ενδοειδικές μεταβολές των αναπαραγωγικών χαρακτηριστικών. Όλα τα ζώα που μελετήθηκαν ανήκουν στην ερπετολογική συλλογή του Ζωολογικού Μουσείου «Α. Koenig» της Βόννης.

Από τα αποτελέσματα μας φαίνεται ότι δεν υπάρχει διαφορά στο μέσο μέγεθος της γέννας ανάμεσα στα μεγάλα και μικρά νησιά. Αυτό φαίνεται να συνδέεται με την ιστορία του είδους στην περιοχή και στις κλιματολογικές συνθήκες.



## THE REPRODUCTION OF *PODARCIS ERHARDII* (SAURIA- LACERTIDAE) IN THE SMALL ISLANDS OF AEGEAN

Germanou A., P. Pafilis, Z. Giannopoulos & S.D. Valakos

Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, University  
of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens, Greece

Variation on the reproductive traits of the insular populations of *Podarcis erhardii* (Sauria: Lacertidae) was examined. *Podarcis erhardii* is distributed in the South of Balkan peninsula. In Greece it is found in eastern Peloponnese, most of the remaining Greek mainland the majority of the Aegean Islands and in Crete.

In *P. erhardii* the mating starts in early spring and reaches the peak during April to mid May. Large oviductal eggs are present from March to June. The mean clutch size is about three eggs. In the mainland population females have larger clutches than in the insular ones. Also the islands populations have a longer reproductive period than the mainland ones.

The reproductive traits of the lizards could be different among the populations of the same species. This is attributed mainly to longitude and to altitude. Also in reptile populations a number of life history characteristics may vary in response to different environmental factors. For example many species reduce the clutch size and produced larger eggs in poor prey environments.

The wide distribution of *Podarcis erhardii* in a variety of islands gives the opportunity to study those intraspecific changes in the reproductive traits. All the examined animals belong to the herpetological collection of «A. Koenig» Zoological Museum, Bonn.

From our results it seems that there is not significant differences in mean clutch size between the small and the big islands. This it must be related to the history of the species in the area and also to climatological condition of the area.

## ΦΥΤΑ ΤΗΣ ΣΚΙΑΘΟΥ ΣΤΟ ΕΡΓΟ ΤΟΥ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥ ΠΑΠΑΔΙΑΜΑΝΤΗ

Γιαννίτσaros Α.

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής, Τομέας Οικολογίας και  
Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιούπολη, 157 84 Αθήνα

Το έργο του μεγάλου σκιαθίτη πεζογράφου Αλέξανδρου Παπαδιαμάντη, έντονα φυσιολατρικό, είναι κατάμεστο από βιολογικά στοιχεία. Τα φυτά και τα ζώα, χωρίς να είναι οι πρωταγωνιστές, πλαισιώνουν τους ήρωές του στα περισσότερα από τα διηγήματά του, τα οποία διαδραματίζονται στο νησί του, τη Σκιάθο. Ο Παπαδιαμάντης έχοντας ζήσει τα παιδικά και τα νεανικά του χρόνια στο νησί, αλλά και αργότερα με τις επισκέψεις του σ' αυτό, παρατηρεί τη φύση, αποκτά εμπειρίες τις οποίες μεταφέρει με εκπληκτικό μερικές φορές τρόπο στα γραπτά του. Γνωρίζει τα δημόδη ή τα κοινά ονόματα πολλών φυτών και ζώων, τους βιοτόπους τους και άλλα βιολογικά και οικολογικά τους στοιχεία. Όσον αφορά τα φυτά υπάρχει πληθώρα αναφορών στα περισσότερα από τα διηγήματά του, που έχουν ως χώρο δράσης τη Σκιάθο. Σε 63 από τα διηγήματα αυτά, που δημοσιεύτηκαν μεταξύ των ετών 1889 και 1910, μπορεί ένας συστηματικός βοτανικός να αναγνωρίσει περισσότερα από 50 αυτοφυή φυτά της Σκιάθου, σε επίπεδο είδους ή γένους και των οποίων η παρουσία στο νησί έχει επιβεβαιωθεί από τη μεταγενέστερη επιστημονική έρευνα. Συνήθως πρόκειται για ξυλώδη φυτά (δέντρα ή θάμνους) υπάρχουν όμως και πολλά ποώδη. Αλλά αναφέρονται ακόμη και περισσότερα από 45 καλλιεργούμενα είδη με τα κοινά τους ονόματα. Οι αναφορές στις περισσότερες περιπτώσεις είναι πολλαπλές. Εκτός από τα παραπάνω υπάρχουν αρκετές ονομασίες φυτών (πιθανόν δημόδεις τοπικές ή άλλες), που είναι δύσκολη και με βεβαιότητα η αναγνώριση των ειδών ή των γενών, στα οποία αναφέρονται (π.χ. λυσο-χόρταρο, μαϊόχορτο, παλληκαροβότανο, στερφοβότανο). Υπάρχουν επίσης στοιχεία για καρπούς και άλλα φυτικά μέρη, για αυξητικές μορφές, για βιοτόπους και ενδιαίτηματα, για φυσικές φυτικές διαπλάσεις και καλλιέργειες. Εντύπωση προκαλεί η παρατηρητικότητα του Παπαδιαμάντη και η ακρίβεια με την οποία περιγράφει μερικές φορές τα φυτά και ορισμένα οικολογικά φαινόμενα, όπως π.χ. αυτό της ανεμομόρφωσης. Από τα αυτοφυή φυτά της Σκιάθου συχνότερα αναφέρονται η *Pistacia lentiscus* L. (σχοίνος, σχοίνο), ο *Platanus orientalis* L. (πλάτανος, πλατάνι), η *Pinus halepensis* Miller (πεύκος, πεύκο), η *Quercus pubescens* Willd. (δρυς) και

από τα καλλιεργούμενα η *Olea europaea* L. ssp. *europaea* (ελιά, ελαιά, ελαιόδενδρο), η *Vitis vinifera* L. (άμπελος, αμπέλι, κλήμα) και η *Ficus carica* L. (συκιά, συκή, συκέα). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι αναφορές της *Pinus pinea* L. (πίτυς), η οποία συγκροτεί το δάσος των Κουκουναριών, του *Crataegus monogyna* Jacq. (τρικοκκιά), της *Portulaca oleracea* L. ssp. *oleracea* (τρέφλα, τρέβλα άγρια), του *Narcissus tazetta* L. (ιτσία, τα άνθη ίτσια) και της *Brassica cretica* Lam. (αγρία κράμβη, αγριοκράμβη, λάχανα θαλασσινά). Τα διηγήματα στα οποία περιλαμβάνονται τα περισσότερα στοιχεία για τα φυτά και θαυμάσιες περιγραφές της φύσης γενικότερα είναι τα “Θέρος - Έρος”, “Βαρδιάνος στα Σπόρκα”, “Η Φόνισσα”, “Ολόγυρα στη λίμνη”, “Στην Αγί’ Αναστασά”, “Φτωχός άγιος”, “Λαμπριάτικος Ψάλτης” κ.ά. Τέλος ονόματα φυτών της Σκιάθου αναφέρονται και στο ποίημα του Παπαδιαμάντη “Στην Παναγία την Κεχριά”.

## PLANTS OF SKIATHOS IN THE WORKS OF ALEXANDROS PAPADIAMANTIS

Yannitsaros A.

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

The works of the great Skiathian prose writer Alexandros Papadiamantis include many records of plants and animals with their common or vernacular names. In 63 tales published between the years 1889 and 1910 there are records of at least 50 spontaneous and 45 cultivated taxa of the West Aegean island of Skiathos. The records in most of the cases are repeated many times. The tales of Papadiamantis also include many other biological and ecological data on the plants of Skiathos, i.e. flowers, fruits, growth forms, habitats, natural ecosystems and cultivations. Spontaneous plants of Skiathos frequently reported are *Pistacia lentiscus* L., *Platanus orientalis* L., *Pinus halepensis* Miller, *Quercus pubescens* Willd. and others. Cultivated plants repeatedly recorded are *Olea europaea* L. ssp. *europaea*, *Vitis vinifera* L., *Ficus carica* L. etc. Records of special interest are those of *Pinus pinea* L., which forms a wood in the locality Koukounaries, *Crataegus monogyna* Jacq. *Portulaca oleracea* L. ssp. *oleracea*, *Narcissus tazetta* L. and *Brassica cretica* Lam.

## ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ ΤΟΥ ΚΕΡΑΜΕΙΚΟΥ

Γιαννίταρος Α., Ι. Μπαζός και Σ. Ζερβού

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής, Τομέας Οικολογίας και  
Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιούπολη, 157 84 Αθήνα

Η περιοχή έρευνας βρίσκεται στο κέντρο της Αθήνας και περιλαμβάνει τον αρχαιολογικό χώρο του Κεραμεικού. Το κλίμα της είναι έντονα μεσογειακό (στοιχεία Μ.Σ. Αστεροσκοπείου, περίοδος 1976-1991). Από τη βιολογική ταξινόμηση του κλίματος (μέθοδος Emberger-Sauvage) προκύπτει ότι η περιοχή ανήκει στον ημίξηρο βιοκλιματικό όροφο. Ελάχιστα στοιχεία, όχι πάντα ορθά, για τη χλωρίδα της περιοχής (κυρίως για την καλλιεργημένη) δίνονται από τη J. Stroszeck (1998). Από τη μέχρι τώρα έρευνά μας στο χώρο, μετά από 5 επισκέψεις (Ιούνιος 1999-Απρίλιος 2000), διαπιστώσαμε την παρουσία 188 taxa (είδη και υποείδη- 1 βρυόφυτο, 1 πτεριδόφυτο και 186 σπερματοφύτα). Από ταξινομική άποψη τα 186 σπερματοφύτα (2 γυμνόσπερμα, 184 αγγειόσπερμα) ανήκουν σε 144 γένη και 64 οικογένειες. Πολυπληθέστερες οικογένειες είναι τα Compositae (23 taxa), τα Leguminosae (14 taxa) και τα Gramineae (19 taxa). Από τα 188 taxa, 50 είναι καλλιεργημένα και τα υπόλοιπα αυτοφυή. Όλα τα καλλιεργημένα είναι πολυετή φυτά και εκτός από ελάχιστες εξαιρέσεις (π.χ. *Acanthus mollis* L.) ξυλώδη. Η προέλευσή τους είναι ξενική ή ελληνική. Ελάχιστα από τα καλλιεργούμενα taxa μπορεί και να αυτοφύονται στην περιοχή από σπέρματα που πέφτουν στο έδαφος κοντά στα μητρικά φυτά (*Phoenix canariensis* Chabaud, *Ficus carica* L., *Pinus halepensis* Miller). Τα αυτοφυή taxa, σε αντίθεση με τα καλλιεργημένα είναι στη συντριπτική πλειοψηφία τους ποώδη και συνήθως ετήσια. Τα περισσότερα από αυτά είναι ιθαγενή, ενώ υπάρχουν και επιγενή. Βρέθηκαν επίσης ελάχιστα υγρόφιλα taxa (π.χ. *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel), τα οποία αποτελούν υπολείμματα της παλιάς χλωρίδας της κοίτης του Ηριδανού, που διασχίζει το χώρο. Σκοπός μας είναι η συνέχιση της έρευνας έτσι ώστε να προκύψει μία όσο το δυνατόν πληρέστερη εικόνα για τη χλωρίδα της περιοχής. Η προσπάθεια αυτή αποτελεί μέρος ευρύτερης έρευνας για τη χλωρίδα του λεκανοπεδίου της Αθήνας.

## CONTRIBUTION TO THE FLORA OF THE ARCHAEOLOGICAL SITE OF KERAMIKOS

Yannitsaros A., I. Bazos & S. Zervou

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

The investigated area is located in the centre of Athens and includes the archaeological site of Keramikos. According to the Emberger-Sauvage method of classification, the area belongs to the semiarid bioclimatic stage and its climate is characterized as intense Mediterranean (data of the meteorological station of Asteroskopio (National Observatory), time period 1976-1991). Very few data, not always correct, regarding the flora of the area (mainly the cultivated one) are given by J. Stroszeck (1998). From our up to now investigation of the area and after five visits (June 1999-April 2000) we have certified the presence of 188 taxa (species and subspecies - 1 bryophyte, 1 pteridophyte and 186 spermatophytes). From the taxonomic point of view, the 186 spermatophytes (2 gymnosperms and 184 angiosperms) belong to 144 genera and 64 families. The more numerous families are Compositae (23 taxa), Leguminosae (14 taxa) and Gramineae (19 taxa). Out of the 188 taxa, 50 are cultivated and the rest are indigenous. All cultivated plants are perennial and apart from some very few exceptions (i.e. *Acanthus mollis* L.) are woody. Their origin is either foreign or Greek. Only a few of the cultivated taxa may also be grown in the area as escapes (*Phoenix canariensis* Chabaud, *Ficus carica* L., *Pinus halepensis* Miller). The majority of the indigenous taxa, contrary to the cultivated ones, are herbaceous and usually annuals. Most of them are native whilst there are also some adventive. A few hydrophilous taxa (i.e. *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel) which are remnants of the old flora of the Iridanos river couch traversing the area, have also been found. We aim to continue the investigation in order to obtain an as complete as possible account of the area's flora. Our contribution forms part of a wider investigation of the flora of the Athens' basin.

## ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΖΥΜΩΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΟΥ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΟΥ ΜΕ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ *PAECILOMYCES VARIOTII*

Γιαννούτσου Ε. και Α.Δ. Καραγκούνη

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη, 15781 Αθήνα

Η παραγωγή ελαιολάδου μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη μέθοδο της πίεσης, το τριφασικό σύστημα και τα τελευταία χρόνια με το διφασικό σύστημα. Κατά το τριφασικό σύστημα, παράγεται ο κασίγαρος και το ελαιοπυρηνόλυμα, ενώ κατά το διφασικό σύστημα παράγεται ένα μίγμα στερεού και υγρού αποβλήτου, το λεγόμενο "αλρεοιζο". Η επεξεργασία του παραγόμενου αποβλήτου θεωρείται απαραίτητη, προκειμένου να μετατραπεί σε ένα προϊόν φιλικό προς το περιβάλλον και όχι ιδιαίτερα τοξικό, όπως είναι ο κασίγαρος.

Στην παρούσα εργασία, ένα στέλεχος *Paecilomyces variotii*, που απομονώθηκε από το "αλρεοιζο", χρησιμοποιήθηκε ως εμβόλιο σε πειράματα στερεών ζυμώσεων χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα το ίδιο το απόβλητο. Ο *Paecilomyces variotii* είναι ένας μύκητας, ο οποίος απαντάται συχνά στην ατμόσφαιρα και στο έδαφος κυρίως στις τροπικές χώρες και που έχει ήδη χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή μικροβιακής πρωτεΐνης, εξαιτίας της ικανότητας του να μεγαλώνει σε διάφορα βιομηχανικά απόβλητα όπως η μελάσα, τα απόβλητα ξυλουργείων κ.λ.π. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα στερεών ζυμώσεων και το ζυμωμένο προϊόν εξετάστηκε ως προς την χημική του σύσταση για το προσδιορισμό τυχόν αλλαγών που μπορεί να προέκυψαν μετά την ζύμωση. Όλες οι αλλαγές στα σάκχαρα, τις τανίνες, τα λιπίδια και ειδικά στις πρωτεΐνες μελετήθηκαν μετά από ζύμωση σε διαφορετικές φυσικοχημικές συνθήκες. Παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο του προϊόντος. Αυτό το αποτέλεσμα είναι πολύ ενθαρρυντικό ως προς την πιθανότητα χρησιμοποίησης του ως ζωοτροφής. Βέβαια περαιτέρω πειράματα πρέπει να επακολουθήσουν για την αύξηση της παραγωγής της μικροβιακής πρωτεΐνης.

## **MICROBIAL PROTEIN PRODUCTION BY *PAECILOMYCES VARIOTII* GROWING ON OLIVE OIL WASTE**

**Giannoutsou E.P. & A.D.Karagouni**

**Section of Botany, Department of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, 15781 Athens, Greece**

The olive oil extraction can be carried out by the press cake method, by a classical three - phase system or by a modern two – phase system. One single waste stream constituted of a liquid-solid mixture, the so-called “alpeorujo” is generated by the latter method, while two different streams of liquids and wet solids are obtained by the three-phase method. The treatment of “alpeorujo” is considered essential as much as vital, in order to release in the environment a more friendly product, which will not be as toxic as alpechin.

In the present study, a *Paecilomyces variotii* strain, isolated from “alpeorujo”, has been used in solid-state fermentation experiments using “alpeorujo” as substrate. *Paecilomyces variotii* is a fungus frequently found in air and soil in tropical areas that has already been utilised for the production of microbial protein because of its excellent ability to grow in a variety of highly-polluting industrial effluents, such as mollasses, wood hydrolysates, spent sulfite liquor and vinasse. Solid-state fermentation experiments have been performed and the fermented product was examined chemically in order to define the differences that occur after its fermentation. All the changes that occur in sugars, tannins, lipids, and especially proteins have been studied after fermentation under various physicochemical and environmental conditions. A significant increase in the protein content has been observed, which is a very promising result for the possibility of using this waste as a food additive or as animal feed. Of course, further experiments have to follow in order to increase the microbial protein production.

**ΜΕΛΕΤΗ STRESS ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΠΑΓΟΜΕΝΩΝ  
ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΚΑΙ ΨΥΧΡΟΥ  
ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ  
ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ (*Zea mays*, L.)**

**Γιωτίκα Ε., Ε. Καράνη, Α. Φουντούλη**

**Εργαστήριο Βιολογίας Ανάπτυξης, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και  
Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ**

Όλοι οι οργανισμοί, ευκαρυωτικοί και προκαρυωτικοί, υπό συνθήκες stress συνθέτουν σε μεγάλα ποσά ειδικές πρωτεΐνες (heat shock proteins, HSPs), οι οποίες συμμετέχουν σε πολλές κυτταρικές διεργασίες.

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν οι HSPs μικρού μοριακού βάρους (small HSPs, smHSPs), 17.6, 17.9, 34 και 43kDa αντίστοιχα, στα ριζικά κύτταρα του καλαμποκιού.

Η SDS- PAGE ηλεκτροφόρηση έδειξε ότι, η πρωτεΐνη HSP43 απουσιάζει από τη ζώνη διαφοροποίησης στους 28° C (φυσιολογικές συνθήκες) ενώ εμφανίζεται με υψηλό ποσοστό στις ζώνες: μεριστωματική (40° C, 4 ώρες), διαφοροποίησης (6° C, 2 ώρες) και επιμήκυνσης (6° C, 4 ώρες). Η πρωτεΐνη HSP34 εμφανίζεται με υψηλό ποσοστό στις ζώνες: μεριστωματική (40° C, 2 και 4 ώρες), διαφοροποίησης (6° C, 2 και 4 ώρες). Οι πρωτεΐνες HSP17.9 και HSP 17.6 εμφανίζονται με υψηλά ποσοστά στις ζώνες: επιμήκυνσης (40° C, 4 ώρες) και διαφοροποίησης (6° C, 4 ώρες).

Με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής εστίασης (IEF) διαπιστώθηκε ο αριθμός των πρωτεϊνών της κάθε οικογένειας και τα ισοηλεκτρικά τους σημεία (pI), ενώ η μέθοδος Western Blotting παρείχε ακριβή εντοπισμό των τεσσάρων HSPs.

Συμπερασματικά, πολλές HSPs που ανιχνεύονται στους 28° C υπό συνθήκες stress χάνονται, ή εμφανίζονται σε διαφορετική αναπτυξιακή ζώνη συγκριτικά με τους 28° C. Επιπλέον υπάρχουν ορισμένες πρωτεΐνες που συντίθενται υπό την επίδραση του θερμικού αλλά και του ψυχρού πλήγματος.



## **STRESS PROTEINS INDUCED BY HEAT AND COLD SHOCK IN ROOT CELLS OF *Zea mays*, L. (CORN).**

**Giottica E., E. Karani, A. Foundouli**

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

Heat shock proteins (HSPs) are detected in all cells both eukaryotic and prokaryotic and are involved in various cellular processes under normal (28° C) and stress conditions. In this study we examined the low – molecular –weight HSPs (small HSPs, smHSPs), 17.6, 17.9, 34 and 43 kDa respectively, in the root Cells of the corn.

The SDS – PAGE electrophoresis showed that HSP43 is absent from the mature region at 28° C (normal conditions), but is highly increased at the following regions: meristematic region (40° C, 4 hours), mature region (6°C, 2 hours) and elongation region (6°C, 4 hours). HSP34 is highly increased at the following regions: meristematic (40°C, 2 and 4 hours), mature region (6°C, 2 and 4 hours) HSP 17.9 and HSP 17.6 were found having large amounts at the elongation region (40°C, 4 hours) and the mature region (6°C, 4 hours).

IEF method showed the exact protein number of each of the protein family as well as their isoelectric points (pI), whereas, western Blotting method led to a precise detection of the four HSPs.

In conclusion, many of the hours HSPs that are detected under normal conditions (28°C), disappeared during the shock treatment, or, alternatively, were present at different development region, in comparison with normal conditions. Moreover, some proteins were induced not only by heat shock but cold shock, also.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ (mtDNA) ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Verticillium dahliae*

Γκίκας Δ.Β., Μ. Πάντου και Μ.Α. Τόπας

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15701

Ο *V. dahliae* ανήκει στους αφυλετικούς δευτερομύκητες με μεγάλη οικονομική σημασία. Σειρά μελετών κατά το παρελθόν έδειξε ότι στο μιτοχονδριακό του γονιδίωμα εδράζονται ιδιότητες που σχετίζονται με τη μακροβιότητα των ανθεκτικών δομών (resting structures). Επομένως, η γνώση της δομής και της οργάνωσης του mtDNA αυτού του μύκητα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για ανάλυση συγκεκριμένων γονιδίων, όσο και για την ενδο- και δια- ειδική ταυτοποίηση στελεχών. Επιπρόσθετα, μπορούν να εξαχθούν σημαντικές πληροφορίες για τις φυλογενετικές σχέσεις του οργανισμού. Καθαρό mtDNA, που απομονώθηκε ύστερα από φυγοκέντρηση σε κλίση CsCl, χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία δύο γονιδιακών τραπεζών, μετά από πέψη με *HindIII* και *EcoRI* και εισαγωγή των τμημάτων στον φορέα κλωνοποίησης pBlueScript. DNA των κλώνων (dot blots), υπέστη υβριδισμό τόσο με ετερόλογους ιχνηθέτες, προερχόμενους από τμήματα του mt γονιδιώματος του *V. lecanii* (Kouvelis et al, 2000), όσο και με ομολόγους ιχνηθέτες (PCR προϊόντα) -SSU και LSU περιοχές- του mt γονιδιώματος του *V. dahliae*. Οι κλώνοι που έδωσαν θετικό σήμα υβριδισμού απομονώθηκαν και ακολούθησε η ανάλυση της πρωτοταγούς δομής αρκετών εξ' αυτών (περίπου το 1/2 του συνολικού mtDNA). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το mtDNA αυτού του μύκητα παρουσιάζει σημαντική ομοιότητα στη δομή και λειτουργική οργάνωση με αυτή του εντομοπαθογόνου μύκητα *V. lecanii* και πολύ λιγότερο με την αντίστοιχη των 5 μυκητιακών mtDNA γονιδιωμάτων που είναι μέχρι σήμερα παγκοσμίως γνωστά. Οι αλληλουχίες του mtDNA του *V. dahliae* επιτρέπουν το σχεδιασμό εκκινητικών ολιγονουκλεοτιδίων για την ενίσχυση α) συγκεκριμένων γονιδίων άλλων φυτοπαθογόνων μυκήτων, και β) μεγάλων μιτοχονδριακών τμημάτων από μύκητες διαφόρων ειδών (mtDNA walking) -πρόγραμμα σε εξέλιξη σήμερα-.

## MITOCHONDRIAL GENOME ORGANIZATION OF THE PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *Verticillium* *dahliae*

Ghikas D.B., M. Pantou & M.A. Typas

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

*Verticillium dahliae* is an asexual phytopathogenic fungus with great economical importance. Previous studies have shown that the mitochondrial (mt) DNA of this organism codes for genes related with the development of resting structures. Thus, knowledge of its structure and genome organization can assist not only the study of specific genes but intra- and inter- species molecular typing of *Verticillium*. Furthermore, it can contribute important information about the phylogenetic relationships of this and other filamentous fungi.

Mt DNA isolated by ultra-centrifugation in CsCl gradient was restricted with *EcoRI* and *HindIII* and the restricted fragments were used to construct mtDNA gene banks. DNA from selected clones was arranged by dot-blotting and hybridized with heterologous probes (fragments from the mtDNA of *Verticillium lecanii*, Kouvelis et al. 2000) as well as homologous probes (PCR products of the SSU-LSU genes of *V. dahliae*). All clones that gave strong hybridization signal were sequenced (about the half of the total mtDNA genome).

Results, so far, indicate that *V. dahliae* mtDNA has high identity, both at the structural and functional level, with the mtDNA of the entomopathogenic fungus *V. lecanii*, but significantly less with the mtDNA of the only 5 fungi for which their entire mt genome sequences are known. Accumulation of sequencing data from the mtDNA of *V. dahliae* allows the construction of primers capable of amplifying mitochondrial genes or large mtDNA fragments (helpful for mtDNA walking) from other phytopathogenic fungi.

## ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *MELANOLEUCA* PAT. ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Γκόνου-Ζάγκου Ζ. και Π. Δεληβοριάς

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας-Ταξινόμικης,  
Πανεπιστημιούπολη 157 84, Αθήνα

Το γένος *Melanoleuca* Pat. αποτελεί ένα καλά καθορισμένο γένος της οικογένειας *Tricholomataceae* των Βασιδιομυκήτων, το οποίο χαρακτηρίζεται από βασιδιοσπόρια με αμυλοειδή επαρματώδη διακόσμηση και συνήθως ευδιάκριτη υαλώδη περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση, την παρουσία στα περισσότερα είδη κυστιδίων με κορυφαίους κρυστάλλους, την παραγωγή εξωκυτταρικής-επικυτταρικής χρωστικής στις υφές της επιδερμίδας του πύλου και την παντελή απουσία κρίκων. Παρόλα αυτά, το μικρό εύρος διακύμανσης που εμφανίζουν τα μακρο- και μικροσκοπικά χαρακτηριστικά από είδος σε είδος, σε συνδυασμό με τη σχετική ποικιλομορφία τους μέσα στα διάφορα είδη, καθιστούν τη διάκριση ειδών και άλλων ταξινομικών βαθμίδων ιδιαίτερα δύσκολη. Η αμφιλεγόμενη και συχνά αντικρουόμενη ερμηνεία από διάφορους ερευνητές των αρχικών περιγραφών των ειδών έχει δημιουργήσει ταξινομική σύγχυση. Το πρόβλημα περιπλέκεται από την έλλειψη σύγχρονης μονογραφίας και επιτείνεται από την ύπαρξη περιορισμένων και αποσπασματικών μόνο δημοσιεύσεων.

Στα πλαίσια της ερευνητικής δραστηριότητας του εργαστηρίου μας για τη μελέτη και καταγραφή της ποικιλότητας των μακρομυκήτων της Ελλάδας έχει γίνει συλλογή ενός σχετικά μεγάλου αριθμού δειγμάτων που ανήκουν στο γένος *Melanoleuca*. Το υλικό έχει συλλεχθεί κατά τη διάρκεια πολλών ετών, σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας, κυρίως από δάση κωνοφόρων δένδρων. Από τη ταξινομική μελέτη 28 δειγμάτων έχουν προσδιορισθεί 12 είδη, τα *M. curtipes*, *M. stridula*, *M. brevipes*, *M. pseudobrevipes*, *M. microcephala*, *M. leucophylloides*, *M. paedida*, *M. schumacheri*, *M. batallei*, *M. subpulverulenta*, *M. melaleuca* και *M. cognata*, από τα οποία τα 10 πρώτα αποτελούν καινούργιες αναφορές για την Ελλάδα. Οι μέχρι στιγμής καταγραφές αριθμούσαν μόλις 4 είδη, τα *M. melaleuca*, *M. cognata*, *M. arcuata* και *M. humilis*. Όλα τα προσδιορισμένα δείγματα είναι κατατεθειμένα στο Μυκητολογικό Ερμπαρίο ATHU-M του Πανεπιστημίου Αθηνών.

## THE GENUS *MELANOLEUCA* PAT. IN GREECE: A PRELIMINARY STUDY

Gonou-Zagou Z. & P. Delivorias

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

The genus *Melanoleuca* Pat. is a well defined genus in the family *Tricholomataceae* of basidiomycetes, characterized by the absence of clamps and the presence of basidiospores with amyloid ornamentation and usually distinct suprahilar plague, apically encrusted cystidia in most species and intraparietal pigment at the hyphae of the pileipellis. However, the narrow interspecific range of diversity of the macro- and micro-scopical characteristics combined with their intraspecific variability render the distinction between species a very difficult task. The ambiguous and often controversial interpretations of original descriptions by many mycologists have resulted to a confusing taxonomic knowledge of the genus. The problem is complicated by the lack of a modern monograph and exerted by the presence of limited and fragmentary publications.

During the last years, a large number of specimens belonging to the genus *Melanoleuca* has been collected from different parts of Greece. The material has been sampled mainly from coniferous forests. In total, 28 specimens have been identified, belonging to 12 species, namely *M. curtipes*, *M. stridula*, *M. brevipes*, *M. pseudobrevipes*, *M. microcephala*, *M. leucophylloides*, *M. paedida*, *M. schumacheri*, *M. batallei*, *M. subpulverulenta*, *M. melaleuca* and *M. cognata*, from which the first 10 species are new records for Greece. The previous records numbered merely 4 species, *M. melaleuca*, *M. cognata*, *M. arcuata* and *M. humilis*. All identified specimens have been deposited in the ATHU-M Mycological Herbarium of the University of Athens.

## ΣΩΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ (ΕΛΛΑΔΑ)

Γκριζιώτης Γ. και Α.Πέντζου-Δαπόντε

**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα**

Στα πλαίσια ερευνητικής εργασίας εκπονήθηκε έρευνα η οποία είχε ως αντικείμενο την μελέτη και την καταγραφή των βασικών γνωρισμάτων του προσώπου σε αντιπροσωπευτικό δείγμα του πληθυσμού της Ελλάδας (οι Έλληνες ανήκουν στο Μεσογειακό πληθυσμό). Πιο συγκεκριμένα τα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν στην έρευνα ήταν τα εξής :

- Χρώμα μαλλιών που διακρίνεται σε 3 ομάδες α. ομάδα ξανθών β. ομάδα καστανών γ. ομάδα ερυθρών
- Σχήμα της μορφής των τριχών που διακρίνονται σε α. λισότριχα, β. κυματότριχα γ. ουλότριχα
- Πυκνότητα μαλλιών που διακρίνονται σε α. ατριχία β. πολύ αραιά γ. αραιά δ. μέσης πυκνότητας ε. πυκνά και στ. πολύ πυκνά.
- Χρώμα ματιών που διακρίνεται σε α. καστανόμαυρα β. σκοτεινοκάστανα γ. καστανά δ. ανοιχτοκάστανα ε. πράσινα στ. σκοτεινότεφρα ζ. ανοιχτότεφρα η. σκοτεινογάλανα θ. γαλανά ι. ανοιχτογάλανα και κ. αλφικά.
- Δομή της ίριδας του ματιού που διακρίνεται σε ρυτιδώσεις, κρύπτες και πτυχές.
- Σχήμα φρυδιού που διακρίνεται σε α. οριζόντιο β. να πέφτει προς τα πλάγια γ. να είναι στη μέση οριζόντιο αλλά στα πλάγια να πέφτει κάτω δ. να σχηματίζει γωνία ή να διευθύνεται προς τα πάνω ε. να είναι ελαφρά τοξοειδές στ. να είναι τοξοειδές.
- Πυκνότητα φρυδιού . Τα φρύδια μπορεί να χαρακτηρίζονται ως α. πολύ πυκνά β. πυκνά γ. μέσης πυκνότητας δ. αραιά ε. πολύ αραιά και στ. άτριχα.

Για την εργασία χρησιμοποιήθηκαν οι κλίμακες των FISCHER – SALLER (για το χρώμα των μαλλιών) , των MARTIN – SALLER (για το χρώμα των ματιών) καθώς και του ZIEGELMAYER (για την δομή της ίριδας). Στην έρευνα συμμετείχαν 1050 άτομα ηλικίας 12 – 22 χρονών. Ύστερα από στατιστική ανάλυση των δεδομένων θα διαπιστωθούν τα γενικά χαρακτηριστικά που αφορούν τον εξετασθέντα ελληνικό πληθυσμό. Τέλος πρέπει να σημειωθεί ότι την έρευνα ενδιέφεραν οι περιπτώσεις ατόμων που εμφάνιζαν στροβίλους ( βρεγματικούς και μετωπικούς) καθώς και οι περιπτώσεις ατόμων που είχαν το χαρακτηριστικό της σμιχτοφρυδίας.

## **SOMATOGENIC COUNTS OF THE GREEK POPULATION**

**Griziotis G. & A. Pentzou-Daponte**

**Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54006, Thessaloniki, Greece**

This research has been done to study and register the basic characteristics of the face in the Mediterranean population of Greece. Specifically the characteristics, which interest the research, are the following:

- Color of hair (a. blond, b. brown, c. red)
- Form of hair (a. straight, b. waveshape, c. wooly – headed)
- Thickness of hair (a. hairless, b. very thin, c. thin, d. middle thickness e. thickly, f. very thickly)
- Color of eyes (a. dark brown, b. very brown, c. brown, d. green, e. iron gray, f. gray g. dark blue, h. blue, i. Sky blue, k. albinism eyes)
- Structure of iris (a. wrinkled, b. fold, c. crypts)
- Shape of eye – brow (a. horizontal, b. to the side, c. in the middle horizontal and to the side dropping down, d. forming angle or goes above, e. slightly arched, f. arched)
- Thickness of eye – brow (a. very thick, b. thick, c. middle thickness, e. rare, f. very rare, g. hairless)

For the research we have used the scale of FISCHER – SALLER (for the color of hair), MARTIN – SALLER (for the color of eyes) and at the end ZIEGELMAYER (for the structure of iris). The study has been done after counting 1000 people 12 – 22 years old and then it has been done the statistic analysis with a specific program. After the statistic analysis of data it will be known the general characteristics of the greek population. We should note that it has been registered the cases of people who appeared strobiles (frontal and bregmatic) and cases with eye – brows close together.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΔΥΟ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ, *Bactrocera (Dacus) oleae***

Γουλιέλμος Γ.<sup>1</sup>, Ν. Κοσμίδης<sup>1</sup>, Μ. Λουκάς<sup>1</sup>, Σ. Τσάκας<sup>1</sup>  
και Ε. Ζούρος<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Τμ. Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Παν/μιο Αθηνών,

<sup>2</sup>Τμ. Βιολογίας, Παν/μιο Κρήτης, Ηράκλειο,

<sup>3</sup>Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης, Ηράκλειο.

Το ενζυμικό σύστημα της αλκοολικής αφυδρογονάσης (*Adh*) έχει μελετηθεί εκτενώς σε πολλά είδη *Drosophila*, καθώς και στα έντομα *Ceratitis capitata* και *Bactrocera oleae*, με στόχο τόσο την κατανόηση των βιοχημικών διαφορών που παρουσιάζει στα διάφορα είδη, όσο και τη μοριακή ανάλυση των αντίστοιχων γονιδίων. Βιοχημικές μελέτες στο Δάκο της ελιάς έδειξαν την ύπαρξη τριών αλλοενζυμικών ποικιλιών. Σε συνθήκες εργαστηριακής εκτροφής παρατηρήθηκαν αλλαγές στη φυσιολογία, συμπεριφορά και αναπαραγωγή του εντόμου, γεγονός που μπορούσε να συσχετιστεί με αλλαγές των αλλοενζυμικών συχνοτήτων. Η ανάλυση της μοριακής δομής και οργάνωσης της *Adh* ήταν απαραίτητη προκειμένου να μελετηθεί η εξελικτική και προσαρμοστική σημασία αυτού του ενζυμικού συστήματος στο υπό μελέτη έντομο. Κλωνοποιήθηκαν δυο γονίδια, τα οποία ονομάστηκαν *Adh1* και *Adh2*, μεγέθους 1981 και 988 νουκλεοτιδικών βάσεων, αντίστοιχα, τα οποία κωδικοποιούν δυο πρωτεΐνες 257 και 258 αμινοξέων. Οι πρωτεΐνες αυτές παρουσιάζουν 77% ομοιότητα μεταξύ τους, ενώ κάθε γονίδιο αποτελείται από τρία εξόνια και δυο ιντρόνια.

Μελετήθηκαν ακόμα οι φυλογενετικές σχέσεις των ισοενζύμων της ADH στα είδη *C. capitata* και *B. oleae* αλλά και η πιθανή εξέλιξη που ακολούθησε ένα προγονικό γονίδιο *Adh* στην οικογένεια *Tephritidae*. Τα φυλογενετικά δένδρα που κατασκευάστηκαν με βάση τις αμινοξικές αλληλουχίες των ADH1 και ADH2 έδειξαν ότι ο διπλασιασμός του γονιδίου *Adh* προϋπήρχε του διαχωρισμού των δυο ειδών, ενώ αυτά που βασίστηκαν στις αντίστοιχες νουκλεοτιδικές αλληλουχίες υποστηρίζουν την υπόθεση ότι ένας ενδοειδικός γονιδιακός διπλασιασμός ακολούθησε τον διαχωρισμό των ειδών. Πάντως, και τα δυο αυτά εξελικτικά σενάρια απαιτούν περαιτέρω μελέτη.



## CLONING AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF TWO ALCOHOL DEHYDROGENASE LOCI FROM THE OLIVE FRUIT FLY, *Bactrocera (Dacus) oleae*

Goulielmos G.N.<sup>1</sup>, N. Cosmidis<sup>1</sup>, M. Loukas<sup>1</sup>, S. Tsakas<sup>1</sup>  
& E., Zouros<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Dep. of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens

<sup>2</sup>Dep. of Biology, University of Crete, Iraklion, Crete,

<sup>3</sup>Institute of Marine Biology of Crete, Iraklion.

The alcohol dehydrogenase (ADH) enzyme system has been studied in several species of *Drosophila* as well as in *Ceratitis capitata* and *Bactrocera oleae* with the main aim of defining their evolutionary relationships and biochemical differences and analyzing the molecular organization of the respective *Adh* gene(s). Biochemical studies in *B. oleae* have shown the existence of an allozyme polymorphism with three alleles. Artificial rearing of the insect in the laboratory results in drastic changes in its physiology, behavior and reproductive biology which can be correlated with an allozyme frequency change. Further insight into the evolutionary and adaptational significance of the *Adh* system of this insect required the elucidation of the gene structure and organization of the alcohol dehydrogenase family members.

The cloning and structural characterization of the two *Adh* loci of *B. oleae* was performed and the existence of a second *Adh* gene in this species was documented. Sequence analysis revealed two genes, named *Adh1* and *Adh2* and the deduced amino acid sequences correspond to two proteins of 257 and 258 amino acid residues, exhibiting 77% identity to each other. Both *Adh* loci consist of three exons and two introns.

The phylogeny of the ADH isozymes of *B. oleae* and *C. capitata* was also addressed as well as the significance of these results for the evolution of a common ancestral gene of *Adh* in *Tephritidae*. Phylogenetic trees based on amino acid or nucleotide sequences, respectively, grouped *Adh1* and *Adh2* of the two species in such a way suggesting that either a duplication occurred before the splitting of the two species from their common ancestor or that a duplication event occurred within each species after speciation. It is concluded that both scenarios are equally possible at this stage.

## ΦΥΣΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΧΕΙΜΑΡΡΟΠΟΤΑΜΩΝ ΤΗΣ ΛΕΚΑΝΗΣ ΑΠΟΡΡΟΗΣ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΠΛΑΣΤΗΡΑ

Δάκος Β. και Μ. Λαζαρίδου-Δημητριάδου

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,  
54006 Θεσσαλονίκη

Στην οικολογία αναφέρεται η υπόθεση ότι η ποιότητα του ενδιαιτήματος μπορεί να καθορίσει και την αφθονία των ειδών σε ένα οικοσύστημα. Επομένως, η εκτίμηση της ποιότητας της φυσικής δομής ενός ενδιαιτήματος θα μπορούσε να παράσχει ένδειξη της υπάρχουσας βιοποικιλότητας, και η διατήρηση αυτής, θα βοηθούσε στην προστασία της. Η μελέτη της Φυσικής Δομής των Ποταμών (River Habitat Survey) είναι ένα σύστημα εκτίμησης του χαρακτήρα και της δομής ενός ποτάμιου συστήματος βασισμένο σε γεωμορφολογικά, υδρολογικά στοιχεία και στην παρουσία άλλων σημαντικών για την άγρια φύση δομών. Προέκυψε από τη σύγκριση των δομών που έχουν παρατηρηθεί σε ένα σταθμό με αυτές άλλων σταθμών αναφοράς. Υψηλή ποιότητα καθορίζεται από χαρακτηριστικά ενδιαιτημάτων που απαντούν σε σταθμούς με μη τροποποιημένη φυσική κατάσταση. Στην Ελλάδα, παρόμοια έρευνα δεν έχει διεξαχθεί μέχρι στιγμής. Κατά τη διάρκεια της έρευνάς μας, η συλλογή στοιχείων έγινε κατά μήκος 500μ. των ρεμάτων –10 σημεία κάθε 50μ.- της λεκάνης απορροής της λίμνης Πλαστήρα και περιλάμβανε δομές του ποταμού (τόσο μέσα στην κοίτη όσο και στις όχθες) και προσκείμενη παραποτάμια βλάστηση. Τα παραπάνω στοιχεία καταγράφηκαν σε χάρτες χρησιμο-ποιώντας GPS συντεταγμένες και συγκεντρώθηκαν πληροφορίες σχετικά με το υψόμετρο, την κλίση, τη γεωλογία, το ύψος της πηγής και την απόσταση από αυτήν με βάση γεωλογικούς χάρτες. Η εφαρμογή της μεθόδου καθόρισε την αποτελεσματικότητα της ως εργαλείο μελέτης, υποδεικνύοντας τα σημεία που θα πρέπει να τροποποιηθούν προκειμένου να ανταποκρίνεται στη χρήση σε ποτάμια και ρέματα της Ελλάδας. Επιπλέον, γνωρίζοντας ότι τα ρέματα γύρω από τη λίμνη Πλαστήρα βρίσκονται σε μια σχεδόν φυσική παρθένα κατάσταση, θα μπορούν να αποτελέσουν σταθμούς αναφοράς για κατοπινές μελέτες. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας θα συγκριθούν επίσης με τις φυσικοχημικές αναλύσεις και τους βιολογικούς δείκτες που υπολογίστηκαν συγχρόνως στους παραπάνω σταθμούς, και επιπλέον με αντίστοιχα στοιχεία που προέρχονται από τον υποβαθμισμένο ποταμό Καλαμά στην Ήπειρο.

## **HABITAT QUALITY OF THE STREAMS IN THE CATCHMENT AREA OF THE LAKE PLASTIRA (THESSALY, HELLAS)**

**Dakos V. & M. Lazaridou-Dimitriadou**

**Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, 54006  
Thessaloniki, Hellas**

In ecology, the assumption that the quality of habitats determines the richness of species in any ecosystem is frequent. Consequently, an assessment of habitat quality should provide an indication of biodiversity and the maintenance of it may lead to the protection of biodiversity. River Habitat Survey (RHS) is a system for assessing the character and habitat quality of rivers based on their physical structure, the occurrence and diversity of habitat features of known value for wildlife. It is derived by comparing observed features at a site with those recorded at other sites from rivers of similar character. Habitat features occurring at sites in a predominantly unmodified physical state determine high quality. The application of the RHS field method was established by Raven et al. (1997,1998a) and used in the UK. In Hellas, no such survey has been conducted up till now. During our study, data collection was based on a standard 500m length-10 spot-checks every 50m- of the watercourses around the artificial lake Plastira at 16 sites, upstream and downstream, including features of the channel (both in-stream and banks) and adjacent riparian zone. In every site GPS coordinates were recorded and information concerning altitude, slope, geology, height of source and distance from source were collected through geological maps. The application of RHS in Hellas helped us to determine the effectiveness of this method and distinguish the points that need to be modified in order to be better adjusted to rivers and streams of our country. At the same time, keeping in mind that the watercourses around lake Plastira have an almost unmodified state, an overview of their predominant physical characteristics was produced. These sites with features of a top-quality can be used as reference material in later studies. The outcomes of this survey will be, in addition, compared to the physico-chemical and the biological index analyses conducted at the same time and also to those derived from the polluted river of Kalamas in West Hellas.

**ΑΥΤΟΜΕΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΒΑΡΕΩΝ  
ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟΝ ΠΕΠΤΙΚΟ ΑΔΕΝΑ ΜΥΔΙΩΝ  
*Mytilus galloprovincialis* ΑΠΟ ΤΟΝ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΑΙ  
ΤΟΝ ΣΤΡΥΜΟΝΙΚΟ ΚΟΛΠΟ**

**Δημητριάδης Β.Κ. και Μ. Παπαδάκη**

**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη**

Με τη βοήθεια του φωτονικού και του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου μελετήθηκε, με τη μέθοδο της αυτομεταλλογραφίας, η ενδοκυτταρική κατανομή βαρέων μετάλλων στον πεπτικό αδένα του κοινού μυδιού, *Mytilus galloprovincialis*.

Η συλλογή των μυδιών έγινε από δύο περιοχές στον Θερμαϊκό (λιμάνι της Θεσσαλονίκης και Χαλάστρα) και μια περιοχή στον Στρυμονικό κόλπο (Ολυμπιάδα.) τον Δεκέμβριο του 1997. Η τεχνική εφαρμόστηκε σε τομές ιστών εγκλεισμένων σε εποξικές ρητίνες και παρατηρήθηκε ότι κύριες θέσεις συσσώρευσης των βαρέων μετάλλων στους πεπτικούς σωληνίσκους ήταν λυσοσωμικές δομές, όπως τα ετερολυσοσώματα και τα υπολειπόμενα σωμάτια των πεπτικών κυττάρων. Επιπλέον, τα μύδια που συλλέχθηκαν από το λιμάνι της Θεσσαλονίκης παρουσίασαν αυξημένη συγκέντρωση μετάλλων στον πεπτικό τους αδένα, ενώ τα μύδια από τη Χαλάστρα και την Ολυμπιάδα έδειξαν μικρότερη συσσώρευση. Το γεγονός αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με βιβλιογραφικά δεδομένα, τα οποία αναφέρουν αντίστοιχη κατανομή των μετάλλων στον Θερμαϊκό και στον Στρυμονικό κόλπο.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι η μέθοδος της αυτομεταλλογραφίας μπορεί να θεωρηθεί ως αξιόπιστη τεχνική για τη μελέτη της ρύπανσης κατά μήκος θαλάσσιων περιοχών με διαφορετικό βαθμό ρύπανσης, μπορεί δηλαδή να χρησιμοποιηθεί ως βιομάρτυρας σε μελέτες βιοπαρακολούθησης της ρύπανσης.

**AYTOMETALLOGRAPHIC LOCALIZATION OF  
HEAVY METALS IN THE DIGESTIVE GLAND OF  
MUSSELS *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* IN  
THERMAIKOS AND STRYMONIKOS GULF**

**Dimitriadis V.K. & M. Dapadaki**

**Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of  
Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54006**

In this study the histological and ultra structural localization of heavy metals in the digestive gland of the mussel *Mytilus galloprovincialis* is evaluated using the method of autometallography. Mussels were collected from two populations along Thermaikos gulf (port of Thessaloniki and Halastra) and one population in Strymonikos gulf (Olympiada). The technique of autometallography has been applied on thick and thin sections of epoxy resin embedded tissues. The ultrastructural observations have shown that in the digestive gland, the metals were localized in lysosomal structures, such as the heterolysosomes and the residual bodies of the digestive cells. In addition, mussels collected from the port of Thessaloniki displayed higher amount of metals, while the mussels from Halastra and Olympiada the localization of metals was lower. This fact is consistent with other reports showing a similar distribution of metals in Thermaikos and Strymonikos gulf. The results of the study support the use of the technique of autometallography as stress index in biomonitoring studies, i.e., as bio-indicator in bio-monitoring programs

## ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΤΟΥ ΠΛΑΓΚΤΟΥ ΚΑΙ ΤΟ ΦΥΣΙΚΟ-ΧΗΜΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΕΞΑΜΕΝΩΝ ΑΛΥΚΗΣ

Δολαψάκης Ν.Π., Α.Οικονόμου-Αμίλλη και Τ. Τάφας  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας  
Οικολογίας και Ταξινόμικης, Πανεπιστημιόπολη 157 81  
Αθήνα

Οι κοινωνίες μικροφυκών του πλαγκτού σε υπεράλυρα νερά δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Η υψηλή αλατότητα αυτών των υδάτων συνήθως κυμαίνεται από 50-350 ‰. Στις αλατότητες αυτές, η σύνθεση του φυτοπλαγκτού και οι φυσικοχημικές παράμετροι διαφέρουν από άλλα ύδατα και οι φυτοπλαγκτικές κοινωνίες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω της σύστασης τους από αλοανθεκτικά είδη, με ενδιαφέροντα βιοχημικά χαρακτηριστικά.

Στην εργασία αυτή έγιναν δειγματοληψίες σε δεξαμενές με μεταβαλλόμενη αλατότητα από 45 ‰ έως και 145 ‰ στις αλυκές Αγγελοχωρίου Θεσσαλονίκης. Ακολούθησαν ποιοτικές και ποσοτικές αναλύσεις στις πλαγκτικές κοινωνίες. Μετρήθηκαν φυσικοχημικές παράμετροι, όπως αλατότητα, θερμοκρασία, pH, βάθος, άζωτο, φώσφορος και πυρίτιο και μέταλλα. Οι ζωντανοί πληθυσμοί πλαγκτού καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικά διαλύματα Walne και ASW. Μετρήθηκε επίσης η χλωροφύλλη με φασματοφωτομετρική μέθοδο. Οι ποσοτικές μετρήσεις του φυτοπλαγκτού έγιναν με ανάστροφο μικροσκόπιο και θαλαμίσκους Kolkwitz.

Παρουσιάζονται αποτελέσματα για την ποιοτική και ποσοτική σύσταση των πλαγκτικών φυκοκοινωνιών και γίνεται εκτίμηση της ομοιότητάς τους με άλλα ανάλογα υπεράλυρα συστήματα.

## **PLANKTONIC MICROALGAE AND THE PHYSICO-CHEMICAL ENVIRONMENT OF SALT WORKS PONDS**

**Dolapsakis N.P., A. Economou-Amilli & T. Tafas**

**Department of Ecology and Taxonomy, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens – Greece**

The microalgal planktonic communities of hypersaline waters have not been extensively investigated. The high salinity in these waters usually ranges from 50-350 ‰. At these salinities, the plankton composition and the physicochemical parameters are different from those of other waters. As such, the amount of microalgal plankton species is limited and specific. Under these conditions, it is also possible that microalgae may have interesting biochemical characteristics. Within this context, samples were taken in ponds with changing salinities up to 145 ‰ from the salt works at Aggelohori in Thessaloniki. The sampling and storage was undertaken using standard methods. The physicochemical parameters measured, included salinity, temperature, pH, depth, nitrogen, phosphorus, and silica and metal concentrations. The phytoplankton species were identified and cultivated in suitable media (Walne and ASW). The chlorophyll content in the samples was measured using a spectrophotometric method. Quantitative measurements of the plankton populations were made using an inverted microscope and Kolkwitz sedimentation chambers. We present preliminary results of this investigation and compare them with others of similar hypersaline systems.

## **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΒΑΣΙΚΟΙ ΠΟΡΟΙ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΑ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

**Δολαψάκης Ν.Π.**

**Τομέας Οικολογίας και Ταξινόμησης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα**

Η ζήτηση προϊόντων υδατοκαλλιέργειας έχει αυξηθεί λόγω της αύξησης του πληθυσμού και του πλούτου στη Γη. Η αύξηση οφείλεται επίσης στην καθήλωση της αλιευτικής απόδοσης των διαφόρων αλιπέδων ευρύτερα στον κόσμο. Παγκοσμίως, τα γενικά χαρακτηριστικά παραγωγής, κατανάλωσης, και απαίτησης πόρων έχουν αλλάξει. Συγκεκριμένα, ανάλογα με την ανάπτυξη περιοχών και χωρών, η κατανάλωση υδάτων, επιφάνειας/έδαφος και ιχθυάλευρων, έχουν αλλάξει. Σε αυτή την έρευνα εξετάστηκαν η παραγωγή υδατοκαλλιέργειας στον κόσμο και οι τάσεις διαχείρισης βασικών πόρων στις αρχές του 1990.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι υπάρχει αυξημένη ανάγκη να γίνει ο τομέας των υδατοκαλλιεργειών, είτε πιο αποδοτικός, ή να επανεξετάσει τα χαρακτηριστικά διαχείρισης πόρων. Αυτό είναι αρκετά σημαντικό ώστε να γίνει μια βιομηχανία παραγωγής τροφίμων με μεγαλύτερη επιτυχία και ανταγωνιστικότητα. Επιπλέον, ο τομέας πρέπει να προμηθεύει με μεγαλύτερη ακρίβεια πιο συγκεκριμένα προϊόντα για να στοχεύει τους καταναλωτές πιο σωστά. Τονίζεται η σημασία πρώιμων και πιο εκτατικών συστημάτων υδατοκαλλιέργειας στη δομή προμήθειας και ζήτησης τροφής. Η εφαρμογή περιβαλλοντικών οικονομικών επίσης δείχνει πως ο τομέας ίσως να αντιμετωπίσει δυσκολίες στο εγγύς μέλλον αν συγκριθεί η οικονομική αξία των πόρων με την αξία της παραγωγής.



## **PRODUCTION CHARACTERISTICS, PRIMARY RESOURCES AND ENVIRONMENTAL ECONOMICS IN AQUACULTURE**

**Dolapsakis N.P.**

**Department of Ecology and Taxonomy, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens - Greece**

Demand for aquacultured products has increased due to the increase in population and wealth. This has been reinforced by the stabilization of fisheries catch worldwide. Globally, the general characteristics of production, consumption and resource demand have changed. Specifically, according to the development of regions and countries, consumption of water, area, and fishmeal vary. In this study, world aquaculture production and trends of the sector's primary resource use in the 1990's were examined. The results show the increasing necessity for the sector to, either become more efficient, or re-evaluate its resource-use characteristics. There is importance in this in order for aquaculture to become a more successful and competitive food production industry. Furthermore, aquatic culture needs to be a more accurate and specific supplier of food products in order to correctly target consumers. The importance of artisanal and less intensive systems to the structure of food supply and demand is therefore emphasized. Application of environmental economics also show how the industry may face difficulties in the near future when comparing resource to production values.

## **MORPHOREGULATORY MOLECULES IN DEVELOPMENT OF THE EARLY EMBRYO**

**Zagris Nikolas**

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

During development, the individual embryonic cells become integrated to form an increasingly complex system of cell-cell and cell-matrix interactions. The different classes of molecules that play a major regulatory role in development are the extracellular matrix molecules, cell adhesion molecules, cell surface proteoglycans, and plasma membrane receptors, which include integrin and non-integrin receptors. Cells from different tissues display selective affinities, in ways that are region-specific and stage-dependent, which helps to establish and maintain the spatial order of different tissues in the embryo. Stimulatory and inhibitory signals are important for cell adhesion and/or migration during development. The path-finding and the avoidance of inappropriate tracks by cells, and the development of organized layers and establishment of boundaries are crucial events. The interactions between cells and the extracellular matrix initiate a flow of information that acts to regulate many fundamental processes of development which include cell migration in the early embryo, morphogenesis during organ formation, and the modulation of growth and differentiation programs of cells.

*This work was supported by grant 99 ΕΑ 352 from the General Secretariat of  
Research and Technology of Greece and the European Social Fund*

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΕΣΤΙΑΚΗΣ  
ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ (FOCAL ADHESION KINASE) ΣΤΗΝ  
ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑ *E. coli* ΑΠΟ ΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ  
ΤΗΣ *Ceratitis capitata***

**Μεθενίτη Α., Παρασκευοπούλου Ν., Λαμπροπούλου Μ.,  
Μαρμάρας Β.**  
Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο, Πάτρα 26500.

## ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΕΣΤΡΟΦΑ

Ζαρκάδης Ι.Κ.<sup>1,3</sup>, Γ. Σφυρόερα<sup>1</sup>, S. Franchini<sup>2</sup>, Ι.Α. Λάμπρης<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εργ. Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26110 Ρίο, Πάτρα

<sup>2</sup>Lab. of Protein Chemistry, Dept. of Pathology, University of Pennsylvania, PA 19104, USA.

Το σύστημα του Συμπληρώματος, αρχέγονος εξελικτικά μηχανισμός ανοσολογικής απόκρισης, αποτελείται από μια ομάδα 30 και πλέον πρωτεϊνών (διαλυτές ή μεμβρανικές και υποδοχείς) και παίζει σημαντικό ρόλο, τόσο στη φυσική όσο και στην προσαρμοστική ανοσία. Το Συμπλήρωμα ενεργοποιείται από 4 διαφορετικές πορείες: κλασική, εναλλακτική, λεκτίνης και λυτική. Εξελικτικά, φαίνεται πως προηγήθηκε η εμφάνιση της εναλλακτικής και εκείνης της λεκτίνης, πορείες που ενεργοποιούνται μέσω της ειδικής επιφάνειας των μικροοργανισμών. Αν και γονίδια του Συμπληρώματος είναι παρόντα και εκφράζονται σε ασπόνδυλα (C3, MBL, factor B), εντούτοις καλά αναπτυγμένο σύστημα Συμπληρώματος, όμοιο με εκείνο των θηλαστικών, πρωτοεμφανίζεται στους ιχθείς. Αντίθετα με άλλα είδη (αμφίβια, πτηνά, θηλαστικά), οι οστεϊχθείς κατέχουν πολλαπλές μορφές για διάφορα γονίδια του Συμπληρώματος, γεγονός που πιθανόν να επεκτείνει την δράση της φυσικής ανοσίας. Έχουμε κλωνοποιήσει και χαρακτηρίσει λειτουργικά πέντε ισομορφές για το τρίτο συστατικό του Συμπληρώματος και δύο ισομορφές για τον παράγοντα Β, στην πέστροφα (rainbow trout). Για τη μελέτη και περαιτέρω χαρακτηρισμό του ρόλου των μοριακών μηχανισμών εξέλιξης του Συμπληρώματος στην ανοσολογική αναγνώριση, ξεκινήσαμε την κλωνοποίηση και λειτουργική μελέτη των γονιδίων του Συμπληρώματος στην πέστροφα. Θα παρουσιαστούν αποτελέσματα, που αφορούν τα γονίδια C3, C4, C5, C8, C9, MASP, MBL, factor B, factor H και ανήκουν και στις 4 πορείες ενεργοποίησης και ρύθμισης του Συμπληρώματος στην πέστροφα. Επίσης, θα συζητηθεί η εξελικτική τους σχέση με τα αντίστοιχα γονίδια του Συμπληρώματος στα θηλαστικά.

<sup>3</sup>Υποστηρίζεται από το ΠΕΝΕΛ 99 (99ΕΛ 483)

## **THE COMPLEMENT SYSTEM IN RAINBOW TROUT**

**Zarkadis I.K.<sup>1</sup>, G. Sfyroera<sup>1</sup>, S. Franchini<sup>2</sup>, J.D. Lambris<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Laboratory of Biology, School of Medicine, University of Patras, 26110  
Rion, Patras**

**<sup>2</sup>Laboratory of Protein Chemistry, Dept. of Pathology, University of  
Pennsylvania, PA 19104, USA**

The complement system (C), an ancient mechanism of host defense, consists of a complex group of more than 30 soluble proteins and receptors and plays an important role in both the innate and adaptive immunity. The C, is divided into four different pathways of activation termed classical, alternative, lectin and lytic pathway. Although complement genes are expressed in invertebrates (C3, factor B) it seems that a very well development complement system is established in fish. In contrast to other species, teleost fish appear to have multiple forms of various complement proteins which are probably used to expand their innate immune recognition. So, we have cloned and characterized functional five C3 isoforms and two forms of factor B in rainbow trout. To study and further characterization of the role and mechanisms complement evolution in immune recognition, we have initiated studies to purify, clone and analyze the function of various trout complement components. Will be presented results on the cloning and function of five different C3, two factor B, C4, C5, C8, C9, factor H, MASP, MBL, molecules of four pathways of complement activation in rainbow trout. Also, we will discuss the evolutionary relationship with the mammalian complement genes.

**ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ  
ΧΗΜΙΚΗΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΣΤΑ ΕΝΗΛΙΚΑ ΕΝΤΟΜΑ  
*Bactrocera (Dacus) oleae* (ΔΙΠΤΕΡΑ: ΤΕΡΗΡΙΤΙΔΑΕ)**

**Ζαχαριουδάκης Σ.Σ.<sup>1</sup>, Γ.Ι. Τσιρόπουλος<sup>1</sup> και Λ.Χ. Μαργαρίτης<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος", Αθήνα 153 10, E-mail:  
stelza@mail.demokritos.gr ,

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 10, Αθήνα

Παρουσιάζονται ηλεκτρονιογραφίες από Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης όπου φαίνεται η λεπτή δομή των οργάνων επικοινωνίας του εντόμου. Διαφορετικοί τύποι αισθητηρίων έχουν βρεθεί σε κάθε όργανο και κατατάσσονται σύμφωνα με το μήκος, την κατανομή και την πιθανή λειτουργικότητα. Στις κεραίες έχουν βρεθεί τουλάχιστον τέσσερις τύποι αισθητηρίων έχοντας πιθανή χημειοδεκτική λειτουργία περιλαμβανομένων και φερομονών. Στα στοματικά εξαρτήματα και συγκεκριμένα στην προβοσκίδα απαντώνται τουλάχιστον τρία είδη αισθητηρίων, όπως επίσης τρία είδη βρίσκονται και στις χειλικές προσακτρίδες, εξυπηρετώντας κυρίως την αναγνώριση και αποδοχή τροφικών υποστρωμάτων. Στους ταρσούς, τέσσερα είδη αισθητηρίων χρησιμοποιούνται από το έντομο για την αναγνώριση χημικών μορίων των επιφανειών με τις οποίες έρχεται σε επαφή. Τέλος, ο ωσθέτης των θηλυκών διαθέτει έναν κύριο τύπο αισθητηρίων που χρησιμεύει τόσο στο φυσικοχημικό προσδιορισμό του υποστρώματος φωτοκίας, όσο και στον έλεγχο της ωοαποθετικής συμπεριφοράς.

**MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF  
COMMUNICATION ORGANS OF ADULT *Bactrocera*  
(*Dacus*) *oleae* (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

**Zacharioudakis S.S.<sup>1</sup>, G.J. Tsiropoulos<sup>1</sup> & L.H. Margaritis<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>**Biology Institute, National Centre for Scientific Research "Demokritos",  
Athens 153 10, Greece, E-mail stelza@mail.demokritos.gr;**

<sup>2</sup>**Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics, Athens  
University, 157 10 Athens, Greece**

Scanning electron microscope images showing the ultrastructure of *Bactrocera oleae* communication organs are presented. Different types of sensilla have been found in each organ, and are classified by their length, distribution and possible functional activity. In antennae, at least four types of sensilla have been found probably serving chemical communication including pheromones. In mouthparts, labellum houses at least three types of sensilla, while maxillary palps have also three types, mostly serving food recognition and acceptance behavior. In tarsi, four types of sensilla are used by the fly to detect chemical molecules on landing surfaces. Finally, the female ovipositor is equipped with one major type of sensillum, serving the physicochemical detection of the oviposition substrate, controlling thus, egg deposition behavior.

## ΑΥΤΟΚΡΙΝΗΣ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΜΗΤΡΑΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ

Ζερβολέα Ε., Χ. Πρατσίνης, Δ. Σταθάκος, Δ. Κλέτσας

Εργαστήριο Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού και Γήρανσης, Ινστιτούτο  
Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αθήνα

Η επούλωση της πληγής αποτελεί ίσως την πλέον χαρακτηριστική εκδήλωση της ιστικής ομοιοστασίας. Κατά τα πρώτα στάδια της διαδικασίας αυτής ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων και η σύνθεση της εξωκυττάριας μήτρας (extracellular matrix - ECM) ελέγχονται από τους αυξητικούς παράγοντες που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια και τα άλλα ανοσοκύτταρα. Κατά τα τελευταία στάδια της επούλωσης όμως, καθώς και κατά τη φυσιολογική αναπλήρωση του ιστού, κύριο ρόλο παίζουν πλέον οι αυτοκρινείς αυξητικοί παράγοντες. Για να μελετηθεί ο μηχανισμός αυτοκρινούς ρύθμισης υπό συνθήκες που προσεγγίζουν αυτές του ιστού *in vivo*, ανθρώπινοι ινοβλάστες καλλιεργήθηκαν εντός τριδιάστατων πηγμάτων κολλαγόνου – την πλησιέστερη *in vitro* προσομοίωση του κοκκιώδους ιστού - και μελετήθηκε η επίδραση αυτοκρινών αυξητικών παραγόντων, υπό μορφή εθισμένου μέσου καλλιέργειας (conditioned medium - CM). Διαπιστώθηκε ότι οι αυτοκρινείς αυξητικοί παράγοντες ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, αναστέλλοντας έντονα τη σύνθεση DNA, καθώς και τη μιτογόνο δράση γνωστών αυξητικών παραγόντων, όπως του PDGF. Όσον αφορά στην δημιουργία της ECM, οι αυτοκρινείς αυξητικοί παράγοντες: (1) διατηρούν σταθερά τα επίπεδα σύνθεσης του κολλαγόνου, δηλαδή της κύριας πρωτεΐνης της ECM του συνδετικού ιστού, (2) επάγουν την αποδόμηση του κολλαγόνου διεγείροντας την έκκριση της κολλαγονάσης MMP-1, και μειορρυθμίζοντας σημαντικά την έκκριση του TIMP-1, του αναστολέα της MMP-1. Συνολικά, διαφαίνεται ότι – απουσία εξωγενών αυξητικών παραγόντων – η αλληλεπίδραση του εξωκυττάριου περιβάλλοντος και των αυτοκρινών παραγόντων παρέχει στον ιστό αυτονομία για την ολοκλήρωση της επούλωσης και τη διατήρηση της ομοιοστασίας, γενικότερα.



## **AUTOCRINE REGULATION OF PROLIFERATION AND EXTRACELLULAR MATRIX FORMATION IN HUMAN FIBROBLASTS**

**Zervolea I., H. Pratsinis, D. Stathakos, D. Kletsas**

**Laboratory of Cell Proliferation and Ageing, Institute of Biology, NCSR  
“Demokritos”, Athens**

Wound healing is probably the most characteristic application of tissue homeostasis. During the first stages of this process, cell proliferation and synthesis of the extracellular matrix (ECM) are regulated by growth factors released from platelets and other inflammatory cells. However, during the late stages of wound repair, as well as during normal tissue turnover, it is the autocrine growth factors that become of primary importance. In order to investigate this mechanism of autocrine regulation, under conditions that resemble closely those of the tissue *in vivo*, human fibroblasts were cultured inside three-dimensional collagen gels, that simulate the late granulation tissue, and the effect of autocrine growth factors – in the form of conditioned medium (CM) – was examined. It was found that autocrine growth factors regulate cell proliferation as they inhibit DNA synthesis and the mitogenic action of exogenous growth factors, such as PDGF. Regarding ECM formation, autocrine growth factors: 1. Retain the levels of collagen synthesis to basal levels and 2. Stimulate collagen degradation by up-regulating the secretion of the collagenase MMP-1, and by down-regulating the secretion of TIMP-1, the inhibitor of MMP-1. On the whole, it seems that – in the absence of exogenous growth factors – the interplay of the extracellular environment and autocrine growth factors provides the tissue with a certain degree of autonomy, sufficient for the regulation of wound repair and of homeostasis, in general.

## ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΝΤΙΚΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

Ηλιάδης Π., Π. Λυμπέρη

Εργαστ. Ανοσολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο ΠΑΣΤΕΡ

Η θυρεοσφαιρίνη (Tg) είναι μια ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 660.000 (2X2748 αμινοξικά κατάλοιπα), η οποία συντίθεται από τα κύτταρα των σφαιρικών θυλακίων του θυροειδούς. Ο ρόλος της είναι σημαντικός αφού χρησιμεύει για τη σύνθεση και την αποθήκευση των ορμονών του αδένα, της θυροξίνης (T<sub>4</sub>) και η τριωδοθυρονίνης (T<sub>3</sub>). Υπάρχει υψηλή ομολογία δομής (>70%) ανάμεσα στα μόρια θυρεοσφαιρίνης από διάφορα ζώικα είδη (π.χ. ανθρώπου, ποντικού, κουνελιού και βοδιού). Αυτοαντισώματα έναντι της Tg ανευρίσκονται στα αυτοάνοσα νοσήματα του θυροειδούς (θυροειδίτιδα Hashimoto και νόσο Graves'), και αποτελούν διαγνωστικούς δείκτες. Τα τελευταία δέκα χρόνια έχει δοθεί έμφαση στη μελέτη των Β και Τ επιτόπων που αναγνωρίζονται στο μόριο της Tg. Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έχει συμβάλει σημαντικά στον προσδιορισμό Β επιτόπων.

Στην παρούσα εργασία έγινε παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικού (mAbs) έναντι του μορίου της ανθρώπινης Tg (hTg). Η χορήγηση του αντιγόνου έγινε ενδοπεριτοναϊκά σε ποντίκια Balb/c, η σύντηξη των σπληνοκυττάρων έγινε με τη μυελωματική σειρά NSO με τη χρησιμοποίηση PEG-1500. 11 κλώνοι που παρήγα-γαν mAbs έναντι της hTg απομονώθηκαν μετά από παραγωγή ασκίτη με χρωματογραφία protein-A. Ένα μόνο από τα αντισώματα είναι τάξης IgG2a ενώ τα υπόλοιπα 10 είναι τάξης IgG1. Δύο από αυτά (55H8 και 91A1) αναγνωρίζουν το μόριο της Tg πέντε διαφορετικών ειδών ενώ τα υπόλοιπα που εξετάστηκαν μόνο την ανθρώπινη Tg. Περαιτέρω μελέτη έδειξε ότι το mAb 91A1 αναγνωρίζει τα μόρια T<sub>3</sub> και T<sub>4</sub> ενώ το mAb 55H8 το μόριο της T<sub>4</sub> και της r (reverse) – T<sub>3</sub>. Η μελέτη αυτών των δύο αντισωμάτων οδήγησε στο συμπέρασμα ότι το 55H8 χρειάζεται το ιώδιο που υπάρχει στη θέση 5 (υπάρχει μόνο στα μόρια της T<sub>4</sub> και της r-T<sub>3</sub> και όχι της T<sub>3</sub>). Αντίθετα το 91A1 αναγνωρίζει το ιώδιο που υπάρχει στη θέση 5, αφού αναγνωρίζει τα μόρια T<sub>3</sub> και T<sub>4</sub> αλλά όχι το μόριο της r-T<sub>3</sub>.

Συμπερασματικά τα mAbs 55H8 και 91A1 αποτελούν σημαντικά εργαλεία τόσο για διαγνωστικούς σκοπούς όσο και για τη μελέτη του παθολογικού μηχανισμού ανάπτυξης της αυτοάνοσης θυροειδικής νόσου.

## **MOUSE MONOCLONAL ANTIBODIES TO HUMAN THYROGLOBULIN**

**P. Eliades and P. Lyberi**

**Immunology laboratory, Hellenic Pasteur Institute**

Thyroglobulin (Tg) is a homodimeric glycoprotein molecule (660,000 daltons) (2X2, 748 amino acids) which is being composed from globular sac at the thyroid gland. Tg has an important role in the synthesis and storage of the thyroxine (T<sub>4</sub>) and triiodothyroxine (T<sub>3</sub>) hormones. There is a high degree of homology (>70%) among Tgs from different species (e.g. human, murine, rabbit and bovine). Thyroglobulin specific autoantibodies are present in autoimmune thyroid diseases (Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease), and are useful diagnostic markers. During the last decade the scientists are studying B and T cell epitopes of the Tg molecule. Monoclonal antibodies (mAbs) have greatly contributed in the identification of B cell epitopes.

In this study we produced mouse mAbs to human thyroglobulin (hTg). The antigen was administered i.p. in Balb/c mice and the splenocytes were fused with NSO myeloma cells by PEG 1500. 11 specific clones were produced and after the production of ascites the mAbs purified by chromatography protocol through a protein-A column. 10 mAbs are IgG1 and only one IgG2a. mAbs 55H8 and 91A1 recognize the Tg molecule of 5 species while the others recognize only hTg. Further studies proved that mAb 91A1 recognizes both T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> molecules while mAb 55H8 recognizes the T<sub>4</sub> and r (reverse)-T<sub>3</sub> molecules. According to these results, 55H8 seems to bind to the I (iodine) at the position 5' (common position in T<sub>4</sub> and r-T<sub>3</sub> molecules), while 91A1 needs the I at the position 5 (common position of the T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> molecules).

In conclusion, mAbs 55H8 and 91A1 could be very useful tools for diagnostic purposes and also for the study of the pathogenic mechanisms occurring in the disease.

## ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΑΠΟ ΒΙΟΜΑΖΑ *Posidonia oceanica* ΓΙΑ ΑΠΟΤΟΞΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ

Θρασυβουλίδης Α.<sup>1</sup>, Φ. Σαντάς<sup>1</sup>, Ε. Μαυράκη<sup>2</sup>, Δ. Δανηλίδης<sup>2</sup>  
και Ρ. Σαντάς<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ΟικόTechnics Institute, Κεφαλληνίας 50, 16342 Άνω Ηλιούπολη,

<sup>2</sup>Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας &  
Ταξινομικής, 15784 Αθήνα

Ξηρή βιομάζα από *Posidonia oceanica* αξιολογήθηκε ως προς τη δυνατότητα δέσμευσης βαρέων μετάλλων ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  και  $\text{Cd}^{2+}$ ), με προοπτική τη χρήση της στην αποτοξικοποίηση αποβλήτων. Τα πειράματα προσρόφησης πραγματοποιήθηκαν με ανάδευση 0.1g βιομάζας σε 10mL διαλύματος μετάλλου. Μελετήθηκε η βέλτιστη κατεργασία της βιομάζας, το pH του διαλύματος και ο χρόνος που απαιτείται για την προσρόφηση, ενώ αξιολογήθηκε και η χωρητικότητα της βιομάζας. Βιομάζα κατεργασμένη με 1) 0.2M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2) 1M NaOH, 3) 1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  και 4) απιονισμένο  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) ελέγχθηκε σε τρεις διαφορετικές τιμές pH (2.0, 4.0 και 5.5) για κάθε μέταλλο. Κάθε συνδυασμός (4 κατεργασίες x 3 pH) επαναλήφθηκε τέσσερις φορές. Η μέγιστη απομάκρυνση για τα μέταλλα  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  και  $\text{Cd}^{2+}$ , σε συγκέντρωση 10ppm, ήταν 95.3%, 93.4%, 97.8%, 95.9% και 100%, αντίστοιχα. Η έκπλυση της βιομάζας με  $\text{dH}_2\text{O}$  και ξήρανση στους 60°C ήταν η καλύτερη κατεργασία για όλα τα μέταλλα λόγω της αποτελεσματικότητας και της απλότητας στην εφαρμογή της. Γενικά, η προσρόφηση σε pH 4.0 και/ή 5.5 ήταν βέλτιστη, ενώ σε pH 2.0 η απομάκρυνση των μετάλλων ήταν μειωμένη. Σε διαλύματα 10ppm, η προσρόφηση ολοκληρώθηκε κατά 95-100% σε 15min, ενώ σε διαλύματα 1000ppm, η προσρόφηση σχεδόν όλων των μετάλλων προχώρησε περισσότερο από 95% μέσα σε 30 min. Η μέγιστη πρόσληψη που επιτεύχθηκε πειραματικά για τα μέταλλα  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  και  $\text{Cd}^{2+}$  ήταν 0.72, 0.62, 0.46, 0.67 και 0.62mmol/g ξηρής βιομάζας σε συγκεντρώσεις ισορροπίας 6.79, 8.30, 11.46, 7.11 και 2.83mmol/L, αντίστοιχα. Η ικανότητα πρόσληψης μετάλλου σε καθορισμένη μοριακή συγκέντρωση ισορροπίας ακολουθεί την εξής σειρά:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} = \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cr}^{3+}$ . Τα παραπάνω αποτελέσματα καταδεικνύουν τη δυνατότητα χρησιμοποίησης της βιομάζας από *Posidonia oceanica* στην αποτοξικοποίηση αποβλήτων που περιέχουν βαρέα μέταλλα.

## EVALUATION OF HEAVY METAL BIOSORPTION ON *Posidonia oceanica* BIOMASS FOR INDUSTRIAL WASTEWATER DETOXIFICATION

Thrasyvoulides A.<sup>1</sup>, P. Santas<sup>1</sup>, E. Mavraki<sup>2</sup>, D. Danielidis<sup>2</sup>  
& R. Santas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>OikoTechnics Institute, Kefallenias 50, A. Helioupolis, GR-16342, Athens,  
Greece,

<sup>2</sup>University of Athens, Dept. of Biology, Section of Ecology & Taxonomy,  
GR-15784, Athens, Greece

Dried *Posidonia oceanica* biomass was used to remove heavy metal ions from artificial solutions of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ , to assess its potential for industrial wastewater detoxification. Batch adsorption experiments were performed by mixing 0.1g of biomass in 10mL of metal solution. The optimal values of biomass pretreatment, metal solution pH and contact time needed for adsorption were determined and metal biosorption capacity of the biomass was evaluated. Biomass pretreated with 1) 0.2M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2) 1M  $\text{NaOH}$ , 3) 1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  and 4) deionized  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) was tested at three different metal solution pH values (2.0, 4.0 and 5.5) for each metal. Each combination (4 pretreatments x 3 pH) was performed in four replicates. Maximum removal of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  in 10ppm metal solutions was 95.3%, 93.4%, 97.8%, 95.9% and 100%, respectively. Biomass rinsing with  $\text{dH}_2\text{O}$  and drying at 60°C was the pretreatment of choice for all metals based on removal efficiency and convenient application. As a general rule, adsorption was optimum at pH 4.0 and/or 5.5, whereas at pH 2.0 metal removal was reduced. In 10ppm solutions, adsorption was 95-100% complete within 15min, whereas, in 1000ppm solutions, adsorption of almost all metals was more than 95% complete within 30min. The maximum experimentally obtained uptake value for  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  was 0.72, 0.62, 0.46, 0.67 and 0.62 mmol/g dry biomass, at equilibrium concentrations of 6.79, 8.30, 11.46, 7.11 and 2.83mmol/L, respectively. Comparison of metal uptake at a fixed molar equilibrium concentration revealed the following order in binding capacity:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} = \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cr}^{3+}$ . The above results show the potential of using *Posidonia oceanica* biomass as a biosorbent for detoxification of heavy metal containing wastewaters.

## ΣΤΡΕΨΙΠΤΕΡΑ – ΕΝΤΟΜΟΦΑΓΑ ΠΑΡΑΣΙΤΑ ΜΕ ΜΟΝΑΔΙΚΕΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΕΣ

**Kathirithamby Jeyaraney**

**Department of Zoology, South Parks Road, Oxford OX1 3PS**

Το Ιο ομοίωμα προνύμφης των στρεψιπτέρων, αφού διεισδύσει μέσα στον ξενιστή εκδύεται προς το άποδο Ιο ομοίωμα. Ωστόσο, το Ιο και το ΙΙο ενδοπαρασιτικό ομοίωμα προνύμφης είναι δύο διαδοχικές απελευθερώσεις καμιά από τις οποίες δεν ακολουθείται από απόρριψη του επιδερμίδιου. Συνεπώς, τα λεπτά επιδερμίδα παραμένουν ως έλυτρα, ενώ τα ομοιώματα εναλλάσσονται. Κατά το τέλος του ΙVου ομοιώματος το θηλυκό προβάλλει το πρόσθιο τμήμα μέσα από τη δερμίδα του ξενιστή, η οποία αργότερα σκληραίνει και σχηματίζει τον κεφαλοθώρακα, ακολουθεί δε πέμπτη και έκτη έκδυση. Αυτό το τελευταίο ομοίωμα θηλυκού παράγει το ελεύθερο, ζωοτόκο Ιο ομοίωμα το οποίο αναζητά ξενιστή. Δεν υπάρχουν ίχνη πτερύγων, ποδών ή εξωτερικών γεννητικών οργάνων στο τελικό ομοίωμα του θηλυκού, ωστόσο υπάρχουν καταβολές άκρων στις προνύμφες όλων των οικογενειών, με εξαίρεση τις Mygmeocolacidae και Elenchidae. Συνεπώς, η ανάπτυξη των θηλυκών στρεψιπτέρων είναι μοναδική. Ο αριθμός των προνυμφικών ομοιωμάτων πριν από (α) το σχηματισμό νύμφης στο αρσενικό, και (β) το σχηματισμό του ενήλικου νεοτενικού θηλυκού αποκαλύφθηκαν από μελέτες της λεπτής δομής, αλλά παραμένουν ακόμη αμφιβολίες εάν το θηλυκό υφίσταται νυμφοποίηση πριν από το νεοτενικό, ενήλικο στάδιο. Η αβεβαιότητα σχετίζεται με το εάν τα πολυάριθμα λεπτά επιδερμίδα, εκ των οποίων τουλάχιστον τα τρία ανήκουν στα ενδοπαρασιτικά προνυμφικά ομοιώματα, παραμένουν προσκολλημένα στο νεοτενικό θηλυκό. Αυτά τα επιδερμίδα μπορεί να διασπασθούν επιτόπου ως αποτέλεσμα αύξησης κατά την ανάπτυξη των ομοιωμάτων. Άλλο ένα αξιοπρόσεκτο χαρακτηριστικό των νεοτενικών θηλυκών είναι ότι ακριβώς μετά την τελευταία έκδυση του θηλυκού, εμφανίζεται μια δομή (η οποία ευρίσκεται μέσα στον ξενιστή) στην επιφάνεια, κοιλιακά ως προς τον κεφαλοθώρακα. Η ανάπτυξη στα αποκλειστικά ενδοπαρασιτικά θηλυκά στρεψιπτερα έχει διαλευκανθεί με το φωτονικό και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Στο τέλος του ΙVου ομοιώματος το δερμίδιο σκληρύνεται στο πρόσθιο μέρος για να σχηματίσει τον κεφαλοθώρακα και το κολλάρο, εκ των οποίων ο κεφαλοθώρακας προεξέχει αργότερα από το επιδερμίδιο του ξενιστή. Στο πίσω μέρος, το επιδερμίδιο παραμένει μαλακό, και αυτή η περιοχή ευρίσκεται μέσα στον ξενιστή. Η έκδυση προς το νεοτενικό ενήλικο συμβαίνει μέσα στο δερμίδιο του ΙVου ομοιώματος, και τα επιδερμίδα των προηγούμενων ομοιωμάτων παραμένουν ως μόνιμα περιβλήματα. Το έντερο, το οποίο είναι παρόν στα πρώιμα ενδοπαρασιτικά στάδια, χάνεται μετά από την προβολή του κεφαλοθώρακα, και μια νέα δομή αναπτύσσεται στην κοιλιακή επιφάνεια του νεοτενικού θηλυκού. Λόγω της θέσης της, αυτή η νέα δομή ονομάζεται ποδιά. Στην παρούσα εργασία περιγράφεται η λεπτομερής δομή των μεμβρανών στην ποδιά του *Stichotrema dallatorreanum* Hofeneder από την επαρχία Oro, και ενός άλλου θηλυκού mygmeocolacid (το οποίο έχει διαφορετικό ξενιστή) από την West New Britain στην Papua της Νέας Γουινέας, και προτείνεται μια διπλή λειτουργία για την ποδιά.

## STREPSIPTERA - ENTOMOPHAGOUS PARASITES WITH UNIQUE ADAPTATIONS

**Kathirithamby Jeyaraney**

**Department of Zoology, South Parks Road, Oxford OX13PS**

The free-living, host-seeking 1st instar strepsipteran larva after penetrating the host moults (normal ecdysis) to an apodous 2nd instar. The moulting sequence in the 2nd and 3rd instar endoparasitic larvae however are two apolyses in sequence, neither of which are followed by exuviation: the thin exuviae (epicuticles) are therefore retained as persistent sheaths while the instars progress. At the end of the 4th instar, the female extrudes the anterior region through the host cuticle which later sclerotizes to form the cephalothorax, and within this a fifth and final moult occurs. This final instar female produces the free-living, host-seeking, 1st instar viviparous larvae. There is no trace of wings, legs or external genitalia in the final instar of the female, but leg rudiments are present in larvae of all the families, except in the Myrmecolacidae and Elenchidae. The development of the female strepsipteran is therefore unique. The number of larval instars prior to (a) pupation in the male, and (b) the formation of the neotenic female adult was resolved by fine structure studies, but doubts still remain as to whether the female undergoes pupation prior to the neotenic adult stage. The uncertainty relates to whether numerous thin epicuticles, at least three belonging to the endoparasitic larval instars, remain attached to the neotenic female. These epicuticles can be torn in places due to growth as the instars progress. Another curious feature of the neotenic female is that just after the final moult of the female, a structure (which is situated within the host) appears on the surface ventral to the cephalothorax. Development in the totally endoparasitic female Strepsiptera has been clarified by light and electron microscopy. At the end of the 4th instar the cuticle sclerotizes anteriorly to form the cephalothorax and collar, the former of which is later extruded through the host cuticle. Posteriorly, the cuticle remains unsclerotised, and this region is within the host. The moult to the neotenic adult takes place within the 4th instar cuticle, and the epicuticles of the previous instars are retained as persistent sheaths. The gut, which is present in the earlier endoparasitic stages, is lost after extrusion of the cephalothorax, and a novel structure develops on the ventral surface of the neotenic female. Due to the position of this novel structure in the neotenic female, this area is called an apron. The detailed structure of the membranes in the apron in *Stichotrema dallatorreanum* Hofeneder from Oro Province, and of another female myrmecolacid (which has a different host) from West New Britain in Papua New Guinea, is described. A dual function for the apron is proposed.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΡΟΛΟΓΙΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΡΥΘΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ *Lhcb* ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΣΕ ΝΕΑΡΑ ΦΥΤΑ *Phaseolus vulgaris*

Καλδής Α.-Δ. και Α. Προμπονά

Ινστ. Βιολογίας, Εργ. Φωτοσύνθεσης και Μοριακής Βιολογίας Φυτών, ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος", 15310 Αγ. Παρασκευή, Αττική

Οι ζωντανοί οργανισμοί προσαρμόζονται στις εναλλαγές μέρας-νύχτας του φυσικού περιβάλλοντος με την βοήθεια ενός ενδογενούς μηχανισμού, του λεγόμενου βιολογικού ρολογιού ή αλλιώς κίρκαδικού (από το circa diem=περίπου μία ημέρα) ταλαντωτή. Στα ανώτερα φυτά έχουν ταυτοποιηθεί στο *Arabidopsis thaliana* δύο μεταγραφικοί παράγο-ντες ο CCA1 και LHY, οι οποίοι επάγονται μέσω του (φωτουποδοχέα) φυτοχρώματος και ενδέχεται να αποτελούν στοιχεία του κεντρικού ταλαντωτή των φυτών. Ενδείξεις γι' αυτό είναι ότι ταλαντώνονται ρυθμικά συναρτήσει του χρόνου και έχουν την ικανότητα να αυτορυθμίζουν την έκφρασή τους. Η δράση του φυτοχρώματος επομένως συνδέεται και με την επαγωγή της λειτουργίας του βιολογικού ρολογιού. Έναν δείκτη της λειτουργίας του αποτελεί η κίρκαδική έκφραση των *lhcb* γονιδίων που κωδικοποιούν την LHCII πρωτεΐνη του φωτοσυλλεκτικού συμπλόκου του Φωτοσυστήματος II. Έτσι, μια και μόνη αναλαμπή λευκού ή κόκκινου φωτός που δίνεται σε νεαρά, ωχρωτικά φυτά φασολιού (δηλ. μεγαλωμένα σε απόλυτο σκοτάδι) είναι ικανή να προάγει την δημιουργία ρυθμικών ταλαντώσεων στα επίπεδα δυναμικής ισορροπίας του *lhcb* mRNA (Tavladoraki et al., 1989). Σε αυτή την εργασία διατυπώθηκε το ερώτημα πώς το φως αλληλεπιδρά με το βιολογικό ρολόι νεαρών φυτών φασολιού. Έτσι, σε φυτά τα οποία είχαν συγχρονιστεί με μια πρώτη αναλαμπή λευκού φωτός εφαρμόστηκε μια 2η αναλαμπή. Αυτή δόθηκε είτε στην ψηλή, είτε στη χαμηλή φάση του ρυθμού έκφρασης του *lhcb*. Η ανάλυση κατά Northern δείχνει ότι σε όλες τις περιπτώσεις η εφαρμογή της αναλαμπής προκαλεί πάντα νέο ξεκίνημα ρυθμικών ταλαντώσεων (επανασυγχρονισμός του ρολογιού). Όμως, στην περίπτωση που η 2η αναλαμπή δοθεί στο πρώτο μέγιστο του προϋπάρχοντος ρυθμού (που έχει ξεκινήσει με την πρώτη αναλαμπή), προκαλείται έντονη ταλάντωση στα επίπεδα του *lhcb* mRNA. Αντίθετα, αν η 2η αναλαμπή δοθεί στο πρώτο ελάχιστο, τότε τα επίπεδα δυναμικής ισορροπίας mRNA του *lhcb*, ενώ αρχικά αυξάνουν εντυπωσιακά, ακολουθούν ισχνή ταλάντωση. Θα συζητηθεί η ερμηνεία των πειραματικών δεδομένων.



## STUDY OF THE ROLE OF THE BIOLOGICAL CLOCK DURING THE RHYTHMIC EXPRESSION OF *Lhcb* mRNA IN *Phaseolus vulgaris* PLANTS

Kaldis A.-D. & A. Prombona

Institute of Biology, Lab. of Photosynthesis and Molecular Biology of  
Plants, NCSR "Demokritos", 15310 Ag. Paraskevi, Attiki

Living organisms adapt to the day/night changes of their environment by the accomplishment of an endogenous biological clock or circadian (from circa diem=approx. one day) oscillator. In higher plants two transcription factors identified in *Arabidopsis*, e.g. CCA1 and LHY, are induced by light *via* the photoreceptor phytochrome and may also be components of the central oscillator of plants. An indication for this is their time/hour dependent oscillation and the autoregulation of their gene expression. The action of phytochrome is thus connected with the function of the biological clock. A good indicator for the clock function in plants is the phytochrome induced circadian expression of the *lhcb* genes, coding for the light-harvesting protein complex of photosystem II (LHCII). A single white or red light-pulse given to young, etiolated bean leaves (i.e. those germinated and grown in absolute darkness) causes accumulation of oscillating amounts in steady-state levels of *lhcb* mRNA (Tavladoraki et al., 1989). In this work we have asked the question how light interacts with the biological clock of young etiolated beans. For this reason, we applied a second white light-pulse to bean seedlings, that were already synchronized by the first white light-pulse. The 2<sup>nd</sup> pulse was given either at the peak or the trough of the rhythm of *lhcb* gene expression. Northern analysis showed that in all cases application of a 2<sup>nd</sup> light-pulse starts a new rhythmic phenomenon, i.e. each light pulse resets the clock, regulating the accumulation of *lhcb* mRNA. However, if the 2<sup>nd</sup> light pulse is given at the first peak of the preexisting rhythm (induced by the first light-pulse), the steady-state levels of *lhcb* mRNA follow vigorous oscillations. On the other hand, faint oscillations in *lhcb* mRNA steady-state levels result, if the 2<sup>nd</sup> light-pulse is given at the first trough of the preexisting rhythm. The implication of the biological clock in the observed phenomena will be discussed.

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ  
ΓΟΝΙΔΙΟΥ *hsp70* ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ  
*Ceratitis capitata***

**Καλόσακα Κ., Γ. Χρυσάνθης, Μ. Θεοδωράκη, Α.-Ρ. Rojas-Gill,  
Α. Ζαχαροπούλου και Α. Μίντζας**

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

Η απόκριση των οργανισμών στο θερμικό και άλλα είδη στρες συνδέεται με την επαγωγή ή την αύξηση της σύνθεσης μιας ομάδας πρωτεϊνών που ονομάζονται θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες (HSPs). Οι πρωτεΐνες αυτές, μέσω της συνοδευτικής δράσης τους στις πρωτεΐνες του κυττάρου, προστατεύουν τα κύτταρα από τα τοξικά αποτελέσματα των διαφόρων μορφών στρες και παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες σε φυσιολογικές συνθήκες. Η ρύθμιση των *hsp70* γονιδίων έχει μελετηθεί σε πολλούς οργανισμούς και οι υποκινητές τους έχουν αποδειχθεί χρήσιμα ρυθμιστικά στοιχεία για την έκφραση διαγονιδίων. Ο *hsp70* υποκινητής της *D. melanogaster* έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την έκφραση γονιδίων σε άλλα έντομα, αν και η ενεργότητα του σε είδη εκτός του γένους *Drosophila* φαίνεται περιορισμένη. Στην παρούσα μελέτη έγινε λειτουργική ανάλυση του *hsp70* υποκινητή της Μεσογειακής μύγας με απώτερο στόχο την χρησιμοποίησή του για την εξαρτημένη (conditional) έκφραση διαγονιδίων σε αυτό το επιβλαβές για τη γεωργία έντομο. Ένα θερμοεπαγόμενο *hsp70* γονίδιο (*hsp70-B1*) της Μεσογειακής μύγας έχει κλωνοποιηθεί και χαρακτηριστεί. Ο υποκινητής του γονιδίου *hsp70-B1* περιλαμβάνει δύο δυναμικά στοιχεία απόκρισης στη θερμοκρασία (HSEs). Η λειτουργία του υποκινητή μελετήθηκε *in vivo*, σε παροδικά μετασχηματισμένα έμβρυα, χρησιμοποιώντας το γονίδιο *cat* σαν γονίδιο αναφοράς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μία αλληλουχία 106 bp του *hsp70-B1* υποκινητή που περιλαμβάνει τα δύο HSEs είναι απαραίτητη για την λειτουργία του υποκινητή και πως επιπρόσθετες αλληλουχίες στην 5' περιοχή απαιτούνται για μέγιστη ενεργότητα. Επιπλέον, τα αποτελέσματα μας υποδηλώνουν ότι η ισχύς του *hsp70* υποκινητή της Μεσογειακής μύγας στο να οδηγεί τη συστατική και θερμοεπαγόμενη έκφραση του γονιδίου αναφοράς, είναι υψηλότερη από την ισχύ του ετερόλογου υποκινητή της *D. melanogaster*. Για να επαληθεύσουμε τα αποτελέσματα αυτά, έχουμε κατασκευάσει έναν αριθμό διαγονιδιακών μυγών με γενετικό μετασχηματισμό. Αποτελέσματα από την ανάλυση των διαγονιδιακών ατόμων πρόκειται να παρουσιαστούν.

## FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE *hsp70* PROMOTER OF THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY *Ceratitis capitata*

Kalosaka K., G. Chrysanthis, M. Theodoraki, A.-P. Rojas-Gill,  
A. Zacharopoulou & A. Mintzas

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

The response of cells or organisms to heat shock and other environmental stresses is connected to the induction or enhancement of the synthesis of a number of proteins, called heat shock proteins (HSPs). HSPs, via their chaperoning effects on proteins, protect cells from many forms of stress-induced cell damage. The regulation of the *hsp* genes has been studied extensively and their promoters have been proven to be very useful regulatory elements for driving the expression of transgenes. The *D. melanogaster hsp70* promoter has been a popular choice for driving expression of genes in other insect species, however the strength of this promoter in non-drosophilid systems has been reported to be low. We are interested to study the function of the medfly *hsp70* promoter and to assess its efficacy as a driver for conditional expression of any transgene in this species.

A heat-inducible *hsp70* gene (*hsp70*-B1) has been isolated and characterized in the medfly. The promoter of this gene contains two putative heat shock elements (HSEs), centred at -57 and -75 positions relative to the transcription startpoint. The function of the *hsp70* promoter was studied *in vivo*, in transiently transformed medfly embryos, using the chloramphenicol acetyl transferase gene as a reporter. Our transient expression data indicated that a 106 bp region of the *hsp70* promoter that includes the two HSEs is necessary for the function of the medfly *hsp70* promoter and that additional sequences upstream of the HSEs are required for maximum activity. Furthermore, our data indicated that the efficiency of the medfly *hsp70* promoter for driving constitutive and heat-inducible gene expression in the medfly is higher than the efficiency of the heterologous *D. melanogaster* promoter. To complement these results, stable transformants have been generated by germline transformation. Results from the analysis of these transformants are going to be presented.

## ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΙΝΤΕΓΚΡΙΝΩΝ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΟΥΣΙΑΣ ΣΕ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΕΓΓΥΣ ΕΣΠΕΙΡΑΜΕΝΟΥ ΣΩΛΗΝΑΡΙΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ.

Καραμεσίνης Π.Μ.<sup>1</sup>, Π. Κίτσιου<sup>1</sup>, Α. Τζίνια<sup>1</sup>, Κ.Γ. Οικονόμου<sup>1</sup>,  
Α.Φ. Michael<sup>2</sup>, W. Fen<sup>2</sup>, B. Zhou<sup>2</sup>, W. Stetler-Stevenson<sup>3</sup>, Λ.Χ.  
Μαργαρίτης<sup>4</sup> και Ε.Κ. Τσιλιμπάρη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”, Αθήνα, Ελλάδα

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, University of Minnesota

<sup>3</sup>Laboratory of Pathology, NCI, NIH, Bethesda

<sup>4</sup>Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα

Χρησιμοποιήθηκαν αθανатоποιημένα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου (HK-2) για να διερευνήσουμε τα γεγονότα που οδηγούν στην πάχυνση της βασικής μεμβράνης κατά τη διαβητική νεφροπάθεια. Εξετάσαμε την έκφραση των ιντεγκρινών, την έκφραση και ενεργότητα των κολλαγενασών (MMPs), καθώς επίσης των αναστολέων τους (TIMPs), σε HK-2 τα οποία καλλιεργήθηκαν παρουσία 5 και 25 mM γλυκόζης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης προκάλεσε μείωση των επιπέδων του mRNA των α3 (30%) και β1 (36%) ιντεγκρινικών υπομονάδων και σε επίπεδο πρωτεΐνης, μείωση των α3 (25%), β1 (31%), αν (15%), β3 (20%), α5 (24%) υπομονάδων και αύξηση της α2 (29%). Επιπλέον παρατηρήθηκε: α) μειωμένη έκφραση των πρωτεϊνών MMP-2 (25%) και MMP-9 (55%), και αντίστοιχη μείωση της ενεργότητας ισομορφών τους, στα 92kDa (70%) και 66kDa (65%), β) μείωση των επιπέδων mRNA και πρωτεΐνης για το TIMP-2 κατά 38% και 35% αντίστοιχα και γ) αύξηση των επιπέδων mRNA και πρωτεΐνης για το TIMP-1 κατά 32% και 33% αντίστοιχα. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι η αυξημένη συγκέντρωση γλυκόζης τροποποιεί την έκφραση των ιντεγκρινών, των ιντεγκρινοεξαρτούμενων κολλαγενολυτικών ενζύμων, καθώς και των αναστολέων τους. Οι αλλαγές αυτές είναι συμβατές με τη συσσώρευση της εξωκυττάριας ουσίας, η οποία εν μέρει οφείλεται σε μειωμένη αποικοδόμηση της.

## **GLUCOSE-INDUCED MODULATION OF INTEGRINS AND MATRIX RELATED EXPRESSION BY PROXIMAL TUBULAR EPITHELIAL CELLS**

**Karamessinis P.M<sup>1</sup>, P. Kitsiou<sup>1</sup>, A.Tzinia<sup>1</sup>, K.G. Economou<sup>1</sup>,  
A.F. Michael<sup>2</sup>, W. Fen<sup>2</sup>, B. Zhou<sup>2</sup>, W. Stetler-Stevenson<sup>3</sup>,  
L.H.Margaritis<sup>4</sup> & E.C Tsilibary<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>NCSR "Demokritos", Institute of Biology, Athens, Greece

<sup>2</sup>University of Minnesota, Department of Pediatrics,

<sup>3</sup>Laboratory of Pathology, NCI, NIH, Bethesda

<sup>4</sup>University of Athens, Department of Biology, Greece

We have used HPV-16 immortalized human proximal tubular epithelial cells (HK-2), in order to understand the events leading to tubular basement membrane thickening in diabetes. We examined the integrin profile of HK-2 cultured in 5 and 25 mM glucose and the expression and activity of collagenases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs). Expression of mRNA for  $\alpha 3$  and  $\beta 1$  subunits was decreased 30% and 36% respectively, in cells cultured in 25mM glucose. Western blot analysis revealed a decrease in  $\alpha 3$ ,  $\beta 1$ ,  $\alpha v$ ,  $\beta 3$  and  $\alpha 5$  integrin subunits by 25%, 31%, 15%, 20% and 24% respectively, whereas  $\alpha 2$  integrin subunit was increased by 29% in cells grown in 25 mM glucose. Western blot analysis of conditioned media from cells grown in 25 mM glucose, revealed a 25% decrease and a 55% decrease for MMP-2 and MMP-9 respectively. By zymography, there was a decrease in gelatinolytic activity, by 70% and 65% of the bands at 92kDa and 66kDa, respectively. Northern blot analysis, for TIMP-2 and TIMP-1 demonstrated that cells cultured in 25 mM glucose contained 38% less mRNA and 32% more mRNA, respectively. In protein level, western blot analysis showed that production of TIMP-2 was decreased by 35%, while production of TIMP-1 was increased by 33% in cells grown in 25 mM glucose. We conclude that increased glucose concentrations modulated integrin expression, integrin-regulated expression of MMPs, as well as the expression of TIMPs. Most of the above changes are compatible with matrix accumulation, in part due to decreased matrix turnover.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ HSP 100,-90, -70, -60, ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Zea mays* ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΘΕΡΜΟΥ ΚΑΙ ΨΥΧΡΟΥ ΠΛΗΓΜΑΤΟΣ

**Καράνη Ε., Ε. Γιωτίκα**  
**Ρόδου 45, 41447, Λάρισα**

Για τη μελέτη των τεσσάρων οικογενειών HSP χρησιμοποιήθηκε ως πειραματικό υλικό, τα κύτταρα τριών αναπτυξιακών ζωνών (μεριστωματικά, επιμήκυνσης και διαφοροποίησης) της ρίζας του καλαμποκιού που έχει μήκος 3,5-5 εκατοστά. Η φυσιολογική θερμοκρασία ανάπτυξης της ρίζας είναι 28° C, ενώ των πληγμάτων είναι 40° C και 6° C, διάρκειας δύο και τεσσάρων ωρών για το κάθε πλήγμα. Για το διαχωρισμό των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκαν η SDS και η δισδιάστατη IEF ηλεκτροφόρηση. Με τη μέθοδο Western Blotting μελετήθηκαν η κυτταροπλασματική, η μιτοχονδριακή και η συνδεδεμένη με το ενδοπλασματικό δίκτυο HSP70 με τη βοήθεια των αντισωμάτων 5B7, α-DNA κινάση και 1D9 (Bip), αντίστοιχα.

Με την ισοηλεκτρική εστίαση διαπιστώθηκε ότι, ως επί το πλείστον εκφράζονται διαφορετικές πρωτεΐνες της κάθε οικογένειας HSP στις τρεις ζώνες της ρίζας στις φυσιολογικές συνθήκες ανάπτυξης. Έπειτα από την επίδραση θερμικού ή ψυχρού πλήγματος, πολλές από τις HSP που προσδιορίστηκαν στους 28° C σε μια ζώνη εξαφανίζονται, ενώ μεταφράζονται νέες HSP, ανάλογα με το είδος και τη διάρκεια του πλήγματος. Δηλαδή, άλλες HSP πρωτεΐνες παράγονται μετά από πλήγμα διάρκειας δύο ωρών σε μια ζώνη και άλλες μετά από πλήγμα διάρκειας τεσσάρων ωρών. Ωστόσο, κάποιες πρωτεΐνες διατηρούνται σε όλη τη διάρκεια του πλήγματος με το ποσοστό τους να μεταβάλλεται με τη διάρκεια της έκθεσης. Το αξιοσημείωτο είναι ότι οι HSP πρωτεΐνες που προσδιορίστηκαν στις φυσιολογικές συνθήκες σε μια ζώνη, εμφανίζονται και κατά την απόκριση των κυττάρων μιας άλλης ζώνης στο ίδιο πλήγμα. Παράλληλα, εμφανίζονται κοινές HSP στις τρεις ζώνες μετά από θερμικό ή ψυχρό πλήγμα, ενώ υπάρχουν και άλλες που μεταφράζονται ανεξάρτητα από το είδος του πλήγματος στη κάθε ζώνη.

## **ANALYSIS OF HSP 100, -90, -70, -60 IN CELLS IN ROOT OF *Zea mays* IN RESPONSE TO HEAT AND COLD ACCLIMATION**

**Karani E., E. Giotika**  
**45 Rhodou Str., 41447 Larissa, Greece**

This study used as experimental material the cells of the three developmental zones in root of *Zea mays* (meristem cells, elongation and differential cells), when the root was 3,5-5,0 cm long. The root develops under normal (28° C) and then under heat and cold stress conditions (40° and 6° C) for two and four hours for each stress.

Protein separation was achieved by SDS and IEF methods. The Western blotting method is used to characterized the heat shock proteins HSP70 that are expressed in the cytoplasm (antibody 5B7), in the mitochondria (antibody aDNA kinasis), and in the endoplasmatic reticulum (antibody 1D9) in three developmental zones of root.

The quantitative and the qualitative analysis were achieved by IEF method. Many different proteins of each family are expressed in three zones of root under normal conditions. Inferential, many of heat shock proteins that are expressed in normal conditions of development, are disappeared or are represented in different cells after stress compared to 28° C. This depends on the duration and the kind of stress. Meaning that other proteins are expressed after two hours of acclimation and other after hours although there are many proteins that appear from the beginning till the end of the stress with different quantities. However, some HSPs that are expressed in normal conditions in one specific zone are expressed after both heat and cold acclimation in different zones, although there are some that are expressed in every zone after stress.

There is some heat shock proteins that their expression depends on the type of stress and some that appears after both stresses.

## ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΕΟΝΤΑΙ ΣΤΟ DNA: ΜΙΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΩΝ

**Καρμυράντζου Μ. και Σ.Ι. Χαμόδρακας**

**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84**

Η συστηματική κατηγοριοποίηση των πρωτεϊνικών ακολουθιών είναι καθοριστικής σημασίας για τη βέλτιστη αξιοποίησή τους σε μελέτες προσδιορισμού της λειτουργίας και της εξελικτικής τους προέλευσης. Η οικογένεια των DNA-binding πρωτεϊνών είναι από τις πιο πολυπληθείς και μελετημένες και η παρούσα βάση δεδομένων είναι μια προσέγγιση για την φυλογενετική συστηματοποίηση και ταξινόμηση τους. Αυτός ο στόχος προσεγγίζεται με την δημιουργία μιας συλλογής από το σύνολο των πρωτεϊνικών ακολουθιών που αναγνωρίζουν και αλληλεπιδρούν με το DNA. Η προκύπτουσα βάση δεδομένων περιέχει 3238 πλήρεις ακολουθίες (πηγή: SWISS-PROT, έκδοση 38) οι οποίες χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός τουλάχιστον δομικού στοιχείου πρόσδεσης σε αλυσίδες DNA (DNA-binding domain). Οι επιλεγμένες ακολουθίες οργανώνονται σε οικογένειες καθορισμένες από τα διατηρημένα μοτίβα αμινοξέων σύμφωνα με τις αντίστοιχες καταχωρήσεις στις βάσεις δεδομένων PROSITE και PRINTS. Με τον συνδυασμό ομοιοτήτων κατά μήκος ολόκληρων ακολουθιών και λειτουργικών μοτίβων επί αυτών σε ένα σύστημα ταξινόμησης, οι DNA-binding πρωτεΐνες κατατάσσονται σε 33 διάκριτες τάξεις βοηθώντας στην αποκάλυψη των σχέσεων μεταξύ των μελών κάθε οικογένειας. Αποσκοπώντας στην ανάκτηση της μεγαλύτερης δυνατής πληροφορίας, η βάση δεδομένων περιέχει ένα σύνολο πολλαπλών στοιχίσεων των μελών κάθε οικογένειας πρωτεϊνών· τα αναγνωρισμένα μοτίβα είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικά «αποτυπώματα» της λειτουργίας ενώ οι διαθέσιμες δομές αναφέρονται. Βρισκόμαστε στο στάδιο ανάπτυξης ενός συστήματος διαχείρισης των δεδομένων μέσω του Internet. Στόχοι μας είναι η δυνατότητα ελεύθερης πρόσβασης, η εύκολη ανάκτηση πληροφοριών από άλλες πηγές καθώς και η πιθανή ταυτοποίηση νέων προσδιορισμένων ακολουθιών.



## **A DATABASE OF DNA-BINDING PROTEINS: AN APPROACH FOR PROTEIN FAMILY CLASSIFICATION**

**Karmirantzou M. & S.J. Hamodrakas**

**Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University  
of Athens, Athens 157 84**

Rational classification of proteins encoded in sequenced genomes is critical for making the genome sequences maximally useful for functional and evolutionary studies. The family of DNA-binding proteins is one of the most populated and studied amongst the various genomes of bacteria, archaea and eukaryotes and the presented database is an approach to their phylogenetic classification. The resource is an annotated collection of protein sequences for the families of DNA-binding proteins. The database contains 3238 full-length sequences (retrieved from SWISS-PROT database, release 38) which include, at least, a DNA-binding domain. Sequence entries are organized into families defined by PROSITE patterns and PRINTS motifs. By combining global similarities and functional motifs into a single classification scheme, DNA-binding proteins are classified into 33 unique classes helping to reveal comprehensive family relationships. To maximize family information retrieval, the database contains a collection of multiple alignments for each DNA-binding family while the recognized motifs can be used as diagnostically functional fingerprints. All available structural class representatives have also been referenced. The database is now being developed into a web-based management system for online free access of customized data sets. Entries will be fully hyperlinked to facilitate easy retrieval of the original records from the source databases whereas functional and phylogenetic annotations will be applied to newly sequenced genomes.

## ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ DNA (ESTs) ΣΤΗ ΠΕΡΙΟΧΗ q14-q22 ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ 6

Καραγιάννη Ε., Γ.Μ. Μανιάτης και Δ.Χ. Σπάθας

Εργ. Γενικής Βιολογίας Ιατρικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.

Χρωμοσωμικές ελλείψεις ή απώλεια ετεροζυγωτίας στη περιοχή 6q14-q22 είναι γνωστό ότι παρατηρούνται σε ασθενείς με συγκεκριμένες νεοπλασίες όπως οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, λέμφωμα non-Hodgkin, καρκίνο των ωοθηκών, μαστού, ενδομητρίου, προστάτη κ.α. Επίσης καταστολή της ογκογένεσης είναι δυνατή με μεταφορά του χρωμοσώματος 6 σε διάφορες καρκινικές σειρές. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν παρουσία άγνωστων ογκοκατασταλτικών γονιδίων η αδρανοποίηση των οποίων μπορεί να οδηγεί στην εκδήλωση της νεοπλασίας.

Στη παρούσα μελέτη χρησιμοποιώντας την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης έγινε ακριβής χαρτογράφηση οκτώ διαφορετικών εκφραζόμενων αλληλουχιών DNA (ESTs) με την βοήθεια (α) κλώνων YAC που είχαν χαρτογραφηθεί στην περιοχή 6q14-22 και (β) υβριδικών κυτταρικών σειρών που περιείχαν διαφορετικά τμήματα του χρωμοσώματος 6.

Αναλυτικότερα οι ESTs A007I12 και WI-15170 χαρτογραφήθηκαν μεταξύ των γενετικών δεικτών D6S1698 και D6S404 (περιοχή 6q21-q22.1), οι ESTs A007F39, WI-18481, WI-30773, χαρτογραφήθηκαν μεταξύ των γενετικών δεικτών D6S1698 και D6S302 (περιοχή 6q21-q22.2), οι ESTs D6W1410, D6S1850, χαρτογραφήθηκαν μεταξύ των γενετικών δεικτών D6S468 και D6S447 (περιοχή 6q16.3-q21) και η EST D6S2040 χαρτογραφήθηκε μεταξύ των γενετικών δεικτών D6S468-D6S404 (περιοχή 6q16.3-q21).

Οι έξι από τις οκτώ ESTs χαρτογραφούνται κοντά σε μια περιοχή που περιέχει μία νησίδα CpG και στο σύνολό τους δεν έδειξαν ομολογία με γνωστά γονίδια μετά από ανάλυση σε υπολογιστή με λογισμικό BLAST.

Επειδή οι εκφραζόμενες αλληλουχίες αντιπροσωπεύουν κλώνους cDNA, η ακριβής τοποθέτησή τους, αναμένεται να διευκολύνει την απομόνωση των γονιδίων στα οποία αντιστοιχούν.

## **FINE MAPPING OF EXPRESSED SEQUENCE TAGS, (ESTs) AT REGION q14-q22 OF HUMAN CHROMOSOME 6**

**Karayianni E., G.M. Maniatis & D.H. Spathas**

**Laboratory of General Biology, Medical School, University of Patras,  
Patras, Greece**

Chromosomal deletions or loss of heterozygosity at 6q14-q22 are known to occur in patients with certain types of neoplasia such as acute lymphoblastic leukemia, non-Hodgkin's lymphoma, ovarian, breast, endometroid, prostate cancer etc. In addition, suppression of tumorigenicity can be obtained by transfer of chromosome 6 into a variety of tumor cell lines. These observations suggest the presence of unknown tumor suppressor genes in the area, which, when inactivated may lead to the onset of neoplasia.

With the use of the polymerase chain reaction, we were able, in this study, to fine map, eight different ESTs in the area, by screening DNA from (a) YAC clones mapping at the 6q14-22 interval and (b) hybrid cell lines containing different portions of chromosome 6.

In particular, ESTs A007I12 and WI-15170 have been mapped between genetic markers D6S1698 and D6S404 (region 6q21-q22.1), ESTs A007F39, WI-18481, WI-30773 have been mapped between D6S1698 and D6S302 (region 6q21-q22.2), ESTs D6S1410, D6S1850 have been mapped between D6S468 and D6S447 (region 6q16.3-q21) and EST D6S2040 has been mapped between genetic marker D6S468 and D6S404 (region 6q16.3-q21).

Six of the eight ESTs, examined, map near a CpG island in the region, and none of them has shown sequence homology to known genes after BLAST analysis. Since the above ESTs represent cDNA clones, their fine localization, may facilitate the isolation of their corresponding genes.

*This study was supported by a grant to D.H.S, from the Secretariat of Research and Technology, Ministry of Development.*

## ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA (mt DNA) ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Bactrocera oleae* ΜΕ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΕΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ

**Καρπουχτσής Ι., Ν. Νικολαΐδης, Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου  
και Ζ. Σκούρας**

**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,  
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη**

Το έντομο *Bactrocera oleae* (*Dacus oleae*), ο «δάκος της ελιάς», θεωρείται ένα από τα πλέον βλαβερά έντομα, αφού προκαλεί τεράστιες καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή σε όλες τις μεσογειακές χώρες. Η έρευνα του εντόμου αυτού σε διάφορα επίπεδα και κυρίως στο μοριακό, μπορεί να δώσει σημαντικά στοιχεία για την καταπολέμησή του. Η παρούσα μελέτη, που αποτελεί μέρος μιας γενικότερης προσπάθειας ανάλυσης και χαρτογράφησης του γονιδιώματος του δάκου, επικεντρώθηκε στην ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA). Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε το εργαστηριακό στέλεχος του *Bactrocera oleae* (από το Πυρηνικό Κέντρο Ερευνών –Δημόκριτος). Ολικό mtDNA απομονώθηκε από νύμφες του εντόμου χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Pissios and Scouras (1992), με μικρές τροποποιήσεις. Έγιναν πέψεις με δώδεκα (12) ενδονουκλεάσες περιορισμού. Τα προϊόντα των πέψεων ηλεκτροφορήθηκαν σε πηκτή αγαρόζης (0,8%) και το DNA μεταφέρθηκε κατά Southern σε φίλτρα νιτροκυτταρίνης. Τα φίλτρα υβριδίστηκαν χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτές σημασμένα με διγοξυγενίνη τμήματα του mtDNA της *Drosophila melanogaster* που προέκυψαν μετά από πέψη με HaeIII. Από τα παραπάνω α) υπολογίστηκε το μέγεθος του mtDNA του δάκου, β) το DNA αυτό χαρτογραφήθηκε με βάση το mtDNA της *Ceratitis capitata* και της *Drosophila* για τα οποία είναι γνωστή η σειρά και η θέση των γονιδίων. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως, αν και υπάρχει σχετικός πολυμορφισμός ως προς κάποιες θέσεις δράσεις ενδονουκλεασών περιορισμού, το mtDNA των παραπάνω Διπτέρων είναι αρκετά συντηρημένο.

## **MAPPING OF THE MITOCHONDRIAL DNA (mt DNA) OF THE INSECT *Bactrocera oleae* WITH RESTRICTION ENDONOUKLEASES**

**Karpouhtsis I., N. Nikolaidis, P. Mavragani-Tsipidou  
& Z.G. Scouras**

**Dept of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,  
Faculty of Sciences, Aristotle University, 540 06 Thessaloniki**

*Bactrocera oleae* (*Dacus oleae*) is included among the insect species of great economic importance due to the losses of the olive fruit crops in all Mediterranean countries. The knowledge of the biology of the insect, especially on the molecular view could give a lot of help for its control. This project is a part of a general attempt of analyzing and mapping its genome and it focus on the analysis of the mitochondrial DNA (mtDNA). In these experiments we used the standard laboratory *B. oleae* population. Total mtDNA was isolated from pupae based on the protocol described in Pissios and Scouras (1992). Twelve restriction endonucleases were used. The products were electrophorized and Southern transferred. The filters were hybridized using as probe  $\alpha$ -labeled with digoxigene- the mtDNA of *Drosophila melanogaster*, which was digested by HaeIII. The total size of the mtDNA of *B. oleae* was estimated. MtDNA maps of *Ceratititis capitata* and *Drosophila melanogaster* was used for the mapping of the *B. oleae* mtDNA. The results show that even though a slight polymorphism in some restriction enzymes sites does exists, there is a high conservation between the mtDNA of the above Diptera.

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΛΥΣΟΖΥΜΗΣ ΜΕ ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΗ

**Καρπουχτσής Ι.<sup>1</sup>, Ν. Νικολαΐδης<sup>1</sup>, Θ. Λαναράς<sup>2</sup>  
και Ζ. Σκούρας<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας και <sup>2</sup>Τομέας  
Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη

Η λυσοζύμη είναι ένα σχετικά μικρό εκκριτικό ένζυμο(129 αμινοξέα) που καταλύει την υδρόλυση συγκεκριμένων ειδών πολυσακχαριτών στα κυτταρικά τοιχώματα των βακτηρίων. Στα πτηνά η λυσοζύμη αφθονεί στο λεύκωμα των αυγών, όπου η βιολογική λειτουργία της δεν έχει διευκρινιστεί. Στα θηλαστικά το ένζυμο αυτό έχει βρεθεί κυρίως σε βιολογικές εκκρίσεις (όπως τα δάκρυα) όπου κατά πάσα πιθανότητα έχει αντιβακτηριακό ρόλο. Στην παρούσα εργασία έγινε μια προσπάθεια ανάλυσης των πρωτεϊνικών και νουκλεοτιδικών ακολουθιών της λυσοζύμης με διάφορα λογισμικά πακέτα ηλεκτρονικού υπολογιστή. Συλλέχθηκαν οι ακολουθίες από τις βάσεις δεδομένων (PIR και SwissProt για τις πρωτεϊνικές και EMBL, Genbank για τις νουκλεοτιδικές) και αφαιρέθηκαν οι διπλές εγγραφές. Ακολούθησε η εναρμόνιση (alignment) των δύο ειδών ακολουθιών και η κατασκευή φυλογενετικών δένδρων με τη χρήση λογισμικών πακέτων φυλογένεσης και διαφορετικών μεθόδων κατασκευής (Distance-based (Neighbor Joining), Maximum Parsimony, Maximum Likelihood). Επίσης έγινε χρήση των βάσεων δεδομένων τρισδιάστατων δομών (3D Structural Databases (PDB, HSSP, FSSP)) και απεικόνιση της δομής της πρωτεΐνης και των πιθανών λειτουργικών της θέσεων. Τέλος, με άλλο λογισμικό (Codon Preference, Motifs, Composition, Consensus, Map, Prime) έγιναν διάφορες αναλύσεις για το γονίδιο της λυσοζύμης. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι είναι σημαντική η επιλογή των κατάλληλων μεθόδων και λογισμικών ανάλογα με το πεδίο έρευνας που θέλουμε να μελετήσουμε.

## **ANALYSIS OF THE LYSOZYME GENE USING SEVERAL BIOINFORMATIC PROGRAMS**

**Karpouhtsis I.<sup>1</sup>, N. Nikolaidis<sup>1</sup>, T. Lanaras<sup>2</sup> & Z.G. Scouras<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Dept of Genetics, Development and Molecular Biology and <sup>2</sup>Dept of Botany, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 540 06 Thessaloniki**

Lysozyme is a relatively small secretory enzyme (129 aminoacids) that catalyzes the hydrolysis of specific kinds of polysaccharides comprising the cell walls of bacteria. In birds, lysozyme is also an exceptionally abundant protein in egg whites. Its biological function in fowl eggs is unclear. In vertebrates, this "glycosidase" is found mainly in biological secretions (such as tears) where it probably serves as an anti-bacterial agent. In the present study we tried to analyze the sequences (nucleic and protein) of the lysozyme gene with bioinformatics software. We collect the sequences from the databases (PIR and SwissProt for the protein sequences and EMBL, Genbank for the nucleic sequences) and we removed the duplicates. Then we made the alignments for each category (nucleic and protein) and we constructed the phylogenetic trees by using several programs and different methods (Distance-based (Neighbor Joining), Maximum Parsimony, Maximum Likelihood). We also used databases of 3D structure (3D Structural Databases (PDB, HSSP, FSSP)) to visualize the structure and the hypothetical functional domains of the protein. Furthermore we used other programs (Codon Preference, Motifs, Composition, Consensus, Map, Prime) to do some basic analysis on the data of the lysozyme gene. The results show that the choice of the appropriate method and software, depends on the subject we want to study.

## ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΜΕ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΛΙΠΙΔΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ

Καστρησίου Ε.<sup>1</sup>, Α. Τζιβελέκα<sup>2</sup>, Β. Ρούσσης<sup>2</sup>,  
Α. Οικονόμου-Αμίλλη<sup>1</sup> και Τ. Τάφας<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινόμησης, <sup>2</sup>Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακογνωσίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157 84 Αθήνα

Τα μικροφύκη αποτελούν πηγή χρωστικών, βιταμινών, πολυσακχαριτών αλλά και ειδικών λιπαρών οξέων (poly-unsaturated fatty acids, PUFA) με εφαρμογές στις υδατοκαλλιέργειες, στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών. Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το εικοσαπενταενοϊκό (EPA), το εικοσιδυοεξαενοϊκό (DHA) και το αραχιδονικό οξύ (ARA), έχουν μεγάλη σημασία για την επιτυχημένη καλλιέργεια θαλάσσιων οργανισμών αλλά και για την υγεία του ανθρώπου.

Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιούνται τα εξής είδη μικροφυκών: *Chaetoceros gracilis* Schütt, *Chlorella capsulata* Guillard, Bold et MacEntee, *Chlorella minutissima* Fott et Novakova, *Chlorella stigmatophora* Butcher, *Dunaliella tertiolecta* Butcher, *Isochrysis aff. galbana*, *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, *Porphyridium cruentum* (Ag) Nδg, *Spirulina platensis* (Norst.) Geitler, *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher και *Tetraselmis chuii*. Όλα τα στελέχη προέρχονται από την τράπεζα καλλιεργειών του Πανεπιστημίου του Τέξας (UTEX Culture Collection).

Οι καλλιέργειες αναπτύχθηκαν σε τελικό όγκο 1,5 l σε ειδικά θρεπτικά διαλύματα (WALNE, JONES και ASW), με συνεχή αερισμό, στους  $23 \pm 1^\circ \text{C}$ , με φωτισμό από λάμπες φθορισμού Sylvania Grolux και φωτο-περίοδο 16:8 φως:σκοτάδι. Η επιλογή των καλλιεργειών έγινε βάσει της περιεκτικότητάς τους σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και βιοδραστικούς δευτερογενείς μεταβολίτες. Ο ρυθμός αύξησής τους προσδιορίστηκε με αιματοκυτταρόμετρο, ενώ το λιπιδικό τους περιεχόμενο με αέρια χρωματογραφία μετά από μεθυλίωση του οργανικού εκχυλίσματος.

Παρουσιάζονται αποτελέσματα σχετικά με το ρυθμό αύξησης και το λιπιδικό πρότυπο των παραπάνω ειδών μικροφυκών, με έμφαση στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.



## MICROALGAE WITH INTERESTING LIPID PROFILES

Kastrissiou E.<sup>1</sup>, A.Tziveleka<sup>2</sup>, V. Roussis<sup>2</sup>, A. Oikonomou-Amilli<sup>1</sup>  
& T. Tafas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ecology and Taxonomy, School of Biology, <sup>2</sup>Department of Pharmacognocny, School of Pharmacy, University of Athens, Panepistimioupolis, GR- 157 84 Athens

Microalgae produce various metabolites, such as pigments, vitamins, polysaccharides, as well as fatty acids (poly-unsaturated fatty acids, PUFA) interesting to the aquaculture, food, drug and cosmetics industry. Polyunsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic (EPA), docosoexaenoic (DHA) and arachidonic acid (ARA) are valuable for the nutrition of marine animals reared in mariculture and human health.

In the present study, the following microalgal species were used: *Chaetoceros gracilis* Schütt, *Chlorella capsulata* Guillard, Bold et MacEntee, *Chlorella minutissima* Fott et Novakova, *Chlorella stigmatophora* Butcher, *Dunaliella tertiolecta* Butcher, *Isochrysis aff. galbana*, *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, *Porphyridium cruentum* (Ag) Näg., *Spirulina platensis* (Norst.) Geitler και *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher και *Tetraselmis chuii*. All the cultures were obtained from the UTEX Culture Collection (University of Texas, Austin). Aerated cultures were grown in final volumes of 1,5 l, in specific culture media (WALNE, JONES and ASW), at  $23 \pm 1^\circ \text{C}$ , illuminated with fluorescent light (Sylvania GroLux) at 16:8 light: dark cycles. Selection of the microalgal strains was based on their content in poly-unsaturated fatty acids and bioactive metabolites. Cell counts were determined with a Neubauer haemocytometer, while their lipid profile was studied by gas chromatography after methylation of the crude extraction. We present results on the growth rate and the lipid profile of the above microalgal strains, with an emphasis in the poly-unsaturated fatty acids.

## ΕΝΑ ΚΑΤΑΛΛΗΛΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΑΝΑΡΡΟΦΗΤΙΚΟ ΗΛΕΚΤΡΟΔΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΔΥΝΑΜΙΚΩΝ ΔΡΑΣΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΥ ΥΨΟΥΣ. ΕΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

**Κατσάνου Β., Α. Τοπογλίδη και Γ. Θεοφιλίδης**

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006 Θεσσαλονίκη

Ένας από τους τρόπους καταγραφής των δυναμικών δράσης από άξονες νευρικών κυττάρων είναι η λήψη εξωκυτταρικών καταγραφών. Η αναρρόφηση του νεύρου γίνεται από ειδικά κατασκευασμένα αναρροφητικά ηλεκτρόδια (suction electrodes) με γυάλινη μικροπιπέτα και προσαρμοσμένη σύριγγα η οποία ασκεί στιγμιαία αρνητική πίεση. Το σημαντικότερο μειονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι η αδυναμία διατήρησης του ύψους των καταγραφόμενων δυναμικών δράσης για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η παραπάνω δυσκολία αντιμετωπίστηκε προσαρμόζοντας συνεχή αρνητική πίεση στο ηλεκτρόδιο με τη βοήθεια αντλίας κενού. Η τιμή της ασκούμενης πίεσης ελέγχεται από ειδικό μανόμετρο σε 0,05-0,1 bar. Με τον τρόπο αυτό επιτεύχθηκε η λήψη σταθερών εξωκυτταρικών καταγραφών για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα, επιτρέποντας την περαιτέρω διεξαγωγή φαρμακολογικών πειραμάτων. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η δράση του εντομοκτόνου Imidacloprid καθώς και του οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου Paraoxon σε συγκεντρώσεις 1μM και 100nM για το πρώτο και 1μM για το δεύτερο στα έντομα *Tenebrio molitor* και *Heliothis virescens*. Τα παραπάνω πειράματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση της νευροτοξικότητας των εντομοκτόνων αυτών.

## **MODIFICATION OF AN ORDINARY SUCTION ELECTRODE IN ORDER TO RECORD CONSTANT IN AMPLITUDE ACTION POTENTIALS. AN IDEAL TOOL FOR PHARMACOLOGICAL EXPERIMENTS**

**Katsanou V., A. Topoglidi & G. Theophilidis**

**Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University,  
Thessaloniki 54006**

Specially constructed suction electrodes are a common tool for extracellular recording from invertebrate preparations to mammalian brain slices. These electrodes produce excellent recordings as long as the nerve is permanently fixed inside the pipette. However, after a certain period of time, the suction becomes loose and the amplitude of the action potentials smaller than the one recorded initially. A simple way to overcome this problem is the application of constant negative pressure inside the pipette. The pressure can be adjusted with the use of a manometer to 0,05-0,1 bar. This simple modification of the ordinary suction electrode allows us to monitor constant in amplitude action potentials for a relatively long period of time and consequently to perform pharmacological experiments. Two insecticides, Imidacloprid 1 $\mu$ M, 100nM and Paraoxon 1 $\mu$ M, were tested in *Tenebrio molitor* and *Heliothis virescens*. These experiments can be used to investigate the neurotoxicity of these compounds in the insect's central nervous system.

## ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Κατσίβελα Ε. και Ν. Καλογεράκης

**Laboratory of Biochemical Engineering & Environmental Biotechnology,  
Department of Environmental Engineering, Technical University of Crete,  
Polytechnioupolis, GR-73100 Chania, (Email: ekatsive@mred.tuc.gr).**

Τα διυλιστήρια πετρελαίου παράγουν μεγάλες ποσότητες αποβλήτων, τα οποία εκτός από χρώματα, σκουριές και αλατόνερο, περιέχουν αλκάνια, πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs) και ετεροκυκλικές, αρωματικές ενώσεις (παράγωγα του S-, O-, N-) (HACs). Αυτά τα «λασπώδη» απόβλητα πετρελαίου δημιουργούν σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα εξαιτίας της υψηλής τοξικότητας των PAHs και των HACs, που περιέχουν. Η διαχείριση λάσπης διυλιστηρίων με την τεχνική του landfarming είναι μια ευρέως διαδεδομένη μέθοδος, η οποία κάνει χρήση αφενός μεν της βακτηριακής αποικοδόμησης των υδρογονανθράκων του πετρελαίου και αφετέρου της δημιουργίας πολυμερών ενώσεων μεταξύ των PAHs και των συστατικών του εδάφους (humification) ως επί το πλείστον στο ανώτερο στρώμα της επιφάνειας του εδάφους (30 cm). Με σκοπό τη μελέτη και τη βελτιστοποίηση του βαθμού βακτηριακής αποικοδόμησης των υδρογονανθράκων πετρελαίου σε λάσπη διυλιστηρίων, αυτόχθονα βακτήρια με αποικοδομητικές ικανότητες εμπλουτίστηκαν και απομονώθηκαν από περιοχές διαχείρισης λάσπης διυλιστηρίων της Motor Oil Hellas (Διυλιστήρια Κορίνθου). Αυτές οι εμπλουτισμένες βακτηριακές καλλιέργειες χρησιμοποιήθηκαν για πειράματα αποικοδόμησης των αλκανικών και των πολυκυκλικών αρωματικών κλασμάτων του πετρελαίου. Αυτά τα δύο κλάσματα υδρογονανθράκων πετρελαίου εκχυλίστηκαν από απόβλητα διυλιστηρίων και εν συνεχεία χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά ως πηγή άνθρακα στις καλλιέργειες. Η ανάλυση των απομονωμένων βακτηριακών καλλιεργειών έδειξε, ότι τα γραμμικά αλκάνια (n-alkanes) με ένα μήκος αλυσίδας ατόμων άνθρακα από C9 έως C29 αποικοδομούνται πρώτα ενώ τα διακλαδιζόμενα αλκάνια, όπως το διμεθυλικό και τριμεθυλικό επταδεκάνιο, εμπλουτίζονται αρχικά στο χώμα πριν αποικοδομηθούν. Παράλληλα πειράματα με βακτηριακές καλλιέργειες με PAHs ως μοναδική πηγή άνθρακα έδειξαν γρηγορότερο μεταβολισμό σε αρωματικές ενώσεις με έναν ή δύο αρωματικούς δακτυλίους, όπως τολουόλιο και ναφθαλίνη. Ο βιομετασχηματισμός ή η αποικοδόμηση των PAHs με 3 ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους (π.χ. φαινανθρενίου, πυρενίου) διήρκεσε πολύ περισσότερο. Μερικές από αυτές τις ενώσεις αποδείχθηκαν ως ιδιαίτερα δύσκολα βιοαποικοδομούμενες. Ο ρυθμός αποικοδόμησης των αλειφατικών και των εύκολα αποικοδομούμενων αρωματικών ενώσεων ήταν παρόμοιος, γεγονός που έδειξε, ότι οι αυτόχθονοι μικροοργανισμοί, που απομονώθηκαν, ήταν προσαρμοσμένοι σε παρόμοιο βαθμό στην εκμετάλλευση και των δυο κατηγοριών υδρογονανθράκων πετρελαίου.

## **BACTERIAL DEGRADATION OF PETROLEUM HYDROCARBONS**

**Katsivela E. & N. Kalogerakis**

**Laboratory of Biochemical Engineering & Environmental Biotechnology,  
Department of Environmental Engineering, Technical University of Crete,  
Polytechnioupolis, GR-73100 Chania, (Email: ekatsive@mred.tuc.gr).**

Petroleum refineries produce high amounts of waste sludge which, besides alkanes, contain polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and heterocyclic aromatic compounds (S-, O- N-substituted) (HACs). Petroleum waste sludge represents a serious environmental concern due to the high toxicity of the PAHs and HACs. Landfarming is a widespread waste management method, which employs bacterial degradation of petroleum hydrocarbons as well as humification of PAHs in soil material in the top 30 cm soil layer. In order to study and improve the bacterial degradation rates of petroleum hydrocarbons from refinery sludge, indigenous bacteria with degradation capabilities were enriched and isolated from samples obtained from the landfarming facilities of Motor Oil Hellas (Korinth Refineries, Greece). The enriched bacterial cultures were used for degradation experiments of the alkane or PAH fractions. Both petroleum hydrocarbon fractions were extracted from refinery waste sludge and were subsequently used as the sole carbon source for growth. Analysis of isolated bacterial cultures indicated that n-alkanes with a chain length from C10 to C29 are degraded first while branched alkanes, such as dimethyl and tetramethyl heptadecane, are first enriched prior to their ultimate degradation. In a parallel series of experiments, bacterial cultures cultivated with PAHs as the sole carbon source indicated faster metabolism of aromatic compounds with one or two rings, such as toluene and naphthalene. Biotransformation or mineralisation of PAHs with 3 or more rings (e.g., phenanthrene, pyrene) has taken significantly longer. Some of these compounds were recalcitrant to biodegradation. The rate of biodegradation of aliphatics and the easily degradable aromatics was similar indicating that the indigenous microorganisms were adapted to the same degree to the utilisation of both classes of hydrocarbons.

**ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ – ΑΝΤΙΑΡΘΡΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ  
ΓΟΥΑΖΟΥΛΕΝΙΟΥ, ΣΥΣΤΑΤΙΚΟΥ ΤΟΥ ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ  
ΤΟΥ ΧΑΜΟΜΗΛΙΟΥ**

**Κλεομύτης Η., Χ. Χαλκίδης, Ν. Αβραμίδης, Π. Βικτωράτος,  
Μ. Γιάγκου, Α. Χατζηπέτρου-Κουρουνάκη**

**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Α.Π.Θ.**

Το Γουαζουλένιο (1,4-dimethyl-7-isopropylazulene) είναι ένα μη τοξικό φυσικό προϊόν, συστατικό του αιθέριου ελαίου των δρογών *Matricaria chamomilla* και *Guajacum officinale*. Προηγούμενες έρευνες του εργαστηρίου έδειξαν ότι το γουαζουλένιο καταστέλλει τους μηχανισμούς οξείας φλεγμονής. Στην παρούσα μελέτη ερευνάται η κατασταλτική δράση του γουαζουλενίου επί των μηχανισμών της πειραματικής αρθρίτιδας (χρόνια φλεγμονή). Το γουαζουλένιο χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά πριν και την 3<sup>η</sup> και 7<sup>η</sup> ημέρα μετά την επαγωγή της πειραματικής αρθρίτιδας σε αρουραίους της φυλής Fischer. Ακολούθησε παρακολούθηση των κλινικών χαρακτηριστικών της νόσου (αρθριτικοί βαθμοί) και μέτρηση διαφόρων κυτοκινών σε κύτταρα του σπλήνα σε διάφορους χρόνους μετά την επαγωγή πειραματικής αρθρίτιδας. Τα πειραματόζωα στα οποία δεν χορηγήθηκε γουαζουλένιο εμφάνισαν αρθριτικούς βαθμούς κατά τη 12<sup>η</sup> ημέρα με μέγιστο την 20<sup>η</sup> ημέρα. Αντίθετα, τα πειραματόζωα στα οποία χορηγήθηκε το γουαζουλένιο δεν νόσησαν, γεγονός που πιστοποιεί την ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση του. Τα επίπεδα της IL-6, IL-12, IL-4, IL-10, IFN-γ και TNF-α ήταν αυξημένα κατά την 7<sup>η</sup> και 14<sup>η</sup> ημέρα σε αρουραίους στους οποίους δεν χορηγήθηκε γουαζουλένιο. Η χορήγηση του γουαζουλενίου προκάλεσε την επαναφορά των επιπέδων της IL-6 και της IL-12 στα φυσιολογικά, τη σημαντική μείωση των επιπέδων της IL-4 και IL-10, ενώ η έκκριση της IFN-γ και του TNF-α παρέμεινε υψηλή. Συμπερασματικά, οι άριστες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του γουαζουλενίου οφείλονται, τουλάχιστον εν μέρει, στην πλήρη ή μερική καταστολή κυτοκινών όπως η IL-6, η IL-12, η IL-4 και η IL-10. Αντίθετα, η IFN-γ και ο TNF-α δεν φαίνεται να εμπλέκονται στο μηχανισμό καταστολής της φλεγμονής που επάγεται από το γουαζουλένιο.

## **ANTI-INFLAMMATORY AND ANTI-ARTHRITIS PROPERTIES OF GUAIAZULENE, A COMPONENT OF CHAMOMILE**

**Kleomitis H., C. Halkidis, N. Avramidis, P. Victoratos, M. Yiangou,  
L. Hadjipetrou-Kourounakis**

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

Guaiazulene (1,4-dimethyl-7-isopropylazulene) is a component of the oil of *Matricaria chamomilla* and *Guajacum officinale*. Our previous studies have demonstrated that guaiazulene inhibits the acute inflammatory responses. In the present report, the effects of guaiazulene on adjuvant-induced arthritis (chronic inflammatory response) were investigated. Guaiazulene was injected i.p. to Fischer rats prior, 3 and 7 days after the induction of arthritis. Subsequently, the severity of the disease (arthritis score) was monitored and the cytokine production was assayed on spleen cells. Untreated animals developed severe arthritis 12 days after adjuvant injection, while a burst of IL-6, IL-12, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  secretion was observed by the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day. Treatment with guaiazulene resulted in total abrogation of the disease and restoration of IL-6 and IL-12 to normal levels. In addition, IL-4 and IL-10 production was decreased, while IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  persisted in high levels. In conclusion, IL-6, IL-12, IL-4 and IL-10 inhibition has a contributory cause of excellent anti-inflammatory properties exhibited by guaiazulene, while IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  are not involved in the above mechanism.

## ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΡΕΠΤΟ- ΜΥΚΗΤΩΝ ΕΔΑΦΟΥΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟΥ ΤΥΠΟΥ· ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΑΣΜΙΔΙΩΝ

**Κοράκη Δ. και Α.Δ. Καραγκούνη**  
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη, 15781 Αθήνα

Ένα δισεκατομμύριο χρόνια εξέλιξης χωρίζουν τους στρεπτομύκητες και τα συγγενή γένη ακτινοβακτηρίων από τις άλλες γνωστές ομάδες βακτηρίων. Αυτό που προέκυψε είναι μια εξαιρετικά ενδιαφέρουσα ομάδα μικροοργανισμών. Πρόκειται για φυσικούς αποικιστές του εδάφους όπου εμφανίζονται κυρίως υπό μορφή σπορίων. Εμφανίζουν τεράστιο βιοτεχνολογικό ενδιαφέρον λόγω της ικανότητας τους να παράγουν ένα μεγάλο αριθμό αντιβιοτικών και άλλων δευτερογενών μεταβολιτών.

Ένας μεγάλος αριθμός πλασμιδίων έχει πρόσφατα απομονωθεί και μελετηθεί και ερευνάται ο ρόλος που αυτά διαδραματίζουν στην βακτηριακή κοινότητα. Η χρήση των πλασμιδίων αυτών ως φορείς κλωνοποίησης και το γεγονός ότι ξένα γονίδια έχουν εκφραστεί σε στελέχη στρεπτομυκήτων είναι οι κύριοι λόγοι για το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα γενετικά αυτά στοιχεία.

Στην παρούσα εργασία αναφέρουμε μελέτες σχετικά με την παρουσία και τη διασπορά πλασμιδίων σε ενδογενή στελέχη στρεπτομυκήτων εδάφους που έχουν απομονωθεί από δύο διαφορετικού τύπου Μεσογειακά οικοσυστήματα: μία αγροτική περιοχή και μία δασική απομονωμένη περιοχή. 108 ενδογενή στελέχη στρεπτομυκήτων που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν ελέγχθησαν για την παρουσία αυτόνομων κυκλικών υπερελικομένων πλασμιδίων Παράλληλα πραγματοποιείται και πληθυσμιακή μελέτη των 2 αυτών ομάδων στρεπτομυκήτων με τη μέθοδο DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)



## **MOLECULAR ANALYSIS OF STREPTOMYCETES COMMUNITIES IN MEDITERRANEAN TYPE SOIL ECOSYSTEMS: STUDIES ON NATURALLY OCCURRING PLASMIDS**

**Koraki D. & A.D. Karagouni**

**Section of Botany, Department of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, 15781 Athens, Greece**

One billion years of evolution separates streptomycetes and their actinomycete relatives from other well-known groups of bacteria. What has emerged is a genus of constantly surprising bacteria. *Streptomyces* are very important filamentous soil bacteria due to their ability to produce a large number of antibiotics and other useful (in medicine and agriculture) secondary metabolites. Recently a large number of *Streptomyces* plasmids have been identified and their role in bacterial communities is investigated. The use of these plasmids as cloning vectors and their possible involvement in horizontal gene transfer are the reasons for the increasing interest in these genetic elements. We report here studies on naturally occurring plasmids hosted in *Streptomyces* strains isolated from two different terrestrial ecosystems: an agricultural field and a protected forest area. The isolates were screened for the presence of ccc plasmids. Among the 108 isolates screened, 6 were found to contain plasmids. Molecular analysis of the two *Streptomyces* population were also performed by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

## ΚΛΕΙΣΤΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΠΟΤΑΜΙΟΥ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΝΕΡΟΥ.

Κορμάς Κ.Α. \*, Σ. Παπασπύρου

Τομέας Ζωολογίας – Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα.

\* E-mail: ccormas@cc.uoa.gr

Μελετήθηκε τον Ιανουάριο 2000 η μικροβιακή αποικοδόμηση του διαλυμένου οργανικού άνθρακα (ΔΟΑ) από τον Σπερχειό ποταμό και από τον Μαλιακό Κόλπο κατά την περίοδο της χειμερινής αύξησης του φυτοπλαγκτού (χλωροφύλλη  $a=3.1 \mu\text{g l}^{-1}$ ). Χρησιμοποιήθηκαν κλειστές καλλιέργειες με υπόστρωμα νερό από τον Σπερχειό και τον Μαλιακό που είχε διηθηθεί μέσα από πόρους 0.2  $\mu\text{m}$ . Στις καλλιέργειες του Σπερχειού η αλατότητα ρυθμίστηκε με προσθήκη κατάλληλης ποσότητας NaCl ώστε να είναι ίδια με αυτή της θάλασσας. Οι καλλιέργειες εμβολιάστηκαν με θαλασσινά βακτήρια που συλλέχτηκαν σε φίλτρα πόρου 0.2  $\mu\text{m}$  μετά από διήθηση ίσου με τις καλλιέργειες όγκου θαλασσινού νερού και επωάστηκαν σε *in situ* θερμοκρασία ( $10.5 \pm 1^\circ\text{C}$ ) στο σκοτάδι για 15 ημέρες. Δείγματα για αφθονία βακτηρίων λαμβάνονταν κάθε 12 ώρες μέχρι το τέλος της εκθετικής αύξησης και, κάθε δύο έως τέσσερις ημέρες μέχρι το τέλος των επωάσεων. Η αφθονία των βακτηρίων στις καλλιέργειες του Σπερχειού έφτασε τα  $34.2 \times 10^5$  κύτταρα  $\text{ml}^{-1}$  ενώ σε αυτές του Μαλιακού τα  $14.4 \times 10^5$  κύτταρα  $\text{ml}^{-1}$  σε περίπου τρεις ημέρες από τον εμβολιασμό. Το τάχος αύξησης στις καλλιέργειες του Σπερχειού ήταν  $0.023 \text{ h}^{-1}$  ενώ σε αυτές του θαλασσινού νερού ήταν  $0.014 \text{ h}^{-1}$ . Η συχνότητα των διαιρούμενων κυττάρων ήταν μέγιστη και στις δύο περιπτώσεις κατά τη διάρκεια της εκθετικής αύξησης (28,1 - 29,0%). Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι στις καλλιέργειες του Σπερχειού τα βακτηριακά κύτταρα είναι μεγαλύτερα από αυτά των θαλασσινών καλλιιεργειών. Η αυξημένη βακτηριακή δραστηριότητα στις καλλιέργειες του Σπερχειού οφείλεται πιθανότατα στη διαφορετική σύσταση του ΔΟΑ και στις συγκεντρώσεις των ανόργανων θρεπτικών αλάτων, κυρίως του φωσφόρου και του αζώτου.

## **GROWTH OF MARINE BACTERIOPLANKTON IN RIVER AND SEA WATER CULTURES.**

**Kormas K.A. \*, S. Papaspyrou**

**Department of Zoology – Marine Biology, School of Biology,  
University of Athens, 157 84 Panepistimioupoli, Athens, Hellas.**

**\*E-mail: ccormas@cc.uoa.gr**

The bacterial degradation of dissolved organic carbon (DOC) from Sperhios River and Maliakos Gulf, Hellas, during the winter phytoplankton bloom of the gulf (chlorophyll *a* 3.1  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) was studied. River and sea water was filtered through 0.2  $\mu\text{m}$  and the filtrate was used as substrate in batch cultures inoculated with bacteria from Maliakos Gulf. In the river filtrate, a certain amount of NaCl was added until the salinity reached that of the sea. The inoculum contained the bacteria retained on a 0.2  $\mu\text{m}$  pore size filter after filtration of seawater of the same volume as the cultures. All cultures were incubated in the dark at in situ temperature ( $10.5 \pm 1^\circ\text{C}$ ) for 15 days. Samples for bacterial counts were taken under sterile conditions every 12 h until the end of the exponential phase and after that every two to four days until the end of the incubations. Bacterial abundance in river water cultures reached  $34.2 \times 10^5$  cells  $\text{ml}^{-1}$  while in the sea water cultures it reached  $14.4 \times 10^5$  cells  $\text{ml}^{-1}$ . Growth rate was  $0.023 \text{ h}^{-1}$  and  $0.014 \text{ h}^{-1}$  in river and sea water cultures respectively. Frequency of dividing cells was highest during the exponential phase (28.1 – 29.0 %) in both cases. Additional observations suggest that bacterial cells were much larger in river than in sea water cultures. The increased bacterial activity in the cultures from Sperhios River compared to this of Maliakos Gulf probably reflects the differences in DOC concentrations and quality and nutrients availability as well between the two systems.

**ΧΑΡΤΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΟΧΡΩΜΑΤΟΣ C (CO-II) ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Sesamia nonagrioides* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Κούρτη Α.**

**Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας,  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα**

Απομονώθηκε μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) από το έντομο *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) και κατασκευάστηκε χάρτης περιοριστικών ενζύμων. Το μέγεθος του μιτοχονδριακού γονιδιώματος είναι 16,3 kb. Μέσω PCR απομονώθηκε το γονίδιο CO-II και ακολούθως έγινε ανάλυση της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων (sequencing). Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του γονιδίου CO-II, είναι εξαιρετικά πλούσια σε A+T (75,38%) και εμφανίζει υψηλή ομολογία σε σχέση με το ίδιο γονίδιο άλλων ανακοινωθέντων ειδών. Η ολική περιεκτικότητα σε A+T της *S. nonagrioides* βρίσκεται ανάμεσα στη *Drosophila* (74%) και στην *Apis* (80%). Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του CO-II γονιδίου παρατηρούμενη μέσω ευθυγράμμισης των βάσεων με άλλες γνωστές ακολουθίες, είναι σύμφωνη με τη φυλογενετική υπόθεση κατά την οποία, Lepidoptera και Diptera είναι περισσότερο συγγενή μεταξύ τους (27% απόκλιση νουκλεοτιδίων) παρά με τα Hymenoptera (46%). Παρουσιάζεται και συζητείται μια φυλογενετική υπόθεση που βασίζεται στην ακολουθία του CO-II γονιδίου πέντε ειδών Lepidoptera.

**MtDNA RESTRICTION MAP AND CYTOCHROME C  
OXIDASE SUBUNIT II (CO-II) SEQUENCE  
DIVERGENCE OF CORN STALK BORER *Sesamia  
nonagrioides* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)**

**Kourti A.**

**Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology,  
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855 Athens-Greece**

The mitochondrial (mtDNA) of the corn stalk borer *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) was purified and a restriction map was constructed. The size of the mtDNA genome is 16.3 kb. Polymerase chain reaction (PCR) followed by sequencing yielded sequence information on the cytochrome oxidase II (CO-II) region. The CO-II gene sequence is extremely A+T rich (75.38% on average) and highly homologous to reported CO-II genes from other species. The overall A+T content of that of *S. nonagrioides* is between *Drosophila* (74%) and *Apis* (80%). Sequence divergence in the CO-II gene obtained from alignment with published sequences is consistent with phylogenetic hypothesis, in that Lepidoptera and Diptera are more closely related to each other (20% sequence divergence) than each is to Hymenoptera (33%). A phylogenetic hypothesis based on CO-II sequences for five lepidopteran species presented and discussed.

## ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΝΕΥΡΩΣΗΣ ΤΩΝ FGF- ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΩΝ ΣΤΑΔΙΩΝ ΤΟΥ ΑΝΑΓΕΝΝΩΜΕΝΟΥ ΑΚΡΟΥ ΤΩΝ ΟΥΡΟΔΗΛΩΝ ΑΜΦΙΒΙΩΝ

Κουσουλάκος Στ.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 81 Αθήνα

Οι συνέπειες της συντριπτικής πλειονότητας των σοβαρών ασθενειών και των αναπηριών οφείλονται στην αδυναμία του ανθρώπινου οργανισμού να αναγεννήσει τα κύτταρα που πέθαναν και τα όργανα που απωλέσθησαν. Σε χαρακτηριστική αντίθεση, τα ουρόδηλα αμφίβια διαθέτουν σχεδόν απεριόριστες αναγεννητικές ικανότητες. Σήμερα η αναγέννηση οργάνων αποτελεί ιδιαίτερο κλάδο της αναπτυξιακής βιολογίας και μελετάται: (1) για τη σημασία της ως αναπτυξιακό και μορφογενετικό φαινόμενο, (2) για τη σχέση της με την καρκινογένεση, και (3) για την πιθανότητα κλινικών εφαρμογών.

Τα ουρόδηλα αμφίβια δεν αναγεννούν τα ακρωτηριασμένα μέλη τους εάν δεν υφίσταται τουλάχιστον το 30% της συνολικής νεύρωσης. Περίπου 5 ημέρες μετά τον ακρωτηριασμό ανιχνεύεται ιστοχημικά η νεύρωση του τραυματικού επιθηλίου. Επειδή δεν υπάρχει ακόμη ιστολογική μέθοδος διάκρισης μεταξύ κινητικών και αισθητικών νευρικών ινών, σκοπός της εργασίας αυτής ήταν ο ακριβής χαρακτηρισμός της νεύρωσης του αναγεννήματος κατά τα διαδοχικά, αναγεννητικά στάδια. Η ανατομική συνέχεια κάθε νεύρωσης διαπιστώνεται ύστερα από ακρωτηριασμό στο μέσο του στυλοποδίου, τοποθέτηση επάνω στην τομή κρυσταλλικής HRP, και παρασκευή ιστολογικών τομών (80μm) ολοκλήρου του ζώου στο ύψος του βραχιονίου πλέγματος.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι, ύστερα από το κλείσιμο του τραυματικού επιθηλίου και την έναρξη της αποδιαφοροποίησης στην αναγεννώμενη περιοχή 7 ημέρες μετά τον ακρωτηριασμό, αρχίζουν να εμφανίζονται στην περιοχή τόσο κινητικές όσο και αισθητικές νευρικές ίνες. Τα νευροεξαρτώμενα αναγεννητικά στάδια (14-21 ημέρες μετά τον ακρωτηριασμό) διαθέτουν περισσότερη αισθητική νεύρωση από τους μάρτυρες. Αυτό προφανώς αντικατοπτρίζει τις αυξημένες ανάγκες των αναγεννητικών κυττάρων σε FGF.

*«Ερευνητική χορηγία από την DAAD»*

## **URODELE AMPHIBIA AS ANIMAL MODELS FOR STUDYING THE RELATION BETWEEN ORGAN REGENERATION AND NERVOUS SYSTEM**

**Koussoulakos S.**

**Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University  
of Athens, Panepistimiopolis 15781 Athens, GREECE**

The history of Biology ascribes a major role of the nervous tissue on bodily function. One of the earliest relevant evidence originates from a spinal cord injury dating from a case in the 17<sup>th</sup> century b.C. Many centuries later, the famous Scotch physiologist William Cullen claimed on 1776 that every disorder in the body originates from a dysfunction of the nervous system. Shortly thereafter, Cullen's suggestion was reinforced by the discovery of T.J. Todd, (1823), that the limb of a salamander does not regenerate after denervation. Organ regeneration in animals is a widely known phenomenon, which inspired a lot of legends in many places all over the world [Phoenix, Hydra from Learn, Prometheus (Greece), Got Siba (India), Got Xolotl (Mexico)]. Scientific records concerning regeneration exist from Aristotle (384-322), Gaius Plinius (23-79) and Albertus Magnus (1200-1280).

To-day, regeneration is a specific branch of developmental biology and is studied:

- for its intrinsic scientific value as a developmental and morphogenetic phenomenon (mechanisms of embryonic development, effect of growth factors and morphogens, role of homeobox genes).
- for its relation to carcinogenesis (animals endowed with high regenerative capabilities, rarely suffer under cancer).
- for the continuously increasing possibilities for medical applications (functional restoration after severe damage in kidney, liver, heart, and many other organs, including amputated extremities). However, clinical benefits require deep and extensive knowledge of many relevant aspects, including organismic, cellular and molecular levels.

In order for an amputated limb of a salamander to regenerate, the presence of an adequate nerve supply (at least 30% of the original innervation) at the amputation wound is required. About five days after amputation the penetration of nerve endings into the wound epithelium can be traced by immunocytochemistry. The purpose of the present investigation was to find out the nature (i.e. sensory vs motor) of this first innervation, and to characterize it histochemically during the various regenerative stages. The anatomical continuation between the regeneration blastema and the sensory neurons in the spinal ganglia, and the motor neurons in the spinal cord was assessed by application of crystalic HRP directly over the amputation surface.

**ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ  
*Castanea sativa* ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ  
ΔΕΙΚΤΕΣ**

**Κριλή Β.<sup>1</sup>, Α. Κατσιώτης<sup>1</sup>, Μ. Λουκάς<sup>1</sup>, Α. Δροσόπουλος<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής, <sup>2</sup>Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής,  
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα

Η μέθοδος των RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) χρησιμοποιείται στα φυτά για τον προσδιορισμό γενετικών και ταξινομικών σχέσεων. Στην παρούσα εργασία εφαρμόστηκε η μέθοδος των RAPD για τη μελέτη των φυλογενετικών σχέσεων σε πληθυσμούς του είδους *Castanea sativa*, οι οποίοι συλλέχτηκαν από τέσσερις διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας, τη Στενή Ευβοίας, την Κρήτη (Ελος), τον Πάρνωνα (Καστάνιτσα) και το Πήλιο (Μούρεσι). DNA απομονώθηκε από νεαρά φύλλα και περιοχή του γονιώματος πολλαπλασιάστηκε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), χρησιμοποιώντας τυχαιοποιημένους εκκινητές μικρού μεγέθους (10 νουκλεοτιδίων). Από τους 25 εκκινητές που δοκιμάστηκαν επιλέχθηκαν οι 16, με βάση τον αριθμό και τη συχνότητα των πολυμορφισμών που παρουσίασαν. Τα προϊόντα του PCR διαχωρίστηκαν σε πηκτή αγαρόζης και έγιναν ορατά με χρώση βρωμιούχου αιθιδίου. Οι γενετικές αποστάσεις μέσα στους πληθυσμούς καθώς και μεταξύ αυτών, εκφρασμένη ως συμπληρωματικό της ομοιότητάς τους (S), D=1-S, υπολογίστηκαν με τις μεθόδους Nei και Li, και Jaccard. Από τις γενετικές αποστάσεις και χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) κατασκευάστηκε δενδρόγραμμα που φανερώνει τις γενετικές σχέσεις μεταξύ των πληθυσμών. Από την ανάλυση προέκυψε ομαδοποίηση των πληθυσμών με βάση την γεωγραφική τους θέση. Τα δείγματα των πληθυσμών από κάθε γεωγραφική περιοχή είναι ομαδοποιημένα και διακριτά. Τα δείγματα από τον πληθυσμό της Εύβοιας φανερώνουν πιο στενή σχέση με τα δείγματα του πληθυσμού του Πηλίου, ενώ τα δείγματα από τον πληθυσμό του Πάρνωνα έχουν πιο στενή σχέση με τα δείγματα του πληθυσμού της Κρήτης.



## **PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *Castanea sativa* POPULATIONS USING MOLECULAR MARKERS**

**Krili V.<sup>1</sup>, A. Katsiotis<sup>1</sup>, M. Loukas<sup>1</sup>, A. Drossopoulos<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Laboratory of Genetics, <sup>2</sup>Laboratory of Systematic Botany,  
Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of  
Athens, Iera Odos 75, Athens**

The RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) method has been used to estimate genetic and taxonomic relationships in plants. In the present study RAPD analysis was performed on populations of *Castanea sativa*. Samples from four different regions of Greece, Pilio, Evia, mountain Parnonas and Krete, were studied. DNA was extracted from young leaves and PCR was used to amplify part of the genome with random oligonucleotide primers (10-mer). Sixteen primers out of 25 tested were selected on the basis of the number and frequency of polymorphic bands produced. Amplification products were separated by agarose-gel electrophoresis. Genetic distances within and among populations were calculated from simple matching coefficients (Nei and Li, Jaccard) and a dendrogram showing genetic relationships was constructed by the unweighted pair-group method with arithmetic averages (UPGMA). The study revealed two main clusters, each one including two sub-clusters. Each sub-cluster contains only samples from each geographical region. Samples from Evia show a close affinity to samples from Pilio, while samples from mountain Parnonas show a close affinity to samples from Krete.

## ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΕΝΝΟΙΩΝ ΤΗΣ ΕΝΤΡΟΠΙΑΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΤΗ ΓΗ

**Κυριακίδης Ν.Β.**

**Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας  
Τροφίμων, Ιερά Οδός 75, Βοτανικός, Αθήνα 118 55**

Οι ζωντανοί οργανισμοί ανταλλάσσουν ενέργεια και μάζα με το περιβάλλον τους και συνεπώς μπορούν να θεωρηθούν ως ανοικτά θερμοδυναμικά συστήματα. Ο δεύτερος νόμος της θερμοδυναμικής εισάγει την έννοια της εντροπίας, η οποία, με βάση τις εργασίες του Boltzmann, συσχετίζεται με την αταξία της δομής του συστήματος. Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει για να συσχετισθεί η εντροπία με την ποσότητα των δομημένων εσωτερικών πληροφοριών και τη δημιουργία τάξης στους οργανισμούς με σκοπό την παρουσίαση ενός προτύπου για την εξέλιξη των έμβιων όντων στη Γη. Η συσχέτιση αυτή ακολούθησε δύο διαφορετικές σχολές σκέψης. Η μια βασίσθηκε στη θεωρία πληροφοριών των Shannon και Weaver, και στην συνέχεια στις εργασίες των Prigogine και Stengers, Brooks και Wiley, κλπ και υποστηρίζει ότι, η εντροπία ισούται με την ποσότητα των πληροφοριών. Η δεύτερη βασίσθηκε στην έννοια της «αρνητικής εντροπίας», αναπτύχθηκε με εργασίες των Schrodinger, Stonier κλπ, και οδηγεί σε μια εκθετική σχέση μεταξύ των δύο αυτών παραμέτρων. Στην εργασία αυτή χρησιμοποιούνται και συσχετίζονται: τα αποτελέσματα των δύο τελευταίων επιστημόνων για τη δημιουργία και διερεύνηση μιας μαθηματικής σχέσης η οποία να παριστάνει την πορεία της ζωής και του θανάτου των έμβιων όντων στη Γη. Η ίδια μαθηματική σχέση χρησιμοποιείται για την εξέλιξη και την εξαφάνιση βιολογικών ειδών.

## **USE OF INFORMATION AND ENTROPY FOR THE DEVELOPMENT OF A MATHEMATICAL MODEL OF LIFE ON EARTH**

**Kyriakidis N.B.**

**Agricultural University of Athens, Department of Food Science and Technology, Iera Odos 75, Botanikos, Athens 118 55, Greece.**

Living organisms exchange energy and matter with their surroundings and accordingly are open thermodynamic systems. Second law of thermodynamics introduces the concept of entropy that according to Boltzmann correlates with the disorder of the system. Many attempts have been made to present a model of evolution on earth by correlating entropy, structural information and the development of order of living organisms. Two different approaches were followed. One based on the Information Theory of Shannon and Weaver, and on the work of Prigogine and Stengers, Brooks and Wiley, etc, considers that entropy is equal to the information content of the system. The second one was based on the “negative entropy” notion developed by Schroedinger, Stonier etc and proposes an exponential relation between those two parameters. I am using the results of these last scientists to construct a mathematical relation that could depict the life and death process of living organisms. The same mathematical relation is used for the representation of development and disappearance of biological species on Earth.

### **References**

1. Brooks D. R., Wiley E. O., (1988) “Evolution as Entropy” The University of Chicago, Chicago.
2. Shannon C. E., Weaver W., (1964) “The mathematical theory of communication” Univ. of Illinois Press
3. Schrodinger E., (1945) “What is Life?” Cambridge Univ. Press.
4. Stonier T., (1990) “Information and the Internal Structure of the Universe” Springer-Verlag, London

## ΕΥΦΥΙΑ ΚΑΙ ΔΟΜΗΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ, ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Κυριακίδης Ν.Β.

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας  
Τροφίμων, Ιερά Οδός 75, Βοτανικός, Αθήνα 118 55

Πληροφορίες που υπάρχουν σε συστήματα μπορούν να χαρακτηρισθούν σαν «δομημένες» (άλληλο-συσχετιζόμενες) ή «αποθηκευμένες». Η οργάνωση ενός συστήματος είναι ανάλογη με τον αριθμό των δομημένων πληροφοριών που περιέχει. Οι ζώντες οργανισμοί είναι συστήματα με υψηλή τάξη και μπορούν να χαρακτηρισθούν ως «εξελιγμένα συστήματα πληροφοριών». Με τον όρο «ευφυία» ενός οργανισμού εννοούμε την ικανότητα του για την επεξεργασία πληροφοριών του περιβάλλοντος ή και του ιδίου και τη λήψη αποφάσεων για την επιβίωση του. Με βάση τον ορισμό αυτό η ευφυία είναι μια βασική ιδιότητα των εξελιγμένων συστημάτων πληροφοριών (Stonier, 1992). Όμως όπως έδειξε ο Haefner (1991) ακόμη και υποατομικά σωματίδια και σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό άτομα και μόρια, διατηρούν την ταυτότητα τους και συνεπώς είναι σταθερά συστήματα πληροφοριών που επιδεικνύουν πρωτο-ευφυία. Συνεπώς η ευφυία (με ή χωρίς το πρόθεμα «πρώτο») δεν είναι ιδιότητα μόνο των ανωτέρων οργανισμών αλλά μια βασική ιδιότητα της ύλης. Στην παρουσίαση αυτή συσχετίζονται: η γενική αυτή έννοια της ευφυίας, η εξέλιξη της ζωής στη Γη, η εξέλιξη του ανθρώπινου είδους, και η θεωρία του Lovelock για τη Γαία. Παρουσιάζονται κάποιες νέες προτάσεις για το «κατώφλιο ζωής» και την επίδραση της υποσυνείδητης ευφυίας στην εξέλιξη της ζωής στη Γη.

## **INTELLIGENCE AND STRUCTURAL INFORMATION SYSTEMS, APPLICATIONS TO BIOLOGY**

**Kyriakidis N.B.**

**Agricultural University of Athens, Department of Food Science and Technology, Iera Odos 75, Botanikos, Athens 118 55, Greece.**

Information of thermodynamic systems could be considered as “stored” or “structural”. Organization of a system is proportional to the number of structural information it contains. Intelligence of a living organism is considered its ability to process information from inside or its surroundings and take decisions for its survival. According to this definition intelligence is a basic property of advanced information systems (Stonier, 1992). Haefner (1991) has further shown that even sub-atomic particles and to a higher degree atoms and molecules have a number of structural information that permits them to maintain their identity and accordingly they could be considered as exhibiting proto-intelligence. In this presentation they are correlated: the intelligence as a basic property of matter, the evolution of life on Earth, the evolution of man on Earth and the Gaia theory of Lovelock. Proposals are presented concerning, the “threshold of life” and the effect of unconscious intelligence on the evolution of life on Earth.

### **References**

1. Haefner, K., (1991) “Evolution of Information Processing Systems” University of Bremen, Germany.
2. Stonier, T., (1992) “Beyond Information” Springer-Verlag London

## ΧΟΡΙΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟΝ *Dacus oleae* ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΟ ΡΟΛΟ ΤΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΩΝ

Κωνσταντή Ο.Α., S.H.Woitek και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κνττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολις, Κουπόνια, 15784, Αθήνα

Ο δάκος της ελιάς είναι ένα έντομο οικονομικής σημασίας, κυρίως λόγω των καταστροφών που προκαλεί κάθε χρόνο στην ελαιοπαραγωγή σε όλες τις ελαιοπαραγωγές χώρες. Εναποθέτει τα αυγά μέσα στον καρπό της ελιάς με αποτέλεσμα την καταστροφή του από την εκκολαπτόμενη προνύμφη. Υπάρχει η ανάγκη για βιολογική καταπολέμηση με σκοπό την αποφυγή χρήσης εντομοκτόνων και άρα γίνεται απαραίτητη η γνώση της βιολογίας της ωγένεσης του δάκου σε μοριακό επίπεδο. Σε προηγούμενες μελέτες έχουμε αποδείξει ότι οι ιδιότητες του χορίου (παράγοντα καθοριστικού για την εναπόθεση των αυγών) χάνονται μετά από χορήγηση υπεροξειδικού αναστολέα, μέσω της διατροφικής οδού σε *in vitro* συνθήκες. Όπως και στην *Drosophila melanogaster* το ένζυμο αυτό προκαλεί τη σκλήρυνση του χορίου καταλύοντας το σχηματισμό δεσμών δι- και τρι- τυροσίνης. Το ενδιαφέρον μας εστιάστηκε στην απομόνωση του γονιδίου που κωδικοποιεί το συγκεκριμένο ένζυμο. Κατ' αρχήν πραγματοποιήθηκαν RT αντιδράσεις σε μήτρα mRNA από ωοθήκες *D. oleae* και εκκινητές από συντηρημένες περιοχές υπεροξειδασών για έντομα και θηλαστικά. Το PCR προϊόν (Doqu) μήκους 500bp υποκλωνοποιήθηκε σε pBS KS<sup>+</sup> πλασμιδιακό φορέα. Η ανάλυση της νουκλεοτιδικής του αλληλουχίας έδειξε 98% ομολογία με τον cDmPO κλώνο της *D. melanogaster*. Κατασκευάστηκε μια ωοθηκική cDNA βιβλιοθήκη η οποία σαρώθηκε με ανιχνευτή τον Doqu κλώνο με σκοπό την απομόνωση ολόκληρου του κλώνου. Ακολούθησαν πειράματα Northern και Southern ανάλυσης καθώς και *in situ* υβριδισμού από τα οποία προκύπτει ότι το προϊόν του DoPO γονιδίου παρουσιάζει μεγάλη ομολογία με τον cDmPO κλώνο και εκφράζεται στα θυλακοκύτταρα των ωοθυλακίων του δάκου.

*Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα TMR No ERB4061PL970047 στον Καθηγητή Λ.Χ.Μαργαρίτη*

## CHORIOGENESIS IN *Dacus oleae* WITH RESPECT TO PEROXIDASES

Konstandi O., S.H. Woitek & L.H. Margaritis

Department of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology University of Athens, Panepistimopolis, Kouponia, Athens, GR-15701, Greece

The olive fly *Dacus oleae* is an economic important pest that causes serious harvest losses every year in all olive oil producing countries. The egg of that fly is laid inside olives and the larvae eventually destroy the fruit. To avoid further extensive use of insect pesticides a possibility for biological control is in need. Therefore a good knowledge of the molecular basis of oogenesis of *Dacus oleae* is necessary. In previous studies we have shown that the eggshell properties are responsible for the effectiveness of the egg-laying process and that peroxidase inhibition included in cultured flies can prevent egg-laying. Similarly to *Drosophila melanogaster* this enzyme causes covalent cross linking of the eggshell proteins producing a resilin-type configuration with rubber like properties. We were interested in isolating the peroxidase gene that codes for this special enzyme. First, RT reactions were performed using as template ovarian mRNA of *Dacus oleae* and primers from conserved regions for mammalian and insect peroxidases amplifying a 500 bp fragment of the functional region. The PCR products were subcloned in pBS KS<sup>+</sup> plasmid vector. The sequencing results revealed a 98% homology with the cDmPO clone isolated from both *Drosophila melanogaster* embryonic and staged 11-14 follicle cDNA library. A *Dacus oleae* ovarian cDNA library was constructed and screened with the Doqu clone to isolate peroxidase family genes. Southern, Northern and in situ hybridization experiments that were performed suggest that DoPO has great homology to the cDmPO clone and it is expressed in follicle cells.

*This work was supported by a TMR grant N° ERB4061PL970047 to Prof. L.H. Margaritis.*

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΟΥ $\text{Na}^+$ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

**Κωνσταντίνου Α<sup>1</sup>, Μ. Καλογιάννη<sup>1</sup>, Γ. Κολιάκος<sup>2</sup>,  
Μ. Μπουγουλιά<sup>3</sup> και Α. Τριάντος<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, 54006 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή, ΑΠΘ

<sup>3</sup>Ενδοκρινολογική Κλινική, Νοσοκομείο Παναγία, Θεσσαλονίκη

Η λεπτίνη είναι μια ορμόνη μοριακού βάρους 16 kDA, η οποία παράγεται κατά κύριο λόγο από τα λιποκύτταρα και κυκλοφορεί στον ορό του αίματος σε ελεύθερη ή δεσμευμένη μορφή. Τα επίπεδα της ορμόνης στον ορό αντικατοπτρίζουν το ποσό της ενέργειας που είναι αποθηκευμένη στον λιπώδη ιστό. Σκοπός της εργασίας μας είναι η μελέτη της επίδρασης της λεπτίνης στην αντλία ανταλλαγής ιόντων νατρίου – υδρογόνου στα ερυθρά αιμοσφαίρια παχύσαρκων και κανονικού βάρους ατόμων, καθώς και ο προσδιορισμός των υποδοχέων της ορμόνης στην πλασματική μεμβράνη των κυττάρων και στις δύο ομάδες που μελετήθηκαν. Απουσία της ορμόνης, η δραστηριότητα ήταν υψηλότερη στους παχύσαρκους σε σχέση με τα κανονικού βάρους άτομα. Προσδιορίστηκε η ενεργότητα της αντλίας μετά από επίδραση με διάφορες συγκεντρώσεις λεπτίνης (0-18 ng/ml). Παρατηρήθηκε ότι προσθήκη της ορμόνης, οδηγεί σε αύξηση της δραστηριότητας της αντλίας. Ωστόσο, σε όλες τις συγκεντρώσεις λεπτίνης που χρησιμοποιήθηκαν, μετρήθηκε σημαντικά μικρότερη επαγωγή της στους παχύσαρκους, σε σύγκριση με τα άτομα ελέγχου. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των υποδοχέων η ορμόνη σημάνθηκε με τη φθορίζουσα ουσία fluorescein isothiocyanate (FITC) και ακολούθησε ανάλυση με τη μέθοδο Scatchard. Βρέθηκε ότι, η συγκέντρωση των υποδοχέων της λεπτίνης στα ερυθρά αιμοσφαίρια των παχύσαρκων ήταν μικρότερη από αυτήν στα κύτταρα των κανονικού βάρους ατόμων.



## **THE EFFECT OF LEPTIN ON THE Na<sup>+</sup> CONCENTRATION OF THE RED CELLS OF THE OBESE. STUDY OF THE HORMONE RECEPTORS**

**Konstantinou A.<sup>1</sup>, M. Kaloyianni<sup>1</sup>, G. Koliakos<sup>2</sup>, M. Bougoulia<sup>3</sup>  
& A. Triantos<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University, 54006 Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup>Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>3</sup>Endocrine Department, 'Panagia' Hospital, Thessaloniki

Leptin is a 16-kDA adipocyte derived hormone that circulates in the serum in the free and bound form. Serum levels of leptin reflect the amount of energy stored in adipose tissue. Our objective is the study of the effect of leptin on the sodium – hydrogen ion exchanger in the red cells of obese and lean subjects, as well as the quantitative determination of the hormone receptors on the plasma membrane of the red cells of the groups studied. In the absence of the hormone, the exchanger activity is greater in the obese compared to that in the lean subjects. We determined the activity of the exchanger under the effect of various leptin concentrations (0 – 18 ng/ml). We observed that in the presence of leptin, the activity of the exchanger increases. However, in all leptin concentrations used, the increase induced was significantly less in the obese than in the control group. For the study of the receptors we labeled the hormone with the fluorescent reagent fluorescein isothiocyanate (FITC) and then used the Scatchard analysis. We found that the concentration of the leptin receptors on the red cells of the obese was lower than that on the erythrocytes of the lean subjects.

## ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΦΥΛΟΥ ΚΑΙ ΗΛΙΚΙΑΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΣΚΕΛΕΤΟ: ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ

Λάγια Α.<sup>1</sup>, Κ. Μωραΐτης<sup>2</sup>, Κ. Ηλιόπουλος<sup>3</sup> & Σ.Κ. Μανώλης<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Anthropology, University of Chicago, 1159 E. 59<sup>th</sup> St., Chicago, Il.

<sup>2</sup>Τομέας Ιατροδικαστικής & Τοξ/γίας, Τμ. Ιατρικό, Σχολή Επιστημών Υγείας, Μ.  
Ασίας, Γουδί, <sup>3</sup>Department of Archaeology, Sheffield University,

<sup>4</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε. & Κ.  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

Τα τελευταία χρόνια, ένα μεγάλο μέρος της έρευνας στη Φυσική Ανθρωπολογία έχει εστιάσει το ενδιαφέρον της στην ανάπτυξη νέων και την βελτίωση παλαιών μεθόδων εκτίμησης του φύλου και της ηλικίας από τον ανθρώπινο σκελετό. Μια σημαντική δυσκολία στην εφαρμογή των διαφόρων μεθόδων πηγάζει από το γεγονός ότι η πλειονότητα τους βασίζεται σε σκελετικές συλλογές αναφοράς που απέχουν γεωγραφικά και χρονικά από το προς μελέτη δείγμα. Η μεγάλη πληθυσμιακή ποικιλότητα στην έκφραση του φυλετικού διμορφισμού καθώς επίσης και στην πορεία των μορφολογικών μεταβολών που υφίστανται τα οστά με την πάροδο της ηλικίας, επηρεάζει άμεσα την ακρίβεια των χρησιμοποιούμενων μεθόδων. Η ανάπτυξη ειδικών, ως προς τον πληθυσμό, κριτηρίων για τον προσδιορισμό των γενικών βιολογικών γνωρισμάτων του σκελετού αποτελεί επομένως ένα θέμα μείζονος σημασίας στη Σκελετική Βιολογία. Στην παρούσα εργασία αναλύονται τα προκαταρκτικά αποτελέσματα μιας μελέτης που έχει ως στόχο την ανάπτυξη προτύπων για την εκτίμηση δημογραφικών παραμέτρων αρχαίων Ελληνικών πληθυσμών με βάση τη **σύγχρονη συλλογή αναφοράς** του Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Ειδικότερα, γίνεται προσπάθεια ανάπτυξης προτύπων για την εκτίμηση του φύλου με βάση μετρικά χαρακτηριστικά διμορφικού χαρακτήρα, καθώς επίσης αξιολόγηση μιας μεθόδου εκτίμησης της ηλικίας σε άτομα προχωρημένης ηλικίας. Διερευνάται η εφαρμογή και η ακρίβεια έξι μετρικών γνωρισμάτων από τα άνω και κάτω άκρα στην εκτίμηση του φύλου. Παρά την εξέταση ενός σχετικά μικρού δείγματος σκελετικού υλικού, τα αποτελέσματα της ανάλυσης αποδεικνύουν την παρουσία στον πληθυσμό ευδιάκριτων μετρικών γνωρισμάτων με διμορφικό χαρακτήρα. Όσον αφορά στην εκτίμηση της ηλικίας, διερευνάται η ευρέως χρησιμοποιούμενη και πολλαπλά αναθεωρημένη μέθοδος που βασίζεται στον ρυθμό συνοστέωσης των ραφών του κρανίου. Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης και αναλύονται πιθανοί παράγοντες που μπορεί να επιδρούν στην αξιοπιστία και ακρίβεια της μεθόδου.

## **SEX DETERMINATION AND AGE ESTIMATION FROM THE HUMAN SKELETON: APPLICATION AND EVALUATION OF MODERN METHODS FOR GREEK POPULATIONS**

**Lagia A.<sup>1</sup>, K. Moraitis<sup>2</sup>, C. Eliopoulos<sup>3</sup> & S.K. Manolis<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Dept. of Anthropology, University of Chicago, 1159 E. 59<sup>th</sup> St., Chicago, IL.

<sup>2</sup>Department of Forensic Medicine and Toxicology, School of Medicine,  
University of Athens, 75 M.Asias St., Goudi, Athens

<sup>3</sup>University of Sheffield, Department of Archaeology and Prehistory.

<sup>4</sup>Department of Animal & Human Physiology, School of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens

In recent years a large amount of research in physical anthropology has focused on the development of new and the refinement of old methods of sex determination and age estimation. However, a major difficulty, in the application of these methods arises from the fact that the majority has been based on reference populations from the United States. The great variation in patterns of sexual dimorphism and skeletal expression of age observed among human groups cautions against the application of standards developed from populations remote in time and in space from the study sample. The need to develop population specific standards for determining demographic characteristics from the human skeleton has been well recognised. In this paper we present the preliminary results of a study designed to develop standards for Greek populations based on a sample from the modern reference collection of the Department of Biology of the University of Athens. In particular, we are concerned with the development of standards for sex determination based on measurements of dimorphic dimensions and with testing the applicability of a method concerning age estimation of older adults. We test the use of a series of six measurements from the upper and lower limbs in terms of accuracy and standardisation. The results of the analysis, although based on a small sample, are indicative of the presence of distinct patterns in sexually dimorphic metric characteristics in this population. This can prove useful in the determination of sex of skeletons from archaeological and forensic contexts. In relation to age estimation, we test the method of cranial suture closure that has been one of the first and most widely used methods in skeletal biology. We present the results of the preliminary analysis and discuss possible factors affecting the accuracy and reliability of the method.

## ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΙΣΟΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ ΠΟΛΥ(Α) ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΠΟΠΤΩ- ΣΗΣ ΜΕ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Λαλλάς Γ.<sup>1</sup>, Ε. Θωμαδάκη<sup>1</sup>, Χρ. Τσιαπάλης<sup>2</sup> και Μ. Χαβρεδάκη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Α. Παρασκευή Αττικής, 15310

<sup>2</sup>Ερευνητικό Κέντρο Παπανικολάου, Νοσοκομείο Άγιος Σάββας, Λεωφόρος  
Αλεξάνδρας 171, 11522, Αθήνα.

Η πολυ(Α) πολυμεράση (PAP; EC. 2.7.7.19) είναι το ένζυμο το οποίο καταλύει την προσθήκη της πολυ(Α) ουράς στο mRNA, η οποία προωθεί την λήξη της μεταγραφής, την έναρξη της μετάφρασης, την σταθερότητα και μεταφορά mRNA από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα. Η PAP μεταβάλλεται κατά την ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και το κυτταρικό μετασχηματισμό και η μεταβολή αυτή αφορά τόσο στη δραστηριότητα όσο και στις ισομορφές του ενζύμου. Πρόσφατα δεδομένα αποκαλύπτουν ότι σε πολλές κυτταρικές σειρές η απόπτωση συσχετίζεται αντιστρόφως με μεταβολές της ενεργότητας και των ισομορφών της PAP (*Atabasides et al. Exp. Cell Res. 244: 433-440, 1998*). Αυτή η παρατήρηση σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα περισσότερα αντικαρκινικά φάρμακα, μόνα ή σε συνδυασμό, εκδηλώνουν τη δράση τους μέσω επαγωγής του αποπτωτικού μηχανισμού, συνηγορεί για την μελέτη της ρύθμισης της PAP κατά την επαγωγή απόπτωσης από τα αντικαρκινικά φάρμακα.

Στην παρούσα εργασία μελετάται η δράση του V-16 (etoposide), της ιντερφερόνης (IFN) και της 5-FU (5-fluorouracil), γνωστών αντινεοπλαστικών φαρμάκων, σε κύτταρα U937. Σε όλες τις περιπτώσεις, η επαγωγή απόπτωσης από τα προαναφερθέντα αντικαρκινικά φάρμακα τόσο ξεχωριστά όσο και σε συνδυασμένη δράση, επιβεβαιώθηκε με χρώση των κατακερματισμένων πυρήνων με DAPI και ενδονουκλεοσωμική τμήση του DNA (laddering). Ταυτόχρονα παρακολουθείται η δραστηριότητα της PAP με τη Mn+2-εξαρτώμενη αντίδραση και η κατανομή των ισομορφών του ενζύμου με ανοσοαποτύπωση (Western blotting).

## **POLY(A) POLYMERASE ACTIVITY AND ISOFORMS DURING CHEMOTHERAPEUTIC DRUG - INDUCED CELL APOPTOSIS**

**Lallas G.<sup>1</sup>, H.Thomadaki<sup>1</sup>, C.M. Tsiapalis<sup>2</sup> & M. Havredaki<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>**Institute of Biology, NCRS "Demokritos", Agia Paraskevi, Attiki, 15310**

<sup>2</sup>**Papanikolaou Research Center of Oncology, Saint Savas Hospital, 171,  
Alexandras Ave., 11522, Athens, Greece**

Poly(A) polymerase (PAP; EC.2.7.7.19) is the enzyme that catalyzes the addition of poly(A) tail to mRNA, which in turn promotes transcription termination, translation initiation, stability and transport of mRNAs from nucleus. Poly(A) polymerase is modulated in the process of development, differentiation and transformation, in terms of activity and isoforms. Recent studies have shown that in several cell lines, apoptosis is accompanied and inversely related to PAP modulations in activity and isoforms (Atabasides, H., *et.al.* Exp. Cell Res. 244:433-440, 1998). This observation as well as the fact that several chemotherapeutic drugs, alone or in combination, exert their effects via induction of the apoptotic machinery, led us to study poly(A) polymerase regulation during chemotherapeutic drug - induced cell apoptosis.

In this study, we report the action of etoposide, interferon (IFN) and 5-fluorouracil (5-FU), well known substances for their antineoplastic action, on U<sub>937</sub> cells. In all cases examined, the above anticancer drugs alone or in combination displayed their action through regulated cell death monitored by nuclear DNA staining (DAPI) and DNA laddering. Furthermore, quantitative PAP activity measurements by the Mn<sup>2+</sup> - dependent assay and identification of antigenic forms of PAP by Western blotting, revealed both PAP activity and isoform modulations. More work is required to understand how PAP modulations can influence and even regulate gene expression during chemotherapeutic drug - induced cell apoptosis.

## ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΜΕ ΚΟΙΝΗ ΠΟΙΚΙΛΗ ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ (Κ.Π.Α.) ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ *IN VIVO* ΚΑΙ *IN VITRO* ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Λειβαδίτη Ο., Δ. Χρυσοβέργη, Ι. Οικονομίδου, Χρ. Παπαστεριάδη

Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, Π.Γ.Ν. «Ο Ευαγγελισμός», Αθήνα.

Η κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια (ΚΠΑ) είναι ένα ετερογενές σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από πρωτοπαθή διαταραχή της παραγωγής αντισωμάτων με ποικίλα εργαστηριακά ευρήματα και κλινικές εκδηλώσεις.

Με στόχο τη διερεύνηση της υπόθεσης ότι οι ασθενείς με ΚΠΑ είναι δυνατόν να διακριθούν σε ξεχωριστές υποομάδες σύμφωνα με *in vivo* και *in vitro* λειτουργικές δοκιμασίες των λεμφοκυττάρων, μελετήθηκαν 22 ενήλικες ασθενείς με ΚΠΑ (10 άνδρες και 12 γυναίκες). Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλάμβανε: (α) Προσδιορισμό της απάντησης πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων μετά από διέγερση από τα μιτογόνα PHA, PWM και το CD3mAb. Η απαντητικότητα των Τ και Β λεμφοκυττάρων εκφράστηκε ως εκατοστιαία αναλογία της απαντητικότητας τριών φυσιολογικών ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. (β) Μέτρηση των επίπεδων της νεοπερίνης στον ορό με ραδιοανοσολογική μέθοδο (Henning-Berlin). (γ) Έλεγχο της αντίδρασης υπερευαισθησίας αργοπορημένου τύπου σε 8 αναμνηστικά αντιγόνα.. Η απάντηση πολλαπλασιασμού μετά την *in vitro* διέγερση ήταν σημαντικά μικρότερη στην ομάδα Α (16 περιπτώσεις) σε σχέση με την ομάδα Β (6 περιπτώσεις), ( $p=0.005$ ,  $p=0.025$ ,  $p=0.001$ ). Τα αποτελέσματα των *in vivo* δοκιμασιών ήταν αντίστοιχα των *in vitro*. Τα επίπεδα της νεοπερίνης του ορού ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα Α απ' ότι στην ομάδα Β ( $p=0.03$ ). Μπορούμε να συμπεράνουμε ότι οι ασθενείς με ΚΠΑ είναι δυνατόν να καταταγούν με βάση τη λειτουργική διαταραχή των λεμφοκυττάρων και τις ενδείξεις της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος.

## **SUBGROUPS OF ADULT PATIENTS WITH COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY (CVI) ON THE BASIS OF *IN VIVO* AND *IN VITRO* FUNCTIONAL STUDIES**

**Livaditi O., D. Chrysovergi, J. Economidou, Chr. Papasteriades**

**Department of Immunology-Histocompatibility, Evangelismos Hospital, Athens, Greece.**

CVI is an heterogeneous syndrome characterized by impaired antibody production and various laboratory findings and clinical manifestations.

Aim of this study was to determine weather CVI patients belong to different subgroups on the basis of functional lymphocyte studies. For this purpose a total of 22 adult patients with CVI, (10 males and 12 females) were included in the study. The following parameters were evaluated: Lymphocyte proliferation responses after stimulation with PHA, PWM and CD3 mAb. T and B cells reactivity was expressed as CPM and as the percentage of the reactivity of three normal controls, Serum neopterin levels measured by radioimmunoassay. Skin tests were performed in order to evaluate type IV hypersensitivity reaction.

There was statistically significant difference in proliferation responses to all mitogens (PHA, PWM, CD3 mAb) between the groupA (16 cases) and groupB (6 cases), ( $p=0.005$ ,  $p=0.025$ ,  $p=0.001$ ). Neopterin levels were significantly higher in group A than in group B patients ( $p=0.03$ ).

We may conclude that patients with CVI are differentiated on the basis abnormal lymphocyte function and evidence of immune activation.

## ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΟΥ ΔΑΣΥ- ΤΡΙΧΙΣΜΟΥ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Λεονταρίδου Ι., Α. Πέντζου-Δαπόντε, Α. Κουβάτση,  
Σ.Κ. Μανώλης\*

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

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

Ο όρος δασυτριχισμός αναφέρεται σε αύξηση του μήκους και της διαμέτρου ομάδων τελικών τριχών, η ανάπτυξη των οποίων εξαρτάται από τα ανδρογόνα και παρατηρείται μόνο στις γυναίκες.

Σε μελέτη 405 γυναικών ηλικίας 18-30 ετών, από όλη την Ελλάδα, καταγράφηκε η παρουσία τελικών τριχών σε ανδρογονο-εξαρτώμενες περιοχές του προσώπου και του σώματος, προκειμένου να διαπιστωθεί η κατανομή της τριχοφυΐας σ' ένα φυσιολογικό πληθυσμό Ελληνίδων. Από τις 405 γυναίκες που εξετάστηκαν, οι 82 εμφάνισαν δασυτριχισμό, (ποσοστό 20,2%). Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS.

Προκαταρκτικά ελέγχθηκε η σχέση ανάμεσα στο δασυτριχισμό και σε ορισμένες παραμέτρους που σχετίζονται μ' αυτόν (διαταραχές έμμηνου κύκλου, ακμή, παχυσαρκία). Η αναλογία των γυναικών με δασυτριχισμό που παρουσιάζουν διαταραχές του έμμηνου κύκλου ήταν 8,1%, των γυναικών με δασυτριχισμό που εμφάνισαν ακμή ανήλθε σε ποσοστό 9,4% και εκείνων με δασυτριχισμό και παχυσαρκία σε ποσοστό 36,6%. Τα αρχικά αυτά αποτελέσματα θα ακολουθήσει περαιτέρω διερεύνηση με ορμονικούς ελέγχους.



## **PRELIMINARY RESULTS ON DISTRIBUTION AND RESEARCH OF HIRSUTISM IN THE GREEK POPULATION**

**Leontaridou J., A. Pentzou-Daponte, A. Kouvatsi, S.K. Manolis\***

**Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54006, Thessaloniki, Greece**

**\* Dept Animal & Human Physiology, School of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis 15781 Athens**

Hirsutism is referred to the excessive growth of length and diameter in groups of terminal hairs, which is dependent on the androgens and is observed only in women.

In this study 405 women from 18 to 30 years old, from different regions of Greece, were examined for the presence of terminal hairs on the androgen-dependent regions (face and body). The relevance between hirsutism and some of the parameters studied (menstruation, acne and obesity) was tested. The statistical program SPSS was used for the statistical evaluation of the results.

Out of the 405 women studied, 82 were hirsutes (20,2%). The percentage of hirsute-women with disorders in menstruation was 8,1%, with acne was 9,4% and with obesity was 36,6%. These preliminary results will be followed by hormonal tests.

## ΕΝΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΚΑΙ ΔΟΜΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ INTERNET

**Λιακόπουλος Θ.Δ., Παλαιός Γ.Α., Προμπονάς Β.Ι.,  
Χαμόδρακας Ι.Σ., Pasquier C.M. και Σ.Ι. Χαμόδρακας**

**Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,  
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84**

Η υπολογιστική ανάλυση πρωτεϊνικών ακολουθιών με στατιστικά μοντέλα, τεχνικές μάθησης (machine learning) ή εμπειρικούς κανόνες οδηγεί σε πρόγνωση χαρακτηριστικών της δομής και της λειτουργίας των αντίστοιχων μορίων. Λαμβάνοντας υπόψη την πρόσφατη έκρηξη βιολογικής πληροφορίας την οφειλόμενη στον προσδιορισμό αλληλουχιών ολόκληρων γονιδιωμάτων, κρίνεται αναγκαία η χρήση υπολογιστικών εργαλείων ανάλυσης. Μεμονωμένα εργαλεία, η αποδοτικότητα των οποίων εξαρτάται από την αξιοπιστία και την ευκολία στο χειρισμό τους, είναι διαθέσιμα στο Internet. Παρουσιάζουμε ένα περιβάλλον εργασίας που εξασφαλίζει τη ροή δεδομένων προς μια σειρά εργαλείων (επίσης ανεπτυγμένων από την ομάδα μας), τη μεταξύ τους επικοινωνία και την τελική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης. Σε επίπεδο ακολουθίας, προσφέρονται ήδη: Ανάλυση περιοδικοτήτων, δομική ταξινόμηση πρωτεϊνών με νευρωνικά δίκτυα, προγνώσεις για τη δευτεροταγή δομή, τη θέση και τοπολογία διαμεμβρανικών τμημάτων και πολλαπλές στοιχίσεις ακολουθιών. Σε επίπεδο δομής είναι δυνατή η δημιουργία και αναπαράσταση πρωτεϊνικών δομών και το "ταίριασμά" τους στο χώρο. Στον τελικό χρήστη προσφέρονται φιλικό περιβάλλον αλληλεπίδρασης και απλή αναπαράσταση των αποτελεσμάτων. Η ανοικτή και αποκεντρωμένη σχεδίαση του συστήματος επιτρέπει την προσθήκη νέων ανεξάρτητων συνιστωσών, οπουδήποτε και αν βρίσκονται στο Internet. Τα σχέδιά μας περιλαμβάνουν την ανάπτυξη συνιστωσών για πρόγνωση του τύπου "διπλώματος", αναγνώριση υποδοχέων, ανάλυση πολυπλοκότητας ακολουθιών. Η διασύνδεση μεταξύ του συστήματος, των ανεξάρτητων εργαλείων και του χρήστη γίνεται με το πρωτόκολλο HTTP, με μόνη απαίτηση για τη χρήση του την πρόσβαση στο Internet (δικτυακός τόπος <http://o2.biol.uoa.gr/DAM-Bio>).

## **A WORKBENCH FOR COMPUTATIONAL ANALYSIS OF PROTEIN SEQUENCE AND STRUCTURE ON THE INTERNET**

**Liakopoulos T.D., V.I. Probonas, G.A. Palaios,  
J.S. Hamodrakas, C.M. Pasquier & S.J. Hamodrakas**

**Department of Cell Biology and Biophysics,  
Faculty of Biology, University of Athens, Athens 15784**

Computational analysis of protein sequences with statistical models, machine learning techniques or empirical rules leads to prediction of structural and functional features of the corresponding molecules. Taking into account the recent explosion of biological information in terms of complete genome sequences the use of computational tools of analysis is considered essential. Individual tools are available through the Internet, and their performance depends on their liability and simplicity of use. We present a workspace that establishes data trafficking towards a collection of tools (developed also by our team), communication between them and simple representation of the results of sequence and structure analysis. At the sequence level, the following are now offered: Analysis of periodical features, structural classification with neural networks, prediction of secondary structure, prediction and topology of transmembrane regions and multiple sequence alignment. At the structure level, the creation and representation of protein structures and three-dimensional fit is possible. The end-user is offered with a user-friendly interface and a simple representation of the results. The system's open and decentralized design permits the addition of new individual modules that may reside anywhere on the Internet. Our future plans include the development of modules for fold recognition, receptor prediction and sequence complexity analysis. Interconnection between the system, the individual tools and the user is established through the HTTP protocol, the only requirement for its usage being Internet access (web site <http://o2.biol.uoa.gr/DAM-Bio>).

## ΕΥΕΝΔΟΛΙΘΙΚΑ ΦΥΚΗ ΑΠΟ ΓΕΩΘΕΡΜΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΤΗΣ ΜΗΛΟΥ (ΚΟΛΠΟΣ ΠΑΛΑΙΟΧΩΡΙΟΥ)

Λούβρου Ι., Πανταζίδου Α. και Α. Οικονόμου-Αμίλλη

Τομέας Οικολογίας και Συστηματικής, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

Η Μήλος βρίσκεται στο Ελληνικό Ηφαιστειακό Τόξο και ο κόλπος του Παλαιοχωρίου αποτελεί μια περιοχή έντονης υδροθερμικής δραστηριότητας. Οι εκροές των αναβλύσεων είναι θερμές και όξινες, παρουσιάζουν δε υψηλή αλατότητα και σημαντικές συγκεντρώσεις σε  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Li}^{+1}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  και  $\text{Cd}^{+2}$ . Είναι γνωστό ότι τα ευενδολιθικά φύκη - με διαδικασία χημικής διάλυσης - εισχωρούν στους ασβεστολιθικούς βράχους και σε ποικίλου τύπου οργανικό σκελετικό υλικό. Εξαιτίας της έλλειψης ασβεστολιθικών πετρωμάτων στον κόλπο του Παλαιοχωρίου, θαλάσσια ευενδολιθικά φύκη συλλέχθηκαν από διάφορα ασπόνδυλα που φέρουν ασβεστολιθικό περίβλημα ή σωλήνα (δηλ. πολύχαιτους, θυσανόποδα, δίθυρα) και ήταν εδραιωμένα σε βράχους της παράλιας ζώνης κοντά στις θερμές αναβλύσεις. Η επιβεβαίωση της ενδολιθικής φύσης των φυκών έγινε με απομάκρυνση της οργανικής ύλης από τα κελύφη μετά από επεξεργασία με υποχλωριώδες νάτριο και εν συνεχεία παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Η εφαρμογή της τεχνικής “κρισίμου σημείου” κατά την αφυδάτωση του υλικού αποκάλυψε ότι η πλειοψηφία των σηράγγων περιέχουν “ζωντανούς” οργανισμούς. Η παρατήρηση στο ΗΜΣ έδειξε επίσης ότι η εσωτερική επιφάνεια του σωλήνα ζωντανών πολύχαιτων ήταν πλήρως καλυμμένη από ευενδολιθικές συναθροίσεις ενώ τα κελύφη των θυσανοπόδων ήταν μερικώς καλυμμένα από ευενδολιθικά φύκη. Αντιθέτως, κενά κελύφη δίθυρων φιλοξενούσαν μικρές ποσότητες ευενδολιθικών φυκών. Άμεση παρατήρηση στο φωτονικό μικροσκόπιο μετά την απομάκρυνση του ασβεστολιθικού υλικού (επεξεργασία με μίγμα οξέων γνωστού ως διάλυμα “pereny”) έδειξε ότι οι ευενδολιθικές συναθροίσεις του σωλήνα ζωντανών πολύχαιτων περιελάμβαναν το χλωροφύκος *Ostreo-bium quekettii* και τα κυανοφύκη *Hyella caespitosa* και *Lepto-lyngbya terebrans*. Τα κελύφη των θυσανοπόδων παρουσίαζαν μεγαλύτερη ποικιλότητα ειδών με σημαντική παρουσία εκτός των προαναφερθέντων ειδών και των *Hyella salutans*, *Hyella balani* και *Solentia* sp. Αντιθέτως, τα κελύφη των δίθυρων φιλοξενούσαν ελάχιστα είδη σε μικρές ποσότητες, των οποίων η επιπρόσθετη “κακή” κατάσταση δεν επέτρεψε ασφαλή ταυτοποίηση.

## EUENDOLITHIC ALGAE FROM GEOTHERMAL FIELDS AT PALEOCHORI BAY, MILOS ISLAND (AEGEAN SEA, GREECE)

Louvrou I., A. Pantazidou & A. Economou-Amilli

Department of Ecology & Systematics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens Greece

Milos Island is located over the Greek Volcanic Arc. Paleochori Bay represents an area of important hydrothermal activity with hot and acid vent outflows showing high salinity and great concentrations in  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Li}^{+1}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  and  $\text{Cd}^{+2}$ . Euendolithic algae are known to penetrate by chemical dissolution both the inorganic carbonate substrates and various types of organic skeletal material. Due to the lack of calcareous rocks at the Palaeochori Bay, marine euendolithic algae (mainly cyanophytes and chlorophytes) were collected from various invertebrates (i.e. annelids, barnacles, bivalves, sponges) attached on the rocks at the intertidal zone close to the vents. For verification of the euendolithic nature of the algae, organic material was removed from the shells after a treatment with chlorox and the tunnels produced by the algal penetration were observed by means of scanning electron microscopy. SEM observations after critical point treatment revealed that most of the tunnels are filled with "alive" organisms. Besides, the observation by means of scanning electron microscopy showed that the inner shell surface of the living annelids was almost fully covered by euendolithic assemblages, the carbonate part of the barnacles was partly covered with euendolithic algae and on the contrary, the empty bivalve shells supported rather small quantities of euendolithic species. Direct observation by light microscopy after removal of the calcareous material (treatment by acids mixture called "solution pereni") showed that the euendolithic assemblages of the living annelid tubes consisted of the chlorophyte *Ostreobium quekettii* and the cyanophytes *Hyella caespitosa* and *Leptolyngbya terebrans*. The carbonate part of the barnacles presented a higher species diversity and the species composition included in addition *Hyella salutans*, *Hyella balani* and *Solentia* sp. On the contrary, the empty bivalve shells supported a rather poor species composition, and the "bad" condition of the euendolithic organisms did not allow safe identification.

## ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΑΠΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥΣ ΓΙΑ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Λουτσέτη Σ.<sup>2</sup>, Α. Θρασυβουλίδης<sup>1</sup>, Φ. Σαντάς<sup>1</sup>, Α. Οικονόμου-Αμίλλη<sup>2</sup> και Ρ. Σαντάς<sup>1</sup>

<sup>1</sup>OikoTechnics Institute, Κεφαλληνίας 50, 16342 Άνω Ηλιούπολη,

<sup>2</sup>Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, 15784 Αθήνα

Στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας οικιακών αποβλήτων, στο στάδιο της δευτερογενούς καθίζησης, παράγονται φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, οι οποίοι λόγω της νηματοειδούς μορφής τους δημιουργούν μηχανικά προβλήματα στην ομαλή λειτουργία των εγκαταστάσεων. Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων αυτών απαιτείται η απομάκρυνση των οργανισμών αυτών η οποία αυξάνει το κόστος και τη χρήση χημικών ουσιών. Μέχρι στιγμής δεν έχει προταθεί κάποια χρήση για αυτή την βιομάζα. Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η προοπτική χρήσης αυτού του παραπροϊόντος ως υλικού προσρόφησης βαρέων μετάλλων από βιομηχανικά απόβλητα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις τοξικών βαρέων μετάλλων. Η βιομάζα που χρησιμοποιήθηκε αποτελείτο κυρίως από το κυανοβακτήριο *Oscillatoria* sp. και μικρό αριθμό διατόμων. Η απομάκρυνση  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  και  $\text{Cd}^{2+}$  μελετήθηκε με ανάδευση 0.1g βιομάζας σε 10ml διαλύματος μετάλλου. Η βιομάζα αποστειρώθηκε και υπέστη μια από τις ακόλουθες κατεργασίες: 1) 0.2M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2) 1M NaOH, 3) 1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 4) απιονισμένο  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) ή 5) χρησιμοποιήθηκε ακατέργαστη. Μελετήθηκε η προσρόφηση σε τρεις διαφορετικές τιμές pH (2.0, 4.0 και 5.5). Η κατεργασία της βιομάζας με  $\text{dH}_2\text{O}$  και ξήρανση στους 60°C αποδείχθηκε η καλύτερη για όλα τα μέταλλα. Η απομάκρυνση των μετάλλων ήταν μεγάλη σε pH 4.0 και 5.5, αλλά σημαντικά χαμηλότερη σε pH 2.0. Συγκεκριμένα, η μέγιστη απομάκρυνση των κατιόντων  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  και  $\text{Cd}^{2+}$ , σε συγκέντρωση 10ppm, ήταν 80%, 81%, 95% και 98%, αντίστοιχα. Η διαδικασία προσρόφησης ήταν ταχεία και ολοκληρώθηκε μέσα σε λίγα λεπτά. Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά για τη αξιοποίηση της φωτοσυνθετικής βιομάζας από βιολογικό καθαρισμό στην αποτοξικοποίηση αποβλήτων που περιέχουν βάρεια μέταλλα.

## EXPLOITATION OF PHOTOSYNTHETIC BIOMASS FROM WASTEWATER TREATMENT PLANTS FOR REMOVAL OF HEAVY METALS

Loutseti S.<sup>2</sup>, A. Thrasyvoulides<sup>1</sup>, P. Santas<sup>1</sup>, A. Economou-Amilli<sup>2</sup>  
& R. Santas<sup>1</sup>

\*OikoTechnics Institute, Kefallenias 50, A. Helioupolis, GR-16342, Athens, Greece, \*\*University of Athens, Dept. of Biology, Section of Ecology & Taxonomy, GR-15784, Athens, Greece

Filamentous photosynthetic organisms produced in the secondary precipitation stage of wastewater treatment plants create mechanical problems in the normal operation of the plant. The removal of such organisms – a process required to overcome these problems – increases operational costs and chemical use. At present, there is no widely applied method for the usage of this biomass. The present study evaluates the prospects of using this by-product as a sorbent of toxic heavy metals from industrial wastewaters. The biomass used contained primarily the cyanobacterium *Oscillatoria* sp. and a small number of diatoms. The removal of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  και  $\text{Cd}^{2+}$  was studied in batch experiments by mixing 0.1 g of biomass with 10 ml of metal solution. The biomass was sterilized and pretreated in one of the following ways 1)0.2M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2)1M NaOH, 3)1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 4)deionized  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) or 5) used without pretreatment. Adsorption was studied at three different pH values (2.0, 4.0 and 5.5). Biomass pretreated with  $\text{dH}_2\text{O}$  and dried at  $60^\circ\text{C}$  proved to be the most efficient sorbent for all metals. Metal removal was highest at pH 4.0 and 5.5, but markedly lower at pH 2.0. In 10ppm solutions, the maximum removal of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  observed was 80%, 81%, 95% and 98% respectively. The adsorption process was fast and completed within a few minutes. These results point out the exploitation potential of photosynthetic biomass produced in wastewater treatment plants for detoxification of wastewaters containing heavy metals.

## ΒΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΛΕΙΣΤΟΚΑΙΝΙΚΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ ΑΠΟ ΤΟ ΣΠΗΛΑΙΟ ΑΠΗΔΗΜΑ ΜΑΝΗΣ

Μανώλης Σ.Κ.<sup>1</sup> και F.F. Mallegni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε. Κ.

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 - Αθήνα

<sup>2</sup>Sezione di Paleoantropologia e Paletnologia, Dip. Sci. Archaeologiche,

Universita di Pisa, via S. Maria 53, 56 100, Pisa – ITALIA

Η συζήτηση για την εξελικτική διαδοχή στην Ευρώπη, έχει εστιαστεί στο Ανώτερο Πλειστόκαινο, και δη ανάμεσα στους κλασικούς Νεαντερντάλειους και του πρώιμους Ανατομικά Σύγχρονους Ανθρώπους (ΑΣΑ) (40-30 χιλιάδες χρόνια πριν). Αυτή η έμφαση τείνει να επισκιάσει τις αναλύσεις των Μεσοπλειστοκαινικών ανθρωπιδών, που εμφανίζονται στο προσκήνιο περίπου στα 450 χιλιάδες χρόνια πριν με τους ανθρώπους του Arago (*H. erectus*) και παύουν να υπάρχουν πριν από περίπου 130 χιλιάδες χρόνια, δίνοντας τη θέση τους στους Νεαντερντάλειους, οι οποίοι χωρίς αμφιβολία εξαπλώνονται στην Ευρώπη. Η φυλογενετική θέση των Νεαντερνταλείων στην πρόσφατη εξέλιξη του ανθρώπου αποτελεί ένα επίμαχο θέμα το οποίο συνεχίζει να προκαλεί συζητήσεις και επιστημονικές αντιπαραθέσεις. Στις αρχές της δεκαετίας του '80 ο Δρ. Θ. Πίτσιος ανακάλυψε δύο κρανία σε ένα μικρό παράλιο σπήλαιο, το Απήδημα στη Μάνη. Αυτά τα δείγματα δεν έχουν ακόμη χρονολογηθεί λεπτομερώς, αν και υποτίθεται ότι πρέπει να χρονολογούνται μεταξύ Μέσου-Ανωτέρου Πλειστοκαιίνου. Το πρώτο κρανίο είναι μισό (κατά το κάθετο μεσοβρεγματικό επίπεδο) και βρίσκεται ακόμη έγκλειστο στο σκληρό βράχο, ενώ το δεύτερο που έχει αποκαλυφθεί πλήρως, είναι σχεδόν πλήρες, αλλά δεν έχει ακόμη περιγραφεί πλήρως και δεν έχει αναλυθεί βιομετρικά. Σε αυτή την εργασία προσπαθήσαμε να καθορίσουμε: α) αν το Απήδημα II εμφανίζει αρχαϊκά ή νεαντερντάλεια βιομετρικά χαρακτηριστικά, β) και αν είναι αρχαϊκός, αν μοιάζει με τους ανθρωπίδες που ανήκουν στους *H. heidelbergensis*, και γ) εάν εμφανίζει το μετρικό πρότυπο των κλασικών Νεαντερντάλειων, αν μοιάζει με τους πρώιμους ή μεταγενέστερους Νεαντερντάλειους. Καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι: α) το Απήδημα II, φαίνεται ότι ανήκει σε θηλυκό άτομο, αν και υπάρχουν κάποιες ενδείξεις για το αντίθετο, και β) η μορφολογία και τα μετρικά του δεδομένα είναι χαρακτηριστικά των πρώιμων Νεαντερνταλείων. Έτσι, θεωρούμε το Απήδημα II, ως έναν ακόμη αντιπρόσωπο του ανθρωπιδικού είδους που κατοίκησε την Ευρώπη αυτή την κρίσιμη περίοδο της εξέλιξης του ανθρώπου, παίρνοντας της θέση του *Homo heidelbergensis*.



## **A BIOMETRICAL STUDY OF THE HELLENIC PLEISTOCENE HOMINID OF APIDIMA CAVE (APIDIMA II - LA01/S2)**

**Manolis S.K.<sup>1</sup> & F.F. Mallegni<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, Athens  
University Panepistimiopolis, 157 81, Athens – GREECE

<sup>2</sup>Sezione di Paleoantropologia e Paleontologia, Dip. Sci. Archaeologiche,  
Universita di Pisa, via S. Maria 53, 56 100, Pisa – ITALIA

The debate about the European fossil hominid sequence has concentrated on the Late Pleistocene between Late Neanderthals and early anatomically Modern Humans (40-30 Kya). This emphasis has tended to put in the shade the analyses of the Middle Pleistocene hominids, which begun with the Arago specimens (ca 450 Kya) and ended at about 130 Kya, after which time undoubtedly the Neanderthals were present in Europe. The phylogenetic assignment of Neanderthals in recent human evolution is a controversial issue, and continues to cause debates.

Dr. Pitsios recovered two skulls from a small coastal cave (Apidima) in the south part of Peloponnesos. These specimens are not yet accurately dated, although a middle-late Pleistocene age is assumed. The first specimen a half cranium is still caged in the removed block of breccia, the second is almost complete, but it has not been described in detail.

In this biometric analysis we try to determine: a) whether Apidima II appears archaic or neanderthalian, b) whether is archaic, if it resembles *H. heidelbergensis* hominids and c) whether it shows the classical neanderthalian biometrical pattern, if it resembles the early or late Neanderthals.

We conclude that: a) Apidima II hominid, most probably belongs to a young female individual, though there some indications for the opposite, and b) its morphology and the metrical data are characteristic of the early Neanderthals. Thus, Apidima II is rather another representative of this early hominid species who populated Europe this critical period of human evolution, taking the place of *Homo heidelbergensis*.

## ΕΝΑ ΠΑΡΑΞΕΝΟ ΚΡΑΝΙΑΚΟ ΤΡΑΥΜΑ ΑΠΟ ΤΗ ΜΕΣΑΙΩΝΙΚΗ ΑΜΑΘΟΥΝΤΑ (ΚΥΠΡΟΣ)

Μανώλης Σ.Κ.<sup>1</sup>, Χ. Χειλέτης<sup>1</sup>, Ε. Προκοπίου<sup>2</sup> και Κ. Ζαφειράτος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε. Κ.  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 - Αθήνα

<sup>2</sup>Μουσείο Λεμεσού, Διεύθυνση Αρχαιοτήτων, Κυπριακή Δημοκρατία

Κατά τη διάρκεια των ανασκαφών του 1991 στην αρχαία Αμαθούντα, αποκαλύφθηκαν αρκετοί θαλαμοειδείς τάφοι, που χρονολογούνται στην Υστερορωμαϊκή περίοδο (7<sup>ος</sup> μ.Χ. αιώνας). Στο «δρόμο» κάθε τάφου βρέθηκαν ανθρώπινα υπολείμματα αρκετών νεκρών. Οι νεκροί είχαν ταφεί ομαδικά και τα σκελετικά τους υπολείμματα αποτελούνται από ανακατεμένα οστά σε κακή κατάσταση διατήρησης.

Προσπαθώντας να αναγνωρίσουμε τον πιθανό αριθμό νεκρών, ανακαλύψαμε ένα θραύσμα κρανιακού θόλου μ' ένα «παράξενο τραύμα». Ελέγξαμε όλο το σκελετικό υλικό του τάφου, για να βρούμε το υπόλοιπο τμήμα του κρανιακού θόλου, χωρίς επιτυχία. Το κρανιακό θραύσμα απο-τελείται κυρίως από το αριστερό τμήμα του μετωπικού οστού και ανήκει σε ενήλικα άνδρα. Ήταν απαραίτητο να αναγνωρίσουμε το είδος του τραύματος. Υπάρχουν τραύματα ατυχημάτων (κατάγματα), βίαια τραύματα και τελικά σκόπιμα χειρουργικά τραύματα (όπως είναι ο τρυπανι-σμός ή οποιαδήποτε άλλη χειρουργική επέμβαση). Τα κρανιακά τραύματα είναι αρκετά συνήθη στα αρχαιολογικά δείγματα, αλλά οι μαρτυρίες κρανιακής χειρουργικής επέμβασης είναι περιορισμένες σε μερικές περιπτώσεις τρυπανισμού και καυτηριασμού.

Σε αυτή τη μελέτη, παρουσιάζουμε μια εκπληκτική περίπτωση «πιθανής» χειρουργικής επέμβασης. Το εύρημα (που χρονολογήθηκε στον 7<sup>ο</sup> μ.Χ. αιώνα) αποτελεί μια «μοναδική» περίπτωση στα χρονικά της Βυζαντινής χειρουργικής. Η εμφάνιση μιας άλλης μαρτυρίας κρανιακής χειρουργικής, διαφορετική από τον τρυπανισμό ή τον καυτηριασμό, συνεισφέρει αποφασιστικά στην περιορισμένη γνώση που έχουμε για τις ιατρικές πρακτικές του πρώιμου βυζαντινού κόσμου.

Ακόμη να σημειώσουμε ότι αυτή την περίοδο, όπως τεκμηριώνεται από διάφορες ιστορικές πηγές η Κύπρος δέχεται επιδρομές από τους Άραβες. Η ανασκαφέας (Ε.Π.) θεωρεί ότι οι νεκροί είναι θύματα των Αραβικών επιδρομών στη μεγαλόνησο και έτσι δικαιολογείται το γεγονός ότι οι νεκροί θαφτηκαν ομαδικά στους αρχαίους τάφους της Αμαθούντας.

*Η έρευνα αυτή επιχορηγήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (Σ.Κ.Μ.)*

## **AN EXTRAORDINARY CRANIAL INJURY IN MEDIEVAL AMATHUS (CYPRUS)**

**Manolis S.K.<sup>1</sup>, Chiletis Ch.<sup>1</sup>, Prokopiou H.<sup>2</sup> & C. Zafeiratos<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Division of Animal & Human Physiology, Dept of Biology, Athens  
University, Panepistimiopolis 157 81, Athens – Ellas**

**<sup>2</sup>Museum of Lemmesos, Dept. of Antiquities, Republic of Cyprus**

During the excavation works of 1991 field season at Amathus (East cemetery) excavated several chamber tombs, which belong to the late Roman period (7<sup>th</sup> century A.D.). In the dromos of each chamber tomb unearthed human remains of several dead. The dead people had buried collectively and their remains were consisted only by commingled bones in a bad condition.

Trying to identify the possible number of the dead, we discovered a portion of the cranial vault with a peculiar injury on it. We checked all the available material of the grave in order to identify the rest part of the skull, unsuccessfully. The cranial fragment consists mainly of the left part of the metopic bone and belongs to an adult male individual. It was necessary to identify the kind of injury. There are accidental injuries (fractures from a fall), intentional injuries (violent wound from personal combat and/or warfare), and finally intentional surgical injuries (such as trepanation or any other surgical operation). Skull injuries are common in the archaeological specimens, but evidence of cranial surgical operations is limited to several cases of trepanation and cauterization.

In this study we present an extraordinary case of a possible cranial surgery. This finding, which dated to the 7<sup>th</sup> century A.D., is the earliest evidence of “invasive surgery” and a “unique” case in the Byzantine Cypriot history of medicine. The incidence of another bony evidence of cranial surgery, different from trepanation or cauterization, it contributes substantially to our limited understanding of medical practices in the early Byzantine world.

This period as documented by various historical sources the Arabs attacked Cyprus. The excavator (H.P.) set up the theory that the dead were victims of the Arabian invasions to the island. The inhabitants of Amathus buried collectively their dead in the ancient tombs of Amathus.

*The Special Research Account of Athens University supported this research (S.K.M).*

## ΤΕΧΝΗΤΗ ΚΡΑΝΙΑΚΗ ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΗ ΣΤΟΥΣ ΝΕΟΛΙΘΙΚΟΥΣ ΚΑΤΟΙΚΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΗΛΑΙΟΥ ΘΑΡΡΟΥΝΙΑ (ΕΥΒΟΙΑ)

Μανώλης Σ.Κ., Ε. Πετρούσα, Χ. Χειλέτης, Α. Σάμψων\*

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε. Κ.  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 – Αθήνα  
\* Τμήμα Μεσογειακών Σπουδών, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Ρόδος

Οι ανασκαφές στο σπήλαιο Θαρρούνια έφεραν στο φως αρκετές νεολιθικές ταφές. Η μελέτη του σκελετικού υλικού αποκάλυψε ενδιαφέρουσες πληροφορίες αλλά ακόμη δεν έχει τελειώσει. Όμως είναι αξιοσημείωτο ότι ένα τουλάχιστον από τα κρανία έχει ένα περίεργο σχήμα. Μια προσεκτικότερη ματιά αποκάλυψε ότι αυτό το κρανίο πρέπει να έχει παραμορφωθεί σκόπιμα. Η μόνη καλά γνωστή τέτοια περίπτωση είναι εκείνη της Νεολιθικής Χοιροκίτιας στη Κύπρο, αλλά η βιβλιογραφική έρευνα αποκάλυψε επίσης περιπτώσεις τεχνητής κρανιακής παραμόρφωσης και στην Ύστερη Μινωική περίοδο.

Η τεχνητή τροποποίηση του κρανίου υπήρξε μια από τις ευρέως διαδεδομένες πολιτισμικές πρακτικές στην αρχαιότητα, έχοντας βρεθεί σχεδόν σε κάθε ήπειρο. Τυπικά, η διαδικασία παραμόρφωσης απαιτεί την εφαρμογή εξωτερικής πίεσης, περιδένοντας το κεφάλι του νηπίου αρκετά σφιγκτά. Όπου δεν υπάρχουν γραπτές μαρτυρίες, όπως στη περίπτωσή μας, εκείνο που μπορούμε να συζητήσουμε είναι γιατί οι άνθρωποι προσπαθούσαν να αλλάξουν το σχήμα των κεφαλιών των νεογνών τους. Δεν έχουμε καμιά ένδειξη ότι οι παραμορφώσεις είχαν αρνητικές επιπτώσεις στην κρανιακή χωρητικότητα ή την ευφυΐα. Ο McCrudy (1923) βρήκε δύο τύπους στους Περουβιανούς της προ-Κολομβιανής περιόδου: ο πρώτος χαρακτηρίζεται από «μετωπο-νιακή πλάτυνση» κι ο δεύτερος ονομάστηκε «Aymara τύπος». Στη περίπτωση μας το κρανίο παρουσιάζει «μετωπο-νιακή πλάτυνση».

Συγκρίναμε την παραμόρφωση των Θαρρουνίων με εκείνη της Χοιροκίτιας και τα αποτελέσματα είναι εκπληκτικά, δείχνοντας τον ίδιο τύπο. Όμως, η κρανιακή παραμόρφωση στα Θαρρούνια φαίνεται ότι δεν ήταν τόσο επιτυχημένη όπως αρκετές περιπτώσεις στη Χοιροκίτια. Γενικά όμως μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι υπήρχε μια κοινή πρακτική στη διάρκεια της Νεολιθικής στην ανατολική Μεσόγειο. Η σπουδαιότητα αυτών των πρώιμων παραδειγμάτων τεχνητής παραμόρφωσης είναι διπλή. Πρώτον, αποδεικνύουν την ύπαρξη σίγουρων πολιτισμικών χαρακτηριστικών και συμπεριφορών οι οποίες σε άλλη περίπτωση δεν μπορούσαν να αποκτηθούν από το αρχαιολογικό αρχείο. Και δεύτερον οι τροποποιήσεις του σώματος δείχνουν μια αίσθηση προσωπικής αισθητικής και ίσως, κοινωνική διαστρωμάτωση.

## **INTENTIONAL CRANIAL DEFORMATION IN THE NEOLITHIC INHABITANTS OF THARROUNIA CAVE (EUBOEA ISL. GREECE)**

**Manolis S.K., E. Petroutsa, Ch. Chiletis, A. Sampson \***

**Division of Animal & Human Physiology, Dept of Biology, University of  
Athens, Panepistimiopolis 157 81, Athens – Ellas**

**\* Department of Mediterranean Studies, Aegean University, Rhodes Island**

The excavations in Tharrounia Cave, brought to light several neolithic burials. The study of the skeletal material revealed important information and is still under study. It is worth mentioning that at least one skull has a curious shape. A close examination of this skull revealed that this skull must be artificially deformed. The only well-known case is in Khirokitia's early neolithic inhabitants in Cyprus, but there is a note about cranial deformation in Late Minoan period.

Artificial modifications of the skull were one of the most ubiquitous cultural practices in antiquity, being found on every continent. Typically, the deformation process involved the application of external pressures, bindings, straps or pads, to an infant's head. Where we have no written records, we can only speculate why people worked so hard to alter their babies' head shapes. We have no evidence that the deformations had negative ramifications in terms of decreasing cranial capacity or intelligence. McCurdy (1923) found two types in Pre-Columbian Peruvians: the first consists of a fronto-occipital flattening, and the second of a circular constriction with compensatory elongation (Aymara type). In our case the skull has a fronto-occipital type of deformation.

We compare the cranial deformation of Tharrounia to those of Khirokitia and the results are surprising, showing the same type of cranial deformation. However, our case seems not so successful as in Khorkitia. In general, it seems that there was a common practice in the neolithic era in this part of the Mediterranean.

The importance of these early examples of artificial cranial deformation is twofold. Firstly, they indicate certain behavioral and cultural traits that may not otherwise be obtainable from archaeological record. Second, evidence of body modification indicates a sense of personal aesthetic and, perhaps, social stratification.

*The Special Research Account of Athens University supported this research.*

## **ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗΣ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ**

**Μαργέτης Π.Ι., Μ.Χ. Αντωνέλου, Μ.Κ. Παπουτσέλης, Α. Σκούρα, Ι.Σ. Παπασιδέρη και Α.Χ. Μαργαρίτης**

**Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα**

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια πολυπαραγοντική ασθένεια με ποικιλία κλινικών υποτύπων. Στο σακχαρώδη διαβήτη παρατηρούνται αλλαγές στη συγκέντρωση διαφόρων μεταβολιτών στο αίμα με πιο σημαντική την αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης. Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια αποτελεί τοπική εκδήλωση της μικροαγγειοπάθειας του σακχαρώδη διαβήτη στον αμφιβληστροειδή χιτώνα και προκαλεί ελάττωση ή ακόμα και απώλεια της όρασης. Η μερική ή ολική απόφραξη των μικροτριχοειδών αγγείων (μικροαγγειοπάθεια) σχετίζεται, εκτός των άλλων, και με μεταβολές των ερυθροκυτταρικών πρωτεϊνών. Αυτές αφορούν την οξείδωση των πρωτεϊνών της μεμβράνης λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης γλυκόζης στο αίμα των ασθενών, η οποία επάγει την αυτοοξείδωσή της καθώς και τη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών του ερυθροκυττάρου που οδηγεί στη δημιουργία ενώσεων γνωστών ως προϊόντα Maillard. Εξαιτίας των αλλαγών αυτών προκαλείται μεταβολή της ελαστικότητας και της ανθεκτικότητας των ερυθροκυττάρων. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν δεκαέξι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και εικοσιτέσσερις που παρουσίαζαν διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια. Χρησιμοποιήθηκαν συστήματα ηλεκτροφόρησης SDS-ακρυλαμίδης, γραμμικής και εκθετικής κλίσης, και κατάλληλο λογισμικό πυκνομέτρησης των ηλεκτροφορημάτων. Κατά την επεξεργασία των πηκτωμάτων παρατηρήθηκαν ποιοτικές και ποσοτικές αποκλίσεις από το φυσιολογικό ηλεκτροφορητικό πρότυπο των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Αντίστοιχες μεταβολές παρατηρήθηκαν και στις γλυκοπρωτεΐνες της μεμβράνης του ερυθροκυττάρου. Οι παραπάνω μεταβολές φαίνεται να σχετίζονται με το ποσοστό της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης στο αίμα.

## **DIABETES MELLITUS AND DIABETIC RETINOPATHY CONSEQUENCES IN RED CELL MEMBRANES**

**Margetis P.J., M.H. Antonelou, M.K. Papoutselis, A. Skoura,  
I.S. Papasideri & L.H. Margaritis**

**University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology and  
Biophysics, Panepistimiopolis 15784, Athens, Greece**

Diabetes mellitus is a multifactorial disease with many types and forms. Diabetes mellitus is associated with specific alterations in the concentration of blood metabolites, the high levels of glucose being the most important of them. Diabetic retinopathy is a local manifestation of diabetes mellitus microangiopathy in human retina, which causes impairment or even loss of vision. One of the factors causing the partial or complete obstruction of microcapillaries (microangiopathy), is the alteration of membrane proteins. This alteration mainly concerns the oxidation of the membrane proteins arisen by the autooxidation of the high levels of glucose present in patients serum, as well as the non enzymatic glycosylation of the erythrocyte proteins which lead to the formation of compounds known as Maillard products. These transformations in membrane proteins cause changes in red cell elasticity and tolerance. Our objective was to study the modifications of red cell membrane proteins which occurred in sixteen patients with diabetes mellitus and twenty-four patients with diabetic retinopathy. We used density gradient SDS-gel electrophoresis systems and appropriate densitometric software. Qualitative and quantitative variations regarding the normal electrophoretic pattern were observed. Divergence in red cell membrane glycoproteins was also detected. The above alterations seem to correlate with the levels of glycosylated haemoglobin found in blood.

## ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΜΑΡ ΚΙΝΑΣΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ $\alpha_1$ -ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΚΑΡΔΙΑ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ

Μάρκου Θ. και Α. Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη

Τα μέλη της οικογένειας των ΜΑΡ κινασών (mitogen activated protein kinases) είναι πρωτεϊνικές κινάσες σερίνης-θρεονίνης με πιο καλά χαρακτηρισμένες τις υποοικογένειες: p38-MAPKs, ERKs (extracellularly responsive kinases) και JNKs (c-Jun N-terminal kinases). Οι ERKs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην μεταγωγή σημάτων κατά την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση, ενώ οι JNKs και p38-MAPKs εμπλέκονται σε κυτταρικές αποκρίσεις υπο συνθήκες stress. Σκοπός της παρούσης εργασίας είναι η μελέτη των παραπάνω κινασών σε απομονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα αρουραίου μετά από διέγερση με φαινυλεφρίνη (100μΜ). Η ανίχνευση των ενεργοποιημένων (φωσφορυλιωμένων) κινασών έγινε με τη χρήση αντισωμάτων ειδικών για τις φωσφορυλιωμένες μορφές των πρωτεϊνών. Η φαινυλεφρίνη, αγωνιστής των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων και δραστικός υπερτροφικός παράγοντας στα μυοκαρδιακά κύτταρα, προκαλεί άμεση φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των ERKs και p38 MAPKs. Η μέγιστη ενεργοποίηση της p38-MAPK (15 φορές περίπου σε σχέση με τις τιμές του μάρτυρα) παρατηρείται 10-15 λεπτά μετά από τη διέγερση και διατηρείται για 30 λεπτά. Η ενεργοποίηση της p38-MAPK αναστέλλεται από τον SB203580. Τη δράση της φαινυλεφρίνης αναιρεί επίσης ο PD98059, που αναστέλλει το μονοπάτι των ERKs, καθώς και ο αναστολέας της πρωτεϊνικής κινάσης C, GF109203X. Η φαινυλεφρίνη ενεργοποιεί τις ERK1 και ERK2, 7 φορές περίπου συγκριτικά με τις τιμές του μάρτυρα. Ωστόσο, το πρότυπο της ενεργοποίησης διαφέρει από εκείνο της p38 MAPK, αφού η μέγιστη φωσφορυλίωση παρατηρείται 1-2 λεπτά μετά τη διέγερση, ακολουθεί φθίνουσα πορεία μετά από 5 λεπτά και επανέρχεται στις τιμές του μάρτυρα. Από την άλλη πλευρά, η φωσφορυλίωση των JNKs ήταν περιορισμένη και μη επαναλήψιμη. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, διαπιστώνεται ότι η δράση της φαινυλεφρίνης διαφοροποιείται ανάμεσα στις υποοικογένειες των MAPKs.



## **$\alpha_1$ -ADRENERGIC STIMULATION ACTIVATES MULTIPLE MAPK SUBFAMILIES IN ADULT RAT CARDIAC MYOCYTES**

**Markou T. & A. Lazou**

**Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of  
Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54006, Greece**

The mitogen activated protein kinases (MAPKs) are a large family of widely expressed protein Ser-/Thr-kinases. Three subfamilies of the MAPKs have been clearly identified: the extracellularly responsive kinases (ERKs), the c-Jun N-terminal kinases (JNKs) and the p38-MAPKs. ERKs are largely involved in cell growth and differentiation, whereas JNKs and p38-MAPK respond to cellular stresses. The purpose of this study is to investigate the ability of phenylephrine to activate the three MAPK subfamilies in isolated adult rat ventricular myocytes. Phenylephrine caused a rapid activation of ERKs and p38-MAPK as shown by an increase in their phosphorylation. Maximal phosphorylation of p38-MAPK (15 fold) occurred at 10-15 min after stimulation and was sustained over 30 min. This activation was inhibited by SB203580. The activation of p38-MAPK by phenylephrine was also inhibited by PD98059, an inhibitor of the ERK cascade and by the protein kinase C inhibitor, GF109203X. Both ERK1 and ERK2 were activated 7-fold by phenylephrine. However, maximal phosphorylation was more rapid (1-2 min) than for p38-MAPK, declining after 5 min and returning to control values. Activation of JNKs by phenylephrine as assessed by the increase in their phosphorylation was very poor and not consistent. These data suggest that phenylephrine, an  $\alpha_1$ -adrenergic agonist and promoter of hypertrophic growth in the ventricular myocyte differentially activate the MAPK subfamilies.

## ΤΑ ΠΟΛΥΜΕΣΑ ΣΤΗΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟΥ

**Μαργαρίτης Α.Χ., Χ.Α. Μαργαρίτης**

**Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιόπολη, 15781 - Αθήνα**

Οι σύγχρονες εξελίξεις στο χώρο της πληροφορικής και ιδιαίτερα στην ανάπτυξη αλγορίθμων για κωδικοποίηση εικόνας και ήχου, μας επέτρεψαν να υλοποιήσουμε Διαδικτυακό τόπο με τις εξής προδιαγραφές:

- Εναν ηλεκτρονικό υπολογιστή PIII σε περιβάλλον Windows 2000 Server, ο οποίος χρησιμεύει ως file server και ως web server.
- Εναν ηλεκτρονικό υπολογιστή PIII σε περιβάλλον Windows 2000 Server, ο οποίος αξιοποιεί τις δυνατότητες των Media Services της Microsoft, δηλαδή τη συλλογή δεδομένων πολυμέσων από τους σταθμούς εργασίας με τους οποίους γίνονται οι παρουσιάσεις (π.χ. υπολογιστής στην αίθουσα διδασκαλίας ή εργαστηριακών ασκήσεων ή και ερευνητικό χώρο) και την εκπομπή της ροής των πληροφοριών στους χρήστες του Διαδικτύου.

Οι δύο servers συνεργάζονται ώστε να είναι δυνατή η ροή των δεδομένων με ταχύτητα και πιστότητα στους απομακρυσμένους χρήστες που χρησιμοποιούν κυρίως modem.

Με τη διάταξη αυτή έχουμε μέχρι στιγμής υλοποιήσει τις εξής εφαρμογές:

- A) Εκπομπή αποθηκευμένων παρουσιάσεων αρχείων powerpoint από τις διαλέξεις προπτυχιακών και μεταπτυχιακών μαθημάτων.
- B) Εκπομπή αποθηκευμένων video clips από εκπαιδευτικές ή ερευνητικές δραστηριότητες. Η υλοποίηση των εφαρμογών αυτών είναι εφικτή χάρη στη μετατροπή των αρχείων .ppt και .avi σε .asf (advanced stream format) με τη βοήθεια του λογισμικού κωδικοποίησης Windows Media Encoder.
- Γ) Εκπομπή παρουσιάσεων διαλέξεων σε πραγματικό χρόνο (real time) είτε μέσω των διαφανειών του Powerpoint είτε με βιντεοκάμερα εγκατεστημένη στην αίθουσα διδασκαλίας ή και με συνδυασμό και των δύο εφαρμογών.

Στόχοι της προσπάθειας αυτή είναι η διαθεσιμότητα στους χρήστες, με ελεύθερη πρόσβαση (φοιτητές, μέλη ΔΕΠ, εκπαιδευτικούς μέσης εκπαίδευσης, κ.λ.π.) μεγάλου αριθμού διαλέξεων που να καλύπτει όσο το δυνατόν μεγαλύτερο φάσμα της βιολογίας, αλλά και ζωντανές παρουσιάσεις μαθημάτων, εργαστη-ριακών ασκήσεων και άλλων εκδηλώσεων γενικού ενδιαφέροντος.

Η διεύθυνση στο διαδίκτυο είναι: <http://kyttariki.biol.uoa.gr>

*Ευχαριστίες: Η εφαρμογή αυτή υποστηρίχθηκε από την Microsoft Hellas, με την δωρεάν χορήγηση του πακέτου Windows 2000 Server.*

## MULTIMEDIA INTERNET EDUCATION

**Margaritis H.L. & H.L. Margaritis**

**Dept. of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 157 81 – Athens**

The most recent advances in information technology and especially in the development of audio and video codecs (encoding decoding algorithms), allowed us to implement a web site using the following configuration:

- A Pentium II computer running under windows 2000 Server used as a file server and as a web server.
- Another Pentium II computer running under Windows 2000 Server which takes full advantage of the Microsoft Media Services for both Unicast and Multicast broadcasting. This server streams the data coming from the workstations where the events are being captured (i.e. Powerpoint presentations in lecture halls, in laboratory classrooms, e.t.c.) and broadcasts the data to the client stations over the Internet.

The two servers cooperate so that the streaming of audio and video is smooth and reliable to the client who is using an ordinary modem.

Using the above configuration we have so far managed to implement the following applications:

- A) Broadcasting on demand unicast Powerpoint presentations of selected cell biology lectures.
- B) Broadcasting on demand video clips of educational and research activities. These applications have been achieved using the powerful Windows Media Encoder transforming the Powerpoint and video files into highly compressed asf (advanced streaming format) files.
- C) Broadcasting Live – real time – presentations of lectures given either via Powerpoint or via a videocamera or a combination of both.

Our long term goal is to further develop the capabilities of the configuration in order to allow users (students, members of the academic community, e.t.c) to have free access to a wide variety of lectures “on demand” but also to live broadcasts of lectures and other events of general interest.

The web site can be found at <http://kyttariki.biol.uoa.gr>.

*Acknowledgments: These applications were made possible by the generous support of Microsoft Hellas by providing the Windows 2000 Server software*

**ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΗΣ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗΣ  $\alpha$ -ΑΚΤΙΝΗΣ ΤΟΥ *Sparus aurata*: ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ**

**Μούτου Κ.Α.<sup>1</sup>, S. Socorro<sup>2</sup>, D.M. Power<sup>2</sup>, Ζ. Μαμούρης<sup>1</sup>  
& Α.Υ.Μ. Canario<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Γενικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πεδίον Άρεως, 38334 Βόλος

<sup>2</sup>UCTRA, University of Algarve, Campus de Gambelas, 8000 Faro, Portugal

Ένας πλήρης cDNA κλώνος που κωδικοποιεί για την σκελετική  $\alpha$ -ακτίνη (1523 βάσεις) απομονώθηκε από μια cDNA βιβλιοθήκη, που δημιουργήθηκε από προνύμφες τσιπούρας. Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του cDNA κατατέθηκε στη βάση δεδομένων Genbank με αριθμό πρόσβασης AF190473. Όλες οι καταχωρημένες διαθέσιμες αλληλουχίες  $\alpha$ -ακτίνης χρησιμοποιήθηκαν για τη συγκριτική μελέτη σε πρωτεϊνικό επίπεδο και τη φυλογενετική ανάλυση. Οι αλληλουχίες αυτές κάλυψαν οργανισμούς από τον αμφίοξο έως το βάτραχο και τον άνθρωπο καθώς και όλες τις αλληλουχίες που έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα από ψάρια. Οι εξελικτικές αποστάσεις, που υπολογίστηκαν με την μέθοδο Kimura, βάσει της αλληλουχίας των αμινοξέων (377 αα), κυμάνθηκαν από 0.039 έως 0.187. Η μεγαλύτερη απόσταση παρατηρήθηκε σε σχέση με τη σκελετική  $\alpha$ -ακτίνη-3, που εκφράζεται νωρίς στην ανάπτυξη του *Xenopus laevis*, ενώ η μικρότερη βρέθηκε σε σχέση με την  $\alpha$ -ακτίνη-1, η οποία εκφράζεται στο γραμμωτό και καρδιακό μυ του *Fugu rubripes*. Στο φυλογενετικό δένδρο neighbor-joining η  $\alpha$ -ακτίνη της τσιπούρας εμπίπτει στην ίδια ομάδα με τις υπόλοιπες  $\alpha$ -ακτίνες-1 που έχουν απομονωθεί από ψάρια καθώς και την ακτίνη του κυπρίνου και του χρυσόψαρου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε το γεγονός ότι οι  $\alpha$ -ακτίνες-2 των ψαριών ομαδοποιούνται με τις ακτίνες των θηλαστικών. Με τη μέθοδο Northern blot διαπιστώθηκε ότι η ακτίνη που απομονώθηκε εκφράζεται κυρίως στο λευκό και στον ερυθρό μυ των ενήλικων ατόμων ενώ σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα ήταν ανιχνεύσιμη και στα βράγχια. Η έκφραση αρχίζει πολύ νωρίς κατά την ανάπτυξη με την έναρξη της σωματογένεσης και αυξάνει καθώς η ανάπτυξη προχωράει.

## ***Sparus aurata* SKELETAL A-ACTIN SEQUENCE: TISSUE AND DEVELOPMENTAL EXPRESSION**

**Moutou K.A.<sup>1</sup>, S. Socorro<sup>2</sup>, D.M. Power<sup>2</sup>, Z. Mamuris<sup>1</sup>  
& A.V.M. Canario<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Department of Theoretical and Applied Sciences, University of Thessaly,  
Pedion Areos, 38334 Volos, Greece; <sup>2</sup>UCTRA, University of Algarve,  
Campus de Gambelas, 8000 Faro, Portugal.**

One full-length cDNA clone encoding the skeletal alpha-actin (1523bp) was isolated from a cDNA library prepared from sea bream larvae. The nucleotide sequence of cDNA was submitted to the Genbank database under the accession No AF190473. Previously published skeletal  $\alpha$ -actin sequences were obtained from Genbank database and used for amino acid comparison and phylogenetic analyses. The list of compared sequences contained all the available piscine sequences and covered a range of organisms from amphioxus to frog and to human. Evolutionary distances were estimated using Kimura's empirical method for protein distances. Genetic distances based on the deduced amino acid sequences (377aa) ranged between 0.000 and 0.146. The greatest distance was estimated for skeletal  $\alpha$ -actin-3 expressed in *Xenopus laevis* early in development, whilst the lowest was for  $\alpha$ -actin-1 expressed in skeletal and cardiac tissue of *Fugu rubripes*. A phylogenetic tree based on evolutionary distances was constructed using the neighbor-joining method. The *S. aurata* sequence falls into the same group with the  $\alpha$ -actin-1 forms isolated from other fish species and the carp and goldfish skeletal actins. Interestingly, the piscine  $\alpha$ -actins-2 formed a separate group with the mammalian  $\alpha$ -actin sequences. Northern blot analysis revealed that in adult fish skeletal  $\alpha$ -actin is expressed predominantly in white and red muscle but transcripts were also detectable in the gills. The expression starts early in development from the beginning of segmentation (22hpf) and increases as development proceeds.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΛΙΑΣ  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$  ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ  
ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΑΔΡΕΝΑΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ  
ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΤΟΥ  
ΛΑΡΥΓΓΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ (Hep-2, ccl 23)**

**Μπαντέκας Χ.<sup>1</sup>, Μ. Καλογιάννη<sup>1</sup>, Γ. Κολιάκος<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Εργ. Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

Η αντλία ανταλλαγής  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$  είναι ένας μηχανισμός στην επιφάνεια των κυτταρικών μεμβρανών όλων των κυττάρων ο οποίος συμμετέχει στη ρύθμιση του ενδοκυτταρικού pH (pHi). Η λειτουργία της αντλίας αυτής είναι πιθανόν να επηρεάζεται από τη σύνδεση διαφόρων ορμονών με τους αντίστοιχους υποδοχείς. Έτσι έχει βρεθεί ότι η λειτουργία της αντλίας  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  των ερυθροκυττάρων επηρεάζεται από την αδρεναλίνη. Επίσης έχει βρεθεί ότι σε κυτταρικές καλλιέργειες διάφοροι αυξητικοί παράγοντες μεταβάλλουν το ενδοκυτταρικό pH μέσω της ίδιας αντλίας. Άλλες ορμόνες, όπως για παράδειγμα η ινσουλίνη, μεταβιβάζουν το μήνυμά τους με παρόμοιο τρόπο. Είναι λοιπόν πιθανό και η ινσουλίνη να μεταβάλλει τη δραστηριότητα της αντλίας στα κύτταρα. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η μεταβολή του ενδοκυτταρικού pH μέσω της αντλίας  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  σε κυτταρικές καλλιέργειες μετά από την επίδραση αδρεναλίνης και ινσουλίνης. Για τη μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν καρκινικά κύτταρα προερχόμενα από επιθήλιο λάρυγγα ανθρώπου (Hep-2, ccl23). Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε EMEM εμπλουτισμένο με εμβρυικό ορό βοδιού. Οι μετρήσεις του ενδοκυτταρικού pH έγιναν με την τεχνική του φθορισμού (Fluorescence microscopy), με τη χρησιμοποίηση της ουσίας 2'-7'-bis(carboxyethyl)-5(6)-carboxy fluorescein (BCECF) ως φθοριστικό μέσο. Παρακολούθησαμε έτσι τη μεταβολή του ενδοκυτταρικού pH σε συνεχή χρόνο πριν και μετά την επίδραση των ορμονών καθώς και παρουσία αμιλοριδίου που αναστέλλει τη δράση της αντλίας. Παρατηρήθηκε λοιπόν ότι η επίδραση των ορμονών αυξάνει το pH κατά 0,1-0,3 μονάδες ενώ αντίθετα ταυτόχρονη παρουσία αμιλοριδίου δεν προκαλεί καμία μεταβολή.

**THE EFFECTS OF ADRENALIN AND INSULIN ON  
THE Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> ANTIPORT OF HUMAN LARYNX  
CANCER CELLS HEP-2 (CCL23)**

**Badekas C.<sup>1</sup>, M. Kaloyianni<sup>1</sup>, G. Koliakos<sup>3</sup>**

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

**<sup>2</sup>Laboratory of Biological Chemistry, Medical School, Aristotle University  
of Thessaloniki**

The Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport appears on the cell membrane of all cells and contributes to the regulation of the intracellular pH (pH<sub>i</sub>). There is evidence that the antiport's activity is affected by some hormones. It has already been found that adrenalin affects the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger of the erythrocytes and also that in cell cultures some growth factors change the intracellular pH through affecting the activity of the same exchanger. In this study we focused on the alteration of intracellular pH on cell cultures under the effect of insulin and adrenalin. In the present study we used human epithelial cancer cells from larynx (Hep-2, ccl23). The cells were cultivated in EMEM (Earl's Eagle Medium) and fetal bovine serum (FBS). For the measurements we used the fluorescence method (fluorescence microscopy) using 2',7'-bis(carboxyethyl)-5(6)-carboxy fluorescein (BCECF) as fluorescence probe. With this method we were able to follow the alteration of pH continuously in the presence and absence of the hormones and also in the presence of amiloride, which is an inhibitor of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport. The results showed that both hormones caused an increase of intracellular pH about 0,1-0,13 pH units over basal value, which is an indication of activation of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiport.

**ΤΑ ΠΕΡΙΦΥΤΙΚΑ ΔΙΑΤΟΜΑ ΤΟΥ ΦΑΙΟΦΥΚΟΥΣ  
*Padina ravnonica* (L.) LAMOUROUX ΣΕ ΔΥΟ ΔΙΑΚΡΙΤΕΣ  
ΑΠΟ ΑΠΟΨΗ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΟΥ  
ΕΥΒΟΪΚΟΥ ΚΟΛΠΟΥ**

**Μπελεγράτη Μ.Ρ. και Α. Οικονόμου-Αμίλλη**

**Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας &  
Ταξινομικής, Πανεπιστημιούπολη, 15784**

Εξετάστηκε η εποχιακή κατανομή των περιφυτικών διατόμων που αναπτύσσονται στην επιφάνεια του θαλλού του φαιοφύκου *Padina ravnonica* (L.) Lamouroux, κατά τη χρονική περίοδο Ιανουάριος 1999 – Δεκέμβριος 1999, σε δύο περιοχές της Ανατολικής Αττικής όπου επικρατούν ευτροφικές και ολιγοτροφικές συνθήκες (Αυλίδα και Δικαστικά, αντίστοιχα).

Το φαιοφύκος *P. ravnonica* έχει ετήσιο κύκλο ζωής και παρουσιάζει, σύμφωνα με παρατηρήσεις μας, διαφορετική ανάπτυξη στις δύο περιοχές. Στα Δικαστικά εμφανίζεται το κλασικό πρότυπο με έναρξη ανάπτυξης στο τέλος του χειμώνα, μέγιστο ανάπτυξης το καλοκαίρι και τερματισμό του κύκλου το φθινόπωρο. Αντίθετα στην Αυλίδα ο κύκλος ανάπτυξης μετατίθεται χρονικά, με έναρξη το καλοκαίρι, μέγιστο ανάπτυξης το χειμώνα και τερματισμό την άνοιξη.

Προσδιορίστηκαν συνολικά 125 ταξινομικές μονάδες διατόμων οι οποίες κατανέμονται σε όλη την επιφάνεια του θαλλού του φαιοφύκου χωρίς συγκεκριμένη προτίμηση σε θέση (βάση, άκρα) ή ηλικιακό υπόστρωμα (νεαρά ή ώριμα άτομα *Padina*) αλλά με ευκρινή εποχιακή διαδοχή. Η στατιστική ανάλυση κοινωνιών ανέδειξε δύο μεγάλα σμήνη, που αντιστοιχούν στην ευτροφική και ολιγοτροφική περιοχή. Στα Δικαστικά η ποικιλότητα ειδών και η βιομάζα ήταν υψηλή το καλοκαίρι, δηλαδή, δεν ακολουθείται το πρότυπο της «ανοιξιάτικης άνθησης» των διατόμων. Στη Αυλίδα η ποικιλότητα ειδών και η βιομάζα ήταν υψηλή την άνοιξη, ενδεχομένως επιβραδύνοντας την ανάπτυξη του φαιοφύκου το οποίο τελικά εξαφανίζεται.



**DIATOMS PERIPHYTIC ON THE PHAEOPHYTE  
*PADINA PAVONICA* (L.) LAMOUROUX AT OLIGO-  
TROPIC AND EUTROPHIC SITES OF THE  
EVOIKOS GULF**

**Belegratis, M.R. and A. Economou-Amilli**

**University of Athens, Faculty of Biology, Department of Ecology &  
Systematics, Panepistimiopolis, 157 84**

The seasonal distribution of epiphytic diatoms thriving on the phaeophyte *Padina pavonica* (L.) Lamouroux was studied on an annual basis (January 1999 until December 1999). Two sites at the East Coast of Attica were selected showing different level of trophic status, i.e. the eutrophic harbour of Avlida and the oligotrophic bay of Dikastika.

The annual phaeophyte *P. pavonica* shows the following different life cycle at the studied areas: At Dikastika, it sprouts during spring, shows maximum growth during summer and disappears during winter. At Avlida the life cycle is shifting and the phaeophyte starts sprouting during summer, finally receding during spring.

In total 125 taxa of diatoms were identified, being equally distributed over the host surface without preference to specific position (thallus base, surface edge) or host age (old or young specimens of *Padina*), but showing a distinct seasonality. Community analysis showed two major groups, clustering the oligotrophic and eutrophic sites. At Dikastika species diversity and biomass was unexpectedly highest during summer, in contrast to the usually reported "spring diatom bloom". At Avlida species diversity and biomass was highest during spring, having a possible negative effect on the host growth, which finally disappears.

## ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ *recA* ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΙΘΑΝΟΛΟΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ *Zymomonas mobilis*

Μπελετσιώτης Ε.Α., Α.Μ. Παππά, Μ.Α. Τύπας

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών  
Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

Το βακτήριο *Zymomonas mobilis* είναι δυνητικά αναερόβιο αρνητικό κατά Gram το οποίο παράγει μεγάλα ποσά αιθανόλης κι επομένως εμφανίζει βιοτεχνολογικό ενδιαφέρον. Δυστυχώς, οι πιθανές του εφαρμογές είναι περιορισμένες επειδή μεταβολίζει μόνο γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη. Προσπάθειες για γενετική τροποποίηση του οργανισμού προσέκρουσαν στην αστάθεια των ανασυνδυασμένων πλασμιδίων και τη φτωχή έκφραση. Συνεπώς κρίθηκε αναγκαία η διερεύνηση του συστήματος ανασυνδυασμού του οργανισμού. Το προϊόν του *recA* γονιδίου είναι μια πολυλειτουργική πρωτεΐνη που εμπλέκεται σε μια σειρά κυτταρικών λειτουργιών, οι οποίες περιλαμβάνουν τον ομόλογο ανασυνδυασμό, την επαγόμενη από χημικά ή και υπεριώδη ακτινοβολία μεταλλαξογένεση, την επιδιόρθωση του DNA και τον συντονισμό της κυτταρικής διαίρεσης.

Το γονίδιο αυτό είναι πολύ συντηρητικό για τα περισσότερα βακτήρια, οπότε σχεδιάστηκαν εκκινητικά ολιγονουκλεοτίδια από συντηρητικές περιοχές του, που σε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ενίσχυσαν τμήμα του γονιδίου μήκους 560 bp. Στη συνέχεια απομονώθηκε και το υπόλοιπο γονίδιο και προσδιορίστηκε η πρωτοταγής του δομή. Η αλληλουχία του γονιδίου αποκάλυψε ένα ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης μήκους 1020 bp το οποίο κωδικοποιεί για μια πιθανή πρωτεΐνη που αποτελείται από 339 αμινοξέα. Η πρωτεΐνη *recA* του *Z.mobilis* βρέθηκε να είναι ομόλογη κατά 83% και 79% με τις αντίστοιχες των βακτηρίων *R. meliloti* και *E. coli*.

Στην 5' αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου δεν ανιχνεύθηκε *E. coli*-like SOS box. Πρόσφατες μελέτες σε φυλογενετικά κοντινούς οργανισμούς προτείνουν ότι το SOS box των βακτηρίων που ανήκουν στην α-ομάδα όπως το *Z.mobilis* μπορεί να είναι η αλληλουχία GTTC-N7-GTTC. Η αλληλουχία αυτή βρίσκεται 148 bp πριν την αρχή του γονιδίου *recA* και στο *Z.mobilis* και φαίνεται ότι έχει τον ίδιο ρόλο.

Τέλος το κλωνοποιημένο *recA* γονίδιο εισήχθη στο *E. coli* στέλεχος DH5a (*recA*<sup>-</sup>) για να διερευνηθεί η ετερόλογη έκφρασή του και η δυνατότητα αναπλήρωσης της μεταλλαγής. Παρατηρήθηκε σαφής συμπληρωματικότητα με μερική όμως αναπλήρωση της *recA* μεταλλαγής, τόσο στο μεταλλαξογόνο MMS όσο και στην υπεριώδη ακτινοβολία.

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF THE  
*recA* GENE OF THE ETHANOL PRODUCING  
BACTERIUM *Zymomonas mobilis***

**Beletsiotis E.A., A.M. Pappas, M.A. Typas**

**Department of Biotechnology and Genetics, Faculty of Biology, University  
of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens**

*Zymomonas mobilis* is a facultative Gram negative, ethanol producing bacterium of biotechnological interest. However, its application is limited by its ability to ferment only glucose, sucrose and sacharose. Genetic alterations have suffered from instability of recombinant vectors and poor expression. Consequently, the establishment of a convenient recombination system in *Z. mobilis* is necessary. The product of *recA* gene is a multifunctional protein involved in a variety of cellular processes, including homologous recombination, chemical and UV mutagenesis, DNA repair and coordination of cell division.

The *recA* gene is very conserved in bacteria: Therefore, primers were synthesized based on conserved sequences and a 560 bp fragment was amplified by PCR. The flanking sequences were amplified and its full sequence was determined. It was shown to consist of an ORF, 1200 bp in length, which encodes a potential protein of 339 aa that has 83% and 79% homology with the RecA proteins of *R. meliloti* and *E. coli*, respectively. Most amino acids that have been identified as being of functional importance in the *E. coli* RecA protein are also conserved in the *Z. mobilis* RecA protein.

The typical *E. coli*-like SOS box was not present in the upstream region of the *Z. mobilis* RecA. However recent data from closely related organisms suggest that the SOS box of the bacteria belonging to the group is the sequence GTTC-N7-GTTC. This sequence was found 148 bp upstream of the *recA* gene.

The cloned *Z. mobilis recA* gene was introduced in *E. coli* strain DH5a (*recA*<sup>-</sup>) in order to investigate the ability to complement the *recA* functions in a heterologous system. Results clearly show complementation of gene products and increased the UV and MMS survival rate, in the mutant *E. coli* strain.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΣΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΟΥ ΔΙΑΒΗΤΗ ΜΕΤΑΞΥ ΕΛΛΑΔΑΣ ΚΑΙ ΦΙΝΛΑΝΔΙΑΣ

Μπόζας<sup>1</sup> Ε., Μ. Sjöroos<sup>2</sup>, Π. Πάσχου<sup>1</sup>, Α. Μαλαμίτση-Puchner<sup>3</sup>, Β.  
Χαβαράνη<sup>1</sup>, J. Ponen<sup>2</sup>, Χ.Σ. Μπαρτσόκας<sup>1</sup>

Παιδιατρικό Ερευνητικό Εργαστήριο Τμ. Νοσηλευτικής Παν/μίου Αθηνών<sup>1</sup>,  
University of Turku, Finland<sup>2</sup>, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική  
Παν/μίου Αθηνών<sup>3</sup>

Η Φινλανδία, με επίπτωση 44/100000 παιδιών κάτω των 15 ετών το χρόνο, παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης ΙΕΣΔ στην Ευρώπη. Στην Ελλάδα η αντίστοιχη επίπτωση είναι 9/100000. Η διαφορά αυτή οφείλεται τόσο σε περιβαλλοντικούς όσο και σε γενετικούς παράγοντες. Αντικείμενο της μελέτης είναι η συσχέτιση της διαφοράς αυτής με τα αλληλόμορφα της περιοχής DQB1 του HLA, που συνδέονται με την εμφάνιση της νόσου. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν δείγματα αίματος από 560 άτομα με ΙΕΣΔ και 10540 άτομα ελέγχου από την Φινλανδία ενώ από την Ελλάδα 72 και 648 αντίστοιχα. Έγινε τυποποίηση για έξι αλληλόμορφα του HLA (\*0201, \*0302, \*0301, \*0602, \*0603 και \*0604) με τη μέθοδο της φθοριομετρίας χρονικού διαχωρισμού (time resolved fluorometry), σε προϊόντα PCR. Στατιστικός έλεγχος έδειξε ότι για τους δύο πληθυσμούς γονότυπος υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΙΕΣΔ είναι ο \*0201, \*0302 και μετρίου κινδύνου ο \*0302/x. Στον ελληνικό πληθυσμό και ο \*0201/x προσδίδει μέτριο κίνδυνο για την εμφάνιση της νόσου. Τα αλληλόμορφα \*0301 και \*0602/\*0603 είναι προστατευτικά και στους δύο πληθυσμούς. Από τη σύγκριση των δύο πληθυσμών προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφορές τόσο στα άτομα ελέγχου όσο και στα άτομα με διαβήτη. Το προστατευτικό \*0301 εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό (33,9%) στους Έλληνες από ότι στους Φιλανδούς (9%). Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι ο γονότυπος \*0201,x εμφανίζεται στο 37,5% των Ελλήνων με διαβήτη και μόνο στο 16,1% των Φιλανδών. Αντιστρόφως ο γονότυπος \*0302,x συναντάται στο 31,2% των Φιλανδών και στο 15,3% των Ελλήνων με διαβήτη. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι ένα μέρος της διαφοράς της συχνότητας του ΙΕΣΔ στις δύο χώρες μπορεί να έχει και γενετική βάση.

## **GENETIC BASIS OF IDDM INCIDENCE DIFFERENCES BETWEEN GREECE AND FINLAND**

**E. Bozas<sup>1</sup>, M. Sjöroos<sup>2</sup>, P. Paschou<sup>1</sup>, A. Malamitsi-Puchner<sup>3</sup>, B. Havarani<sup>1</sup>, J. Ilonen<sup>2</sup>, C.S. Bartsocas<sup>1</sup>**

**Pediatric Research Laboratory, Faculty of Nursing, University of Athens<sup>1</sup>  
University of Turku, Finland<sup>2</sup>, Dept. of Obstetrics & Gynecology, University of Athens<sup>3</sup>**

A north to south gradient in IDDM (Insulin Dependent Diabetes Mellitus) incidence is well established. Finland is the country with the highest annual incidence of IDDM (Insulin Dependent Diabetes) in children under the age of 15 in Europe (44/100,000). The incidence of IDDM in Greece is 9/100,000. This difference can be attributed both to environmental and genetic factors. Objective of this study is to associate this difference with the HLA-DQB1 IDDM related alleles. Blood spots from 560 diabetics and 10,540 control subjects from Finland were used for this purpose. 72 and 648 samples respectively were collected from Greece. The samples were typed for 6 HLA-DQB1 alleles (\*0201,\*0302,\*0301,\*0602, \*0603 and \*0604) using a method that utilizes time-resolved fluorometry to detect the hybridization of lanthanide-labeled allele specific oligonucleotide probes with amplified gene product. Statistical analysis (chi square test) showed that \*0201,\*0302 is a high risk genotype for the development of IDDM in both populations, whereas \*0302,x is a moderate risk genotype (x meaning \*0302 or a nondefined allele). Furthermore \*0201,x is related with moderate risk for the disease in the Greek population. \*0301 and \*0602/ \*0603 offer protection both to Greeks and Finns. Comparison of the two populations shows statistically significant differences both in patients with IDDM and controls. More specifically 33.9% of the Greek reference population had the protective genotype \*0301 in comparison with the 9% of the Finnish control subjects. What is also of interest is the fact that 37.5% of the Greek patients, while only 16.1% of the Finns were positive for \*0201,x. On the other hand 31.2% of the Finnish IDDM patients and only 15.3% of the Greeks had the moderate risk genotype \*0302, x. These results may explain a genetic basis of the IDDM incidence difference between the two countries.

## ΕΞΕΛΙΞΗ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΩΝ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΟΜΑΔΑΣ

Μπουγιούκος Κ.Σ., Π. Παυλίδης, Ι. Σούρδης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας,  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ιερά Οδός 75 Αθήνα 11855

Οι εξελικτικοί αλγόριθμοι έχουν πλέον καθιερωθεί ως ένα υπολογιστικό εργαλείο και χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο σε εφαρμογές διαφόρων επιστημονικών κλάδων. Στους αλγόριθμους αυτούς γίνεται χρήση, λίγο ή πολύ, των γενετικών εξελικτικών διαδικασιών, και η προσέγγιση στη βέλτιστη λύση των εφαρμογών είναι ανάλογη αυτής της Φυσικής Επιλογής προς τον αρμοστικότερο. Υπάρχει ένα μεγάλο πλήθος εξελικτικών διαδικασιών που εμφανίζονται στην υλοποίηση αυτών των αλγορίθμων, διαδικασίες που είναι δυνατόν κατά το μάλλον ή ήττον να περιγραφούν θεωρητικά.

Όμως σε πολλές περιπτώσεις δεν είναι δυνατόν να ακολουθηθούν αυτές οι προσεγγίσεις και τούτο διότι δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί η περιγραφή των εμπλεκόμενων διαδικασιών και ως εκ τούτου δεν υπάρχει το θεωρητικό τους πρότυπο. Μια από αυτές τις περιπτώσεις έχει να κάνει με το πρόβλημα της επιλογής ομάδας. Το συναντήσαμε αυτό το πρόβλημα όταν ασχοληθήκαμε με τον προσδιορισμό των πλέον φειδωλών λύσεων στη Μοριακή Φυλογενετική.

Δεν είναι γνωστό πως η Φυσική Επιλογή επιλύει παρόμοια προβλήματα και ούτε βέβαια ήταν δυνατόν να κάνουμε χρήση ανάλογων θεωρητικών προτύπων. Έτσι ως πρώτη προσπάθεια επέκτασης των εξελικτικών αλγορίθμων από το επίπεδο του ατόμου στο επίπεδο της ομάδας, πειραματιστήκαμε με διάφορους τύπους αρμοστικότητας.

Επιπλέον είναι απαραίτητο τα άτομα να εφοδιαστούν με κατάλληλες στρατηγικές συμπεριφοράς εντός και μεταξύ των ομάδων για να είναι δυνατή η προσομοίωση του «αγώνα για επιβίωση» της ομάδας με χρήση εξελικτικών αλγορίθμων.

Στα διάφορα πειράματα προσομοίωσης αναδύονται μερικές στρατηγικές συμπεριφοράς με ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά. Εξετάζουμε τις συνθήκες κάτω από τις οποίες η Φυσική Επιλογή ευνοεί την εξέλιξη αυτών των στρατηγικών.

## **EVOLUTION OF BEHAVIOURAL STRATEGIES ON GROUP SELECTION**

**Bouyoukos C.S., P. Pavlidis & J. Sourdis**

**Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology,  
Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos, Athens 11855**

Evolutionary algorithms are ubiquitous nowadays, having been successfully applied to numerous problems from different domains. All of these algorithms have at least some of the formal structure of genetic systems and the approach to the best solution in the applications is analogous to the natural selection of the fittest. There have been an enormous number of evolutionary processes used in these algorithms, all of which are more or less theoretically described.

However, in many cases the applicability of such approaches is not possible, due to the blurred view of the underlying procedures. One of these procedures has to do with the group selection issue. We had been faced with this difficulty in the attempt to determine the set of the most parsimonious solutions in molecular phylogenetics.

It is not known how natural selection solves similar problems and no theoretical descriptions exist. So, we have been using various relevant fitness functions in order to extend the fitness of the individual solution to the group of related ones.

Furthermore, it is necessary the individuals to be endowed with appropriate behaviour within and between groups, for simulating by evolutionary algorithms their "strangle for survival". In computer simulation experiments some behavioural strategies have emerged with very interesting characteristics. Conditions are analysed under which natural selection favours the evolution of these strategies.

## Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΔΡΕΝΑΛΙΝΗΣ ΣΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΑΝΤΛΙΑΣ ΑΝΤΑΛΛΑΓΗΣ $\text{Na}^+ \text{-H}^+$ ΣΕ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

**Μπουρίκας Δ.<sup>1</sup>, Μ. Καλογιάννη<sup>1</sup>, Γ. Κολιάκος<sup>2</sup>, Μ. Μπουγουλιά<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών Α.Π.Θ, Θεσσαλονίκη, <sup>2</sup>Εργαστήριο Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή, Α.Π.Θ, Θεσσαλονίκη, <sup>3</sup>Ενδοκρινολογική Κλινική, Νοσοκομείο "Παναγία", Θεσσαλονίκη

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η ρύθμιση της αντλίας ανταλλαγής ιόντων  $\text{Na}^+ \text{-H}^+$  σε ερυθροκύτταρα από παχύσαρκους και κανονικούς σε βάρος δότες. Συγκεντρώσεις αδρεναλίνης 520 pM και 20000 pM ενεργοποίησαν την αντλία στα ερυθροκύτταρα προκαλώντας αύξηση στο ενδοκυτταρικό pH  $0.1094 \pm 0.02$  και  $0.04 \pm 0.01$  μονάδες pH, πάνω από την αρχική τιμή, σε παχύσαρκους και κανονικούς σε βάρος δότες, αντίστοιχα. Το ενδοκυτταρικό pH μετρήθηκε με την ευαίσθητη στο ενδοκυτταρικό pH φθορίζουσα ουσία, 2', 7'-bis (carboxyethyl)-5(6)-carboxy fluorescein (BCECF). Επιπλέον η αύξηση του ρυθμού εισόδου ιόντων  $\text{Na}^+$  ( $93.15 \pm 14.88$  mmoles Na/lit ερυθρών/hr σε κανονικούς σε βάρος δότες και  $128.28 \pm 7.06$  mmoles Na/lit ερυθρών/hr σε παχύσαρκους δότες) που προκλήθηκε από την επώαση των ερυθρών με αδρεναλίνη, επιβεβαίωσε την ενεργοποίηση της αντλίας και στις δύο ομάδες που μελετήθηκαν. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η επίδραση της αδρεναλίνης στην αντλία ιόντων  $\text{Na}^+ \text{-H}^+$  ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα ερυθροκύτταρα παχυσάρκων σε σχέση με αυτά της ομάδας ελέγχου. Η επίδραση αυτή της αδρεναλίνης αναστάλθηκε από amiloride (1mM), τον αναστολέα της αντλίας ιόντων  $\text{Na}^+ \text{-H}^+$  και ελαττώθηκε παρουσία stauroporin (20 nM), τον αναστολέα της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), και στις δύο ομάδες που μελετήθηκαν. Χρήση του PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate), ενεργοποιητή της PKC, έδειξε μικρή αλλά σημαντική αύξηση του ενδοκυτταρικού pH των ερυθροκυττάρων και στις δύο ομάδες που μελετήθηκαν. Για τον λόγο αυτό θα μπορούσαμε να προτείνουμε την πιθανή ενεργοποίηση της αντλίας ανταλλαγής ιόντων  $\text{Na}^+ \text{-H}^+$  των ερυθροκυττάρων από την αδρεναλίνη, μέσω της  $\text{Ca}^{2+}$ -εξαρτώμενης καθώς και της cAMP-εξαρτώμενης πρωτεϊνικής κινάσης.



## THE EFFECT OF ADRENALINE ON THE ACTIVITY OF Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> ANTIPORT IN HUMAN ERYTHROCYTES

Bourikas D.<sup>1</sup>, M. Kaloyianni<sup>1</sup>, G. Koliakos<sup>2</sup>, M. Bougoulia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54006 Thessaloniki,

<sup>2</sup>Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>3</sup> Endocrine Department, 'Panagia' Hospital, Thessaloniki

In the present study the modulation of the Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiport in erythrocytes from obese and lean subjects was examined. Adrenaline concentrations of 520 pM and 20000 pM activated the antiport in erythrocytes displaying a rise of intracellular pH of  $0.1094 \pm 0.02$  and of  $0.04 \pm 0.01$  pH units over basal value in obese and lean subjects respectively. Intracellular pH was measured with the fluorescent pH-sensitive intracellular probe, 2', 7' - bis (carboxyethyl)-5(6)-carboxy fluorescein (BCECF). In addition the increase of Na<sup>+</sup> uptake ( $93.151 \pm 14.88$  mmoles Na/ltr red cells/hr in lean subjects and  $128.28 \pm 7.06$  mmoles Na/ltr red cells/hr in obese subjects) induced by the incubation with adrenaline confirmed the activation of the antiport in both groups studied. Our results showed that the effect of adrenaline on Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiport appeared to be significantly greater in erythrocytes from obese subjects in relation to lean subjects. The latter effect of adrenaline was inhibited by amiloride (1 mM), an inhibitor of the Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiport. Furthermore, it was reduced by staurosporin (20 nM) an inhibitor of the protein kinase C (PKC) in both groups studied. PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate), an activator of PKC, showed a small but significant increase of the intracellular pH of the erythrocytes. Therefore we could suggest that adrenaline stimulates Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiport in erythrocytes through Ca<sup>2+</sup>-dependent as well as cAMP-dependent protein kinase.

## ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΤΩΝ δ-ΚΑΙ μ-ΟΠΙΟΕΙΔΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ, ΠΟΥ ΕΥΘΥΝΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΟΥ ΜΗΝΥΜΑΤΟΣ

Μόρου Ε., Μ. Γαζούλη, Γ. Μαζαράκου, Α. Προμπονά  
και Ζ. Γεωργούση

Ινστ/το Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή-Αττικής.  
Email: iro@mail.demokritos.gr

Πρόσφατες μελέτες μας, σχετικές με τις αλληλεπιδράσεις των οπιοειδών υποδοχέων με τις G πρωτεΐνες, έδειξαν ότι η τρίτη ενδοκυτταρική θηλειά ευθύνεται για την σύζευξη τους με τις G πρωτεΐνες και την αναστολή της αδενυλικής κυκλάσης. Σε μια προσπάθεια ανάπτυξης αναλόγων που θα μπορούσαν επιλεκτικά να μπλοκάρουν ή να ενεργοποιήσουν *in vivo*, αλληλεπιδράσεις υποδοχέων με G πρωτεΐνες, σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε ένα μικρογονίδιο από την τρίτη ενδοκυτταρική θηλειά του δ-οπιοειδούς υποδοχέα (pcDNA<sub>3</sub>-di.3). Παροδικές επιμολύνσεις κυττάρων COS-7 με το cDNA, που εκφράζει τον δ-οπιοειδή υποδοχέα παρουσία ή μη, του μικρογονιδίου pcDNA<sub>3</sub>-di.3 έδειξαν να μην τροποποιούν την ειδική πρόσδεση της [<sup>3</sup>H] διπρενορφίνης. Παρόμοια αποτελέσματα μη αλλαγής της έκφρασης του μ-οπιοειδή υποδοχέα, παρατηρήθηκαν και σε πειράματα επιμολύνσεων του pcDNA<sub>3</sub>-di.3, σε μετασχηματισμένα κύτταρα EE-HEK 293, που εκφράζουν μόνιμα τον μ-υποδοχέα. Τα αποτελέσματα αυτά δεικνύουν ότι το πεπτίδιο της τρίτης ενδοκυτταρικής θηλειάς έχει την ικανότητα σε ολόκληρα κύτταρα να αλληλεπιδρά με τις Gi πρωτεΐνες σε ομόλογους (δ) και σε ετερόλογους υποδοχείς (μ) και να παρεμβαίνει στην μετάδοση του μηνύματος των δ- και μ- υποδοχέων που συζεύγνυνται με τον ίδιο Gi πληθυσμό των G πρωτεϊνών. Με σκοπό να πιστοποιηθεί ο ρόλος του συντηρημένου ασπαρτικού οξέος (D145) της δεύτερης ενδοκυτταρικής θηλειάς των δ-οπιοειδών υποδοχέων πραγματοποιήθηκαν κατευθυνόμενες σημειακές μεταλλάξεις. Μεταλλαγή του D145 σε αλανίνη είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της έκφρασης του δ-υποδοχέα, με ταυτόχρονη μείωση των επιπέδων του cAMP σε σύγκριση με αυτά του αγρίου τύπου. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα αποδεικνύουν τη σημασία της τρίτης και δεύτερης ενδοκυτταρικής θηλειάς των οπιοειδών υποδοχέων στη μετάδοση του μηνύματος και δηλώνουν ότι η μεσεπιφάνεια (interface) υποδοχέα-G πρωτεΐνης μπορεί να αντιπροσωπεύσει ένα πρωτοποριακό στόχο στο σχηματισμό νέων φαρμάκων.

*Χρηματοδότηση ΥΠΕΡ6, ΕΠΕΤΠ 2.1 και Δημοέρευνα της Ζ.Γ.*

## **STUDIES OF THE FUNCTIONAL DOMAINS OF $\delta$ - AND $\mu$ -OPIOID RECEPTORS, RESPONSIBLE FOR G PROTEIN COUPLING SPECIFICITY**

**Morou E., M.Gazouli, G. Mazarakou, A. Prombona & Z. Georgoussi**

**Institute of Biology, N.C.S.R «Demokritos», Agia Paraskevi-Attikis.**

**Email:iro@mail.demokritos.gr**

Opioid receptors belong to the large superfamily of G protein coupled receptors (GPCRs) that couple to members of the  $G_i\alpha/G_o\alpha$  family to inhibit adenylyl cyclase. Recent studies from our laboratory concerning the interactions of opioid receptors with G proteins, have shown that the third intracellular loop and a part of the C-terminal tail are responsible for coupling to G proteins and for the inhibition of adenylyl cyclase. Based on these observations and in order to design and develop analogues that could potentially block or activate selectively in vivo, the interactions of these receptors with G proteins, or other downstream signaling components, we designed and constructed a minigene corresponding to the third intracellular loop of the  $\delta$ -opioid receptor (pcDNA<sub>3</sub>-di.3). Transient transfection of COS-7 cells with the cDNA of the  $\delta$ -opioid receptor in the presence or not of the pcDNA<sub>3</sub>-di.3 minigene, have shown no alterations in the specific binding of [<sup>3</sup>H]-diprenorphine for these cells. Similar results were also observed when the transfection experiments were performed with the pcDNA<sub>3</sub>-di.3 in EE-HEK 293 cells, stably transformed with the  $\mu$ -opioid receptor. Our results indicate that the peptide corresponding to the third intracellular loop, expressed by the minigene, is able to interact specifically with the  $G_i$  population of G proteins, for both  $\mu$ - and  $\delta$ -opioids receptors in whole cells. Parallel mutagenesis experiments of the conserved aspartic acid 145D of the second intracellular loop of  $\delta$ -opioid receptor, have shown that replacement of 145D to alanine (A) reduced the expression of  $\delta$ -opioid receptor, with a concomitant decrease of cAMP accumulation, compared to the wild type  $\delta$ -receptor. Our results underlie the significance of the third and second intracellular loops for the signal transfer for both  $\mu$ - and  $\delta$ -opioid receptors, and suggest a strategy whereas the receptor-G protein interface may represent a target for novel receptor drugs.

*Supported by YPER6, EPETII 2.1 and Demoerevna grants to Z.G.*

## Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΩΣ ΡΑΔΙΟ- ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ ΣΕ $\gamma$ -ΑΚΤΙΝΟΒΟ- ΛΗΜΕΝΑ ΥΔΑΤΙΚΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ DNA

Μωρούτ Π.<sup>1</sup>, Κ.Σ. Χαβελές<sup>1</sup>, Ε-Ε Βισβάρδης<sup>1</sup>,  
Β. Σοφianoπούλου<sup>1</sup>, Α. Σακελλίου<sup>2</sup> και Ε.Ε. Σιδέρης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ινστ/το Βιολογίας ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος", Αγία Παρασκευή, 15310 Αθήνα

<sup>2</sup>Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φυσικής, 15170 Αθήνα, Ελλάδα.

Δημοσιευμένες μελέτες δείχνουν ότι, η ενισχυτική δράση του οξυγόνου στην επαγωγή κυτταρικού θανάτου από την επίδραση ιονίζουσας ακτινοβολίας (ένα ραδιοβιολογικό δεδομένο χρησιμοποιούμενο ευρύτατα στην ακτινοθεραπεία) συναρτάται προς την παρουσία γλουταθειόνης (glutathione, GSH) ή άλλων ανηγμένων θειολών. Στην εργασία αυτή μελετάται η τροποποίηση της βλάβης του DNA εξαιτίας της GSH, της κυριότερης διαλυτής θειόλης στα κύτταρα (τα κύτταρα περιέχουν 0.5-10mM GSH) σε  $\gamma$ -ακτινοβολημένα *in vitro* διαλύματα DNA από θύμο αδένα μόσχου, υπό την παρουσία ή την απουσία οξυγόνου. Υδατικά διαλύματα δειγμάτων DNA από θύμο αδένα μόσχου ακτινοβολήθηκαν με  $\gamma$ -ακτινοβολία κάτω από διάφορες συγκεντρώσεις GSH. Η σταθερότητα των δίκλωνων μορίων του DNA και η επαγωγή μονόκλωνων θραύσεων (single strand breaks, ssbs) και δίκλωνων θραύσεων (double strand breaks, dsbs) των δειγμάτων DNA εκτιμήθηκαν χρησιμοποιώντας φασματοφωτομετρία θερμικής μετάπτωσης και ηλεκτροφόρηση DNA αντίστοιχα. Τα δείγματα DNA που εκτέθηκαν σε  $\gamma$ -ακτινοβολία απουσία GSH έδειξαν την αναμενόμενη μείωση της σταθερότητας των μορίων του DNA, όπως αυτή μετρείται από τη θερμοκρασία τήξης,  $T_m$ , και μία αύξηση στην επαγωγή ssbs και dsbs του DNA. Η παρουσία GSH, σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0-1mM GSH) οδηγεί σε σταθεροποίηση του DNA και μείωση στην ποσότητα των επαγόμενων ssbs και dsbs. Παρόλα αυτά μια απρόσμενη προσθετική βλάβη στο DNA παρατηρήθηκε υπό αναερόβιες συνθήκες όταν χρησιμοποιήθηκαν υψηλότερες, αν και εντός των φυσιολογικών ορίων, συγκεντρώσεις GSH (>5mM). Προτείνεται ότι ο ραδιοπροστατευτικός ρόλος της GSH είναι αναστρέψιμος σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 5mM.

## ROLE OF GLUTATHIONE AS A RADIOPROTECTOR IN $\gamma$ -IRRADIATED AQUEOUS DNA SOLUTIONS

Morout P.<sup>1</sup>, K.S. Haveles<sup>1</sup>, E-E Visvardis<sup>1</sup>, V. Sophianopoulou<sup>1</sup>, L. Sakelliou<sup>2</sup> & E.G. Sideris<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inst. of Biology, NCSR "Demokritos", A. Paraskevi, 15310 Athens, Greece

<sup>2</sup>University of Athens, Department of Physics, 15170 Athens, Greece

Previously published studies have shown that the oxygen enhancement of cell killing by ionizing radiation is related to the presence of glutathione (GSH), or other reduced thiols (a radiobiological fact widely utilized in radiotherapy). In the present study, the modification of DNA damage by GSH, the major soluble thiol in cells (typical cells contain 0.5-10mM GSH), on  $\gamma$ -irradiated *in vitro* calf thymus DNA aqueous solutions in the presence and absence of oxygen are studied. Aqueous solutions of calf thymus DNA were  $\gamma$ -irradiated under various GSH concentrations. The stability of the native DNA molecules and the yield of single strand breaks (ssbs) and double strand breaks (dsbs) were estimated using thermal transition spectrophotometry and DNA electrophoresis respectively. In the absence of GSH, the samples showed the expected decrease in their stability, as it is measured by studying the  $T_m$ , as well the induction of DNA ssbs and dsbs, after  $\gamma$ -irradiation exposure. The presence of low concentration of GSH (0-1mM) leads to a significant stabilization of DNA helix and decrease in the ssbs and dsbs yield. An additional DNA damage was observed, in the absence of oxygen, at higher, although within the physiological cell range, concentrations of GSH (>5mM). The reversibility of the radioprotective role of GSH, in higher concentrations than 5mM is proposed.

## ΣΤΑΔΙΟΕΙΔΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΩΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΗ *Drosophila melanogaster*

Νέζης Ι.Π.<sup>1</sup>, Δ. Στραβοπόδης<sup>1</sup>, Ι. Παπασιδέρη<sup>1</sup>, Μ. Robert-Nicoud<sup>2</sup>  
και Α.Χ. Μαργαρίτης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784, <sup>2</sup>DyoGen, INSERM U309, Institute Albert Bonniot, Joseph Fourier University, Grenoble, France

Παρουσιάζουμε την ύπαρξη δύο γεγονότων προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στα τροφοκύτταρα της *D. melanogaster* κατά τη διάρκεια της ωογένεσης. Το πρώτο είναι αναπτυξιακά ελεγχόμενο και συμβαίνει στο στάδιο 12, ενώ το δεύτερο είναι σταδιοειδικό και παρατηρείται σποραδικά στα στάδια 7 και 8 της ωογένεσης. Η εκδήλωση της απόπτωσης στην πρώτη περίπτωση, αρχίζει στο στάδιο 11 και χαρακτηρίζεται από την περιπυρηνική αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού ακτίνης και τη δημιουργία λοβών και εγκολπώσεων στους πυρήνες των τροφοκυττάρων που είναι κοντά στο ωοκύτταρο. Στη συνέχεια, στο στάδιο 12C, οι μισοί τροφοκυτταρικοί πυρήνες παρουσιάζουν συμπυκνωμένη χρωματίνη, ενώ στο στάδιο 13 όλοι τους έχουν κατακερματισμένο DNA. Τελικά τα αποπτωτικά κυστίδια που έχουν δημιουργηθεί κατά τη διάρκεια του σταδίου 13, φαγοκυτταρώνονται από τα γειτονικά θυλακοκύτταρα και στο στάδιο 14 τα πυρηνικά κατάλοιπα των τροφοκυττάρων παρατηρούνται εντός των φαγοσωμάτων των θυλακοκυττάρων. Στο δεύτερο σποραδικά παρατηρούμενο αποπτωτικό γεγονός, όλοι οι πυρήνες των τροφοκυττάρων είναι συμπυκνωμένοι και έχουν κατακερματισμένο DNA, ενώ ο κυτταροσκελετός της ακτίνης είναι αποδιοργανωμένος. Μετά από επαγωγή της απόπτωσης σε ωοθυλάκια *D. melanogaster in vitro*, μέσω επώασης σε etoposide και σταυροσπορίνη, παρατηρήθηκε παρόμοια έκφραση της απόπτωσης στα στάδια 7 και 8. Σύμφωνα με τις παραπάνω παρατηρήσεις προτείνεται ένας πιθανός προστατευτικός μηχανισμός κατά την ωογένεση στη *D. melanogaster*, όπου τα ανώμαλα, τραυματισμένα ή αυθορμητώς μεταλλαγμένα ωοθυλάκια, αυτοκατα-στρέφονται μέσω της απόπτωσης πριν ωριμάσουν, αποκλείοντας έτσι τη δημιουργία μη φυσιολογικών ενήλικων ατόμων.

## STAGE SPECIFIC APOPTOTIC PATTERNS DURING *Drosophila melanogaster* OOGENESIS

Nezis I.P.<sup>1</sup>, D. Stravopodis<sup>1</sup>, I. Papassideri<sup>1</sup>, M. Robert-Nicoud<sup>2</sup>,  
& L.H. Margaritis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology and  
Biophysics, Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece

<sup>2</sup>DyoGen, INSERM U309, Institute Albert Bonniot, Joseph Fourier  
University, Grenoble, France

In the present study we demonstrate the existence of two apoptotic patterns in *Drosophila* nurse cells during oogenesis. One is developmentally regulated and normally occurs at stage 12 and the other is stage specific and is sporadically observed at stages 7 and 8 of abnormally developed follicles. The apoptotic manifestation of the first pattern begins at stage 11 and is marked by a perinuclear rearrangement of actin cytoskeleton and the development of extensive lobes and engulfments of the proximal to the oocyte nurse cell nuclei. Consequently, at the late stage 12 (12C), half of the nurse cell nuclei exhibit condensed chromatin, while at the late stage 13 all the nuclei have fragmented DNA, as it is clearly shown by TUNEL assay. Finally, the apoptotic vesicles that are formed during stage 13, are phagocytosed by the neighboring follicle cells and at stage 14 the nurse cell nuclear remnants can be easily detected within the adjacent follicle cell phagosomes. In the second sporadic apoptotic pattern, all the nurse cell nuclei are highly condensed with fragmented DNA, accompanied by a completely disorganized actin cytoskeleton. When we induced apoptosis in *Drosophila* follicles through an etoposide and staurosporine *in vitro* treatment, we observed a similar pattern of stage specific cell death at stages 7 and 8. These observations suggest a possible protective mechanism throughout *Drosophila* oogenesis that results in apoptosis of abnormal, damaged or spontaneously mutated follicles before they reach maturity.

*This project was supported by the Special Account for Research Grants of Athens University*

## **Η ΜΟΡΦΗ ΤΗΣ ΡΑΧΗΣ ΤΟΥ ΧΕΡΙΟΥ, Η ΜΟΡΦΗ ΤΩΝ ΑΚΡΩΝ ΤΩΝ ΔΑΚΤΥΛΩΝ ΚΑΙ Η ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΕΙΚΤΗ-ΠΑΡΑΜΕΣΟΥ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΣΤΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΘΡΑΚΗ**

**Νεοφύτου Ε.Π., Μ.Σ. Παπακώστας, Χ.Σ. Καλαϊτζής  
και Α. Πέντζου-Δαπόντε**

**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,  
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης**

Η μελέτη για τα χαρακτηριστικά πραγματοποιήθηκε σε μαθητές και μαθήτριες των Γυμνασίων και Λυκείων της ευρύτερης γεωγραφικής περιοχής που περιλαμβάνει τη Μακεδονία και τη Θράκη. Μελετήθηκαν τρία χαρακτηριστικά γνωρίσματα στην περιοχή του άκρου χεριού που είναι τα παρακάτω:

- α. Η μορφή της ράχης του χεριού που μπορεί να είναι κωνική, σπαθοειδής ή τετράγωνη,
- β. Η μορφή των άκρων των δακτύλων που μπορεί να είναι κωνική, σπαθοειδής, τετραγωνική ή πληκτροειδής και
- γ. η αναλογία μεταξύ των δακτύλων του δείκτη και του παράμεσου που μπορεί να είναι ίσα, μεγαλύτερος ο δείκτης ή μεγαλύτερος ο παράμεσος.

Αναλυτικά για κάθε χαρακτηριστικό γνώρισμα ξεχωριστά, οι μορφές και τα ποσοστά που εμφανίζονται έχουν ως εξής:

1. για η μορφή της ράχης του χεριού κυριαρχεί η σπαθοειδής και μετά ακολουθούν η τετράγωνη και η κωνική.
2. για η μορφή των άκρων των δακτύλων φαίνεται να κυριαρχεί η σπαθοειδής και μετά ακολουθούν η κωνική. Πολύ κοντά βρίσκεται η τετραγωνική και τελευταία η πληκτροειδής.
3. για την αναλογία μεταξύ δείκτη και παράμεσου δείχνει σε μεγάλο ποσοστό το δείκτη να είναι μακρύτερος απ' τον παράμεσο. Το αντίθετο συμβαίνει σε μικρότερο ποσοστό. Σε ακόμη μικρότερο ποσοστό τα δύο δάκτυλα έχουν το ίδιο μήκος.



## **THE STRUCTURE OF THE BACK OF THE PALM, THE STRUCTURE OF THE FINGERTIPS AND THE ANALOGY BETWEEN POINT-FINGER AND RING FINGER ON PEOPLE IN MACEDONIA & THRACE**

**Neophitou E.P., Papakostas M.S., Kalaitzis X.S.  
& A. Pentzou-Daponte**

**Section of Genetic Development and Molecular Biology, Department of  
Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessalonica.**

The study of the characteristics was done on students of Junior High and High School of the greater geographical areas, which surrounds Macedonia and Thrace. Three known characters were studied on the palm, which are the following:

- a. The structure of the back of the palm can be conical, spatula, or square.
- b. The structure of the fingertips can be conical, spatula, square or with the form of key button.
- c. The analogy between the point-finger and the ring finger could be equal or the point-finger longer than the ring finger or vice versa.

For every known character the structures and the percentages that appear are as follows:

1. For the form of the back of the palm dominates the spatula and follow the square and the conical.
2. For the structure of the fingertips, the spatula seems to dominate and the conical comes after. Next, is the square and last the key button form.
3. For the analogy between the point-finger and the ring finger, in most cases, the point-finger is longer in women and the opposite is seen in men. This shows that the responsible gene is influenced by sex. Sometimes the fingers can be equal but this is rare.

## ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΝΕΡΟΥ

**Νικολακοπούλου, Θ., Αρβανίτης, Ν., Κοράκη, Δ.  
και Α.Δ. Καραγκούνη**

**Τομέας Βοτανικής, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 ΑΘΗΝΑ**

Η πλειονότητα των μικροοργανισμών που απαντώνται στα θαλάσσια οικοσυστήματα δεν είναι δυνατό να απομονωθούν σε καθαρές καλλιέργειες στο εργαστήριο. Έτσι είναι απαραίτητη η άμεση ανίχνευση συγκεκριμένων γονιδίων σε μικροβιακούς πληθυσμούς που συναντώνται σε υδάτινα οικοσυστήματα.

Αναπτύξαμε μία απλή τεχνική για την άμεση απομόνωση DNA από τα θαλάσσια δείγματα. Δείγματα θαλασσινού νερού από μολυσμένες και μη μολυσμένες με αντιβιοτικά περιοχές δειγματοληψίας, συμπυκνώθηκαν σε ηθμό και ακολούθησε μηχανική και χημική λύση των κυττάρων. Η καθαρότητα του απομονωμένου DNA αξιολογήθηκε με PCR (Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης)

Ενδογενή στελέχη ανθεκτικά στην τετρακυκλίνη απομονώθηκαν Σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα με την προσθήκη ορισμένης συγκέντρωσης τετρακυκλίνης. Από καθαρές καλλιέργειες των στελεχών απομονώθηκε ολικό και πλασμιδιακό DNA.

Σχεδιάστηκαν εκκινητές (primers) για επτά ομάδες γονιδίων ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη, και έγινε έλεγχος της ύπαρξης αυτών των γονιδίων σε ολικό DNA από τα δείγματα. Δοκιμασίες PCR έγιναν επίσης στο χρωμοσωμικό και πλασμιδιακό DNA από τις καθαρές καλλιέργειες, προκειμένου να προσδιοριστεί η θέση του κάθε γονιδίου στο χρωμόσωμα ή στα πλασμίδια.

## **DETECTION OF TETRACYCLINE RESISTANCE GENES IN SEAWATER SAMPLES**

**Nikolakopoulou T., N. Arvanitis, D. Koraki & A.D. Karagouni**

**Department of Botany, Microbiology Laboratory, School of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens, Greece**

The direct detection of specific gene sequences present in aquatic microbial communities has become increasingly important due to the lack of culturability of the vast majority of microorganisms in the sea.

We developed a simple technique for the direct extraction of purified DNA from aquatic samples. Seawater samples from antibiotic polluted and non-polluted sites were concentrated on filter membranes and cells were mechanically and chemically lysed using bead-beating procedure, to ensure DNA release from actinomycetes spores. The purity of the crude extracted DNA was evaluated by PCR tests.

Tetracycline resistant strains were isolated on solid media with the addition of tetracycline. Total DNA and plasmid DNA was isolated from pure cultures of the indigenous resistant strains.

Primers for seven classes of tetracycline resistance genes, to screen total community DNA from the samples. PCR tests were also performed on total and plasmid DNA, to locate the genes on the chromosome or the plasmids of the strains

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΔΥΟ ΑΜΙΝΟΤΕΛΙΚΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΚΑΤΑΣΤΟΛΕΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ *Tup1* ΤΗΣ ΖΥΜΗΣ

Νικολόπουλος Γ.<sup>1</sup>, Α. Τάρτας<sup>2</sup>, Μ. Σεφέρη<sup>2</sup>, Δ. Τζαμαρίας<sup>3</sup>,  
Μ. Πελεκάνου<sup>2</sup>, Μ. Βλάση<sup>2</sup> και Δ. Γιαννουκάκος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Ραδιοϊσοτόπων & Ραδιοδιαγνωστικών Προϊόντων, <sup>2</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ "Δ", Αθήνα, <sup>3</sup>Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας, Ηράκλειο Κρήτης.

Η καταστολή της μεταγραφής τουλάχιστον επτά οικογενειών γονιδίων του *S. cerevisiae* απαιτεί τη φυσική αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών Ssn6 και *Tup1*. Στην αλληλεπίδραση αυτή εμπλέκονται τα 72 αμινοτελικά αμινοξέα της *Tup1*. Επίσης είναι γνωστό ότι στο σχηματισμό του συμπλόκου συμμετέχουν τέσσερα μόρια της *Tup1*. Η δομή όμως της πρωτεΐνης δεν είναι γνωστή.

Στην παρούσα μελέτη έγινε έκφραση σε κύτταρα *E.coli* και βιοχημική απομόνωση, σε ποσότητες mg, του τμήματος της *Tup1* που περιέχει τα 72 αμινοτελικά της αμινοξέα (TN72). Επιπλέον εκφράστηκε και απομονώθηκε και ένα μεγαλύτερο τμήμα της που περιέχει τα 250 αμινοτελικά αμινοξέα (TCA). Το δεύτερο τμήμα επιλέχθηκε λόγω της μεγαλύτερης σταθερότητας που παρουσιάζει στο διάλυμα.

Στη συνέχεια χαρακτηρίστηκε η κατάσταση πολυμερισμού τους με χρήση πηκτώματος ακρυλαμιδίου σε μή- αποδιατακτικές συνθήκες (native gel). Παράλληλα έγινε δομικός χαρακτηρισμός των TN72 και TCA με: 1) χρήση φασματοσκοπίας κυκλικού διχρωϊσμού (CD), 2) πρόβλεψη δευτεροταγούς δομής με χρήση υπολογιστικού προγράμματος που στηρίζεται σε νευρωνικά δίκτυα. Επιπλέον έγιναν και μια σειρά πειραμάτων κρυστάλλωσης των TN72 και TCA με σκοπό τον περαιτέρω προσδιορισμό της τρισδιάστατης δομής τους με κρυσταλλογραφία. Τα πειράματα κρυστάλλωσης βρίσκονται σε εξέλιξη.

*Η παρούσα εργασία χρηματοδοτείται από τα προγράμματα "Δημοέρενα99" (ΕΚΕΦΕ "Δ") και ΠΕΝΕΔ99 (ΓΓΕΤ).*

## CHARACTERIZATION OF TWO N-TERMINAL DOMAINS OF THE YEAST TRANSCRIPTIONAL REPRESSOR Tup1

Nikolopoulos G.<sup>1</sup>, A. Tartas<sup>2</sup>, M. Seferi<sup>2</sup>, D. Tzamarias<sup>3</sup>,  
M. Pelekanou<sup>2</sup>, M. Vlasi<sup>2</sup> & D. Yannoukakos<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Institute of Radioisotopes & Radiodiagnostic Products, <sup>2</sup>Institute of Biology, NCSR "Demokritos", Athens, <sup>3</sup>Institute of Molecular Biology & Biotechnology, Heraklion-Crete

Transcriptional repression of at least seven different gene families of *S. cerevisiae* requires physical interaction of Ssn6 and Tup1 proteins. It has been shown that the 72 N-terminal residues of four Tup1 subunits are involved in this interaction. However the structure of Tup1 is unknown.

In the present study, the Ssn6 binding domain of Tup1 (aa 1-72, TN72) was expressed in *E.coli* cells and purified in mgr quantities (large scale). In addition a larger domain of Tup1 containing its 250 N-terminal residues (TCA) was purified. This domain was chosen due to its higher stability in solution. The polymerization status of both protein fragments in solution was examined using polyacrylamide gel electrophoresis in non-denaturing conditions.

TN72 and TCA were characterized by 1) circular dichroism (CD) experiments and 2) neural network based secondary structure predictions. Crystallization experiments on TN72 and TCA are in progress in to crystallize the proteins and determine their three dimensional structure using X-ray Crystallography.

*This work is supported by grants from NCSR "Demokritos" (Dimoerevna99) and General Secretariat for Research & Technology (Pened99).*

**ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΙΟΓΕΝΩΝ  
ΑΜΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΔΕΝΟΣΙΝΗΣ ΣΤΑ ΓΑΓΓΛΙΑ ΚΑΙ  
ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *Helix  
lucorum* (L.) ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ  
ΑΝΟΞΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ**

**Νταϊλιάνης Σ., Μιχαηλίδης Β.**

**Τομέας Ζωολογίας, Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας,  
Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη 54006.**

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει πως οι βιογενείς αμίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιβίωση ορισμένων ειδών σε ακραίες συνθήκες όπως είναι η ανοξία. Όπως έχει δειχθεί, οι μονοαμίνες σεροτονίνη και ντοπαμίνη, μπορεί να συντελούν στην αντοχή των οργανισμών κάτω από συνθήκες ανοξίας, όπως στον κυπρίνο *Carassius carassius*, το χρυσόψαρο *Carassius auratus*, τα είδη των χελωνών *Pseudemys scripta* και *Trachemys scripta*, τη θαλάσσια χελώνα *Caretta caretta*, καθώς και στο ασπόνδυλο θαλάσσιο σκουλίκι *Sipunculus nudus*. Στην παρούσα εργασία μετρήσαμε τα επίπεδα των βιογενών αμινών και της αδενοσίνης στα γάγγλια και στην καρδιά του χερσαίου σαλιγκαριού *Helix lucorum*.

Σκοπός της εργασίας ήταν να μελετήσουμε τις μεταβολές των βιογενών αμινών και της αδενοσίνης κάτω από ανοξικές συνθήκες. Ο προσδιορισμός των βιογενών αμινών και της αδενοσίνης έγινε με τη μέθοδο HPLC (High-Performance-Liquid-Chromatography) με ηλεκτρικοχημικό ανιχνευτή και φασματοφωτόμετρο UV αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα δείχνουν μείωση των επιπέδων της σεροτονίνης και της ντοπαμίνης τόσο στα γάγγλια όσο και στην καρδιά του οργανισμού, και ανάλογη αύξηση των μεταβολιτών τους, 5-HIAA και HVA αντίστοιχα. Αντίθετα, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της αδενοσίνης στα γάγγλια και στην καρδιά, μετά από παρατεταμένη έκθεση σε ανοξία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η αδενοσίνη πιθανό να περιορίζει την εκκριτική δραστηριότητα των σεροτονεργικών νευρώνων συντελώντας με αυτό τον τρόπο στην μείωση του μεταβολικού ρυθμού στο σαλιγκάρι *Helix lucorum* κατά τη διάρκεια της ανοξίας.

## **DETERMINATION OF BIOGENIC AMINES AND ADENOSINE IN GANGLIA AND HEART OF THE LAND SNAIL *Helix lucorum* DURING LONG-TERM ANOXIA**

**Ntailianis S., Michaelidis B.**

**Department of Zoology, Laboratory of Animal Physiology, Science School,  
Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54006.**

Recent research has shown that biogenic amines might play an important role in survival of some vertebrates and invertebrates during extreme conditions, like anoxia. The monoamines, serotonin and dopamine, might contribute on anoxia-tolerant animals like crucian carp *Carassius carassius*, the goldfish *Carassius auratus*, the freshwater turtles *Trachemys scripta* and *Pseudemys scripta*, as well as marine worm *Sipunculus nudus*.

The current study was about the determination of biogenic amines and adenosine in ganglia and heart of the land snail *Helix lucorum* under anoxic conditions. The determination of biogenic amines and adenosine was done by using HPLC method (High-Performance-Liquid-Chromatography) with an electrochemical detector and a UV photometer respectively.

The results showed a decrease in serotonin and dopamine levels in ganglia and heart during long-term anoxia, and an increase in the levels of their metabolites, 5-HIAA and HVA respectively. The level of adenosine was increased at the same tissues during long-term anoxia. Based on the results we could suggest that adenosine might play an inhibitory role on serotonergic neurons, contributing to metabolic depression of *Helix lucorum* during long-term anoxia.

## ΑΝΟΣΟΑΠΟΚΡΙΣΗ ΠΟΝΤΙΚΩΝ ΣΕ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΤΗΣ La/SSB ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΥΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ 289-308

Ντότσικα Ε<sup>1</sup>., Ε Καραγκούνη<sup>1</sup>, Μ. Παπαματθαίου<sup>1</sup>, Χ. Λιάππα<sup>1</sup>, Ι. Ρούτσιας<sup>2</sup>, Ε. Τουλούζη<sup>2</sup>, Α. Τζιούφας<sup>2</sup>, Χ. Μουτσόπουλος<sup>2</sup>, Κ. Σακαρέλλος<sup>3</sup> και Μ. Σακαρέλλου-Δαϊτσιώτου<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, 11521 Αθήνα, Τμήμα Παθοφυσιολογίας, <sup>2</sup>Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών, Μ. Ασίας 75, 11527 Αθήνα, <sup>3</sup>Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα.

Έχει πρόσφατα αναφερθεί μία πρωτοποριακή μεθοδολογία σύμφωνα με την οποία χρησιμοποιούνται ανοσοποιήσεις με συμπληρωματικά πεπτιδία που αναγνωρίζουν υποδοχείς αντιγόνων σε ασθενείς που εξαρτώνται από ειδικούς Β και Τ επιτόπους. Η περιοχή 289-308 της La/SSB πρωτεΐνης είναι ένας από τις τέσσερις γραμμικούς επιτόπους που αναγνωρίζεται από αντιορούς ασθενών με σύνδρομο Sjogren's και έχει βρεθεί χρησιμοποιώντας διάφορες μεθόδους πρόβλεψης ότι πρόκειται για ένα Β και Τ επίτοπο. Ο 289-308 επίτοπος (Po<sup>25</sup>) και το συμπληρωματικό πεπτιδίδιο που κωδικοποιείται από συμπληρωματικό RNA (Pcpl<sup>25</sup>) συζεύχθηκαν πάνω σε ένα επαναλαμβανόμενο ολιγοπεπτιδικό φορέα (SOCn). Ο φορέας SOCn σχηματίζεται από το επαναλαμβανόμενο τριπεπτιδίδιο (Lys-Aib-Gly)<sub>n</sub>, όπου n=2-7. Τα πεπτιδία προσδένονται στις παράπλευρες αλυσίδες των λυσινών έτσι ώστε να διατηρούν την αρχική τους διαμόρφωση και να επιβάλλουν ευνοϊκές μοριακές αναγνώρισεις. Διαφορετικές δόσεις συζευγμένων πεπτιδίων χορηγήθηκαν είτε μόνα τους ή μαζί με Freud's ανοσοενυσχυτικό (CFA/IFC) και ο ειδικός λεμφοκυτταρικός πολλαπλασιασμός και η αντισωματική απόκριση προσδιορίστηκαν. Σε αυτή την μελέτη δείχνουμε ότι και τα δύο πεπτιδικά συζεύγματα, Po<sup>25</sup>-SOC και Pcpl<sup>25</sup>-SOC, προκάλεσαν ειδικό λεμφοκυτταρικό πολλαπλασιασμό σπληνοκυττάρων ανοσοποιημένων Balb/c ποντικών. Αμφότερες οι *in vivo* και οι *in vitro* αποκρίσεις ήταν εξαρτώμενες από την ποσότητα των χρησιμοποιούμενων πεπτιδικών συνθέσεων με αποδεδειγμένη διασταυρούμενη αναγνώριση τόσο στο επίπεδο των Τ λεμφοκυττάρων όσο και των Β κυττάρων. Με αυτή την προσέγγιση σκοπεύουμε να διερευνήσουμε τους ανοσορρυθμιστικούς μηχανισμούς που ελέγχουν ορισμένες αυτοάνοσες παθήσεις αλλά περισσότερο σημαντικό θα είναι να γίνει δυνατός ο σχεδιασμός ιδανικών θεραπευτικών σχημάτων, π.χ. εμβολιασμός με συμπληρωματικά πεπτιδία, για την διόρθωση ανοσολογικών αποκρίσεων που παρεκκλίνουν.



## **IMMUNE RESPONSE AGAINST La/SSB PEPTIDES. COMPARATIVE STUDY OF THE COMPLEMENTARY 289-308 La/SSB EPITOPE**

**Dotsika, E.<sup>1</sup>, E. Karagouni<sup>1</sup>, M. Papamatheou, C. Liappa<sup>1</sup>, J. Routsias<sup>2</sup>, E. Toulouzi<sup>2</sup>, A. Tzioufas, X. Moutsopoulos, C. Sakarellos<sup>3</sup> και M. Sakarellos-Daitsiotis<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Hellenic Pasteur Institute, Vas. Sofias 127, 11521 Athens, <sup>2</sup>Department of Pathophysiology, School of Medicine, National University of Athens, M. Asias 75, 11527 Athens, <sup>3</sup>Department of Chemistry, University of Ioannina, 45110 Ioannina.

It has been recently reported a pioneer methodology of manipulating antibody and/or T cell-mediated systemic auto-immune diseases by immunization with the complementary peptide against antigen receptors on disease epitope-specific B and T cells. The region 289-308 of the La/SSB protein is one of the four linear epitopes, which is recognized by sera derived from patients with Sjogren's Syndrom (pSS) and by different predictive methods it is both B and T cell epitope. The 289-308 epitope (denoted Po<sup>25</sup>) and its complementary form encoded by complementary RNA (denoted Pcpl<sup>25</sup>) were conjugated on Sequential Oligopeptide Carrier (SOCn). SOCn is formed by the (Lys-Aib-Gly)<sub>n</sub> sequential motif, where n=2-7, and the peptide antigens were anchored to the lysine groups so as they retain their original structure and they obtain favorable molecular recognition. Different doses of peptide carrier formulations were administrated either alone or together with Freud's adjuvant (CFA/IFC) and specific lymphoproliferative and antibody response was determined. We report here that Po<sup>25</sup>-SOC and Pcpl<sup>25</sup>-SOC induced specific T cell proliferation of splenocytes of immunized Balb/c mice. Both the *in vivo* and *in vitro* responses were dose dependant and a demonstrable cross reactivity was observed at the T and the B cell level. With this approach we aim to shed light to the immunoregulatory mechanism(s) which underline the auto-immune diseases but more importantly to design ideal therapeutic procedures, e.g. complementary peptide vaccines, in order to correct aberrant immune responses.

## ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ cDNA ΚΛΩΝΩΝ ΠΟΥ ΠΙΘΑΝΑ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΓΙΑ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΣΤΟ ΦΥΤΟ *Urtica dioica* (ΤΣΟΥΚΝΙΔΑ)

Ντουρούπη Τ. και Α.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 81, Αθήνα

Οι υπεροξειδάσες είναι ένζυμα που περιέχουν αίμη ως προσθετική ομάδα και ανάγουν το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> οξειδώνοντας διάφορα υποστρώματα. Στα φυτά οι υπεροξειδάσες παίζουν ρόλο στο σχηματισμό του κυτταρικού τοιχώματος, στην άμυνα του φυτού ενάντια σε παθογόνα, στη βιοσύνθεση αιθυλενίου κ.α. Με στόχο την απομόνωση του γονιδίου της υπεροξειδάσης κατασκευάστηκε μια cDNA βιβλιοθήκη φυτών *U. dioica* ηλικίας 20 ημερών. Με τη χρήση εκκινητών, που σχεδιάστηκαν με βάση συντηρημένες περιοχές του ενεργού κέντρου των φυτικών υπεροξειδασών, σε αντιδράσεις αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και RT-PCR (αντίστροφη μεταγραφή και PCR) απομονώθηκαν ζώνες των οποίων ο προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αποκάλυψε υψηλή ομοιότητα με αλληλουχίες φυτικών υπεροξειδασών. Ένα από αυτά τα προϊόντα (Lat4-1) χρησιμοποιήθηκε ως ραδιενεργός ανιχνευτής για τη σάρωση της cDNA βιβλιοθήκης. Ανάλυση RNA κατά Northern με χρήση του ίδιου ανιχνευτή έδειξε έκφραση κυρίως στις ρίζες και σε αναπαραγωγικά όργανα και λιγότερο στα φύλλα και στο βλαστό. Από τη βιβλιοθήκη απομονώθηκε ένας κλώνος μεγέθους ~2Kb. Μετά από αντίδραση RT-PCR με τη χρήση ενός εκκινητή ειδικού για φυτικές υπεροξειδάσες και ενός ειδικού για το 3' άκρο του mRNA προκύπτουν δύο προϊόντα μεγέθους ~1KB. Οι απομονωμένοι κλώνοι υβριδίζουν, σε συνθήκες υψηλής συγγένειας με σημασμένο με διγοξιγενίνη RNA, ανιχνευτή που μεταγράφηκε από τον Lat4-1 κλώνο και επίσης μετά από PCR αντίδραση με τους ειδικούς για φυτικές υπεροξειδάσες εκκινητές δίνουν προϊόν του αναμενόμενου μεγέθους. Μετά από προσδιορισμό της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας και περαιτέρω μελέτη, ο στόχος είναι η *in vitro* έκφραση και μελέτη του ενζύμου υπεροξειδάση.

*Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα TMR NoERB4061PL970047 στον Καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη.*

## **ISOLATION OF cDNA CLONES CODING FOR PUTATIVE PEROXIDASES IN *URTICA DIOICA* (STINGING NETTLE)**

**Douroupi T. & L.H. Margaritis**

**Dept. of Cell Biology & Biophysics, Faculty of Biology, University of  
Athens, Panepistimiopolis, 157 81 - Athens**

Peroxidases are heme-containing enzymes that reduce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and oxidize various substrates. Plant peroxidases are involved in the cell wall formation, in plant pathogen defense, in ethylene biosynthesis etc. In order to isolate a peroxidase gene, a cDNA library was constructed from 20 days-old *U. dioica* plants.

Primers specific for conserved regions of plant peroxidases active center were used in PCR and RT-PCR reactions. Sequencing of the PCR products revealed high similarities to published plant peroxidase sequences. One of the products (Lat4-1) was used as a radioactively labeled probe for screening the cDNA library. Northern analysis with the same probe revealed predominant expression in root and reproductive organs and lower levels of expression in leaves and stems. A ~2KB clone was isolated from the library. An RT-PCR reaction with a peroxidase specific primer and one specific for the 3' end of mRNAs resulted in two ~1KB products. The isolated clones hybridize with a digoxigenin-labeled RNA probe, transcribed from the Lat4-1 clone and after PCR reaction with the peroxidase specific primers give a product of the expect size. After sequencing and further study of the clones the objective is the in vitro expression and the study of the enzyme peroxidase.

*This work was supported by TMR Research Network program NoERB4061PL970047 to Prof.  
Lukas H. Margaritis.*

## ΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΤΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΗΓΟΥΝΙΟΥ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Νυδριώτη Σ. και Α. Πέντζου-Δαπόντε

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Η επιστήμη της Ανθρωπολογίας για να μελετήσει τον άνθρωπο, ο οποίος κατέχει την κορυφή της πυραμίδας του ζωικού βασιλείου, χρησιμοποιεί ανθρωπομετρικές μεθόδους έχοντας ως σκοπό να προσδιορίσει ορισμένα χαρακτηριστικά ως διαφορές ανάμεσα σε άτομα και πληθυσμούς. Η σωστή αξιοποίηση των συμπερασμάτων εξαρτάται από την ακρίβεια των μεθόδων και των οργάνων που χρησιμοποιούνται.

Η έρευνα που διεξήχθη στη συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιεί τις κλασικές μεθόδους, οι οποίες πραγματεύονται την επεξεργασία μετρήσεων στη περιοχή στόματος και πηγουνιού στον Ελληνικό πληθυσμό με τη βοήθεια της φωτογράφισης.

Συγκεκριμένα με τη βοήθεια ενός παχυμέτρου μετρείται το πλάτος της στοματικής σχισμής (η απόσταση ανάμεσα στα δύο χείλη), το ύψος του βλεννογόνου των χειλέων (η απόσταση του άνω χείλικού από το κάτω χείλικό), το ύψος του βλεννογόνου του άνω και κάτω χείλους, το ύψος άνω χείλους (η απόσταση ανάμεσα στο στόμιο και το υπορίνιο) και το ύψος του κάτω χείλους (η απόσταση ανάμεσα στο στόμιο και το σημείο διασταύρωσης της γενειοχειλικής αύλακας. Επίσης στη περιοχή του στόματος δίνεται έμφαση στη διάπλαση της ρινοχειλικής αύλακας, στο στρώμα του βλεννογόνου των χειλιών, στην κατανομή του άνω χείλους και στη θέση και την υφή της γενειοχειλικής αύλακας.

Στην περιοχή του πηγουνιού μελετάται αν αυτό είναι στενό ή φαρδύ, ψηλό ή χαμηλό, ορθογώνιο, ελλειπτικό ή στρογγυλό και από τα πλάγια κυρτό, ίσιο ή κοίλο. Τέλος εντοπίζεται η ύπαρξη παρειακών (λακκάκια στα μάγουλα) και γενειακών βοθρίων στο πηγούνι.

Εξετάστηκαν 1000 άτομα αρσενικά και θηλυκά, ηλικίας από 12-22 ετών και ακοαλούθησε η στατιστική επεξεργασία τους με συγκεκριμένο πρόγραμμα.

## **ANTHROPOLOGICAL COUNTS IN THE AREA OF MOUTH AND CHIN IN THE GREEK POPULATION**

**Nydrioti S. & A. Pentzou-Daponte**

**Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54006, Thessaloniki, Greece**

The science of anthropology has the purpose of studying the human been and for that it uses anthropological methods having as purpose the discovery of situation like the differences among people and population. With the following statistic analysis is been clarified if the differences are statistical important. Naturally the eduction of right conclusion depends on the precision of methods and organs, which has been used.

In this research we used the general methods that concern the photographing and elaboration of counts at the area of mouth and chin in the Greek population.

Specifically with a rule we count the width of the stomal slot (the distance between two lips), the muciferus height of the lips ( the distance between above labial and below labial ) , the muciferus height of the above and below labial , the height of the above labial ( the distance between lip and hyporhinus ) and the height of the below labial .

Also in the area of the mouth we study the formation of sulcus below the nose, the length of the stomal slot, the formation of the sulcus next to the lips, the lay of the lips muciferus, the profile of the above labial and the position and texture of the sulcus below the lips. In the area of the chin we study it's shape, if it is high or low, square, elliptic or round and in the end if it is convex, concave or straight. Also we locate the dimples on the jowl and on the chin.

The study has been done after counting 1000 people 12-22 years old and then it has been done the statistic analysis with a specific program.

## ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΛΤΕΡΤΟΞΙΝΩΝ ΑΠΟ ΑΦΙΔΟΠΑΘΟΓΟΝΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Alternaria alternata*

Ξένου-Κοκολέτση Μ.<sup>1</sup>, Φ.Δ. Κρόκος<sup>1</sup>, Χ. Χριστιάς<sup>2</sup>  
και Β.Ε. Μαζωμένος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Χημικής Οικολογίας & Φυσικών Προϊόντων, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος».

<sup>2</sup>Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Μικροβιολογίας

Είδη του γένους *Alternaria* παράγουν μυκοτοξίνες, ουσίες τοξικές σε φυτά και ζώα. Ο μύκητας *Alternaria alternata* παράγει περισσότερες από 30 μυκοτοξίνες με πλέον συνηθισμένες τις alternariol (ΑΟΗ), alternariol monomethyl ether (ΑΜΕ), altenuene (ΑΛΤ) αλτερτοξίνες I, II και III και το τετραμικό οξύ tenuazonic acid (ΤΑ). Οι αλτερτοξίνες I και II εμφανίζουν τοξικότητα σε φύλλα τομάτας, βακτήρια, ποντίκια, σε HeLa κύτταρα όπως επίσης και αντιμυκητοκτόνο δράση και μεταλλαξιγόνο δράση.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η έκκριση τοξινών από αφιδοπαθογόνο στέλεχος του μύκητα *Alternaria alternata*. Οι τοξίνες του υγρού καλλιέργειας προσροφήθηκαν σε ρητίνη και στη συνέχεια εκλούσθηκαν με μεθανόλη. Ακολούθως με χρωματογραφία ανοικτής στήλης με πληρωτικό υλικό silica gel, λεπτής στοιβάδας (TLC) και υψηλής απόδοσης (HPLC) απομονώθηκαν τρία κλάσματα τα οποία εμφάνισαν τοξικότητα στις αφίδες. Έντομα *Anuraphis nerii* που τράφηκαν με φύλλα εμποτισμένα με τα τοξικά μίγματα παρουσίασαν υψηλό ποσοστό θνησιμότητας.

Το κλάσμα που παρουσίασε τη μεγαλύτερη θνησιμότητα περιείχε ουσίες της οικογένειας των αλτερτοξινών και επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη της αλτερτοξίνης I. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα που έχουν συλλεχθεί μέχρι στιγμής υποδηλώνουν και την ύπαρξη μιας αλτερτοξίνης με δομή που δεν έχει αναφερθεί στην βιβλιογραφία.

Η ταυτοποίηση της δομής όλων των ουσιών που υπάρχουν στα ενεργά κλάσματα βρίσκεται σε εξέλιξη και σε συνδυασμό με τις βιοδοκιμές που ενεργούνται παράλληλα θα προσδιορίσουν την ουσία ή τις ουσίες εκείνες που παρουσιάζουν εντομοτοξική δράση.

## PRODUCTION OF ALTERTOXINS BY THE APHIDOPATHOGENIC STRAIN OF *Alternaria alternata*

Xenou-Kokoletsi M.<sup>1</sup>, F.D. Krokos<sup>1</sup>, C. Christias<sup>2</sup>  
& B.E. Mazomenos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chemical Ecology & Natural Products Laboratory, Institute of Biology,  
NCSR "Demokritos"

<sup>2</sup>University of Patras, Department of Biology, Laboratory of Microbiology

Members of the genus *Alternaria* are known to produce mycotoxins, compounds toxic to plants and animals. Of the more than 30 compounds produced, alternariol (AOH), alternariol monomethyl ether (AME), altenuene (ALT) (derivatives of dibenzo- $\alpha$ -pyrones), altertoxins I, II and III (perylene derivatives), and tenuazonic acid (TA) are the most common ones. Altertoxins I and II show toxicity to bacterial, HeLa cell cultures, mutagenic activity in *Salmonella* systems and antifungal activity to *Geotrichum candidum*.

In the present study we documented the production of toxins by an aphidopathogenic strain of *Alternaria alternata*. The toxins of the culture filtrate were adsorbed to a resin and then eluted with methanol. Three toxic fractions were isolated from this crude extract using open column chromatography, preparative thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC). Leaves infiltrated with these fractions cause the death of the insects *Anuraphis nerii*.

The fraction which exhibited the maximum toxicity was found to contain compounds of the altertoxin family and the presence of altertoxin I has been confirmed by the use of spectroscopic techniques such as ultraviolet spectroscopy (UV), mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Spectroscopic data collected so far indicated the presence of another altertoxin with a structure that has not been reported in the literature so far.

Structure elucidation of the compounds present in the active fractions is currently under investigation. These data, when combined with the bioassay results, will determine the compound(s) responsible for the insecticidal activity.

**ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΔΟΜΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ  
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΩΝ  
ΣΤΑΔΙΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΟΥ ΤΕΛΕΟΣΤΕΟΥ ΙΧΘΥΟΣ  
*Dentex dentex* (Συναγρίδα)**

**Οικονομίδου Β.Α.<sup>1</sup>, Γιακουμέλου Α.Ι.<sup>1</sup>, Παυλίδης Μ.<sup>2</sup>,  
Χρυσικός Γ.Δ.<sup>3</sup> και Σ.Ι. Χαμόδρακας<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 81

<sup>2</sup>Ι.Θ.Α.ΒΙ.Κ., Ηράκλειο 71003, Κρήτη

<sup>3</sup>Ινστιτούτο Θεωρητικής & Φυσικής Χημείας, Ε.Ι.Ε., Αθήνα 11635

Το χόριο (το κέλυφος των αυγών) των τελεόστεων ιχθύων είναι πρωτεϊνικής φύσεως σχηματισμός με πολύπλοκη δομή, η οποία ανταποκρίνεται στη φυσιολογική του λειτουργία. Προηγούμενες μελέτες μας σε χόριο γεννημένων αυγών του τελεόστεου ιχθύος *D. dentex*, με χρήση φασματοσκοπίας ATR-IR και FT-Raman, έδειξαν ότι η μοριακή στερεοδιάταξη που κυριαρχεί στις πρωτεΐνες του χορίου του ιχθύος αυτού, είναι η β-πτυχωτή επιφάνεια.

Η παρούσα εργασία παρουσιάζει στοιχεία βιοχημικής ανάλυσης που προέρχονται από ηλεκτροφορήσεις πρωτεϊνών χορίου τριών αντιπροσωπευτικών αναπτυξιακών σταδίων (πρώιμα, μεσαία και ώριμα) σε πηκτώματα πολυακρυλαμίδης. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την ύπαρξη τριών κύριων πρωτεϊνών με μοριακά βάρη 89 kDa, 45 kDa και 43 kDa, που δεν δείχνουν να διαφέρουν σε κανένα από τα τρία στάδια ανάπτυξης του χορίου.

Η ανάλυση των φασμάτων FT-Raman, που πάρθηκαν από τα ίδια χόρια, δείχνει ότι η β-πτυχωτή επιφάνεια είναι η επικρατούσα δευτεροταγής δομή στις πρωτεΐνες και των τριών σταδίων. Επιπρόσθετα, η ίδια ανάλυση οδηγεί σε επιπλέον συμπεράσματα που αφορούν άλλες μικρές – πλην όμως σημαντικές- δομικές διαφορές των πρωτεϊνών των σταδίων αυτών.



**BIOCHEMICAL AND STRUCTURAL STUDIES OF  
CHORION PROTEINS OF THE TELEOSTEAN FISH  
*Dentex dentex* FROM DIFFERENT DEVELOP-  
MENTAL STAGES**

**Iconomidou V.A.<sup>1</sup>, Yakoumelou A.J.<sup>1</sup>, Pavlidis M.<sup>2</sup>, Chryssikos G.D.<sup>3</sup>  
& S.J. Hamodrakas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculty of Cell Biology and Biophysics, Department of Biology, University  
of Athens, Athens 15781

<sup>2</sup>I.M.B.C., Heraclio 71003, Crete

<sup>3</sup>Institute of Theoretical and Physical Chemistry, N.H.R.F. , Athens 116 35

The chorion (eggshell) of the teleostean fish is a proteinaceous extracellular structure with exceptional physiological functions surrounding the oocyte and the developing embryo. Our previous studies of the teleostean fish *D. dentex* chorions from laid eggs, utilizing ATR-IR and FT-Raman spectroscopy, showed that the predominant molecular conformation of chorion proteins is the  $\beta$ -pleated sheet.

The current work presents biochemical analysis data on the proteins of three representative chorion developmental stages (early, middle and late) derived from polyacrylamide gel electrophoresis. The results indicate the existence of three major proteins with molecular weights 89 kDa, 45 kDa and 43 kDa respectively, which appear to be identical at the three stages.

Analysis of FT-Raman spectra obtained from the same chorions showed that  $\beta$ -pleated sheet is the prevalent secondary structure of chorion proteins during development. In addition, the same analysis suggests subtle yet important structural differences of chorion proteins at different developmental stages.

## ΠΕΠΤΙΔΙΟ-ΑΝΑΛΟΓΟ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΩΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΕΙ ΑΜΥΛΟΕΙΔΗ ΙΝΙΔΙΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΜΕΘΑΝΟΛΗΣ/H<sub>2</sub>O

**Οικονομίδου Β.Α. & Σ.Ι. Χαμόδρακας**

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας Παν/μιο Αθηνών, Αθήνα 15781

Η δομή και η αυτοσυγκρότηση ενός πεπτιδίου-αναλόγου της κεντρικής συντηρητικής περιοχής των πρωτεϊνών του χορίου των μεταξοσκωλήκων μελετήθηκε σε διαλύματα μεθανόλης/H<sub>2</sub>O. Το πεπτίδιο δημιουργεί αμυλοειδή ινίδια σε κατάλληλες συνθήκες.

Τα αμυλοειδή ινίδια που δημιουργούνται δεσμεύουν Congo red και Θειοφλαβίνη-Τ. Αρνητική χρώση και σκίαση έδειξαν ότι τα ινίδια είναι διπλές έλικες μη διακλαδιζόμενες και μεγάλου μήκους. Η διάμετρος της διπλής έλικας είναι ~90 Å ενώ το βήμα της ~ 920 Å.

Περιθλασιγράμματα ακτίνων-Χ ιών που δημιουργήθηκαν από εναιωρήματα αμυλοειδών ινιδίων, υποδεικνύουν σαφέστατα ότι τα αμυλοειδή ινίδια έχουν "cross-β" δομή.

Δομικές μελέτες μοντέλων του πεπτιδίου υποδεικνύουν ότι το βασικό δομικό μοτίβο των ινιδίων είναι η στραμμένη β-πτυχωτή επιφάνεια, με β-κλώνους τεσσάρων καταλοίπων να εναλλάσσονται με β-στροφές. Τα μοντέλα είναι παρόμοια με την "cross-β" δομή, η οποία προτάθηκε πριν από μια δεκαετία και πλέον για τις πρωτεΐνες του χορίου των μεταξοσκωλήκων, που υπαγορεύει την ελικοειδή αρχιτεκτονική του άθικτου, φυσικού χορίου.

Η μελέτη αυτή συνεισφέρει στις προσπάθειες καθορισμού των αρχών που διέπουν τη μοριακή αρχιτεκτονική του χορίου των ωοθυλακίων των μεταξοσκωλήκων, μιας βιολογικής δομής-πολυμερούς με εξαιρετικές μηχανικές και φυσιολογικές ιδιότητες, και θέτει τις βάσεις για την ανακάλυψη νέων οδών για τη σχεδίαση και σύνθεση νέων, βιοσυμβατών, αυτοσυγκροτούμενων πολυμερών με σημαντικές ιδιότητες και πιθανές βιοϊατρικές και βιομηχανικές εφαρμογές.

## **AMYLOID-LIKE FIBRILS FROM METHANOL/H<sub>2</sub>O SOLUTIONS OF A PEPTIDE-ANALOGUE OF SILK-MOTH CHORION PROTEINS**

**Iconomidou V.A. & S.J. Hamodrakas**

**Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 81**

The structure and self-assembly properties of a 51-residue peptide-analogue of the central conservative domain of silkmoth chorion (eggshell) proteins were studied in detail in methanol/H<sub>2</sub>O solutions. This peptide (cA-peptide) forms amyloid-like fibrils.

The fibrils bind Congo red and thioflavin T. Negative staining and shadowing showed that the fibrils are straight, double helices of indeterminate length. The average width of the double helix is ~90 Å and its helical pitch ~920 Å. X-ray diffraction patterns from fibers of the cA-peptide, taken with a double-mirror camera, clearly indicate a “rich” cross-β fiber pattern characterized by a meridional reflection at ~4.66 Å and an equatorial reflection at ~10.1 Å.

Modelling studies and experimental data suggest that a twisted β-sheet of 4-residue β-strands alternating with β-turns is the basic structural motif of the fibrils. The models are similar to the cross-β structure proposed more than a decade ago for silkmoth chorion proteins, which dictates the helicoidal architecture of intact, native chorions.

This study significantly contributes to our efforts to unravel the principles that dictate the architecture of silkmoth chorion, a biological structure-polymer with exceptional mechanical and physiological properties. It sets, also, the basis for the exploration of new routes for the design and synthesis of novel bio-compatible polymers with important properties, and, perhaps, new potential biomedical and industrial applications.

## ΠΟΔΟΚΑΛΥΚΙΝΗ ΤΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΩΔΟΥΣ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ: ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΗΣ ΒΑΣΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

Οικονόμου Κ.Γ.<sup>1</sup>, Π.Κίτσιου<sup>1</sup>, Α.Τζίνια<sup>1</sup>, Π.Μ.Καραμεσίνης<sup>1</sup>,  
A.F. Michael<sup>2</sup>, D. Kershaw<sup>3</sup>, Ε.Κ. Τσιλιμπάρη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος” Ελλάδα

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, University of Minnesota

<sup>3</sup>Department of Pediatrics, University of Michigan

Η ποδοκαλυκίνη είναι μια σιαλοπρωτεΐνη των επιθηλιακών κύτταρων του αγγειώδους σπειράματος που εντοπίζεται στις ποδοειδείς προεκβολές τους. Οι ποδοειδείς προεκβολές έρχονται σε επαφή με τη βασική μεμβράνη του αγγειώδους σπειράματος (GBM). Στη παρούσα εργασία διερευνήσαμε την επίδραση πρωτεϊνών της GBM στα επίπεδα έκφρασης της ποδοκαλυκίνης. Χρησιμοποιήθηκε αθανатоποιημένη σειρά ανθρώπινων επιθηλιακών κυττάρων αγγειώδους σπειράματος (HGEC). Τα HGEC καλλιεργήθηκαν σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις υποστρώματος λαμινίνης (3μg/cm<sup>2</sup>, 4μg/cm<sup>2</sup>, 10μg/cm<sup>2</sup>, 20μg/cm<sup>2</sup>) για 48h. Με ανοσοαποτύπωση στα λύματα κυττάρων παρατηρήθηκε δόσοεξαρτώμενη αύξηση της ποδοκαλυκίνης κατά 22%, 23%, 68% και 70% αντίστοιχα, σε σχέση με HGEC τα οποία καλλιεργήθηκαν απουσία υποστρώματος λαμινίνης. Μετά από ανοσοαποτύπωση σε λύματα HGEC που καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα αυξανόμενων συγκεντρώσεων βασικής μεμβράνης (3μg/cm<sup>2</sup>, 5μg/cm<sup>2</sup>, 10μg/cm<sup>2</sup>, 20μg/cm<sup>2</sup>) για 48h, παρατηρήθηκε αύξηση της ποδοκαλυκίνης κατά 30%, ανεξαρτήτως των συγκεντρώσεων GBM σε σχέση με κύτταρα τα οποία καλλιεργήθηκαν απουσία GBM. Επιπλέον πειράματα ανοσοφθορισμού σε HGEC που καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα υψηλών συγκεντρώσεων λαμινίνης και GBM αντίστοιχα (20 μg/cm<sup>2</sup>) έδειξαν αύξηση του ποσοστού των κυττάρων που προβάλλουν την ποδοκαλυκίνη στην επιφάνειά τους, σε σχέση με HGEC που καλλιεργήθηκαν απουσία υποστρώματος λαμινίνης ή βασικής μεμβράνης. Συμπερασματικά, η παρουσία συστατικών της βασικής μεμβράνης συντελεί σε αυξημένη επιφανειακή έκφραση της ποδοκαλυκίνης στα HGEC.

## **PODOCALYXIN OF HUMAN GLOMERULAR EPITHELIAL CELLS: INDUCTION BY BASEMENT MEMBRANE PROTEINS**

**Economou K.G.<sup>1</sup>, P. Kitsiou<sup>1</sup>, A.Tzinia<sup>1</sup>, P.M. Karamessinis<sup>1</sup>,  
A.F. Michael<sup>2</sup>, D. Kershaw<sup>3</sup>, E.C. Tsilibary<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>**Institute of Biology, National Center for Scientific Research  
“Demokritos”, Agia Paraskevi, 15310 Athens Greece**

<sup>2</sup>**Department of Pediatrics, University of Minnesota**

<sup>3</sup>**Department of Pediatrics, University of Michigan**

Podocalyxin is the major sialoprotein of glomerular epithelial cells and it has restricted distribution. It is present on the foot processes of the glomerular epithelium. Foot processes are attached to the glomerular basement membrane (GBM), a complex matrix with a multiple composition (collagen type IV, laminin, perlecan, etc). In the present study we examine the modulation in podocalyxin expression, in immortalized human glomerular epithelial cells (HGEC) grown in the presence of basement membrane protein substrate. HGEC cultured on increasing concentrations of laminin (3 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, 4 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, 10 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, 20 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>) for 48h, lysed and immunoblotted using anti-Podocalyxin monoclonal antibody. The results revealed a dose-response increase in podocalyxin levels by 22%, 23%, 68% and 70% respectively compared with control cells cultured without laminin substrate. In addition HGEC, cultured in increasing concentrations of GBM (3 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, 5 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, 10 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, 20 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>) for 48h revealed an increase in podocalyxin levels by 30% (independently the concentration of GBM substrate), compared with control cells cultured without GBM substrate. Finally, immunofluorescence studies in HGEC cultured in high concentration of laminin substrate (20  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>), or in high concentration of GBM substrate (20  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>) revealed increasing proportion of cells, expressing the podocalyxin on the cell surface compared with control cells cultured without laminin or GBM substrate. We conclude that the presence of basement membrane components induced the expression of podocalyxin on the cell surface of cultured HGEC.

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΩΟΤΟΚΙΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Παναγόπουλος Δ.Ι., Ν. Μεσσήνη, Α.Καραμπαρμπούνης\*  
και Α.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κνυτάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας  
\* Τομέας Πυρην. Φυσικής & Στοιχ. Σωματιδίων, Τμήμα Φυσικής,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

Ένα απλό πειραματικό πρωτόκολλο, σχετιζόμενο με την ωοτοκία του εντόμου *Drosophila melanogaster*, που σχεδιάστηκε από εμάς, έχει αποδειχθεί να είναι ένας πολύ ευαίσθητος δείκτης, της δυνατότητας βιολογικής δράσης ηλεκτρομαγνητικών πεδίων διαφόρων τύπων. Στα πειράματά μας έχουμε καταγράψει σαφείς και απόλυτα επαναλήψιμες ποσοτικές μεταβολές στην ωοτοκία της εκτιθέμενης ομάδας σε σχέση με την ομάδα αναφοράς, (control), για όλα τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία που χρησιμοποιήθηκαν.

Τα βασικά πειραματικά συμπεράσματα, είναι τα ακόλουθα:

1. Ημιτονοειδές-Εναλλασσόμενο 50Hz, 70G Μαγνητικό Πεδίο, κατακόρυφης διεύθυνσης, ελαττώνει την ωοτοκία περίπου 5%.
2. Παλμικό Ηλεκτρικό Πεδίο, πλάτους έντασης  $4 \cdot 10^5$  V/m, με φθίνοντες ημιτονοειδείς, διπολικούς παλμούς, με συχνότητα επανάληψης παλμών 44 Hz και φέρουσα συχνότητα παλμών 10 kHz, αυξάνει την ωοτοκία 30% - 60%.
3. Πεδίο RF από Κινητό Τηλέφωνο GSM, φέρουσας συχνότητας 900 MHz, διαμορφωμένο από ανθρώπινη φωνή, με μέση εκπεμπόμενη Πυκνότητα Ισχύος  $0.25 \text{ mW/cm}^2$ , (για 6 min έκθεσης), με μέγιστη τιμή πυκνότητας ισχύος  $2.5 \text{ mW/cm}^2$ , ελαττώνει την ωοτοκία 50% - 60%.

## EFFECTS OF ELECTROMAGNETIC FIELDS ON *DROSOPHILA* OVIPOSITION

Panagopoulos D.J., N. Messini, A. Karabarbounis\*  
& L.H. Margaritis

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology,  
\* Department of Nuclear and Particle Physics, Faculty of Physics,  
Athens University, Panepistimiopolis 157 81 Athens- Greece

A simple experimental protocol related with the oviposition of the insect fly *Drosophila melanogaster*, developed by us, has been proved to be a very sensitive index, for the biological effects of different types of electromagnetic fields. Quantitative changes in oviposition of the exposed *Drosophila* group are recorded in relation to the sham exposed, (control), group, for all the fields we have used.

The basic experimental conclusions are the following:

1. Sinusoidal, 50 Hz, 70 G Magnetic Field in vertical direction, decreases oviposition about 5%.
2. Pulsed Electric Field, with intensity amplitude of  $4 \cdot 10^5$  V/m, with sinusoidal, damping, bipolar pulses, with a repetition rate of 44 Hz and a carrier frequency of 10 kHz, increases oviposition 30% - 60%.
3. Radio - Frequency Field from GSM Mobile Phone, with a carrier frequency of 900 MHz, modulated by human voice frequencies, with an average Power Density of  $0.25 \text{ mW/cm}^2$ , (for 6 min exposition) and a peak Power Density of  $2.5 \text{ mW/cm}^2$ , decreases oviposition 50% - 60%.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΓΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟΥ ΤΡΑ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ SERTOLI *IN VITRO* ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΣΑΡΩΤΙΚΟΥ ΚΡΥΟ-ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟΥ

Παναγοπούλου Ε., Μ. Κουλούκουσα, Χρ. Κίττας, Ε. Μαρίνος

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Μικράς Ασίας 75, Γουδή, Αθήνα

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η μελέτη της επίδρασης του συγκαρκινογόνου *TPA* στη μορφολογία κυττάρων Sertoli *in vitro*, με τη χρήση σαρωτικού κρυο-ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Για παρατήρηση στο σαρωτικό μικροσκόπιο τα κύτταρα καλλιεργούνται για 4 ημέρες σε συνθετικό καλλιεργητικό υλικό MEM σε γυάλινες, στρογγυλές καλυπτρίδες διαμέτρου 13mm. Τις τελευταίες 8hrs της καλλιέργειας προστίθεται *TPA* σε τελική συγκέντρωση  $10^{-7}$ M. Μετά το πέρας της καλλιέργειας, τα κύτταρα μονιμοποιούνται ελαφριά για 5min σε διάλυμα 2% φορμαλδεΰδης και 0.5% γλουταραλδεΰδης σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 0.1M, pH 7.4, ξεπλένονται σε απεσταγμένο νερό, εμβαπτίζονται σε διάλυμα 20% μεθανόλης για κρυοπροστασία, και καταψύχονται ακαριαία με εμβάπτιση σε υγρό άζωτο ( $-194^{\circ}\text{C}$ ). Ακολουθεί εξάχνωση του κρυσταλλικού νερού από την επιφάνεια των κυττάρων με αύξηση της θερμοκρασίας του παρασκευάσματος στους  $-90^{\circ}\text{C}$ , κάλυψη των κυττάρων με λεπτό στρώμα χρυσού και, τελικά παρατήρηση. Τα κύτταρα στις καλλιέργειες ελέγχου εμφανίζονται πεπλατυσμένα, με σχετικά λεία επιφάνεια και ελαφρώς ανασηκωμένη την κεντρική τους περιοχή, ενώ φανερή είναι η ύπαρξη φιλοποδίων. Μετά την επίδραση του *TPA*, τα κύτταρα τείνουν να αποκτήσουν αποστρογγυλεμένο σχήμα. Το κυτταρόπλασμα συσπειρώνεται γύρω από μια κεντρική περιοχή αφήνοντας νηματοειδή υπολείμματα στο υπόστρωμα. Τα αποτελέσματα είναι συμβατά με προηγούμενες παρατηρήσεις που έχουν γίνει στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης, εξηγούν μορφομετρικές και ανοσοϊστοχημικές μελέτες και δείχνουν ότι το *TPA* επιδρά σημαντικά στη μορφολογία των κυττάρων Sertoli, *in vitro*.



## **STUDY OF THE *IN VITRO* EFFECT OF THE TUMOR PROMOTER *TPA* ON SERTOLI CELL MORPHOLOGY USING CRYO-SEM**

**Panagopoulou E., M. Kouloukoussa, Chr. Kittas & E. Marinos**

**University of Athens, Medical School, Laboratory of Histology and Embryology, Mikras Asias 75, Goudi, Athens**

The purpose of the present work is to study the effect of the tumor promoter *TPA* on Sertoli cell morphology *in vitro*, by means of cryo-SEM. For this purpose, Sertoli cells are cultured for 4 days on round glass coverslips, 13mm in diameter, in MEM synthetic culture medium. *TPA* is added at a final concentration of  $10^{-7}$ M for 8 hrs. After the end of the culture, Sertoli cells are lightly fixed for 5min with a mixture of 2% formaldehyde and 0.5% glutaraldehyde in phosphate buffer 0.1M, pH 7.4, rinsed with distilled water, passed through 20% methanol for cryoprotection and plunged-frozen in liquid nitrogen (-194°C). Ice crystal deposits are removed from the cell surface by sublimation by raising sample stage temperature to -90°C. The specimens are sputter-coated with gold and finally observed at 5-10kV, at -185°C. Under the SEM, control Sertoli cells appear flat with a relatively smooth surface, slightly elevated central region and obvious filopodial extensions. After treatment with *TPA* the majority of the cells round up, appear elevated and the cytoplasm retracts around a central region leaving some filamentous remnants affixed to the substrate. The results are in agreement with previous observations made with transmission electron microscope, and reinforce morphometrical and immunocytochemical studies that *TPA* significantly alters the morphology of Sertoli cells, *in vitro*.

## Η ΙΔΡΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ 5382insC ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ BRCA1 ΣΕ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ ΜΕ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΜΑΣΤΟΥ / ΩΟΘΗΚΩΝ

Πανταζίδης Α.<sup>1</sup>, Ε. Κωνσταντοπούλου<sup>1</sup>, Α. Λαδοπούλου<sup>1</sup>,  
Δ. Μπούμπα<sup>1</sup>, Χ. Τσιώνου<sup>1</sup>, Γ. Φούντζηλας<sup>2,3</sup>  
και Δ. Γιαννουκάκος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Μοριακής Διαγνωστικής, Ινστιτούτο Ραδιοϊσοτόπων & Ραδιοδιαγνωστικών Προϊόντων, ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”, <sup>2</sup>Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Θεσ/νίκη, <sup>3</sup>Ελληνική Συνεργαζόμενη Ογκολογική Ομάδα

Ο οικογενής καρκίνος μαστού / ωοθηκών οφείλεται, στο μεγαλύτερο ποσοστό του, στις κληρονομούμενες μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA1 και BRCA2. Μέχρι σήμερα έχει καταγραφεί καθ' όλο το μήκος των γονιδίων αυτών ένας εξαιρετικά μεγάλος αριθμός μεταλλάξεων (>500), ο τύπος και η συχνότητα των οποίων έχουν συχνά διαφορετική γεωγραφική και εθνική κατανομή. Η παθογόνος μετάλλαξη 5382insC έχει ιδιαίτερα υψηλή συχνότητα στον ευρωπαϊκό χώρο (κυμαίνεται από 80% έως 2%) και έχει χαρακτηριστεί ως ιδρυτική μετάλλαξη για πολλούς κεντροευρωπαϊκούς πληθυσμούς, με πιο πιθανό σημείο αρχικής διασποράς την περιοχή της Βαλτικής. Σε μια προσπάθεια εντοπισμού και καταγραφής μεταλλάξεων του γονιδίου BRCA1 για πρώτη φορά στον ελληνικό χώρο, μελετήθηκαν 55 ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού / ωοθηκών για να διαπιστωθεί αν φέρουν τη μετάλλαξη 5382insC. Διαπιστώθηκε ότι, 2 από αυτές είναι φορείς της μετάλλαξης (3,6 %), συχνότητα που είναι σύμφωνη με αυτές που έχουν παρατηρηθεί σε άλλες νοτιοευρωπαϊκές χώρες. Εντοπίστηκαν επίσης άλλες παθογόνες μεταλλάξεις του εξονίου 11, όπως επίσης και διάφοροι πολυμορφισμοί του γονιδίου.

*Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτείται από το πρόγραμμα ΕΠΕΤ-II της Γενικής Γραμματείας Έρευνας & Τεχνολογίας.*

## **THE FOUNDER DELETERIOUS MUTATION 5382insC OF THE BRCA1 GENE IN FAMILIES WITH A HISTORY OF BREAST / OVARIAN CANCER**

**Pantazidis A.<sup>1</sup>, I. Konstantopoulou<sup>1</sup>, A. Ladopoulou<sup>1</sup>, D. Boumba<sup>1</sup>,  
C. Tsionou<sup>1</sup>, G. Fountzilas<sup>2,3</sup> & D. Yannoukakos<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Molecular Diagnostics Laboratory, Institute of Radioisotopes &  
Radiodiagnostic Products, NCSR "Demokritos", <sup>2</sup>AHEPA Hospital,  
Thessaloniki, <sup>3</sup>Greek Cooperative Oncology Group**

Familial breast / ovarian cancer is mostly attributed to inherited mutations at the BRCA1 and BRCA2 genes. A very high number of mutations has been reported so far (>500) distributed throughout the length of the above genes. Mutation types and frequency often exhibit different geographical and ethnic distribution. The deleterious mutation 5382insC has been reported to have exceptionally high frequency in Europe (varying from 80% to 2%) and has been characterized as a founder mutation for many central European populations, with the Baltic area being the most probable site of origin. In an attempt to detect and register BRCA1 mutations for the first time in the Greek region, 56 patients with family history of breast / ovarian cancer were screened for the 5382insC mutation. We found this mutation in 2 of the patients examined (3.6 %), a frequency comparable to those observed in other South-European countries. Other deleterious mutations as well as polymorphisms were characterized in this study.

*This work was supported by the General Secretariat of Research & Technology (EPET-II).*

## ΜΙΑ ΠΑΛΑΙΟΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΝΕΟΛΙΘΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Παπαθανασίου Α., PhD

Εφορεία Παλαιοανθρωπολογίας και Σπηλαιολογίας, Υπουργείο Πολιτισμού  
Αρδηττού 34B, Αθήνα 11636

Αυτή η μελέτη επικεντρώνεται στην ανάλυση και σύγκριση της διατροφής ηπειρωτικών και παράκτιων πληθυσμών της Ελλάδας κατά τη Νεολιθική Εποχή. Στόχος είναι να ερευνηθεί η επίδραση της υιοθέτησης του τροφο-παραγωγικού τρόπου ζωής στην οικονομία και διατροφή των Νεολιθικών πληθυσμών της Ελλάδας. Η έρευνα στηρίχθηκε σε ανάλυση με σταθερά ισότοπα άνθρακα και αζώτου από κολλαγόνο και ανθρακικό απατίτη ανθρώπινου οστού σε δείγματα από έξι Νεολιθικές θέσεις, συγκεκριμένα τρεις παράκτιες, Αλεπότρυπα, Φράγχι και Κεφάλαια και τρεις ηπειρωτικές, Θεόπετρα, Θαρρούνια και Κουβελέικη. Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε στο εργαστήριο Χημείας Οστού στο τμήμα Ανθρωπολογίας του Πανεπιστημίου της Florida στο Gainesville. Συνολικά αναλύθηκαν 102 δείγματα από τα οποία τα 77 έδωσαν έγκυρα αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα αυτά, και συγκεκριμένα, τόσο οι πολύ χαμηλές (αρνητικές) τιμές του άνθρακα και του αζώτου όσο και η ενδιάμεση διαφορά των τιμών του απατίτη και του κολλαγόνου, πιστοποιούν ότι η διατροφή των κατοίκων της Νεολιθικής Ελλάδας ήταν βασισμένη σε C3 τροφές, κυρίως φυτικής προέλευσης. Σ' αυτό το σημείο δεν είναι δυνατό να καθοριστεί το ακριβές ποσοστό της πρωτεΐνης που προέρχεται από ζώα που κατανάλωναν αυτά τα φυτά, αλλά τα στοιχεία δηλώνουν ότι η ποσότητα αυτή ήταν πολύ μικρή. Επίσης πολύ μικρή ήταν και η ποσότητα θαλάσσιας πρωτεΐνης στο σύνολο της διατροφής, αφού όλες οι τιμές συγκεντρώνονται στα πλαίσια της γήινης διατροφής, παρόλο που δύο παράκτιες θέσεις παρουσιάζουν λίγο μεγαλύτερα ποσοστά ενσωμάτωσης πρωτεΐνης θαλάσσιας προέλευσης. Εξάλλου, η μικρή διακύμανση των τιμών υποδηλώνει μεγάλη ομοιογένεια στη διατροφή του συνόλου του πληθυσμού. Η παραπάνω ανάλυση αποδεικνύει μια γεωργο-κτηνοτροφική οικονομία με κύρια έμφαση στα γεωργικά προϊόντα και μικρή, περιστασιακή κατανάλωση κρέατος ή θαλάσσιων ειδών. Αυτό πιθανόν οφείλεται στην αξία των εξημερωμένων ειδών και κυρίως των σιτηρών, τα οποία αποτελούν αξιόπιστες, εύκολα απόθηκεύσιμες τροφές με μεγάλη θερμιδική αξία, και πιθανά συσχετιζόμενο κοινωνικό κύρος. Διατροφικά, ο συνδυασμός σιτηρών και οσπρίων αποδίδει υψηλά ποσοστά ενέργειας, πρωτεϊνών και αμινοξέων. Όμως δεν παρέχει όλες τις απαραίτητες βιταμίνες και κυρίως δεν παρέχει σίδηρο, η έλλειψη του οποίου είναι η βασική αιτία για τις παρατηρούμενες στους Νεολιθικούς πληθυσμούς αναιμίες διατροφικής προέλευσης.

## **A PALEODIETARY RECONSTRUCTION OF NEOLITHIC GREECE**

**Papathnasiou A., Ph.D**

**Ephorate of Paleoanthropology and Speleology, Ministry of Culture,  
34B Ardittou st, Athens 11636, Greece.**

This study focuses on the analysis and comparison of the diet of Neolithic Age populations from Greece, in order to determine the impact of the transition to agriculture on the economy and subsistence of Neolithic Greece. The paleodiet has been reconstructed by using stable isotope analysis of carbon and nitrogen from human bone collagen and carbonate apatite. Six Greek Neolithic populations were sampled, three coastal, namely, Alepotrypa, Franchti, and Kephala, and three inland, namely, Theopetra, Tharrounia and Kouveleiki. The laboratory analysis was performed at the Bone Chemistry Laboratory, Department of Anthropology of the University of Florida, Gainesville. 102 samples were analyzed, 77 from which yielded valid results. The stable isotope analysis, both the low (very negative) carbon values and the low nitrogen values, as well as the difference between the carbonate and collagen carbon readings, which are in the upper range of intermediate values, strongly indicate the consumption of a diet focussed largely on C<sub>3</sub> terrestrial resources, which included agricultural plants and almost certainly some animals. At this point it cannot be determined how much terrestrial animal protein they incorporated into their diet, but these data suggest that the amount was inconsequential. Marine foods appear to have been a minor part of the diet at all of the sites, since all the results fall within the terrestrial range. However, two coastal sites exhibit higher levels of marine protein incorporation in their diets. Furthermore, the very small range of values implies a high degree of homogeneity in their diet. The analysis suggests that Neolithic Greece, regardless of geographical location, was occupied by agricultural groups with a land-based economy, which gives their diet a large terrestrial component, and with a primarily terrestrial subsistence strategy with only occasional or periodic exploitation of animal and marine protein resources. A possible explanation can be the value of domesticated animals and especially cultigens as storable, dependable, highly calorific food resources, and the associated lifeways as well as the possible associated status. In fact, in terms of provision of energy, the combination of cereals and pulses yields significant calorific value and they are a rich source of protein and amino-acids required by man. Nevertheless, such a diet does not supply all the required vitamins, as well as iron, especially hemic iron. Therefor such a diet can account for the observed anemic pathological conditions of the Neolithic populations, including cribra orbitalia and porotic hyperostosis, which are most probably due to iron deficiency of nutritional origin.

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ ΣΕ ΕΜΒΡΥΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Παπαϊωάννου Σ.Ε.<sup>1</sup>, Χ. Χατζημιχαήλ<sup>1</sup>, Δ. Καρδαμάκης<sup>2</sup>,  
Ε. Παπαδημητρίου<sup>1</sup> και Μ. Παναγιωτοπούλου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Μοριακής Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής και  
<sup>2</sup>Τμήμα Ακτινολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών

Οι ενδογενείς αντιαγγειογενετικές πρωτεΐνες αγγειοστατίνη και ενδοστατίνη, που ανακαλύφθηκαν πρόσφατα (Folkman et al), δραματικά μειώνουν, αλλά δεν εξαλείφουν, πρωτογενείς πειραματικούς όγκους και τις μεταστάσεις τους. Η ανάπτυξη των όγκων αυτών μετά τη διακοπή της παραπάνω χορήγησης, μπορεί να αποφευχθεί με συνδυασμό μεθόδων, συμπεριλαμβανομένων της ακτινοβολήσης με ακτίνες Χ και κατάλληλης χημειοθεραπείας.

Η ανάπτυξη ορθολογικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση των κακοήθων όγκων με την χρήση των ακτίνων Χ προϋποθέτει τη λεπτομερή γνώση των εμπλεκόμενων μηχανισμών δράσης. Η παρούσα μελέτη έχει στοχεύσει στον ρόλο του NO στην εμβρυονική αγγειογένεση. Χρησιμοποιήθηκε η χοριοαλλαντοϊκή μεμβράνη (CAM) εμβρύου κοτόπουλου *in vivo* και άλλες σχετικές μέθοδοι. Ακτινοβολήση της ταχύτατα αναπτυσσόμενης CAM υπερδιπλασίασε τα NO<sub>2</sub><sup>-</sup> του ιστού. Κινητικές μελέτες έδειξαν ότι η μέγιστη αντιαγγειογενετική δράση προκλήθηκε 24 ώρες μετά την ακτινοβολήση. Οι αναστολείς της NO συνθάσης L-NAME και L-NA αντέστρεψαν την αντιαγγειογενετική δράση των ακτίνων Χ, ενώ το D-NAME δεν είχε τέτοια δράση. Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια σε μελέτες δόσης-αποτελέσματος των ακτίνων Χ. Επιπλέον ρυθμιστές των NO και O<sub>2</sub><sup>-</sup>, όπως L-Arg, SNP και SOD, καθώς και μια πρόσφατα βελτιωμένη μέθοδος της CAM, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η αντιαγγειογενετική δράση των ακτίνων Χ στην ταχύτατα αναπτυσσόμενη CAM εξαρτάται από το NO.

Εάν οι παραπάνω μηχανισμοί ισχύουν και στους κλινικούς κακοήθεις όγκους, η ακτινοβολήση Χ και η κατάλληλη χημειοθεραπεία με βάση το NO θα μπορούσαν να συνδυασθούν με τις πρόσφατα ανακαλυφθείσες ενδογενείς αντιαγγειογενετικές πρωτεΐνες (Folkman, et al) για αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση των όγκων.

## MECHANISMS OF X-RAYS' ACTIONS ON EMBRYONIC TISSUES

Papaioannou S.E.<sup>1</sup>, C. Hadjimichael<sup>1</sup>, D. Kardamakis<sup>2</sup>,  
E. Papadimitriou<sup>1</sup> & M. Panagiotopoulou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Pharmacology, School of Pharmacy <sup>2</sup>Department of Radiology, School of Medicine, University of Patras, Patras, Greece.

Angiostatin and endostatin are recently discovered (Folkman, et al) endogenous antiangiogenic proteins that dramatically reduce, but do not eliminate, primary experimental tumors and their metastasis. Tumor regrowth at the end of this treatment may be avoided with a combination treatment, including an X-ray and/or appropriate chemotherapy.

Rational approaches for optimal results in X-ray treatment of tumors necessitate detailed knowledge of their mechanism of action. Our studies have focused on the role of NO in embryonic angiogenesis: We have used the chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) *in vivo*, and other relevant methods. Irradiation of the actively proliferating CAM significantly increased the nitrate anions. Kinetic studies of the CAM vascular density showed that the maximum antiangiogenic effect was 24 hours post-irradiation. Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), a specific inhibitor of NO synthase significantly increased the control vascular density and completely reversed the irradiation-induced antiangiogenic effect, whereas D-NAME, the inactive stereoisomer of L-NAME, showed no effect on CAM.

Irradiation dose-response studies and use of additional NO or O<sub>2</sub><sup>-</sup> modulators, i.e. L-Arg, L-NA, SNP and SOD as well as a recently improved CAM method, led to the conclusion that the irradiation-induced antiangiogenic effect of the rapidly proliferating CAM is NO-dependent. These data were basically corroborated by histological and biochemical studies. If these mechanisms hold true in clinical tumors, irradiation and/or NO-modulating chemotherapy may be appropriately combined with the recently discovered endogenous antiangiogenic proteins (Folkman, et al) for more effective treatment of angiogenesis-dependent tumors.

## ΜΟΝΤΕΛΟ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΑΠΟ ΓΛΥΚΟ ΣΟΡΓΟ [*Sorghum bicolor* (L) Moench]

Παπαλέξη Φ., Ασπρούδας Ν., Αγγελόπουλος Κ.

Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Π. ατρών

Θα παρουσιαστεί ένα μοντέλο πρόβλεψης της παραγόμενης βιομάζας, που μπορεί να παραχθεί από καλλιέργεια γλυκού σόργου, όπως αυτό τροποποιήθηκε όσον αφορά την εξέλιξη του δείκτη φυλλικής επιφάνειας στην Ελλάδα. Το μοντέλο στηρίζεται στη γραμμική σχέση που έχει διαπιστωθεί μεταξύ της βιομάζας μιας καλλιέργειας που παράγεται μετά από μια διάρκεια  $a$  ημερών καλλιέργειας και της αθροισόμενης προσπίπτουσας ακτινοβολίας κάθε ημέρας.

Το αρχικό μοντέλο τροποποιήθηκε με την αντικατάσταση της γραμμικής σχέσης μεταξύ του δείκτη φυλλικής επιφάνειας και της μέσης ημερήσιας θερμοκρασίας με μια εκθετική συνάρτηση κατάλληλα προσαρμοσμένης. Το μοντέλο προσαρμόστηκε και αξιολογήθηκε με βάσει πειραματικά δεδομένα στην περιοχή του Πανεπιστημίου της Πάτρας και της Βοιωτίας και μπορεί να προβλέψει τη βιομάζα που μπορεί να παραχθεί σε μια περιοχή της Ελλάδος όταν γνωρίζουμε τις μεταβολές της ηλιακής ακτινοβολίας, της θερμοκρασίας και τις καλλιεργητικές πρακτικές.



## **MODEL FOR PREDICTING BIOMASS PRODUCTION FROM SWEET SORGHUM [*Sorghum bicolor* (L) Moench] CROP**

**Papalexi F., Asproudas N., Angelopoulos K.**

**Laboratory of Plant Physiology. Department of Biology, University of  
Patras**

An empirical model for predicting biomass production from sweet sorghum crop, as it was modified for predicting leaf area index evolution in Greece, will be presented. The model is based on the linear relationship, which exists between biomass production during  $\alpha$  crop days and the accumulated intercepted radiation.

The initial model was modified with the replacement of the linear relationship between leaf area index and the mean diurnal temperature with an exponential function properly fitted. The model was modulated and validated on experimental data derived from an area near the University of Patras and from an area in Biotia and can predict biomass production in Greece when cultivated practices, solar radiation and temperature variations are known.

## ΑΡΧΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ MONTE-CARLO ΣΕ ΔΙΑΚΡΙΤΟ ΧΩΡΟ : ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ

Παπανδρέου Ν.<sup>1</sup>, Η. Ηλιόπουλος<sup>1</sup>, J.-P. Mornon <sup>2</sup>, J. Chomilier<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα.

<sup>2</sup>Laboratoire de Minéralogie et Cristallographie, UMR 7590, Universités Paris 6 et Paris 7, case 115, 75252 Paris cedex 05.

Κατά την αναδίπλωση μιας πρωτεΐνης, τα στοιχεία της δευτεροταγούς δομής της (ΣΔΔ) σχηματίζονται απο τα πρώτα στάδια, ιδιαίτερα οι α-έλικες. Έχουμε δείξει (1) ότι, με μια ab initio προσομοίωση με τη μέθοδο Monte-Carlo σε διακριτό χώρο (ένα απλό κυβικό πλέγμα), στα πρώτα στάδια της αναδίπλωσης σχηματίζονται περισσότεροι του ενός συμπαγείς πυρήνες κατά μήκος της μακρομοριακής αλυσίδας. Βρήκαμε ότι τα αμινοξέα των ΣΔΔ ανήκουν πάντα σε κάποιον πυρήνα.

Στην παρούσα μελέτη, εφαρμόσαμε την ίδια μέθοδο, χρησιμοποιήσαμε όμως ένα πολυπλοκότερο χωροδικτύωμα, που επιτρέπει ρεαλιστικότερη αναπαράσταση της γεωμετρίας των πρωτεϊνών. Σκοπός μας, η λεπτομερέστερη μελέτη του σχηματισμού των πυρήνων αναδίπλωσης. Μελετώντας ένα σύνολο 40 πρωτεϊνών με γνωστή στερεοδομή, που εμπεριέχει όλες τις βασικές οικογένειες αναδίπλωσης, βρήκαμε ότι, ο αριθμός των αρχικά σχηματιζόμενων πυρήνων προσεγγίζει αυτόν των ΣΔΔ. Κάθε πυρήνας εμπεριέχει ένα και ενίοτε δύο ΣΔΔ. Το δεύτερο συμβαίνει όταν τα παραπάνω στοιχεία είναι γειτονικά στην τριτοταγή δομή (πχ χωρίζονται απο μια β-στροφή). Ένας αλγόριθμος που καθορίζει ακριβέστερα τα όρια των πυρήνων (άρα και των ΣΔΔ) βρίσκεται υπό εξέλιξη. Η μέθοδος αυτή μπορεί να συμπληρώσει ήδη υπάρχοντα προγράμματα που προβλέπουν το είδος («α» η «β») των ΣΔΔ, αλλά είναι ανακριβή ως προς τα όριά τους.

(1) Nikolaos Papandreou, Makoto Kanehisa, Jacques Chomilier, *Folding of the human protein FKBP : lattice Monte-Carlo Simulations*. C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie, 1998, 321, 835-843.

## INITIAL STAGE OF PROTEIN FOLDING SIMULATED BY MONTE-CARLO IN A DISCRETE SPACE : RELATION BETWEEN OBSERVED FOLDING FRAGMENTS AND SECONDARY STRUCTURE

Papandreou N.<sup>1</sup>, E. Eliopoulos<sup>1</sup>, J.-P. Mornon<sup>2</sup>, J. Chomilier<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Genetics Laboratory, Agricultural University of Athens,  
Iera Odos 75, 118 55 Athens

<sup>2</sup>Laboratoire de Minéralogie et Cristallographie, UMR 7590,  
Universités Paris 6 et Paris 7, case 115, 75252 Paris cedex 05

The secondary structure elements (SSE) of a protein are formed in the early stages of the folding process, especially the alpha helices. We have shown that in an ab initio Monte-Carlo simulation in a discrete space (a simple cubic lattice) and in the first stages of folding, more than one compact fragments are formed along the macromolecular chain. We found that the amino acids that form SSE always belong to a fragment.

In the present study, we applied the same method, but used a more sophisticated lattice, which permits a more realistic representation of protein geometry. Our goal was a detailed study of the formation of the first fragments. We studied a set of 40 proteins of known tertiary structure, containing all the basic folding geometries. We found that the number of the initially formed fragments approaches that of SSE. Each fragment contains one and sometimes two SSE, the latter occurs when the two elements are neighbours in the tertiary structure (for example, separated by a beta turn). An algorithm improving the precision in determining the limits of fragments (thus of SSE) is currently under development. This method could be complementary of existing programs that determine the nature of SSE ( $\alpha$  or  $\beta$ ), but are not accurate in determining their limits.

- (1) Nikolaos Papandreou, Makoto Kanehisa, Jacques Chomilier, *Folding of the human protein FKBP : lattice Monte-Carlo Simulations*. C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie, 1998, 321, 835-843.

## Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΤΗΣ ΧΡΩΣΤΙΚΗΣ ORANGE II ΣΤΟ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Coleus blumei* L.

Παστρουμά Ζ.<sup>1</sup>, Κ. Αγγελόπουλος<sup>1</sup>, Γ. Λυμπεράτος<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εργ. Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος,  
Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Μελετήθηκε η επίδραση της πρόσληψης της χρωστικής orange II στο φωτοσυνθετικό σύστημα και την αύξηση του φυτού *Coleus blumei* L. Η πρόσληψη της χρωστικής από το θρεπτικό διάλυμα προς τις ρίζες γίνεται με τη διαδικασία της μαζικής ροής παράλληλα με το διαπνευστικό ρεύμα. Τις πρώτες δέκα ημέρες αύξησης των φυτών η θεωρητικά υπολογιζόμενη μείωση της συγκέντρωσης της χρωστικής στο διάλυμα με βάση τους ρυθμούς απώλειας του νερού και η αντίστοιχη μετρούμενη συμπίπτουν. Μετά τις δέκα ημέρες η μετρούμενη μείωση της συγκέντρωσης της χρωστικής στο διάλυμα αποκλίνει όλο και περισσότερο σε σχέση με τη θεωρητικά υπολογιζόμενη.

Επί πλέον μετρήθηκε η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη και ο δείκτης φθορισμού του φωτοσυνθετικού συστήματος II, Fv/Fm στην αρχή του πειράματος και στο τέλος. Διαπιστώθηκε ότι στα φυτά των οποίων το θρεπτικό διάλυμα περιείχε και χρωστική είχαν μειωμένη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη στο τέλος του πειράματος. Επίσης ο λόγος Fv/Fm μειώθηκε κάτω από τις φυσιολογικές τιμές. Οι μεταβολές αυτές δείχνουν ότι στα φυτά των οποίων το θρεπτικό διάλυμα περιείχε χρωστική, προκλήθηκαν φαινόμενα καταπόνησης του φωτοσυνθετικού συστήματος.

Τα φαινόμενα φυτοτοξικότητας στις ρίζες και στα φύλλα των φυτών που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα με χρωστική είχαν ως συνέπεια τη μείωση των ρυθμών αύξησης όπως αυτό διαπιστώνετε από τις εβδομαδιαίες μεταβολές του σχετικού ρυθμού αύξησης, RGR. Κατά τη διάρκεια του πειράματος ο δείκτης αυτός παρουσίασε μείωση σε όλα τα φυτά. Η μείωση εξαρτάται από τη συγκέντρωση της χρωστικής στο θρεπτικό διάλυμα.

## THE EFFECT OF AZODYE ORANGE II UPTAKE ON PHOTOSYNTHETIC SYSTEM AND GROWTH OF PLANT *Coleus blumei* L

Pastrouma Z.<sup>1</sup>, K. Angelopoulos<sup>1</sup>, G. Lyberatos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lab. of Plant Physiology, Department of Biology, University of Patras

<sup>2</sup>Lab. of Biochemical Engineering and Enviromental Technology, Dept.  
of Chemical Engineering, University of Patras

The effects of orange II uptake by on photosynthetic system and the growth of plant *Coleus blumei* L. was studied. The uptake of azodye from nutritional solution into roots is driven by mass flow in parallel with the transpiration stream. During the experiment the concentration of azodye in nutritional solution was decreasing. Both the measured dilution and the estimated one was the same up to the first ten days of plant growth but they diverged during the following days.

In addition chlorophyll content and the fluorescence ratio Fv/Fm in leaves at the beginning and at the end of experiments were measured. It was found that the chlorophyll content diminished among plants with azodye in their nutritional solution. The fluorescence ratio Fv/Fm also declined under the physiological values. Variations in both these parameters showed that photosynthetic system of plants with azodye in their nutritional solution was under stress.

Phytotoxic phenomena both in roots and leaves, influenced the growth of plants. The growth index relative growth rate, RGR, decreased in all plants. But the presence of the azodye in nutritional solution of some plants caused greater decline in their relative growth rates that was dependent on azodye concentration.

## ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΑΝΑΔΙΑΤΑΞΕΩΝ

Παυλίδης Π., Κ.Σ. Μπουγιούκος και Ι. Σούρδης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας,  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ιερά Οδός 75 Αθήνα 11855

Το πρόβλημα των γονιδιακών αναδιατάξεων (αναστροφές, μεταθέσεις, εισαγωγές, ελλείψεις, διπλασιασμοί κ.λπ.) έχει γίνει πολύ ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια λόγω της σπουδαιότητας του στις μελέτες της εξέλιξης των διαφόρων γονιδιωμάτων.

Τα διάφορα προβλήματα που εμφανίζονται στις γονιδιακές αναδιατάξεις είναι πού διαφορετικά από αυτά που εμφανίζονται στην ανάλυση ακολουθιών της μοριακής φυλογενετικής, έτσι απαιτούνται καινούργιες μέθοδοι για να την επίλυση τους. Σε αυτές τις μεθόδους υποχρεωτικά γίνεται χρήση της θεωρίας των γραφημάτων για την ανάλυση των δομών των αναδιατάξεων. Όμως ακόμα και με τη χρήση αυτών των μεθόδων, δεν υπάρχουν αποτελεσματικοί και ακριβείς αλγόριθμοι,

Εξετάζουμε διάφορα προβλήματα γονιδιακών αναδιατάξεων ως προβλήματα ανάπτυξης αλγορίθμων και ειδικότερα πως τα διάφορα θεωρητικά πρότυπα των γραφημάτων μπορούν να εφαρμοστούν στα προβλήματα των γονιδιακών αναδιατάξεων που μελετάμε.

## **GENOME REARRANGEMENT PROBLEM**

**Pavlidis P., C.S. Bouyoukos & J. Sourdis**

**Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology,  
Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos, Athens 11855**

Various genome rearrangements such as inversions, transpositions, insertions and duplications have recently become of interest because of their applications in genome evolution studies.

Genome rearrangement problems seem to be unlike previously studied algorithmic problems on traditional phylogenetics, so new methods have had to be developed to deal with them. These methods predominantly employ graphs to model permutation structure. However, even using these methods, often a genome rearrangement problem has no obvious polynomial-time algorithm.

We study several genome rearrangement problems as interesting and challenging algorithmic problems. We examine, in particular, how the graph theoretic models relate to the genome rearrangement problems that we study.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΙΟΓΕΝΩΝ ΑΜΙΝΩΝ ΚΑΙ  
ΤΗΣ ΑΔΕΝΟΣΙΝΗΣ ΣΤΑ ΓΑΓΓΛΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ  
ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *Helix lucorum* (L.)  
ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΓΚΛΙΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΕ  
ΧΑΜΗΛΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ  
ΧΕΙΜΕΡΙΝΗΣ ΝΑΡΚΗΣ**

**Πορτοκαλίδου Ξ. και Β. Μιχαηλίδης**

**Εργ. Φυσ. Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών  
Επιστημών, Αριστοτέλειο Παν.μιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη - 54006**

Η φυσιολογία της διαδικασίας της χειμερινής νάρκης είναι πολύ λίγο κατανοητή. Στα σπονδυλωτά, η χειμερινή νάρκη μπορεί να θεωρηθεί σαν μια φυσιολογική διαδικασία ύπνου, κατά τη διάρκεια της οποίας η θερμοκρασία του σώματος των ζώων σταδιακά μειώνεται μέχρι να σταθεροποιηθεί σε ένα συγκεκριμένο επίπεδο. Σημαντικό ρόλο κατά τη διαδικασία αυτή πιστεύεται ότι παίζουν οι βιογενείς αμίνες. Σε ορισμένα είδη, όπως στα χάμστερς *Cricetus cricetus* και *Mesocricetus auratus*, τα επίπεδα των βιογενών αμινών και ιδιαίτερα της σεροτονίνης αυξάνουν κατά τη διάρκεια της χειμερινής νάρκης. Στην παρούσα εργασία, μετρήσαμε τα επίπεδα των βιογενών αμινών και της αδενοσίνης στα γάγγλια και στην καρδιά του χερσαίου σαλιγκαριού *Helix lucorum*, κάτω από συνθήκες εγκλιματισμού σε χαμηλή θερμοκρασία (5°C) και κάτω από συνθήκες προσομοίωσης χειμερινής νάρκης. Ο προσδιορισμός τους έγινε με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή και φασματοφωτόμετρο UV, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι, στα γάγγλια και στην καρδιά αυξάνονται τα επίπεδα της σεροτονίνης και του μεταβολίτη της 5-HIAA. Τα επίπεδα της ντοπαμίνης και του μεταβολίτη της HVA, παραμένουν περίπου σταθερά στα γάγγλια, ενώ μειώνονται στην καρδιά. Στους παραπάνω ιστούς, παρατηρείται μείωση των επιπέδων της αδενοσίνης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η αύξηση των επιπέδων της σεροτονίνης μπορεί να οφείλεται σε αυξημένη δραστηριότητα των σεροτονεργικών νευρώνων, ενώ ο ρόλος της αδενοσίνης δεν είναι πλήρως κατανοητός.



## **DETERMINATION OF BIOGENIC AMINES AND ADENOSINE IN GANGLIA AND HEART OF THE LAND SNAIL *Helix lucorum* (L.) UNDER CONDITIONS OF LOW TEMPERATURE AND HIBERNATION**

**Portokalidou X. & B. Michaelidis**

**Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, Science School,  
Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54006**

The physiology of the process of entering hibernation is poorly understood. This process, in vertebrates, is considered to be a physiological extension of sleep, in the course of which there is a change in the set point of temperature regulation that declines and is then followed by a plateau. It is believed that biogenic amines play an important role during hibernation. In some species, like the hamsters *Cricetus cricetus* and *Mesocricetus auratus*, the levels of biogenic amines and especially serotonin increase during hibernation. The current study was about the determination of biogenic amines and adenosine in ganglia and heart of the land snail *Helix lucorum* under conditions of low temperature (5°C) and hibernation. The determination of biogenic amines and adenosine was done by using high-performance-liquid-chromatography method (HPLC) with an electrochemical detector and a phasmatophotometer UV, respectively. The results showed an increase of serotonin and its metabolite 5-HIAA, in ganglia and heart. The levels of dopamine and its metabolite HVA, were maintained constant in ganglia and decreased in heart. The levels of adenosine were decreased at the same tissues. Based on the results, we could suggest that the increase of serotonin might be due to increased activity of serotonergic neurons, while the role of adenosine is not completely understood.

## ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΩΝ ΤΗΣ ΙΝΟΣΙΤΟΛΗΣ ΜΕΣΩ ΤΩΝ $\alpha_1$ -ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ

Πεχτελίδου Α., Σ. Βαξεβανέλης, Κ. Γαϊτανάκη\* και Α. Λάζου

Εργ. Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

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

Τα χαρακτηριστικά των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων και ο φυσιολογικός τους ρόλος στην καρδιά έχουν μελετηθεί εκτενώς στα θηλαστικά. Αντίθετα, υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες για τους αδρενεργικούς υποδοχείς στην καρδιά των αμφιβίων, και η ύπαρξη των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων έχει αμφισβητηθεί. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι αφενός να διευκρινιστεί η ύπαρξη των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων στην καρδιά του βατράχου και να προσδιοριστεί ο αριθμός τους και αφετέρου να προσδιοριστεί αν η διέγερση των υποδοχέων αυτών οδηγεί στην υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης όπως συμβαίνει στην καρδιά των θηλαστικών. Σε πειράματα σύνδεσης, χρησιμοποιώντας [<sup>3</sup>H]-πραζοσίνη που είναι ειδικός ανταγωνιστής των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων, προσδιορίστηκε ο αριθμός των υποδοχέων αυτών σε μεμβράνες από καρδιά βατράχου καθώς και η σταθερά σύνδεσης. Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της αδρεναλίνης, ενός αδρενεργικού αγωνιστή, στην υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης σε απομονωμένες εμποτισμένες καρδιές βατράχου. Οι καρδιές επισημάνθηκαν με [<sup>3</sup>H]-μυο-ινοσιτόλη και στη συνέχεια διεγέρθηκαν με αυξανόμενες συγκεντρώσεις αδρεναλίνης. Η υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης προσδιορίστηκε με τη μέτρηση της τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP<sub>3</sub>) και των υδρολυτικών της προϊόντων (IP<sub>2</sub>, IP<sub>1</sub>) μετά από διαχωρισμό με ιοντοανταλλακτική χρωματογραφία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αδρεναλίνη διεγείρει την υδρόλυση των φωσφολιπιδίων με ένα μέγιστο περίπου τρεις φορές σε σχέση με το μάρτυρα. Η τιμή EC<sub>50</sub> που υπολογίστηκε είναι περίπου 6.23x10<sup>-5</sup> M.

## **$\alpha_1$ -ADRENERGIC RECEPTOR STIMULATION OF PHOSPHOINOSITIDE HYDROLYSIS IN FROG HEART**

**Pehtelidou A., S. Vaxevelis, K. Gaitanaki\* & A. Lazou**

**Lab. of Animal Physiology, Dept. of Zoology, School of Biology, Aristotle  
University of Thessaloniki and \* Dept. of Animal and Human Physiology,  
School of Biology, University of Athens**

The characteristics of  $\alpha_1$ -adrenergic receptors and their biological role in the heart have been clearly described in mammals. In contrast, little is known about the adrenergic receptors in the heart of amphibians and the actual presence of  $\alpha_1$ -adrenergic receptors has been questioned. The aim of the present study is (1) to assess the presence of  $\alpha_1$ -adrenergic binding sites in frog heart and (2) to determine whether the stimulation of these receptors leads to the hydrolysis of membrane phosphoinositide as it is the case in mammalian heart. Radioligand binding experiments using specific  $\alpha_1$ -adrenergic antagonist [ $^3$ H]prazosin, indicated the presence of  $\alpha_1$ -adrenergic binding sites in membranes from frog heart. Furthermore, the effect of adrenaline, an adrenergic agonist, on phosphoinositide hydrolysis was studied in isolated perfused frog hearts. Hearts were labelled with [ $^3$ H]myo-inositol and then they were stimulated with increasing concentrations of adrenaline. Phosphoinositide hydrolysis was assessed by determining inositol phosphates using ion-exchange chromatography. The results demonstrated that adrenaline stimulates phosphoinositide hydrolysis with a maximum of about three-fold compared to control hearts and an  $EC_{50}$  of  $6.23 \times 10^{-5}$  M.

## ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΥΠΟΤΕΛΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ *Ceratitis capitata*

Ράπτη Κ., Π. Γουρζή, Α. Γαριού-Παπαλεξίου και Α. Ζαχαροπούλου

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστημίου Πατρών.

Η Μεσογειακή μύγα, *Ceratitis capitata*, είναι ένα παράσιτο γεωργικών καλλιεργειών, αφού προσβάλλει περισσότερα από 250 είδη φρούτων σ' όλο σχεδόν τον κόσμο, προκαλώντας τεράστιες καταστροφές στις καλλιέργειες. Η ανάγκη αντιμετώπισης των επιβλαβών εντόμων έχει εντατικοποιήσει τη μελέτη τους τα τελευταία χρόνια με στόχο την ανάπτυξη μεθόδων βιολογικού ελέγχου των πληθυσμών τους, περιορίζοντας έτσι τη χρήση εντομοκτόνων επιζήμιων για το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία. Ο ρόλος της γενετικής αλλά και της μοριακής βιολογίας σε μελέτες που σχετίζονται με τη βιολογική καταπολέμηση επιβλαβών ειδών έχει αυξηθεί σημαντικά. Σ' αυτό συνετέλεσε αφ' ενός η πεποίθηση ότι η γενετική μπορεί να συμβάλλει σημαντικά σε τέτοιου είδους προγράμματα και αφ' ετέρου η τεχνολογική ανάπτυξη που δίνει τη δυνατότητα ανάλυσης και χειρισμού του γονιδιώματος των οργανισμών. Αν και η Μεσογειακή μύγα θεωρείται το καλύτερα γενετικά μελετημένο είδος της οικογένειας *Tephritidae* (η οποία περιλαμβάνει είδη οικονομικής σημασίας), εν τούτοις η γενετική της υστερεί σε σχέση με άλλα έντομα, όπως του γένους *Drosophila*. Το γεγονός αυτό είναι αποτέλεσμα, κύρια (α) της πρόσφατης έναρξης της γενετικής μελέτης του εντόμου, και (β) του περιορισμένου αριθμού των εργαστηρίων που ασχολούνται με τη γενετική του σε διεθνές επίπεδο. Συνέπεια αυτού είναι η περιορισμένη διαθεσιμότητα γενετικών δεικτών και η απουσία γενετικών εργαλείων που θα διευκόλυναν τη γενετική ανάλυση. Πρόσφατα κατασκευάστηκε στο εργαστήριό μας το πρώτο ισορροπημένο χρωμόσωμα του εντόμου. Τα ισορροπημένα χρωμοσώματα, όπως έχει αποδειχθεί στην *D. melanogaster*, αποτελούν σημαντικά γενετικά εργαλεία. Χρησιμοποιούνται στην απομόνωση νέων μεταλλάξεων καθώς και στην διατήρηση υποτελών θανατογόνων μεταλλάξεων ή και μεταλλάξεων που προκαλούν στειρότητα. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το ισορροπημένο χρωμόσωμα για την απομόνωση νέων μεταλλάξεων (υποτελών θανατογόνων ή και μορφολογικών) στο πέμπτο χρωμόσωμα του εντόμου. Για την επαγωγή των μεταλλάξεων χρησιμοποιήθηκε το χημικό μεταλλαξιγόνο EMS (ethyl-methanosulfate). Σε ώριμα αρσενικά άτομα 1-2 ημερών του στελέχους *wy* έγινε επίδραση με EMS (25mM, σε 10% σουκρόζη) και μετά από τις κατάλληλες διασταυρώσεις απομονώθηκαν στην F4 γενιά υποτελείς θανατογόνες μεταλλάξεις, αλλά και νέες μορφολογικές μεταλλάξεις. Αποτελέσματα από τη γενετική ανάλυση των μεταλλάξεων αυτών θα παρουσιαστούν.

**INDUCTION AND ISOLATION OF RECESSIVE  
MUTATIONS IN THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY  
*CERATITIS CAPITATA***

**Rapti C., P. Gourzi, A. Gariou-Papalexiou & A. Zacharopoulou**

**Departement of Biology, University of Patras**

The Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*, is rated as one of the world's most destructive agricultural pests. It attacks more than 250 fruit species around the world. The necessity to develop biological control methods for these insect pests made their study more intense over the past few years. Biological control methods will reduce the use of insecticides that are damaging to the environment and the human health. The contribution of genetics and molecular biology to the development of such methods has increased in the recent years. This is mainly due to the belief that genetics can contribute considerably to these programmes and to the development of technology that gives the opportunity to analyze and manipulate these genomes. Eventhough the Mediterranean fruitfly is considered to be the best studied species of the family *Tephritidae* (it includes species of economic importance) its genetics lags in comparison to other insects, such as *Drosophila*. This results in the limited availability of genetic markers and the lack of genetic tools that would facilitate the genetic analysis. Recently, the first balancer chromosome of the insect was constructed in our laboratory. Balancers, as has been shown in *D. melanogaster*, are important genetic tools. In the present study the medfly balancer chromosome was used in order to isolate new mutations (recessive lethal and morphological) on the fifth chromosome. The chemical mutagen EMS (ethyl-methenosulfate) was used for the induction of mutations. Male adults, 1-2 days old, were treated with EMS (25mM, in 10% sucrose) and following the necessary crosses, recessive lethal as well as morphological mutations were isolated in the F4 generation. Data on the genetic analysis of these mutations will be presented.

## ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΠΟΤΑΜΙΕΥ- ΤΙΚΗ ΝΟΣΟ ΓΛΥΚΟΓΟΝΟΥ ΤΥΠΟΥ ΙΙ (ΑΣΘΕΝΕΙΑ POMPE). ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΑΡΧΗΣ ΤΟΥ ΙΔΡΥΤΗ

Ρουμελιώτη Κ., Α. Πέντζου-Δαπόντε, R.J.Sinke\*

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Τμήμα Βιολογίας, Θεσσαλονίκη  
\*Department of Medical Genetics, University Medical Center,  
Utrecht, the Netherlands

Η αποταμιευτική νόσος γλυκογόνου, τύπου ΙΙ, προκαλείται από την απουσία του λυσοσωμικού ενζύμου α-γλυκοσιδάση, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση του γλυκογόνου στα λυσοσώματα. Το κλινικό φάσμα της ασθένειας κυμαίνεται από αργά προοδευτική μυοπάθεια, έως εμβρυϊκή εκδήλωση δυσλειτουργίας, που χαρακτηρίζεται από απόθεση γλυκο-γόνου σε μύες, καρδιά, ήπαρ και γρήγορο θάνατο, κυρίως από καρδιο-αναπνευστική ανεπάρκεια. Το λυσοσωμικό γονίδιο της α-γλυκοσιδάσης GAA εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17q23-25. Οι ασθενείς φέρουν τουλάχιστον μία μετάλλαξη σε καθένα από τα δύο αλληλόμορφα, που οδηγεί σε μερική ή ολική δυσλειτουργία του ενζύμου, ή και σε απώλειά του. Οι συχνότερες μεταλλάξεις σε Ολλανδούς ασθενείς είναι (1) Το έλλειμμα ενός νουκλεοτιδίου στη θέση 525(Δ525T), που παρατηρείται μόνο σε ασθενείς Ολλανδικής καταγωγής. (2) Ένα έλλειμμα στο εξόνιο 18(del.18), που έχει βρεθεί μόνο σε Καυκάσιους ασθενείς, και (3) Ακόμη μία μετάλλαξη σημείου, η IVS1(-13→G), η οποία παρατηρείται σε ενήλικους ασθενείς από όλο τον κόσμο.

Στα πλαίσια της έρευνας αυτής έγινε προσπάθεια να βρεθεί αν ισχύει η υπόθεση της αρχής του ιδρυτή για την μετάλλαξη Δ525T, αν ισχύει η υπόθεση της αρχής του ιδρυτή για το έλλειμμα του εξονίου 18, και επιπλέον να ελεγχθεί η υπόθεση ότι οι επαναλαμβανόμενες ακολουθίες που πλαισιώνουν το εξόνιο 18 αποτελούν θερμές θέσεις μετάλλαξης

Με την τεχνική των PCR, RFLPs και της ηλεκτροφόρησης, αναλύθηκαν 7 πολυμορφισμοί στο γονίδιο GAA. Όλες οι μεταλλάξεις ανάμεσα σε άτομα διαφορετικών οικογενειών συνδέονται με συγκεκριμένους απλό-τυπους, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση της αρχής του ιδρυτή. Από την ανάλυση της πρωτοδιάταξης του εξονίου 18 σε DNA ατόμων Τουρκικής, Ινδονησιακής και Ευρωπαϊκής καταγωγής, δεν εντοπίστηκαν διαφορές στην αλληλουχία των βάσεων των επαναλαμβανόμενων ακολουθιών για άτομα διαφορετικής εθνολογικής προέλευσης.

**MUTATIONS IN GLYCOGEN STORAGE DISEASE  
PATIENTS TYPE II (POMPE DISEASE) *EVIDENCE  
FOR A FOUNDER EFFECT***

**Roumelioti K., A. Pentzou-Daponte, R.J. Sinke\***

**Dept of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece**

**\*Dept of Med. Genetics, University Medical Center, Utrecht, Netherlands**

Glycogen Storage Disease type II (GSD II) is caused by the deficiency of the lysosomal enzyme acid  $\alpha$ -glycosidase. That results in the accumulation of excess glycogen in the lysosomes. The clinical spectrum ranges from a slowly progressive myopathy, to an infantile onset disorder, characterized by accumulation of glycogen in muscle, heart, liver and early death, mostly by cardiorespiratory insufficiency.

The lysosomal glycosidase gene (GAA) is located on the chromosome 17q23-25. The patients have at least one deleterious mutation in each of the two alleles, which leads to a partial or complete loss of enzyme or catalytic function, or both. The mutations observed frequently in Dutch patients are: (1) A single nucleotide deletion at position 525( $\Delta$ 525T), which is found only in people of Dutch ancestry, (2) A deletion of exon 18(del18), that is found only in Caucasian patients, (3) A splice site mutation, IVS1(-13T $\rightarrow$ G), which is found in adult patients all over the world

In this research we tried to find out whether we can detect a founder effect for the  $\Delta$ 525T mutation, whether we can detect a founder effect for the deletion exon 18 mutation, and furthermore to test the hypothesis that the direct repeats that flank exon 18 are hot spots for mutation.

By techniques of PCR, RFLPs and electrophoresis, a series of 7 intragenic polymorphisms in the GAA gene were analyzed. All the mutations between patients of different families appear to be linked to certain haplotypes, indicating the possibility of a founder effect. The sequencing analysis of the exon 18 of DNA of Caucasian, Turkish and Indonesian people revealed no differences in the basepair composition of the direct repeats between individuals of different ethnic origin.

## ΔΟΜΙΚΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

**Scandalios G.J.**

**Distinguished University Research Professor**

**Department of Genetics, North Carolina State University, Raleigh,  
NC 27695-7614**

Το μοριακό οξυγόνο είναι ουσιώδες για τη ζωή στη Γη. Ωστόσο, η ατελής αναγωγή του οξυγόνου προς ύδωρ κατά τον συνήθη αερόβιο μεταβολισμό δημιουργεί δραστικά παράγωγα οξυγόνου (ROS) τα οποία συνιστούν σοβαρή απειλή για όλους τους αερόβιους οργανισμούς. ROS, όπως είναι το μονήρες οξυγόνο, το ανιόν του σουπεροξειδίου, το υπεροξειδίο του υδρογόνου και το νιτρικό οξείδιο, είναι αποφασιστικής σημασίας για πολλές φυσιολογικές διεργασίες, συνήθως δε συνυπαρχουν εντός των κυττάρων μαζί με βιοχημικά αντιοξειδωτικά συστατικά. Ωστόσο, έκθεση σε τοξικές ή οξειδωτικές ουσίες του περιβάλλοντος καθώς και σε ακτινοβολίες ή βιολογικούς στρεσογόνους παράγοντες έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ποσότητας των ROS. Η αυξημένη ποσότητα των ROS διαταράσσει την ισορροπία στο οξειδαναγωγικό δυναμικό του κυττάρου (προς μια περισσότερο οξειδωτική κατάσταση) και αλλοιώνει τις φυσιολογικές βιολογικές λειτουργίες. Αυτή η κατάσταση χαρακτηρίζεται ως «Οξειδωτική Καταπόνηση» και μπορεί να αποβεί καταστροφική για τον οργανισμό και να συμβάλλει στην παθογένεια νοσημάτων και γήρανσης, και σε πολυάριθμες φυσιολογικές δυσλειτουργίες, με αποτέλεσμα τον θάνατο του κυττάρου. Για την αντιμετώπιση των επιδράσεων των ROS και την αποκατάσταση της οξειδαναγωγικής ισορροπίας, τα κύτταρα πρέπει να θέσουν σε δράση κρίσιμες ομοιοστατικές παραμέτρους. Μεταβολές, οι οποίες σχετίζονται με οξειδωτική βλάβη και αποκατάσταση της κυτταρικής ομοιοστασίας έχουν συχνά ως αποτέλεσμα τη «δραστηριοποίηση» ή την «απόσβεση» γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν ρυθμιστικούς, μεταγραφικούς παράγοντες, αμυντικά αντιοξειδωτικά γονίδια και ένζυμα, και δομικές πρωτεΐνες.

Στόχος μας είναι να διαλευκάνουμε πλευρές των αμυντικών, αντιοξειδωτικών γονιδίων που κωδικοποιούν καταλάσες και δισμουτάσες του σουπεροξειδίου. Η δομή αυτών των γονιδίων έχει ήδη αποκαλυφθεί, έχουν δε προσδιορισθεί αλληλουχίες οι οποίες υποδηλώνουν ότι, η διαφορική απόκριση αυτών των γονιδίων σε ποικίλα αναπτυξιακά και περιβαλλοντικά σήματα μπορεί να καθορισθεί από ειδικές αλληλουχίες εντός κάθε γονιδίου.

Η γνώση του πώς αυτά τα γονίδια ρυθμίζονται στο μεταγραφικό επίπεδο από εσωτερικά, γενετικά προγραμματισμένα μηνύματα και περιβαλλοντικά σήματα, θα αποτελέσει το κλειδί για την κατανόηση του ειδικού φυσιολογικού ρόλου κάθε γονιδίου και των παραγώγων του, και θα ενισχύσει τις προσπάθειές μας στην δημιουργία οργανισμών ώστε να παρουσιάζουν αυξημένη αντοχή στην οξειδωτική καταπόνηση. Αυτές οι μελέτες έχουν υψίστη σημασία για τη βιολογία, την ιατρική και τη γεωπονία.



## **ANTIOXIDANT GENE STRUCTURE-FUNCTION COMPONENTS**

**Scandalios G.J.**

**Distinguished University Research Professor**

**Department of Genetics, North Carolina State University, Raleigh,  
NC 27695-7614**

Molecular oxygen is essential for life on Earth. However, the incomplete reduction of oxygen to water during normal aerobic metabolism generates reactive oxygen species (ROS) that pose a serious threat to all aerobic organisms. ROS such as singlet oxygen, superoxide anion, hydrogen peroxide, and nitric oxide are crucial for many physiologic processes, and usually exist in the cell in a balance with biochemical antioxidants. However, excess ROS resulting from exposure to environmental oxidants, toxicants, radiation, or numerous biostressors, perturbs cellular redox balance (to a more oxidized state) and disrupts normal biological functions. This condition is referred to as "Oxidative Stress" and may be detrimental to the organism and contribute to the pathogenesis of disease and aging, and numerous physiologic dysfunctions leading to cell death. To counteract the effects of ROS and to restore a state of redox balance, cells must reset critical homeostatic parameters. Changes associated with oxidative damage and restoration of cellular homeostasis often lead to "activation" or "silencing" of genes encoding regulatory transcription factors, antioxidant defense genes and enzymes, and structural proteins. We have elaborated on elucidating aspects of the antioxidant defense genes encoding catalases and superoxide dismutases. The architecture of these genes has been resolved and motifs have been identified which suggest that the differential responses of these genes to various developmental and environmental signals may be determined by specific sequences within each gene. Knowledge of how these genes are regulated at the transcriptional level by internal, genetically programmed cues and environmental signals, is a key to understanding the specific physiological role of each gene and its product, and will enhance our efforts in engineering organisms for increased tolerance to oxidative stress. These studies are of significance to biology, medicine, and agriculture.

*(Supported by NSF, USEPA, & USDA).*

## ΠΕΡΙ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΟΥΣ. I. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

**Schneider K.<sup>1</sup>, Αλεξανδρίδης Ν.<sup>2</sup>, Ζερβού Δ.<sup>2</sup>, Ιωαννίδη Ε.<sup>2</sup>,  
Αθανασόπουλος Α.<sup>2</sup> και Σ. Ριζοπούλου<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Botanisches Institut, Universität zu Köln, D-50923 Köln, Germany

<sup>2</sup> Τομέας Βοτανικής, Τμ. Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784

Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη της ανάπτυξης κι επέκτασης της στεφάνης του άνθους (δηλ. της διάταξης εκείνης που συγκροτείται από πέταλα, σχηματίζοντας ένα έγχρωμο, εφήμερο συνήθως σπονδύλωμα). Η δομή των ανθέων είναι σύνθετη από μεταμορφωμένα φύλλα, μ' εμφανή κι αφανή χαρακτηριστικά (μορφολογία, χρώμα, άρωμα). Η άνθηση είναι φαινόμενο εποχιακό, με διαφορετική διάρκεια (μεταξύ φυτικών ειδών), ωστόσο είναι άγνωστοι οι μηχανισμοί με τους οποίους αποκρίνεται στις πιέσεις του περιβάλλοντος. Το πρωτόκολλο δειγματοληψίας -στη φάση αυτή- περιελάμβανε συλλογή, μετρήσεις κι αναλύσεις σε πέταλα φυτικών ειδών που ανθίζουν από τον Μάιο ως τον Ιούλιο, στο Βοτανικό Κήπο Ιουλίας κι Αλεξάνδρου Ν. Διομήδους (Ιερά οδός 401, Χαΰδари Αττικής). Μετρήσεις παραμέτρων της υδατικής κατάστασης των πετάλων, έδειξαν ότι το υδατικό δυναμικό (Ψ) κυμαίνεται από -0,4 MPa ως -1,5 MPa και το οσμωτικό δυναμικό (Ψ<sub>σ</sub>) από -0,6 MPa ως -2,0 MPa. Η πίεση σπαργής (0,2 - 0,9 MPa) συσχετίζεται θετικά με το μέγεθος του άνθους. Η συγκέντρωση της ελεύθερης προλίνης σχετίζεται με την εκδήλωση μηχανισμού οσμωτικής διευθέτησης, από τα πέταλα. Επίσης, προσδιορίστηκε το περιεχόμενο των πετάλων σε ολικό-, διαλυτό- και πρωτεϊνικό-άζωτο, ολικά σάκχαρα, άμυλο, λίπη και η συμμετοχή των λιπαρών οξέων (ενδεικτικά, αναφέρεται η παρουσία παλμιτικού οξέος στα πέταλα όλων των ειδών που μελετήθηκαν).

*Αυτό το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Παν/μίου Αθηνών και τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας.*

## **ON FLOWER DEVELOPMENT. I. PHYSIOLOGICAL ASPECTS**

**Schneider K.<sup>1</sup>, Alexandredes N.<sup>2</sup>, Zervou D.<sup>2</sup>, Ioannidi E.<sup>2</sup>,  
Athanasopoulos A.<sup>2</sup> & S. Rhizopoulou<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>**Botanisches Institut, Universität zu Köln, D-50923 Köln, Germany**  
<sup>2</sup>**Section of Botany, Biology Dept., University of Athens, Athens 15784**

Flower is the reproductive structure of the angiosperms. Floral axes bear petals; collectively the corolla is related to their morphology, size, color, essence. The blossoming period of a species is characterized by seasonality and it varies in duration. In this research, petals from the corolla of plant species, flowering between May and July, in the Botanical Garden of Julia and Alexander N. Diomides (401, Iera Street Chaidari), were studied. The water status of petals has been investigated; the water potential ( $\Psi$ ) varies between -0.4 and -1.5 MPa, the osmotic potential ( $\Psi_{\zeta}$ ) from -0.6 to -2.0 MPa. It is indicative that turgor pressure (0.2 - 0.9 MPa) is positively correlated to the flower size. It is likely that free proline accumulation plays a role in the osmotic adjustment (the process by which water potential can be decreased without an accompanying decrease in turgor) exhibited by the petals of the majority of the species, the opposite holds true for soluble sugars. The total, soluble and protein nitrogen content, as well as starch and total lipids of petals have been investigated. In addition, fatty acids have been detected using gas chromatography; it is clear that palmitic acid predominates.

*This research was partially supported by the Special Research Account of Athens University and the General Secretariat of Research and Technology (Greece).*

## ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ *cis*-ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΥΠΟΚΙΝΗΤΕΣ ΠΡΩΙΜΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΣΤΟ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΑ *Bombyx mori*.

Σουρμελή Σ., Α. Κραββαρίτη, Β. Δουρής, Γ.Κ. Ροδάκης  
και Ρ. Λεκανίδου

Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

Στο μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* τα γονίδια της πολυγονιδιακής οικογένειας του χορίου εκφράζονται αποκλειστικά στα επιθηλιακά κύτταρα των ωοθυλακίων ακολουθώντας ένα πρόγραμμα αυστηρής αναπτυξιακής εξειδίκευσης. Ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο στο οποίο εκφράζονται, διακρίνονται σε πρώιμα, ενδιάμεσα και όψιμα και είναι οργανωμένα (εκτός των πρώιμων γονιδίων 5H4 και 6F6.1,2,3), σε ζεύγη ( $\alpha/\beta$ ) με κοινή 5' ρυθμιστική περιοχή. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί για την ειδική ανά ιστό και αναπτυξιακό στάδιο έκφραση στο χόριο δεν έχουν γίνει επαρκώς κατανοητοί. Στα όψιμα γονίδια έχουν βρεθεί δύο περιοχές δέσμευσης πρωτεϊνικών παραγόντων (BCFI, BCFII), στη μία από τις οποίες προσδένεται μια GATA-πρωτεΐνη (BCFI). Σε ό,τι αφορά τα πρώιμα γονίδια, προγενέστερες μελέτες στον υποκινητή του γονιδίου 6F6.2 υποδεικνύουν την ύπαρξη δύο τουλάχιστον περιοχών πρόσδεσης πρωτεϊνικών παραγόντων (X1, X2), η μία από τις οποίες (X2) εμφανίζει σημαντική ομοιότητα με την περιοχή BCFII των όψιμων γονιδίων. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η προσπάθεια εντοπισμού *cis*-ρυθμιστικών στοιχείων σε ορισμένα άλλα πρώιμα γονίδια και διερεύνησης της σχέσης τους με τα πιθανά ρυθμιστικά στοιχεία του 6F6.2. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με πειράματα επιβράδυνσης ηλεκτροφορητικής κινητικότητας συμπλόκων DNA-πρωτεϊνών (band-shift) στους υποκινητές των 6F6.1 και 3, του 5H4 και του ζεύγους E1. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν δέσμευση τουλάχιστον δύο πρωτεϊνών και στα γονίδια αυτά. Παρά την περιορισμένη ομοιότητα μεταξύ των υποκινητών των διαφόρων πρώιμων γονιδίων, φαίνεται να υπάρχει ισχυρός ανταγωνισμός όσον αφορά την πρόσδεση του παράγοντα που δεσμεύεται στην περιοχή X2. Μια δεύτερη περιοχή φαίνεται να δεσμεύει GATA-παράγοντες, παρ'όλο που δεν εντοπίζεται τυπική GATA-αλληλουχία αναγνώρισης σε όλα τα τμήματα των υποκινητών που χρησιμοποιήθηκαν. Αυτό υποδηλώνει ενδεχόμενη συμμετοχή πρωτεϊνών GATA-τύπου στη ρύθμιση των γονιδίων του χορίου ήδη από τα πρώιμα στάδια της χοριογένεσης, πιθανόν σε συνεργασία με άλλες πρωτεΐνες οι οποίες προσδένονται σε εναλλακτικές αλληλουχίες αναγνώρισης.

## **IDENTIFICATION OF *cis*-REGULATORY ELEMENTS IN EARLY CHORION GENE PROMOTERS IN THE SILKMOTH *Bombyx mori*.**

**Sourmeli S., L. Kravariti, V. Douris, G.C. Rodakis  
& R. Lecanidou**

**Division of Biochemisry & Molecular Biology, Department of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens, Greece**

Genes of the chorion multigene family in the silkmoth *Bombyx mori* are expressed exclusively in follicular cells following a strict program of developmental specificity. According to their developmental stage of expression, chorion genes are classified as early, middle and late and are organized (except for the early genes 5H4, 6F6.1, 2, 3) in divergently transcribed gene pairs ( $\alpha/\beta$ ) sharing a common 5'-flanking regulatory region. The mechanisms responsible for tissue and developmental specificity are not yet well understood. In late genes, two binding regions of protein factors (BCFI, BCFII) have been identified, one of them recognized by a GATA-factor (BCFI). As far as early genes are concerned, our previous studies on 6F6.2 promoter have revealed the existence of at least two binding regions of protein factors (X1, X2), one of which (X2) exhibits significant sequence similarity with the BCFII region in late promoters.

In this study, we present an effort to identify *cis*-elements in certain other early gene promoters and to compare these with the putative regulatory regions of 6F6.2. Mobility shift experiments were performed on promoter regions of the unpaired 6F6.1, 6F6.3 and 5H4 genes and Er.1 gene pair. The results indicate binding of at least two factors to corresponding promoter regions of these genes as in 6F6.2. Although sequence similarity among early gene promoters is limited, there seems to be strong competition of protein binding to X2 region. A second region appears to be responsible for GATA-factor binding, although typical GATA-sites do not exist on all early gene promoter regions. These findings indicate possible participation of GATA-type proteins in chorion gene regulation even from early choriogenetic stages, probably interacting with other proteins binding to alternative recognition sequences.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΚΑΡΑΒΙΔΑΣ (*Nephrops norvegicus*) ΜΕ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΡΙΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Σταμάτης Κ.<sup>1</sup>, Κ.Α. Μούτου<sup>1</sup>, Ζ. Μαμούρης<sup>1</sup>, Κ. Τριανταφυλλίδης<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Γενικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πεδίον Άρεως, Βόλος <sup>2</sup>Τομέας  
Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Μελετήθηκαν 4 πληθυσμοί καραβίδας από τη Βόρεια Θάλασσα, 3 δείγματα του Παγασητικού κόλπου, 2 πληθυσμοί από το Αιγαίο και ένας πληθυσμός από το Ιόνιο με ανάλυση ισοενζύμων, RAPDs και μιτοχondριακού DNA (mtDNA). Για τα ισοένζυμα μελετήθηκαν οι ακόλουθοι γονιδιακοί τόποι: *sAAT-1\**, *ADA-1\**, *ADA-2\**, *ACP-1\**, *ACP-2\**, *AKP-1\**, *AKP-2\**, *AKP-3\**, *CAR\**, *EST-1\**, *EST-2\**, *EST-3\**, *GLC\**, *IDH\**, *LDH\**, *MDH-1\**, *MDH-2\**, *MDH-3\**, *PGDH\**, *PGI-1\**, *PGI-2\**, *SOD\**, *XDH\**, *XO\**. Για τη μέθοδο RAPD χρησιμοποιήθηκαν 20 τυχαίοι εκκινητές, εκ των οποίων 16 βρέθηκαν πολυμορφικοί για όλους τους πληθυσμούς. Για το μιτοχondριακό DNA, μελετήθηκαν δύο διαφορετικές περιοχές που περιελάμβαναν τμήμα της D-loop (600 βάσεις) και τμήμα της κυτοχρωμικής οξειδάσης I (1100 βάσεις), και ενισχύθηκαν με τη μέθοδο PCR. Στα προϊόντα ενίσχυσης έγιναν πέψης με 10 ενδο-νουκλεάσες περιορισμού (*AluI*, *AseI*, *AvaII*, *DdeI*, *HaeIII*, *HinfI*, *MboI*, *MseI*, *MspI*, *TaqI*). Σε επίπεδο RAPDs και mtDNA βρέθηκαν διαγνωστικοί δείκτες και απλότυποι που διαφοροποιούν τους πληθυσμούς της Βόρειας Θάλασσας από τους Ελληνικούς, ενώ μεταξύ των Ελληνικών πληθυσμών δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφοροποίηση. Αντιθέτως, σε επίπεδο ισοενζύμων υπήρξαν σημαντικές διαφορές σε 4 γονιδιακούς τύπους ανάμεσα σε όλους τους πληθυσμούς του Παγασητικού, τους πληθυσμούς εκτός κόλπου και τους πληθυσμούς της Βόρειας Θάλασσας. Δεδομένου ότι στα RAPD και το mtDNA δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση ανάμεσα στους Ελληνικούς πληθυσμούς, τίθεται το ερώτημα κατά πόσο οι διαφορές των ισοενζύμων έχουν γενετικό υπόβαθρο ή οφείλονται σε περιβαλλοντικές επιδράσεις, όπως έχει αναφερθεί σε άλλες περιπτώσεις καρκινοειδών.

## GENETIC STUDY OF NORWAY LOBSTER (*Nephrops norvegicus*) POPULATIONS USING THREE GENETIC METHODS

Stamatis C.<sup>1</sup>, K.A. Moutou<sup>1</sup>, Z. Mamuris<sup>1</sup>, C. Triantaphyllidis

<sup>1</sup>Department of Applied and Theoretical Sciences, Volos, and <sup>2</sup>Department of Genetics, Development and Molecular Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

Four populations of Norway lobster from North Sea, 3 from Pagasitikos Gulf, 2 from Aegean Sea and one from Ionian Sea were studied using allozyme, RAPD and RFLP-mtDNA analysis. Allozyme analysis were based on the following loci: *sAAT-1\**, *ADA-1\**, *ADA-2\**, *ACP-1\**, *ACP-2\**, *AKP-1\**, *AKP-2\**, *AKP-3\**, *CAR\**, *EST-1\**, *EST-2\**, *EST-3\**, *GLC\**, *IDH\**, *LDH\**, *MDH-1\**, *MDH-2\**, *MDH-3\**, *PGDH\**, *PGI-1\**, *PGI-2\**, *SOD\**, *XDH\**, *XO\**. RAPDs were studied using 20 random primers, 16 from which were polymorphic. To analyse the mitochondrial DNA, two different segments, D-loop (600bp) and COI (1100bp), were amplified and then digested with 10 restriction enzymes (*AluI*, *AseI*, *AvaII*, *DdeI*, *HaeIII*, *HinfI*, *MboI*, *MseI*, *MspI*, *TaqI*). RAPDs and mtDNA analysis generated diagnostic markers and haplotypes that differentiated the North Sea from Greek populations, while within Greek populations both methods did not reveal any important genetic structuring. On the contrary, allozymes showed important differences for four loci between Pagasitikos samples, the other Greek populations and the North Sea populations. Given the lack of genetic differentiation within Greek populations using RAPDs and mtDNA it is questionable whether allozyme differences are the result of genetic changes or they reflect environmental effects on allozyme expression as it has been observed in other crustaceans.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΜΠΑΡ- ΜΠΟΥΝΙΟΥ (*Mullus surmuletus*) ΜΕ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA

Σταμάτης Κ.<sup>1</sup>, Κ.Α. Μούτου<sup>1</sup>, Ζ. Μαμούρης<sup>1</sup>, Κ. Τριανταφυλλίδης<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Γενικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πεδίον Άρεως, Βόλος <sup>2</sup>Τομέας  
Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Έξι πληθυσμοί μπαρμπουνιού από 6 θαλάσσιες περιοχές, 3 του Αιγαίου (Καβάλα, Τρίκερι, Ρόδος), 2 του Ιονίου (Κέρκυρα, Πρέβεζα) και 1 της Γαλλίας (Κόλπος του Λέοντος) μελετήθηκαν μετά από πέψη με 12 (*AciI*, *AluI*, *AvaII*, *BstUI*, *DdeI*, *HaeIII*, *HhaI*, *HinfI*, *MboI*, *MseI*, *MspI*, *TaqI*) ένζυμα περιορισμού των τμημάτων D-loop (1450 βάσεις), COI (1300 βάσεις) και 12S/16S rRNA (2000 βάσεις) του μιτοχονδριακού DNA. Από τους 65 συνολικά απλότυπους, οι 62 προήλθαν από πολυμορφισμό στην D-loop και μόνο 3 από πολυμορφισμό στην COI. Οι 51 από τους 65 απλότυπους ήταν μοναδικοί και μόνο 14 βρέθηκαν σε περισσότερους από έναν πληθυσμούς. Το επίπεδο της ενδοπληθυσμιακής νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης κυμάνθηκε από 3,3% (Καβάλα) έως 3,8% (Γαλλία) με μέση τιμή 3,5%, ενώ η μέση διαπληθυσμιακή διαφοροποίηση ήταν 3,6%. Το επίπεδο γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών εκτιμήθηκε μέσω των τιμών  $N_{ST}$ . Η τιμή του  $N_{ST}$  ήταν 0,506, γεγονός που σημαίνει ότι η γενετική διαφοροποίηση κατανέμεται εξίσου μέσα και μεταξύ των πληθυσμών. Η διαπληθυσμιακή νουκλεοτιδική απόκλιση κυμάνθηκε από 0,008% (Πρέβεζα-Κέρκυρα) έως 0,241% (Τρίκερι-Κέρκυρα) με μέση τιμή 0,087%. Στο δένδρογραμμα UPGMA, που κατασκευάστηκε βάσει των νουκλεοτιδικών αποκλίσεων, ο πληθυσμός της Γαλλίας διαφοροποιείται από τους Ελληνικούς, ενώ οι πληθυσμοί του Ιονίου διαφοροποιούνται από αυτούς του Αιγαίου. Η ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA, όπου διαφαίνεται μια δια αποστάσεως γενετική απομόνωση των πληθυσμών, συμφωνεί με προηγούμενη μελέτη των ίδιων πληθυσμών με τη μέθοδο RAPD, ενώ βρίσκεται σε αντίθεση με τα δεδομένα των ισοενζύμων, βάσει των οποίων η γενετική διαφοροποίηση των πληθυσμών είναι τυχαία.



## GENETIC STUDY OF STRIPED RED MULLET POPULATIONS (*Mullus surmuletus*) USING THE RFLP-PCR mtDNA ANALYSIS

Stamatis C.<sup>1</sup>, K.A. Moutou<sup>1</sup>, Z. Mamuris<sup>1</sup> & C. Triantaphyllidis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Applied and Theoretical Sciences, Volos and <sup>2</sup>Department of Genetics, Development and Molecular Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki

Six striped red mullet populations from 6 sampling sites, 3 from Aegean Sea (Kavala, Trikeri, Rhodes), 2 from Ionian Sea (Corfu, Preveza) and one from France (Gulf of Lion) were studied, using RFLP-PCR mtDNA analysis. Three mtDNA segments, D-loop (1450bp), COI (1300bp) and 12S/16S rRNA (2000bp), were digested with 12 restriction enzymes (*AciI*, *AluI*, *AvaII*, *BstUI*, *DdeI*, *HaeIII*, *HhaI*, *HinfI*, *MboI*, *MseI*, *MspI*, *TaqI*). From the 65 haplotypes recorded, 62 were generated by polymorphism of the D-loop segment, while only 3 by polymorphism of the COI segment. Fifty-one out of 65 haplotypes were unique and only 14 were common between populations. The level of intrapopulation nucleotide diversity from 3.3% (Kavala) to 3.8% (France) with an average of 3.5%, while the average interpopulation nucleotide diversity was 3.6%. Thus, according to  $N_{ST}$  estimate of 0.506, the genetic differentiation was equally distributed within and among populations. Interpopulation pairwise nucleotide divergence ranged from 0.008% (Preveza-Corfu) to 0.241% (Trikeri-Corfu) with an average of 0.087%. The UPGMA dendrogram based on pairwise nucleotide divergences showed that France population differentiated from Greek populations, while, within Greece, the Ionian Sea populations were genetically divergent from the Aegean Sea populations. MtDNA analysis is in agreement with a previous study of the same populations based on the RAPD method, where the genetic differentiation recorded among populations was due to isolation by distance, but it is inconsistent to allozyme data, where the genetic differentiation was random.

## Η ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΩΝ P<sub>2Y</sub> ΠΟΥΡΙΝΕΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕ- ΩΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΙΣ MAP ΚΙΝΑΣΕΣ (ERKs, p38) ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΚΑΡΔΙΑ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ

Σερασκέρης Σ. και Α. Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη

Οι πουρινεργικοί υποδοχείς συνιστούν μια ευρεία ομάδα υποδοχέων που διακρίνεται σε δύο υποομάδες ανάλογα με το βαθμό συγγένειάς τους για ορισμένους αγωνιστές. Έτσι υπάρχουν οι P<sub>1</sub> πουρινεργικοί υποδοχείς που έχουν μεγάλη συγγένεια για την αδενοσίνη, οι P<sub>2Y</sub> με μεγάλη συγγένεια για το ATP και οι P<sub>2X</sub> με μεγάλη συγγένεια για το UTP. Όλοι σχεδόν ανήκουν στην κατηγορία των υποδοχέων με επτά διαμεμβρανικά τμήματα που είναι συζευγμένοι με G πρωτεΐνες.

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε αν και σε ποιο βαθμό η διέγερση των P<sub>2Y</sub> πουρινεργικών υποδοχέων προκαλεί ενεργοποίηση (φωσφορυλίωση) των MAP κινασών (ERKs και p38) σε απομονωμένα μυοκύτταρα από καρδιά αρουραίου. Για το σκοπό αυτό απομονωμένα μυοκύτταρα επώαστηκαν με 50 μM ATPγS, ένα μη υδρολυόμενο ανάλογο του ATP, για διάφορους χρόνους ( 0, 30'', 1', 2', 5', 10', 20'). Η ανίχνευση των ενεργοποιημένων (φωσφορυλιωμένων) MAP κινασών έγινε χρησιμοποιώντας ειδικά αντισώματα ενάντια στις φωσφορυλιωμένες μορφές των p38 και ERKs. Η p38 εμφανίζει ενεργοποίηση η οποία ξεκινά από τα 30'' (2 φορές σε σχέση με το μάρτυρα) και γίνεται μέγιστη στα 15' επίδρασης με ATPγS (4 φορές σε σχέση με το μάρτυρα). Η ενεργοποίηση των ERKs ξεκινά επίσης από τα 30'' και γίνεται μέγιστη ύστερα από 2' επίδρασης με ATPγS.

Φαίνεται ότι η διέγερση των P<sub>2Y</sub> πουρινεργικών υποδοχέων προκαλεί γρήγορη ενεργοποίηση των MAP κινασών το μέγεθος της οποίας είναι παρόμοιο τόσο για την p38 όσο και για τις ERKs.

## **STIMULATION OF P<sub>2Y</sub> PURINERGIC RECEPTORS ACTIVATES MAPKs (ERKs, p38) IN ISOLATED MYOCYTES FROM ADULT RAT HEART**

**Seraskeris S. & A. Lazou**

**Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of  
Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54006**

Purinergic receptors are subdivided in P<sub>1</sub> with high affinity for adenosine, P<sub>2Y</sub> with high affinity for ATP and P<sub>2X</sub> with high affinity for UTP. Most of them belong to the superfamily of G protein-coupled seven-transmembrane-domain receptors. We investigate the ability of ATP $\gamma$ S, a non hydrolyzable analogue of ATP, to activate (phosphorylate) MAPKs (ERKs, p38). Isolated myocytes from rat heart were incubated with 50  $\mu$ M ATP $\gamma$ S at various time points (0, 30'', 1', 2', 5', 10', 20'). Phosphorylated MAPKs were detected with Western blotting using specific antibodies against phospho-p38 and phospho-ERKs. p38 MAPK demonstrates rapid activation 30 seconds after stimulation reaching a maximum after 15 min of incubation with ATP $\gamma$ S. ERKs were also rapidly activated after 30 seconds incubation with ATP $\gamma$ S. Maximal phosphorylation occurred after 2 min. In conclusion stimulation of P<sub>2Y</sub> purinergic receptors induces rapid activation of both MAPK subfamilies, p38 and ERKs.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΤΟΥ *Arundo donax* L. ΑΠΟ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΙΤΑΛΙΑΣ

Στεργίου Γ.<sup>1</sup>, Α. Κατσιώτης<sup>1</sup>, Ν. Αγγελίδης<sup>1</sup>, Μ. Λουκάς<sup>1</sup>,  
Σ. Κυρίτσης<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, <sup>2</sup>Εργαστήριο Γεωργικών Κατασκευών, Τμήμα Αξιοποίησης Φυσικών Πόρων και Γεωργικής Μηχανικής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855

Σκοπός της ερευνητικής αυτής εργασίας είναι να μελετηθούν οι γενετικές ομοιότητες και ποικιλομορφίες ριζωμάτων καλαμιού (*Arundo donax* L.) από διάφορες περιοχές της Ελλάδας και της Ιταλίας, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA). Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης 39 ελληνικών και 16 ιταλικών δειγμάτων. Από ένα σύνολο 20 εκκινητών που δοκιμάστηκαν, επιλέχθηκαν 10 για περαιτέρω ανάλυση. Τα προϊόντα διαχωρίστηκαν ηλεκτροφορητικά σε πηκτή αγαρόζης. Με βάση την παρουσία ή την απουσία μοριακών δεικτών δημιουργήθηκαν μήτρες ομοιότητας χρησιμοποιώντας τον συντελεστή ομοιότητας Nei και Li, και κατασκευάστηκε φυλογενετικό δένδρο με την εφαρμογή της UPGMA ανάλυσης (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages). Η ανάλυση παρουσίασε δύο κύριες ομάδες με τα ριζώματα από την Ελλάδα και την Ιταλία να διαχωρίζονται σαφώς το ένα από το άλλο. Η πρώτη ομάδα χωρίζεται σε δύο υποομάδες, η μια εκ των οποίων περιέχει ριζώματα κυρίως από την Πελοπόννησο και η άλλη από τη Στερεά Ελλάδα. Η πρώτη υποομάδα περιλαμβάνει επίσης δύο δείγματα από την Κεφαλλονιά, ενώ τα δείγματα της Κρήτης παρουσιάζουν στενή συγγένεια με δείγματα της Στ. Ελλάδας (Αττική). Το μοναδικό δείγμα από τη Νάξο (CR40) φαίνεται να ακολουθεί την υποομάδα της Πελοποννήσου. Η γεωγραφική προέλευση των δειγμάτων είναι από τη βόρεια-κεντρική Ιταλία, εκτός από το C1 το οποίο προέρχεται από τη νότια Ιταλία και φαίνεται να διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα. Τα περισσότερα από αυτά ομαδοποιούνται σύμφωνα με την περιοχή που καλλιεργούνται ή ανήκουν σε γειτονικές περιοχές. Παρατηρώντας το δένδρογραμμα, γίνεται αντιληπτό ότι υπάρχει συγκέντρωση των ριζωμάτων ανάλογα με τη γεωγραφική τους κατανομή, γεγονός που δηλώνει περιορισμένη μετακίνηση γενετικού υλικού.

## GENETIC DIVERSITY OF *ARUNDO DONAX* L. FROM DIFFERENT REGIONS OF HELLAS AND ITALY

Stergiou G.<sup>1</sup>, A. Katsiotis<sup>1</sup>, N. Agelidis<sup>1</sup>, M. Loukas<sup>1</sup>, S. Kyritsis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology

<sup>2</sup>Farm Structures Laboratory, Dept. of Agricultural Engineering  
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855 Athens

The objective of the present study is to assess the genetic similarities and diversities of cane (*Arundo donax* L.) rhizomes from collections representing different parts of Hellas and Italy, using the Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) method. Here we present the results from the analysis of 39 hellenic and 16 italian samples. A total of twenty decamer primers were tested and ten were further selected for screening. Amplification products were resolved electrophoretically on agarose gel. Based on the presence or absence of DNA bands, similarity matrices have been created using the Nei and Li similarity index and a phylogenetic tree has been constructed by applying the unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA) cluster analysis. Our analysis revealed two main clusters, with rhizomes from Greece and Italy being clearly separated from each other. Similarity within the two main clusters ranges from 42 to 95% and 30 to 90%, respectively. The first cluster is divided in two major subclusters, one comprising primarily rhizomes from Peloponnesos and the other rhizomes from Sterea Hellas. The former also includes two samples from Kefalonia, an island on the northwest coast of Peloponnesos, while samples from Crete show a close affinity to samples from regions belonging to Sterea Hellas (Attica). The single sample from Naxos (CR40), an island in the central Aegean Sea, seems to cluster with the group of rhizomes from Peloponnesos. The samples from Italy are collected from 8 out of the 20 provinces of the country. Most of them are grouped according to their region of cultivation (e.g. C22-C23, C36-C40, C19-C24) or they belong to neighboring regions (e.g. C36, C37, C40). Geographically the origin of all samples is in central-north Italy, except for that of C1, which is in southern Italy and seems to differentiate from the rest. As seen in the dendrogram, there is an apparent clustering of rhizomes according to their geographical origins reflecting restricted migration of germplasm.

## Ο ΘΕΜΕΛΙΩΔΗΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ STAT ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΜΕΤΑΛΟΣΗ ΣΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ

Στραβοπόδης Δ.Ι.<sup>1,2,3</sup>, Ε. Παργάνας<sup>1,2</sup>, D. Wang<sup>1</sup>, J-C. Marine<sup>1,2</sup>  
και J.N. Ihle<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>St. Jude Children's Research Hospital, Department of Biochemistry, Memphis, Tennessee (TN), USA, <sup>2</sup>Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, Maryland (MD), USA, <sup>3</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος", Αθήνα, Ελλάδα

Οι κυτοκίνες ρυθμίζουν πληθώρα κυτταρικών λειτουργιών δια μέσου της εκλεκτικής αλληλεπίδρασης με τους διαμεμβρανικούς ομοειδείς τους υποδοχείς. Μετά την επίδραση των κυτοκινών στα κύτταρα-στόχους, οι Stat μεταγραφικοί παράγοντες ενεργοποιούνται ταχύτατα μέσω φωσφορυλίωσης σε θέση τυροσίνης στο καρβοξυ-τελικό τμήμα της πρωτεΐνης. Τα φωσφορυλιωμένα διμερή μετακινούνται στον κυτταρικό πυρήνα και επάγουν τη μεταγραφική ενεργοποίηση των γονιδίων στόχων. Ενώ τα Stat5 πρωτεϊνικά μέλη ενεργοποιούνται μετά τη δράση της Ιντερλευκίνης-3, Ερυθροποιητίνης, Προλακτίνης, Αυξητικής Ορμόνης και Ιντερλευκίνης-2, η Stat1a πρωτεΐνη διαμεσολαβεί εκλεκτικά για την μεταγωγή σήματος της Ιντερφερόνης-γ και Ιντερφερόνης-α/β. Το καρβοξυτελικό τμήμα των Stat5 πρωτεϊνών απαιτείται τόσο για τη μεταγραφική ενεργοποίηση αυτών όσο και για την ταχύτατη αποικοδόμηση των φωσφορυλιωμένων τους ισομορφών. Υπερέκφραση υβριδικών υποδοχέων Ερυθροποιητίνης / Ιντερφερόνης-γ σε πληθώρα μυελοειδικών κυτταρικών σειρών, αποκάλυψε τον πρωτοφανή κατασταλτικό ρόλο της Stat1a ενεργοποιημένης πρωτεΐνης στους φυσιολογικούς μηχανισμούς κυτταρικής διαίρεσης και επιβίωσης του υποδοχέα της Ερυθροποιητίνης στα κύτταρα στόχους. Το Socs-1 συνιστά ένα ισχυρά επαγόμενο γονίδιο στόχο πληθώρας διαφορετικών κυτοκινών. Τα ενδοκυτταρικά μονοπάτια μεταγωγής σήματος της Ιντερλευκίνης-6 και Ιντερφερόνης-γ εμφανίζουν συνολική λειτουργική καταστολή μετά την υπερέκφραση του Socs-1 γονιδίου στα κατάλληλα κύτταρα στόχους. Οι Socs-1<sup>-/-</sup> ανεπαρκείς ποντικοί εμφανίζουν περιγεννητικό θνησιγόνο φαινότυπο, προερχόμενο από την κλωνική επιλογή ενεργοποιημένων T-υποπληθυσμών, που παράγουν και εκκρίνουν υψηλά επίπεδα Ιντερφερόνης-γ στον ορό.

## **THE ESSENTIAL ROLE OF STAT TRANSCRIPTION FACTORS IN CYTOKINE SIGNALING**

**Stravopodis D.J.<sup>1,2,3</sup>, E. Parganas<sup>1,2</sup>, D. Wang<sup>1</sup>, J-C. Marine<sup>1,2</sup>  
& J.N. Ihle<sup>1,2</sup>**

**<sup>1</sup>St. Jude Children's Research Hospital, Department of Biochemistry, Memphis, Tennessee (TN), USA, <sup>2</sup>Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, Maryland (MD), USA, <sup>3</sup>Present Address: Institute of Biology, NCSR "Demokritos", Athens, Greece (GR)**

Cytokines regulate a variety of cellular functions through specific interactions with their cognate transmembrane receptors. Upon cytokine treatment of the cells, the Stat proteins become rapidly phosphorylated on a carboxyl-terminal single tyrosine. Once phosphorylated, the Stats dimerize, translocate to the nucleus and transcriptionally activate a variety of target genes. The Stat5 family members can be mainly activated in response to Interleukin-3 (IL-3), Erythropoietin (Epo), Prolactin (Pro), Growth Hormone (GH) and Interleukin-2 (IL-2), while the Stat1a protein specifically mediates the effects of Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) and Interferon- $\alpha/\beta$  (IFN- $\alpha/\beta$ ). With regard to the Stat5 proteins, a relatively small potentially amphipathic alpha-helical carboxyl-terminal region is required for both transcriptional activation and rapid turnover of the activated isoforms. Overexpression of chimeric Erythropoietin (Epo) and Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) cytokine receptors in a variety of myeloid cell lines, resulted in a surprising switch of signaling specificity of the IRF-1 (Interferon Regulated Factor-1) target gene expression. More over, the Stat1a phosphorylated protein was able to functionally interfere with the mitogenic and survival physiological activities of the Erythropoietin receptor (EpoR). Socs-1 (Suppressor of cytokine signaling) consists a highly inducible target gene of a large variety of different cytokines. Interleukin-3 (IL-3), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-2 (IL-2), Erythropoietin (Epo) and Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) intracellular signaling can be completely suppressed after Socs-1 overexpression in the appropriate target cells. Socs-1<sup>-/-</sup> knockout animals revealed a perinatally lethal phenotype, mainly due to the clonal selection of activated T-cells producing and secreting high amounts of IFN- $\gamma$  in the serum.

## ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΥΤΟΤΟΜΙΑΣ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *PODARCIS* (SAURIA : LACERTIDAE)

Σαλάμε Ν., Α. Σαμψών, Π. Παφίλης, Κ. Γαϊτανάκη και Σ.Δ. Βαλάκος

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας,  
Πανεπιστήμιο Αθήνας, 15784, Πανεπιστημιούπολη, Γλίτσια

Η πιο συνηθισμένη και αποτελεσματική αντιθηρευτική στρατηγική στις σαύρες της οικογένειας Lacertidae είναι η αυτοτομία της ουράς. Κατά το μηχανισμό αυτό το ζώο κόβει την ουρά του μπροστά από το σημείο όπου επιτίθεται ο θηρευτής. Το κομμένο τμήμα εξακολουθεί να κινείται έντονα για ικανό χρονικό διάστημα προκειμένου να προσελκύσει την προσοχή του θηρευτή έτσι ώστε η σαύρα να κατορθώσει να διαφύγει.

Η εργαστηριακή μελέτη έγινε με προσομοίωση της θήρευσης όπως περιγράφεται από τους Perez-Mellado et al (J.Zool.Lond., 1997, 243: 533-541). Τα είδη που εξετάζονται στην παρούσα μελέτη προέρχονται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές και καταλαμβάνουν διακριτά ενδιαίτηματα. Επομένως τα ζώα δέχονται μια διαφορετική πίεση θή-ρευσης και εμφανίζουν την ικανότητα αυτοτομίας σε άλλο ποσοστό. Έτσι εργα-στήκαμε πάνω στα είδη *Podarcis peloponnesiaca*, ενδημικό της Πελοποννήσου, *P. taurica* το οποίο διαβιώνει σε λειβαδικές ανοιχτές εκτάσεις, *P. erhardii* που απαντάται τόσο στην ηπειρωτική Ελλάδα όσο και στη νησιωτική, *P. muralis* το οποίο εξαπλώνεται σε ορεινές κυρίως περιοχές και το νησιωτικό είδος *P. milensis* ενδημικό της Μήλου. Η κίνηση που πραγματοποιείται μετά την αυτοτομία είναι τυπικό παράδειγμα αναερόβιας αναπνοής.

Στην εργασία αυτή προσδιορίζεται η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος που παρήχθη κατά την παραπάνω διεργασία. Παρατηρούνται διαφορές στα αποτελέσματα της αυτοτομίας στα διαφορετικά είδη ανάλογα με τον βαθμό θήρευσης που δέχονται. Έτσι ζώα που ζουν σε βιότοπους όπου υπάρχει έντονη θηρευτική πίεση όπως η *P. peloponnesiaca*, η *P. muralis*, η *P. taurica* και η *P. milensis* παρουσιάζουν αυξημένα ποσοστά αυτοτομής της ουράς. Επιπλέον διαφορές εντοπίζονται και ανάλογα με το πρότυπο διαβίωσης που ακολουθούν οι σαύρες αυτές. Στην περίπτωση ελαττωμένης θήρευσης, οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *P. erhardii* εμφανίζονται με σαφώς μικρότερα ποσοστά αυτοτομίας. Η τελική ποσότητα του γαλακτικού οξέος όπως και ο χρόνος κίνησης του τμηθέντος κομματιού φαίνεται ότι είναι σχεδόν όμοια σε όλα τα είδη.



## **A COMPARATIVE STUDY ON THE AUTOTOMY IN SOME GREEK SPECIES BELONGING TO THE GENUS PODARCIS (SAURIA: LACERTIDAE)**

**Salameh N., A. Sampson, P. Pafilis, K. Gaitanaki & S.D. Valakos**

**Department of Animal & Human Physiology, School of Biology,  
University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens, Greece**

The most common and effective antipredator strategy in the lacertid lizards is the caudal autotomy. The animal select to cut its tail in front of the point of predators attention. The shed-tail is moving most keenly in order to attract predators attack so that the animal manages to escape. The experimental approach was realized after the protocol by Perez-Mellado et al (J.Zool.Lond., 1997, 243:533-541) with simulation of the predation.

The selected species occur in different ecological niche and come from different geographical areas. Consequently predation pressure in each case is different and the autotomic capacity seems to be depended from this factor. In the present work we examined the following species: *Podarcis peloponnesiaca* endemic of Peloponnisos, *P. taurica* which lives in open fields, *P.erhardii* which distributes in mainland and in insular Greece as well, *P.muralis* which is a mainly mountainous species and *P.milensis*, endemic of Milos archipelago.

The movement after the autotomy is a typical example of anaerobic metabolism. Lactic acid determination is one of the main aims of this contribution.

Differences in the percentage of autotomy are observed respectively to the level of predation that the animals sustain. Thus lizards from biotopes of a great predator pressure like *P.peloponnesiaca*, *P.muralis*, *P.milensis* and *P.taurica* show high proportions of caudal autotomy. Further differences between them are also justified from a different life model. Species, which are subject to a low predation, seems to have minor percentages. The final quantity of the lactic acid and the motion time of the shed-tail are similar in all species.

## Η ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΙΣΤΟΝΩΝ ΕΠΙ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΜΕ ΔΙΠΟΛΙΚΗ ΨΥΧΩΣΗ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Σουρλίγκα Θ.Γ.<sup>1</sup>, Μ.Ρ. Ισιδωρίδου<sup>2,3</sup>, Α. Καρούζα, Β. Αλεβίζος<sup>3</sup>,  
Δ.Σ. Τσάπαλη<sup>1</sup>, Κ.Ε. Σέκερη-Παταργια<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ", Ινστιτούτο Βιολογίας, <sup>2</sup>Ίδρυμα  
Νευροβιολογικών Επιστημών, Θ.Θ. ΚΟΤΣΙΚΑ, <sup>3</sup>Ψυχιατρική Κλινική  
Πανεπιστημίου Αθηνών.

Σε προηγούμενη μελέτη μας δείξαμε ότι λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος από ασθενείς με διπολική ψύχωση δείχνουν ένα σύνθετο ιστονικό πρότυπο ενεργοποιημένων κυττάρων σε αντίθεση με φυσιολογικούς μάρτυρες των οποίων τα λεμφοκύτταρα βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας, G<sub>0</sub>. Εξ άλλου ιστόνες έχουν ανιχνευθεί στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες λεμφοκυττάρων που έχουν ενεργοποιηθεί με μιτογόνα. Βασιζόμενοι στα δύο αυτά ευρήματα διερευνήσαμε στην παρούσα μελέτη την εντόπιση ιστονών στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες ατόμων με διπολική ψύχωση. Απομονώθηκαν λεμφοκύτταρα από το αίμα 13 ασθενών με διπολική ψύχωση και 7 φυσιολογικών μαρτύρων. Μετά ραδιοσήμανση των ιστονών με <sup>14</sup>C-λυσίνη και <sup>14</sup>C-αργινίνη, πυρήνες και κυτταροπλασματικές μεμβράνες διαχωρίστηκαν με διαφορική φυγοκέντρηση, οι ιστόνες εκχυλίστηκαν και μετρήθηκε η ειδική ραδιενέργεια (cpm/mg πρωτεΐνης). Όπως αναμενόταν, τα λεμφοκύτταρα από ένα σημαντικό αριθμό ασθενών έδειξαν αυξημένη ιστονική σύνθεση σε σχέση με τους μάρτυρες. Το με οξύ εκχυλισθέν μεμβρανικό κλάσμα υπεβλήθη σε SDS PAGE, και έγινε ανάλυση Western με την βοήθεια πολυκλωνικού αντισώματος έναντι της ιστόνης H2B. Ιστόνη H2B ανιχνεύθηκε στα όξινα εκχυλίσματα των μεμβρανών των λεμφοκυττάρων ασθενών με διπολική ψύχωση (11 από τα 13 δείγματα) και όχι στα αντίστοιχα μεμβρανικά κλάσματα φυσιολογικών ατόμων. Η εντόπιση της H2B επί των κυτταροπλασματικών μεμβρανών των λεμφοκυττάρων αυτών των ασθενών είναι ένα εύρημα που περαιτέρω χαρακτηρίζει την ενεργοποιημένη κατάσταση αυτών των κυττάρων και πιθανόν συνδέεται με τις αυξημένες ποσότητες αντισωμάτων έναντι ιστονών που βρέθηκαν σε μανιοκαταθλιπτικά άτομα από άλλους ερευνητές.

## **THE ASSOCIATION OF HISTONES WITH THE PLASMA MEMBRANES OF PATIENTS WITH BIPOLAR DISORDER AS MARKER FOR AN ACTIVATED STATE**

**Sourlingas T.G.<sup>1</sup>, M.R. Issidorides<sup>2,3</sup>, A. Karpouza<sup>1</sup>, V. Alevizos<sup>3</sup>,  
D.S. Tsapali<sup>1</sup>, K.E. Sekeri-Pataryas<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>NCSR "DEMOKRITOS", Institute of Biology, <sup>2</sup>T.T. KOZZIKA  
Foundation, <sup>3</sup>Department of Psychiatry, University of Athens**

In a previous communication we reported that peripheral blood lymphocytes from patients with bipolar disorder show a histone synthetic profile indicative of an activated cell state in contrast to control healthy individuals whose lymphocytes are in the quiescent, Go, state. Furthermore, histones have been detected on the plasma membranes of mitogenically activated peripheral blood lymphocytes. Based on the above, the aim of the present study is to determine whether histones are associated with the plasma membranes of lymphocytes of patients with bipolar disorder. Lymphocytes isolated from the blood of 13 patients and 7 control subjects were incubated with <sup>14</sup>C-lysine and <sup>14</sup>C-arginine, nuclei and plasma membranes were isolated with differential centrifugation, histones were extracted and specific activity was measured (cpm/mg protein). As expected, the lymphocytes from a significant number of patients showed an increased histone synthesis rate with respect to control subjects indicative of an activated state. The acid extracted membrane fraction was subjected to SDS PAGE. Western analysis was accomplished for the detection of histone H2B using a polyclonal antibody raised against H2B. It was found that histone H2B can be detected in the acid extracted plasma membrane fraction obtained from the lymphocytes of patients with bipolar disorder (11 out of 13 cases) and not from the respective fractions of normal individuals. The localization of H2B on the plasma membranes of the lymphocytes of these patients is a finding which further characterizes the activated state of these cells which possibly, could be related to the elevated anti-histone antibodies found, by other investigators, in the serum of bipolar patients.

## ΤΟ ΒΟΥΤΥΡΙΚΟ ΕΠΑΓΕΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ, ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η1ο ΚΑΙ ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η4 ΣΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Σουρλίγκα Θ.Γ., Δ.Σ. Τσάπαλη και Κ.Ε. Σέκερη-Παταργιά

Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. “ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ”, Ινστιτούτο Βιολογίας

Η ιστόνη του συνδέτου του νουκλεοσώματος Η1ο συσσωρεύεται σε κύτταρα με χαμηλούς ρυθμούς πολλαπλασιασμού και κατά την τερματική διαφοροποίηση. Εξ άλλου ο αναστολέας των αποακετυλασών των ιστονών, βουτυρικό νάτριο, που επάγει διαφοροποίηση, επίσης επάγει την έκφραση της Η1ο και πρόσφατα παρατηρήθηκε ότι αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών επίσης επάγουν απόπτωση σε πολλά κυτταρικά συστήματα και ακόμη ότι η επαγόμενη απόπτωση συνδέεται με την υπερακετυλίωση της ιστόνης Η4. Τα λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος ανθρώπου είναι σύστημα που προσφέρεται για την μελέτη της επαγωγής της Η1ο δεδομένου ότι τα κύτταρα αυτά τόσο στην κατάσταση ηρεμίας όσο και μετά από διέγερση με μιτογόνα (π.χ. ΡΗΑ) δεν συνθέτουν την Η1ο σε ανιχνεύσιμες ποσότητες. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι η παρουσία βουτυρικού σε λεμφοκύτταρα οδηγεί σε απόπτωση και παράλληλα σε αυξημένα επίπεδα ακετυλίωσης της Η4 και επαγωγή της έκφρασης της Η1ο. Η επαγωγή της έκφρασης της Η1ο παρουσία βουτυρικού ανιχνεύεται τόσο στο πρωτεϊνικό επίπεδο με ανάλυση Western όσο και στο μεταγραφικό επίπεδο με ανάλυση Northern και συνδέεται με δοσοεξαρτώμενη αύξηση της ακετυλίωσης των ιστονών. Επί πλέον, για πρώτη φορά, επαγωγή της έκφρασης της Η1ο βρέθηκε να συνδέεται με την από το βουτυρικό επαγόμενη κατάτμηση του DNA. Το γονίδιο της Η1ο εκφράζεται κατά την υπερακετυλίωση των νουκλεοσωματικών ιστονών και ο υποκινητής του και/ή αναρροϊκά στοιχεία ενισχυτών αποκρίνονται στις υπερακετυλίώσεις της χρωματίνης με τον ίδιο τρόπο όπως τα γονίδια που κωδικοποιούν τις αποακετυλάσες των ιστονών. Τα αποτελέσματα μας αναφορικά με την παράλληλη επαγωγή της Η1ο και της απόπτωσης στα λεμφοκύτταρα υποστηρίζουν ότι η επαγωγή του γονιδίου της Η1ο μπορεί να είναι μέρος ενός μηχανισμού που εμπλέκεται στην αναδιάταξη της χρωματίνης κατά την διάρκεια, όχι μόνο της διαφοροποίησης, αλλά επίσης και κατά την διάρκεια άλλων ειδικών γενετικών προγραμμάτων.

## **BUTYRATE INDUCES APOPTOSIS, LINKER HISTONE H1<sup>0</sup> EXPRESSION AND HISTONE H4 ACETYLATION IN HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES**

**Sourlingas T.G., D.S.Tsapali & K.E. Sekeri-Patarays**

**N.R.C. "DEMOKRITOS", Institute of Biology**

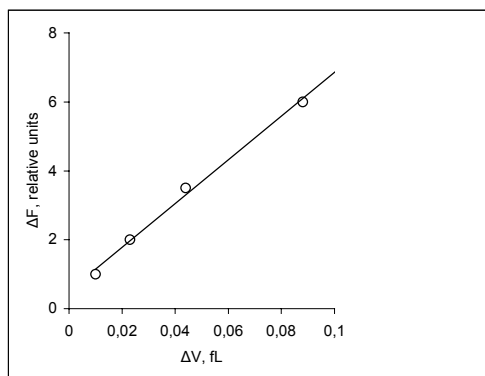
The linker histone variant, H1<sup>0</sup>, accumulates in cells with low rates of proliferation and during terminal differentiation. Furthermore, the histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, known to induce differentiation in many cell systems, has also been found to induce H1<sup>0</sup> expression in a number of tissue/cell systems and more recently it was shown that histone deacetylase inhibitors can induce apoptosis in several cell systems and induced apoptosis has been correlated with the hyperacetylation of histone H4. Peripheral blood lymphocytes are an ideal model system in which to study induction of H1<sup>0</sup> since previous work has shown that these cells, either in the Go phase or mitogenically activated (i.e., with PHA) do not synthesize H1<sup>0</sup> in detectable amounts. The results from this investigation show that the increased levels of H4 acetylations and concomitant induction of H1<sup>0</sup> expression in butyrate-treated lymphocytes are also strongly associated with the apoptotic phenomenon and not under these circumstances to differentiation. The induction of H1<sup>0</sup> expression in lymphocytes in the presence of butyrate, shown both at the protein level by Western analysis and at the transcriptional level by Northern analysis, was found to be directly associated to a dose-dependent increase in histone acetylations. Moreover, for the first time, induced H1<sup>0</sup> expression has also been found to be correlated to butyrate induced dose-dependent DNA fragmentation in peripheral blood lymphocytes. The H1<sup>0</sup> gene is expressed during hyperacetylation of nucleosomal histones and its promoter and/or upstream enhancer elements are responsive to chromatin hyperacetylations in the same manner as that of the genes encoding for the histone deacetylases. The response of these genes to histone hyperacetylation indicates that they are necessary during chromatin rearrangement. Our results regarding the concomitant induction of H1<sup>0</sup> and apoptosis in lymphocytes provide further support that the induction of the H1<sup>0</sup> gene may be part of a mechanism involved in chromatin remodelling during, not only differentiation, but also during the execution of other particular genetic programs as well.

## ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ: ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΟΣΜΩΤΙΚΩΝ ΑΛΛΑΓΩΝ ΤΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ.

Σταματάκης Κ.<sup>1</sup>, N. Murata<sup>2</sup>, Γ.Χ. Παπαγεωργίου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ιν. Βιολογίας, Ε.ΚΕ.ΦΕ. Δημόκριτος, 15310, Αγ. Παρασκευή, Αθήνα, Ελλάδα. <sup>2</sup>NIBB, Myodaiji-cho, Okazaki, 444, Japan.

Η πίεση σπαργής των κυανοβακτηρίων απεικονίζει τις οσμωτικές ιδιότητες του κυτοπλάσματός τους και είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό τους. Δείχτηκε πρόσφατα ότι ο φθορισμός της χλωροφύλλης, που προκαλείται από τη μεταφορά διέγερσης μέσω των φυκοβιλισωμάτων, ανταποκρίνεται στην αλλαγή της οσμωτικής πίεσης του αιωρήματός τους, επιτρέποντας τον υπολογισμό της πίεσης σπαργής των κυανοβακτηρίων (1-3). Ο κυτοπλασματικός οσμωτικός όγκος των κυττάρων έχει μετρηθεί χρησιμοποιώντας τεχνικές ESR (4). Με την παρούσα εργασία δείχνεται ότι υπάρχει ποσοτική αναλογία των μεταβολών του οσμωτικού όγκου των κυττάρων ( $\Delta V$ ) με τις μεταβολές του φθορισμού της χλωροφύλλης ( $\Delta F$ ).



Η γραμμική συσχέτιση των  $\Delta V$  και  $\Delta F$  μάς επιτρέπει να υπολογίσουμε την πίεση σπαργής και την κυτοπλασματική οσμωτικότητα των κυανοβακτηρίων.

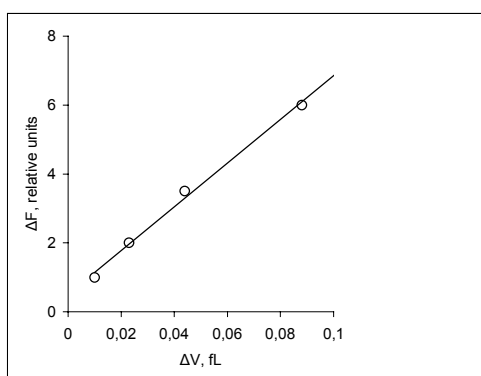
- [1] G. C. Papageorgiou and A. Alygizaki-Zorba 1997. *Biochim. Biophys. Acta* 1335: 1-4. [2]. G. C. Papageorgiou, A. Alygizaki-Zorba, Ladas, N. and N. Murata 1998. *Physiol. Plantarum* 103: 215-224. [3]. Stamatakis K and Papageorgiou G. C. 1999. In: *The Chloroplast: From Molecular Biology to Biotechnology*. J. H. Argyroudi-Akoyounoglou and H. Senger (Eds). pp. 47-54. [4]. E. Blumwald, R. J Melhorn and L. Packer 1983. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 2599-2602.

## CHLOROPHYLL FLUORESCENCE: A QUANTITATIVE REPORT OF CELL VOLUME CHANGES IN CYANOBACTERIA.

Stamatakis K.<sup>1</sup>, N. Murata<sup>2</sup>, G.C. Papageorgiou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biology, NSRF Demokritos, 15310, Ag. Paraskevi, Athens, Greece. <sup>2</sup>NIBB, Myodaiji-cho, Okazaki, 444, Japan

Turgor pressure in cyanobacterial cells reflects the osmotic properties of the cytoplasm and is critical for cell proliferation. It was shown recently that phycobilisome-sensitized chlorophyll *a* fluorescence responds to osmolality changes in the cell suspension and allows thus estimates of turgor pressure cyanobacterial cells (1-3). The cytoplasmic osmotic space of cyanobacterial cells can be measured using ESR techniques (4). In this report we demonstrate a quantitative relation exists between osmotically induced osmotic cell volume changes ( $\Delta V$ ) and chlorophyll fluorescence changes ( $\Delta F$ ). The linearity between  $\Delta V$  and  $\Delta F$  allows estimation of turgor pressure and internal osmolality of cyanobacterial cells.



- [1] G. C. Papageorgiou and A. Alygizaki-Zorba 1997. *Biochim. Biophys. Acta* 1335: 1-4. [2]. G. C. Papageorgiou, A. Alygizaki-Zorba, Ladas, N. and N. Murata 1998. *Physiol. Plantarum* 103: 215-224. [3]. Stamatakis K and Papageorgiou G. C. 1999. In: *The Chloroplast: From Molecular Biology to Biotechnology*. J. H. Argyroudi-Akoyounoglou and H. Senger (Eds). pp. 47-54. [4]. E. Blumwald, R. J Melhorn and L. Packer 1983. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 2599-2602.

## ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΥ ΚΛΩΝΟΥ ΕΙΔΙΚΟΥ ΓΙΑ ΤΑ ΚΕΝΤΡΟΜΕΡΗ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ *Ceratitis capitata*

Στρατικόπουλος Η., Α. Αυγουστίνος, Α. Γαριού-Παπαλεξίου, Κ.Δ. Ματθιόπουλος και Α. Ζαχαροπούλου

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Ένας γονιδιωματικός κλώνος, 1.2 kb, που απομονώθηκε από την Μεσογειακή μύγα, βρέθηκε να αποτελείται από πολλαπλά αντίγραφα μιας DNA αλληλουχίας 48 bp. Η βασική μονάδα επανάληψης είναι αρκετά συντηρημένη, δείχνοντας πολύ μικρή νουκλεοτιδική ποικιλότητα ανάμεσα στα διάφορα αντίγραφα. *In situ* υβριδοποίηση του κλώνου αυτού στα μιτωτικά και πολυταινικά χρωμοσώματα του εντόμου, έδειξε να χαρτογραφείται αποκλειστικά στα κεντρομέρη των χρωμοσωμάτων και συγκεκριμένα στα 4 από τα 5 αυτοσωμικά χρωμοσώματα όπως επίσης και το Χ. Δύο από τα χρωμοσώματα, το έκτο αυτοσωμικό ζευγάρι καθώς και το Υ χρωμόσωμα, δεν δίνουν σήμα υβριδοποίησης. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στην απουσία της αλληλουχίας από τα συγκεκριμένα χρωμοσώματα είτε στην παρουσία μικρού αριθμού αντιγράφων σ' αυτά. Το σήμα υβριδοποίησης είναι ισχυρότερο στα μιτωτικά χρωμοσώματα σε σχέση με τα πολυταινικά, υποδηλώνοντας ότι η συγκεκριμένη αλληλουχία δεν πολυταινίζεται ή παρουσιάζει μικρό βαθμό πολυταινισμού στους πολυταινικούς πυρήνες. Μελέτες σε μια πληθώρα ειδών έχουν δείξει ότι τα κεντρομέρη διακρίνονται σε δυο κατηγορίες ανάλογα με το μήκος των DNA αλληλουχιών που τα αποτελούν: σημειακά κεντρομέρη, με μέγεθος μόλις μερικών εκατοντάδων βάσεων (~200 bp) και κεντρομέρη τα οποία καταλαμβάνουν πολύ μεγάλες χρωμοσωματικές περιοχές (40 kb μέχρι μερικές Mb). Η τελευταία κατηγορία κεντρομερών συχνά χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενες DNA αλληλουχίες και απαντά σε πολλά είδη, από τους μύκητες μέχρι τα θηλαστικά. Σε ορισμένες περιπτώσεις οι αλληλουχίες αυτές δεν εντοπίζονται αποκλειστικά στα κεντρομέρη αλλά ούτε και σ' όλα τα χρωμοσώματα του ίδιου είδους. Η ομοιότητα των χαρακτηριστικών των κεντρομερών αυτής της κατηγορίας με αυτά του κλώνου που απομονώθηκε από την Μεσογειακή μύγα, δείχνει ότι ο κλώνος αυτός αποτελεί κεντρομερική DNA αλληλουχία για το είδος. Αποτελέσματα από την μοριακή ανάλυση του κλώνου καθώς και η πιθανή κατανομή του σε διάφορα είδη εντόμων θα παρουσιαστούν.



## ISOLATION AND ANALYSIS OF A CENTROMERE SPECIFIC CLONE IN THE MEDFLY *Ceratitis capitata*

Stratikopoulos H., A. Avgustinos, A. Gariou-Papalexiou,  
K. D. Mathiopoulos & A. Zacharopoulou

Department of Biology, University of Patras, Greece

A 1.2 kb genomic clone, isolated from a medfly genomic library, is comprised of multiple copies of a 48 bp repeat. The basic repeat unit is highly conserved, presenting very small nucleotide variation among different copies. *In situ* hybridization of this clone on medfly mitotic and polytene chromosomes showed that it is localized exclusively at the centromeres of the chromosomes and especially at the 4 out of the 5 autosomes as well as on the X. Two of the chromosomes, the sixth autosome pair and the Y chromosome, do not show a clear hybridization signal. This can be explained by the absence or by the low number of repeats of this sequence, being thus undetectable on these two chromosomes. Labeling is much stronger in mitotic compared to polytene chromosomes suggesting that this centromeric sequence is either not polytenized or exhibits a low degree of polytenization in the polytene nuclei. Studies regarding the structure of the centromeres in many species have shown that centromeres can be divided in two types. Point centromeres that occupy a very small region (~200 bp) of chromosomal DNA, and regional centromeres that span larger regions (from 40 kb to several Mb). The latter are often characterized by extensive amounts of repeated DNA sequences and are distributed in several genera from fungi to mammals. In some cases such sequences are not localized exclusively at the centromere and also are not present at all centromeres. The features of the medfly clone are similar to the characteristics of the regional centromeres, suggesting that this clone constitutes a putative centromeric DNA sequence of this species. Data on the molecular analysis of this clone as well as its possible distribution among several species within and outside the *Tephritidae* family will be presented.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΠΡΟΛΙΝΗΣ ΣΤΟΝ *Aspergillus nidulans* *IN VIVO* ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ GFP

Ταβουλάρης Σ. Ν.<sup>1</sup>, C. Scazzocchio<sup>2</sup> και Β. Σοφianoπούλου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Ινστιτούτο Βιολογίας, 15310 Αγία Παρασκευή, Αττική, Ελλάδα. <sup>2</sup>Institut de Genetique et Microbiologie, Universite de Paris-Sud, Centre d'Orsay, France.

Η μεταφορά της προλίνης στον μύκητα *Aspergillus nidulans* πραγματοποιείται μέσω του διαμεμβρανικού μεταφορέα PrnB ο οποίος ανήκει σε μια καλά προσδιορισμένη οικογένεια μεταφορέων αμινοξέων μέλη της οποίας έχουν εντοπισθεί σε προκαρυωτικούς και σε ευκαρυωτικούς οργανισμούς (1). Στην παρούσα εργασία ανακοινώνεται η μελέτη για τον *in vivo* εντοπισμό της πρωτεΐνης PrnB με τη χρήση της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (GFP). Κατασκευάστηκε ένας αριθμός συντήξεων μεταξύ του γονιδίου *prnB* και ενός ειδικά τροποποιημένου γονιδίου της GFP (*sgfp*) (2) οι οποίες βρίσκονται υπό τον έλεγχο του υποκινητή του φυσικού τύπου γονιδίου *prnB*. Τα υβριδικά γονίδια *prnB-sgfp* εισήχθησαν με μετασχηματισμό στοχευμένης ενσωμάτωσης στην αναμενόμενη γονιδιακή θέση του συσσωματώματος των γονιδίων *prn*. Γενετικές και φυσιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η χμιαϊκή πρωτεΐνη, η οποία προκύπτει από τη σύνδεση του καρβοξυλικού άκρου της PrnB με την sGFP με τη διαμεσολάβηση τεσσάρων αμινοξέων, είναι λειτουργική *in vivo*. Ο εν λόγω PrnB-GFP μεταφορέας εντοπίστηκε και μελετήθηκε *in vivo* με μικροσκοπία φθορισμού και συνεστιακή μικροσκοπία. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι ο αριθμός και το είδος των "συνδετικών" αμινοξέων είναι σημαντικοί παράγοντες για τη σωστή αναδίπλωση και μεταφορά στη μεμβράνη των χμιαϊκών πρωτεϊνών. Στη συνέχεια ορισμένες από τις γενετικά απομονωμένες και κατασκευασμένες *in vitro* μεταλλαγές στο γονίδιο *prnB* που διαθέτουμε (3) θα μελετηθούν με τη χρήση της GFP σχετικά με την επίδρασή τους στη διαλογή και τοπογένεση του μεταφορέα PrnB.

Οι παραπάνω μελέτες δείχνουν ότι η GFP αποτελεί ένα εξαιρετικό μοριακό εργαλείο για την *in vivo* μελέτη της έκφρασης και τοπογένεσης μεμβρανικών μεταφορέων στο πρότυπο σύστημα του *A. nidulans*

## SUBCELLULAR LOCALIZATION OF THE MAIN PROLINE TRANSPORTER PRNB OF *Aspergillus nidulans*

Tavoularis S.N.<sup>1</sup> C. Scazzocchio<sup>2</sup> & V. Sophianopoulou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.C.S.R. "Demokritos", Institute of Biology, 15310 Aghia Paraskevi, Attiki, Greece. <sup>2</sup>Institut de Genetique et Microbiologie, Universite de Paris-Sud, Centre d'Orsay, France.

The *prnB* gene of *Aspergillus nidulans* encodes a main proline transporter. The predicted *prnB* product is a polytopic membrane protein that belongs to an amino acid specific transporter family conserved in both prokaryotes and eukaryotes (1). In the present work we report the use of green fluorescent protein (GFP) based strategies to detect and analyse the subcellular localization of the PrnB protein *in vivo*. Several fusions of the *prnB* gene to a plant adapted *sgfp* gene (2), driven by *prnB* native promoter sequences, were constructed. A chimeric protein containing a sGFP fused to the C-terminus of PrnB with a linker of four (4) non-structure forming amino acids was shown to be functional *in vivo*. This gene fusion complements a *prnBΔprnCΔ* deletion mutant unable to grow on proline as sole nitrogen source and indicates that the number of the "linker" amino acids is important for the correct translocation of the fused protein to the plasma membrane. The PrnB-GFP fluorescent transporter was detected and analysed *in vivo* using both standard fluorescence and confocal laser microscopy. Our results indicate that GFP fusions are powerful tools to analyse *in vivo* the expression and cellular localization of membrane transporters. In addition, a number of genetically isolated or *in vitro* constructed PrnB mutations (3) will be examined for their effects on sorting and topogenesis of the PrnB protein.

1. V. Sophianopoulou and G. Diallinas, (1995). Fems Microbiol. Rev., 16:53-75.
2. J.M. Fernandez-Abalos, H. Fox, B.W. Pitt, and J.M. Donan, (1998). Mol. Microbiol. 27: 121-130.
3. S.N. Tavoularis, U.H. Tazebay, G. Diallinas, A. Rosa, C. Scazzocchio and V. Sophianopoulou, (1999). Proceedings of the 17<sup>th</sup> International SMYTE, Cordoba, Spain, pp. 51-52.

*This work was partially supported by «ΔΗΜΟΕΡΕΥΝΑ 99» to V.S.*

## ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΚΑΙ ΔΟΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΜΙΝΟΤΕΛΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ Ssn6 ΤΗΣ ΖΥΜΗΣ

Α. Τάρτας<sup>1</sup>, Δ. Γιαννουκάκος<sup>2</sup>, Δ. Τζαμαρίας<sup>3</sup>, Μ. Πελεκάνου<sup>1</sup>  
και Μ. Βλάση<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ινστιτούτο Βιολογίας, <sup>2</sup>Ινστιτούτο Ραδιοϊσοτόπων & Ραδιο-διαγνωστικών Προϊόντων, ΕΚΕΦΕ "Δ", Αθήνα, <sup>3</sup>Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας, Ηράκλειο Κρήτης.

Η πρωτεΐνη Ssn6 του *S. cerevisiae* περιέχει 10 περιοχές, γνωστές με το όνομα TPR, οι οποίες εμπλέκονται σε αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Οι TPR αλληλεπιδράσεις απαντώνται σε πληθώρα πρωτεϊνικών συμπλόκων που εμπλέκονται σε μεγάλο αριθμό σημαντικών λειτουργιών του κυττάρου όλων των οργανισμών, από τα βακτήρια ως τον άνθρωπο. Τα τρία αμινοτελικά TPRs της Ssn6 είναι γνωστό ότι ευθύνονται για την αλληλεπίδραση με την πρωτεΐνη Tup1, το δε σχηματιζόμενο πρωτεϊνικό σύμπλοκο λειτουργεί ως γενικός καταστολέας της μεταγραφής τουλάχιστον επτά διαφορετικών γονιδίων του *S. cerevisiae*. Ο τρόπος με τον οποίο επιτυγχάνεται η αλληλεπίδραση αυτή στο χώρο δεν είναι, μέχρι σήμερα, γνωστός.

Στην παρούσα μελέτη έγινε έκφραση σε κύτταρα *E.coli* και βιοχημική απομόνωση, σε ποσότητες mgr, του TPR τμήματος της Ssn6 (Scb: aa 1-150) που εμπλέκεται στην αλληλεπίδραση με την Tup1. Παράλληλα έγινε δομικός χαρακτηρισμός της Scb με: 1) χρήση φασματοσκοπίας κυκλικού διχρωϊσμού (CD), 2) πρόβλεψη δευτεροταγούς δομής μέσω υπολογιστικού προγράμματος που στηρίζεται σε νευρωνικά δίκτυα και 3) μοντελο-ποίηση της τρισδιάστατης δομής της. Πειράματα κρυστάλλωσης είναι σε εξέλιξη με σκοπό τον περαιτέρω προσδιορισμό της τρισδιάστατης δομής της Scb με κρυσταλλογραφία.

*Η παρούσα εργασία χρηματοδοτείται από τα προγράμματα "Δημοέρευνα 99" (ΕΚΕΦΕ "Δ") και ΠΕΝΕΔ99 (ΓΓΕΤ).*

## BIOCHEMICAL AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF THE N-TERMINAL DOMAIN OF THE YEAST Ssn6 PROTEIN.

Tartas A.<sup>1</sup>, D. Yannoukakos<sup>2</sup>, D. Tzamarias<sup>3</sup>, M. Pelekanou<sup>1</sup>  
& M. Vlassi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biology, <sup>2</sup>Institute of Radioisotopes & Radiodiagnostic Products, NCSR "Demokritos", Athens, <sup>3</sup>Institute of Molecular Biology & Biotechnology, Heraklion-Crete

The Ssn6 protein of *S. cerevisiae* contains 10 domains known as TPRs which are involved in protein-protein interactions. TPR mediated interactions are found in a wide variety of protein complexes involved in a large number of cellular functions of all organisms from bacteria to humans. The three N-terminal TPRs of Ssn6 interact with the Tup1 protein forming a complex which acts as a transcriptional repressor of at least seven different gene families of *S. cerevisiae*. However the structural details of this interaction remain to be elucidated.

In the present study, the TPR domain of Ssn6, which is sufficient for Tup1 binding (Scb, aa: 1-150) was expressed in *E.coli* cells and purified in mgr quantities (large scale). Scb was characterized by 1) circular dichroism (CD) experiments, 2) neural network based secondary structure predictions and 3) theoretical modeling of its three dimensional structure. Crystallization experiments are in progress with the aim to determine its three dimensional structure using X-ray Crystallography.

*This work is supported by grants from NCSR "Demokritos" (Dimoerevna 99) and General Secretariat for Research & Technology (Pened 99).*

## ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ ΜΕ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΚΟΝΑΣ ΩΣ ΕΚΤΙΜΗΤΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ

Τάφας Τ. και Π. Ρόμπολας

Τομέας Οικολογίας και Ταξινόμικης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο  
Αθήνας, Πανεπιστημιούπολη Αθήνα 15781

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα για την εκτίμηση της αύξησης καλλιέργειας μικροφυκών είναι η απευθείας μέτρηση της αφθονίας των κυττάρων στην καλλιέργεια, με αιμοκυτταρόμετρο ή αυτόματο μετρητή σωματιδίων, καθώς και έμμεσες προσεγγίσεις όπως η νεφελομετρία.. Το χρώμα της καλλιέργειας μεταβάλλεται καθώς αυξάνεται το μέγεθος του πληθυσμού. Αναπτύσσουμε μια έμμεση μέθοδο εκτίμησης της αύξησης της καλλιέργειας μικροφυκών με επεξεργασία εικόνας από ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Στη μέθοδο αυτή γίνεται ψηφιακή αποτύπωση εικόνων από δείγματα καλλιέργειας τοποθετημένα σε μικροκυψέλλες και επεξεργασία των ψηφιοποιημένων εικόνων με χρήση κατάλληλων αλγορίθμων. Για την ψηφιοποίηση των εικόνων χρησιμοποιείται κάμερα CCD, συνδεδεμένη σε σύστημα λήψης και επεξεργασίας εικόνας MATROX IMAGE. Η ανάπτυξη του λογισμικού γίνεται σε περιβάλλον VISUAL C++, για λειτουργικό MICROSOFT WINDOWS 95/98, με χρήση βιβλιοθήκης επεξεργασίας εικόνας MATROX IMAGING LIBRARY Ver. 6. Το λογισμικό (1) προσλαμβάνει RGB εικόνες των μικροκυψελών μέσω της κάμερας, (2) απομονώνει το τμήμα της εικόνας που απεικονίζει την καλλιέργεια, (3) μετασχηματίζει την RGB εικόνα στο μοντέλο HLS, (4) υπολογίζει το ιστόγραμμα τιμών γκρι για κάθε μπάντα καθώς και τους δείκτες mean, var και stdev, και (5) συσχετίζει τούς παραπάνω δείκτες με το στάδιο ανάπτυξης του πληθυσμού των μικροφυκών στην καλλιέργεια.

Το χρώμα της καλλιέργειας μπορεί να μας δώσει χρήσιμες πληροφορίες για το στάδιο αύξησης του πληθυσμού των κυττάρων της αλλά πιθανά και για την φυσιολογική κατάσταση της καλλιέργειας. Έτσι με την μέθοδο αυτή έχουμε ταχεία αποτελέσματα χρησιμοποιώντας μικρή μόνο ποσότητα δείγματος, αλλά ταυτόχρονα υπάρχουν περιθώρια για περαιτέρω ανάπτυξη και επέκταση της μεθόδου.

## ESTIMATING THE GROWTH OF MICRO-ALGAL CULTURES USING PARAMETERS OF THE CULTURE'S COLOR

**Tafas T. & P. Rombolas**

**University of Athens, School of Sciences, Faculty of Biology, Department of Ecology and Taxonomy, Panepistimioupolis, GR-157 84 Athens**

The currently used methods for the estimating the growth of micro-algal cultures include direct measurement of population abundance in the culture using a Neubauer hemacytometer or an automatic cell counter, and indirect approaches such as nephelometry. The color of the developing culture is changing as the population grows. We develop an indirect method for the estimation of the micro-algal culture growth, using image analysis.

In this method we digitize images of culture samples grown in ELISA microplates and we process the digital images using a proper algorithm. For image acquisition we use a color CCD camera, connected to the MATROX IMAGE image acquisition and digitization hardware installed in a personal computer running WINDOWS 95/98. We develop image analysis software under MS VISUAL C++ in combination with the image analysis software library MATROX IMAGING LIBRARY Ver. 6.0. The software performs the following tasks: (1) acquires RGB images of the microplates through the camera; (2) identifies the part of the image that represents the culture, (3) transforms the RGB image to HLS model, (4) calculates the greylevel histogram for every channel as well as several greylevel statistics (mean, var and stdev), (5) associates the above indicators with the growth stage of the micro-algal population in the culture.

The culture's color can give useful information for the growth stage of the micro-algal population and possibly for the physiological condition of the culture. So far this indirect method provides fast results using only a small amount of sample. We anticipate further development and expansion of this method to provide also information on the physiological state of the cells.

## ΨΗΦΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΘΑΛΑΜΟΥ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΗ

Τάφας Γ. και Π. Τσίγκανος

Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών  
Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

Οι θάλαμοι καλλιέργειών ήταν για πολλά χρόνια εφοδιασμένοι με συστήματα ελέγχου των συνθηκών θερμοκρασίας και φωτισμού ελεγχόμενα με συστήματα αυτοματισμού βασισμένα σε ηλεκτρικούς διακόπτες, θερμοστάτες, χρονοδιακόπτες κλπ. Τα συστήματα αυτά είχαν μειονεκτήματα όπως συχνές βλάβες και μικρή δυνατότητα ρυθμίσεων. Η εισαγωγή νέων μηχανισμών αυτοματισμού, βασισμένων σε ψηφιακό σύστημα ελεγχόμενο από Η/Υ επιτρέπει (1) καλύτερη παρακολούθηση και έλεγχο των ηλεκτρικών συστημάτων ρύθμισης θερμοκρασίας (συμπιεστής ψύξης, αντιστάσεις θέρμανσης) καθώς και των φωτιστικών σωμάτων του θαλάμου, (2) δυνατότητα εφαρμογής πολύπλοκων προγραμμάτων ρύθμισης συνθηκών μέσω του Η/Υ (3) συνεχή καταγραφή των συνθηκών μέσα στον θάλαμο και (4) δυνατότητα ρύθμισης/ παρακολούθησης τόσο τοπικά όσο και μέσω του Internet.

Εξελίσσουμε εφαρμογή που εισάγει τη χρήση ψηφιακού ελέγχου σε 2 θαλάμους καλλιέργειών τύπου Rubarth του Τομέα Οικολογίας και Ταξινομικής. Τα προϋπάρχοντα συστήματα ηλεκτρικού ελέγχου θερμοκρασίας και φωτισμού καταργήθηκαν τελείως. Ο συμπιεστής ψύξης και αντιστάσεις του θαλάμου καθώς και οι συστοιχίες φωτιστικών του θαλάμου συνδέθηκαν με ηλεκτρονικό κύκλωμα ελέγχου της εταιρίας Link Lab ΕΠΕ. Όλες οι ηλεκτρολογικές μετατροπές έγιναν από την ίδια εταιρία. Εγκαταστάθηκαν αισθητήρες θερμοκρασίας τύπου PT-100 καθώς και αισθητήρας φωτισμού. Η σύνδεση του κυκλώματος LinkLab με τον ηλεκτρονικό υπολογιστή έγινε μέσω διακοπών I/O της εταιρείας National Instruments (Field Point Modules<sup>®</sup>). Για τον έλεγχο του κυκλώματος συγγράφηκε λογισμικό σε περιβάλλον National Instruments LabView<sup>®</sup> 5.1 και σε λειτουργικό σύστημα MS-WINDOWS 98. Αυτό το λογισμικό περιβάλλον επιτρέπει την δημιουργία νοητών οργάνων (virtual instruments). Η ανάπτυξη γίνεται με τρόπο που να είναι δυνατή η λειτουργία του προγράμματος ελέγχου μέσω Internet.



## **CULTIVATION CHAMBER DIGITAL CONTROL SYSTEM BASED ON A PERSONAL COMPUTER**

**Tafas T. and P. Tsinganos**

**Department of Ecology and Systematics, School of Biology, Faculty of Science, University of Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens Greece**

Cultivation chambers have been traditionally equipped with systems controlling temperature and light, based on automation features such as electric switches, thermostats, timers etc. These systems had various defaults, and were often prone to breakdowns. Introduction of computer based automation control allows for (1) better control and monitoring of the electrical temperature control mechanisms (cooling compressor and heating resistances) as well as of the lighting devices in the chamber, (2) capability of incorporation of elaborate environmental conditions control programs through the computer, (3) constant recording of the environmental parameters in the chamber and (4) capability to control/monitor locally as well as through the Internet.

We develop an application that introduces the use of digital control in two Rubarth<sup>®</sup> cultivation chambers of the Department of Ecology and Taxonomy. The existing electrical automation systems are completely disconnected. The cooling compressor and the heating resistances of the chamber are interfaced to an electronic control circuit custom built by Link-Lab EPE. All the electrical modifications are applied by the same company. Temperature is controlled by PT-100 resistance-temperature detectors (RTD) as well as luminance detectors. The connection of the Link-Lab interface with a MS-WINDOWS<sup>®</sup> 98 personal computer is done using Field Point Modules<sup>®</sup>, input-output switches by National Instruments. Actual control of the Field Point Modules and through them of the chamber environmental control devices, is done using the National Instruments LabView<sup>®</sup> 5.1 software system that allows for the creation of virtual instruments (VIs). The software is developed in such a way that the functions are controlled both through the local PC as well as through Internet.

## ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΣΤΑ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΤΟΥ ΟΛΟΜΕΤΑΒΟΛΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Tenebrio molitor*.

**Τοπογλίδη Α., Κατσάνου Β. και Θεοφιλίδης Γ.**

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006 Θεσσαλονίκη

Ο αναπνευστικός ρυθμός στα έντομα δίνεται από το ΚΝΣ με δίκτυο ενδιάμεσων νευρώνων που συνδέονται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να αυτοδιεγείρονται και να παράγουν τον κεντρικό αναπνευστικό ρυθμό (central pattern generator). Τέτοιο κύκλωμα στις ακρίδες, έχει εντοπιστεί στο μεταθωρακικό γάγγλιο με πειράματα τομής της νευρικής χορδής. Οι αναπνευστικές πληροφορίες που παράγονται στο μεταθωρακικό γάγγλιο μεταφέρονται με άλλους ενδιάμεσους νευρώνες στα κοιλιακά μεταμερικά γάγγλια όπου διεγείρουν τελικά τους εκπνευστικούς κινητικούς νευρώνες. Η χρήση αναρροφητικού ηλεκτροδίου δίνει τη δυνατότητα σταθερής καταγραφής της ανωτέρω ηλεκτρικής δραστηριότητας. Με τον τρόπο αυτό έγινε δυνατή η καταγραφή του αναπνευστικού ρυθμού στο κολεόπτερο *Tenebrio molitor* στα διάφορα αναπτυξιακά στάδια (προνύμφη, νύμφη και ενήλικο). Η ύπαρξη σταθερού αναπνευστικού ρυθμού εντοπίστηκε στα ενήλικα άτομα, αντίθετα άτομα στο τελευταίο προνυμφικό στάδιο δεν εμφανίζουν καθόλου αναπνευστικό ρυθμό. Το γεγονός αυτό ενισχύει την άποψη ότι η μεταφορά του οξυγόνου στην αιμολέμφο στο στάδιο της προνύμφης γίνεται με απλή διάχυση. Στη συγκεκριμένη εργασία, έγινε προσπάθεια εντοπισμού του κέντρου παραγωγής του αναπνευστικού ρυθμού στα ενήλικα άτομα καθώς και του εξελικτικού σταδίου στο οποίο αρχίζει να εμφανίζεται αυτός.

**LOCALIZATION OF THE RESPIRATORY RHYTHM  
IN THE DEVELOPMENTAL STAGES OF THE  
HOLOMETABOLOUS INSECT *Tenebrio molitor*.**

**Topoglidi A., Katsanou V. and Theophilidis G.**

**Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University,  
Thessaloniki 54006**

The respiration in insects is controlled by the central nervous system through a central pattern generator (CPG). Experiments, during which the nerve cord was cut in turns, revealed such a network, located in the locust's metathoracic ganglion. This respiratory activity stimulates, through other interneural networks, the expiratory motor neurons. The use of a suction electrode enables the recording of stable action potentials generated along the nerve cord. Thus, the respiratory rhythm in various developmental stages (larva, pupa, adult) in *Tenebrio molitor* can be recorded. All the experiments indicated that a steady and definite respiratory rhythm is produced in the adult *Tenebrio molitor*, while the late larva stage shows no rhythm at all. These results lead to the conclusion that in the early developmental stages the oxygen is diffused to the haemolymph through the tracheal system. In our project, an attempt was made, first to localize the ganglion which produces the respiratory rhythm in the adult *Tenebrio molitor* and second to investigate the exact stage in which the respiratory rhythm can be clearly recorded.

## Η ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ *ARTEMIA* (Crustacea, Anostraca) ΣΤΟΝ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟ ΜΕ ΛΙΠΙΔΙΚΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ

Τριανταφυλλίδης Γ.<sup>1,2</sup>, Χαντζή Δ.<sup>1</sup>, Κοτζαμάνης Ι.<sup>3</sup>, Καστρίτση Ι.<sup>4</sup>,  
Τάφας Τ.<sup>1</sup> και Αλέξη Μ.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών  
Επιστημών Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

<sup>2</sup>Nireus Fisheries and Aquaculture Consultants A.E., 1ο χλμ Κορωπίου-  
Βάρης, 19400, Κορωπί Αττικής

<sup>3</sup>Εθνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών

<sup>4</sup>Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,  
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 81 Αθήνα

Η γαρίδα της άλμης, όπως κοινώς αποκαλείται η *Artemia*, χρησιμοποιείται ευρύτατα σε παγκόσμιο επίπεδο στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς ψαριών και καρκινοειδών, αφού είναι απαραίτητη για τη σωστή ανάπτυξη των προνυμφικών τους σταδίων. Στην παραγωγή απαιτείται η χρήση κύστεων με μεγάλη εκκολασιμότητα καθώς και αυξημένη ανθεκτικότητα κατά τον εμπλουτισμό τόσο με εμπορικά διαθέσιμα λιπιδικά γαλακτώματα όσο και με μικροφύκη.

Στην εργασία αυτή γίνεται συγκριτική μελέτη της εκκολασιμότητας και της ικανότητας εμπλουτισμού τριών στελεχών *Artemia*. Δύο από αυτά είναι αμφιγονικά και ανήκουν στο είδος *A. franciscana*, από τη Μεγάλη Αλμυρή Λίμνη, και το άλλο είναι παρθενογενετικό και ανήκει στο είδος *A. parthenogenetica*, από την κεντρική Ασία. Ο εμπλουτισμός γίνεται με δύο λιπιδικά γαλακτώματα με την εμπορική ονομασία A1DHA και DCSelco καθώς και με δυο διαφορετικά μικροφύκη που ανήκουν στα είδη *Isochrysis aff. galbana* και *Porphyridium cruentum* σε διάφορες συγκεντρώσεις. Τα αποτελέσματα συζητούνται με ιδιαίτερη έμφαση στα ενσωματωμένα στους ναυπλίους πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (HUFAs) και τον τρόπο αποικοδόμησης στους 12°C. Συγκεκριμένα εξετάζονται το εικοσιδύο εξαενοϊκό οξύ, (DHA, 22:6n-3), το εικοσαπενταενοϊκό οξύ, (EPA, 20:5n-3), και το αραχιδονικό οξύ (ARA, 20:5n-3).

## COMPARATIVE STUDY OF *ARTEMIA* STRAINS (CRUSTACEA, ANOSTRACA) FOLLOWING ENRICHMENT WITH LIPID EMULSIONS AND MICROALGAE

Triantaphyllidis G.<sup>1,2</sup>, D. Hantzi<sup>1</sup>, I. Kotzamanis<sup>3</sup>, I. Kastitsi-Kathariou<sup>4</sup>, T. Tafas<sup>1</sup> & M. Alexi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Ecology and Systematics, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 15781 Athens - Greece

<sup>2</sup>Nireus Fisheries & Aquaculture Consultants S. A., 1st klm. Koropiou-Varis Ave., 194 00 Koropi, Greece.

<sup>3</sup>National Centre of Marine Research, Hellinikon, Athens

<sup>4</sup>Department of Zoology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis 15781 Athens - Greece

Brine shrimp *Artemia* nauplii are commonly used worldwide in fish and crustacean hatcheries, since they are the best solution for live food feeding during the crucial larval stages and prior to shifting to artificial diets. The aquaculture industry requires cysts that exhibit good hatching efficiency as well as satisfactory viability during enrichment with lipid emulsions and microalgae, which are known to be rich in highly unsaturated fatty acids (HUFA). In this study, we compare the hatching ability, viability and enrichment performance of three *Artemia* strains, two of which belong to the widely used bisexual species *A. franciscana* (from Great Salt Lake, Utah, U.S.A.) and the other to the parthenogenetic species *A. parthenogenetica* (from Central Asia). The nauplii are enriched with two commercially available lipid emulsions (A1DHA Selco and DC Selco) and two microalgae species, *Isochrysis* aff. *galbana* and *Porphyridium cruentum*, which are known for their high lipid content. We discuss the results emphasizing on the HUFA content of the nauplii, and particularly to docosahexaenoic acid (DHA,22:6n-3), eicosapentaenoic acid (EPA,20:5n-3) and arachidonic acid (ARA,20:4n-6). We show the differences between the various *Artemia* strains in terms of enrichment performance and stability of the bioaccumulated HUFAs under conditions of starvation at 12°C for a period of 24, 48, and 72h.

## ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΓΛΥΚΟΥ ΣΟΡΓΟΥ [*Sorghum bicolor* (L) Moench]

Τσαγκάρης Γ., Φ. Παπαλέξη, Κ. Αγγελόπουλος

Εργαστήριο Φυτ. Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Προσδιορίστηκαν οι αποδόσεις και οι δείκτες αύξησης καλλιέργειας γλυκού σόργου (*Sorghum bicolor* (L) Moench, ποικιλία Keller) για παραγωγή βιομάζας όπως καλλιεργήθηκαν χωρίς τη χρήση αγροχημικών στην περιοχή της Δυτικής Ελλάδος (Πάτρα). Οι γλυκές ποικιλίες του σόργου αποθηκεύουν σακχαρόζη στο στέλεχος τους. Προς τούτο οι ανωτέρω ποικιλίες καλλιεργούνται διεθνώς για παραγωγή βιοαιθανόλης προκειμένου αυτή να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο. Στόχος των πειραμάτων ήταν να βελτιστοποιήσουμε τις αποδόσεις βιολογικής καλλιέργειας γλυκού σόργου με παράλληλη ελαχιστοποίηση της περιβαλλοντικής ρύπανσης.

Ως ημερομηνία ανάδυσης των φυτών ελήφθη η 10η Ιουνίου και η πυκνότητα των φυτών ήταν 7 περίπου φυτά ανά τετραγωνικό μέτρο. Οι δείκτες αύξησης υπολογίστηκαν με βάση μετρήσεις της φυλλικής επιφάνειας και του ξηρού βάρους φύλλων και στελεχών από 15-20 φυτά που ελαμβάνοντο ανά δεκαπενθήμερο με καταστρεπτικές και μη καταστρεπτικές μεθόδους. Οι αποδόσεις στα πειραματικά τεμάχια ήταν κατά μέσο όρο 8.9 κιλά νωπού βάρους υπέργειας βιομάζας/τ.μ. ή 3.0 κιλά ξηρού βάρους/τ.μ. με περιεκτικότητα σε σάκχαρα 21.49% του ξηρού βάρους. Ο δείκτης φυλλικής επιφάνειας (LAI) είχε τη μέγιστη τιμή του (4.18) 72 ημέρες μετά την ανάδυση των φυτών. Ο ρυθμός ανάπτυξης της καλλιέργειας (CGR) είχε τη μέγιστη τιμή (83 gr/m<sup>2</sup>/day) 51 ημέρες μετά την ανάδυση των φυτών και όταν ο δείκτης φυλλικής επιφάνειας είχε μια τιμή περίπου 3.14. Κατά τη διάρκεια ανάπτυξης της καλλιέργειας και μέχρι την άνθηση ο συντελεστής αξιοποίησης της ηλιακής ακτινοβολίας είχε μια μέση τιμή 4,45gr/MJ

## **BIOMASS PRODUCTION FROM SWEET SORGHUM [*Sorghum bicolor* (L) Moench] CROP**

**Tsagaris G., F. Papalexi, K. Angelopoulos**

**Lab. of Plant Physiology, Dept. of Biology, University of Patras**

Biomass yields and growth indices of sweet sorghum crop (*Sorghum bicolor* (L) Moench, var. Keller) without the use of agrochemicals, were estimated in West Greece (Patras). Sweet varieties of sorghum store sucrose in their stalks. So they are cultivated for bioethanol production in order to be used as fuel instead of oils. The goal of our experiment was to optimize sweet sorghum yields under biological farming and in parallel to minimize environmental pollution.

The date of plant emergence was the 10<sup>th</sup> of June and plant density was 7 plants per square meter. Growth indices were estimated measuring both leaf areas fresh and dry weights of leaves and stalks from 15-20 plants by destructive or non-destructive methods. The crop completed in 112 days and mean above ground biomass yields are 8.9 Kgr fresh weight of biomass per square meter or 3 Kgr dry weight of biomass per square meter with a mean sugar content 21.5% of dry stalks weight. The leaf area index (LAI) reached its maximum value (4.18) 72 days after the emergence of plants. The crop growth rate (CGR) reached its maximum value (83 gr/m<sup>2</sup>/day) 53 days after the emergence of plants when LAI was 3.14. During crop development a mean light use efficiency 4.45 gr/MJ of dry weight was estimated.

## ΑΛΛΟΕΝΖΥΜΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΑΝΤΙ- ΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΣΑΥΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ LACERTIDAE ΤΟΥ ΕΛΛΑ- ΔΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ

Τσεκούρα Ν.<sup>1</sup>, Φραγγεδάκη Σ.<sup>1</sup>, Χονδρόπουλος Β.<sup>1</sup>, Βαλάκος Ε.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πάτρας,  
26001 Πάτρα

<sup>2</sup>Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο  
Αθηνών, 157 81 Αθήνα

Ως συμβολή στη μελέτη των γενετικών σχέσεων των σαυρών της οικογένειας Lacertidae, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αλλοενζυμική ποικιλότητα των ειδών *Podarcis taurica*, *P. milensis*, *P. peloponnesiaca*, *Lacerta graeca* και *Algyroides moreoticus* που ανήκουν στα 3 από τα 4 γένη με τα οποία η οικογένεια αυτή εκπροσωπείται στον ελλαδικό χώρο. Από τα παραπάνω είδη τα τέσσερα τελευταία είναι ενδημικά της ελληνικής ερπετοπανίδας και μάλιστα τα τρία τελευταία εμφανίζονται σε συμπατρία στην περιοχή της Πελοποννήσου.

Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν ηλεκτροφορητικά 14 γενετικοί τόποι σε 89 άτομα σαυρών. Η επεξεργασία των αλλοενζυμικών δεδομένων έγινε με το στατιστικό πακέτο BIOSYS-1.

Από τους τόπους που εξετάστηκαν οι 13 εμφανίστηκαν πολυμορφικοί. Ο τόπος PGM1 αποτελεί γενετικό δείκτη αφού εμφανίστηκε σταθεροποιημένος για διαφορετικό αλληλόμορφο ανάμεσα στο γένος *Podarcis* (αλληλόμορφο α) και στα γένη *Lacerta* και *Algyroides* (αλληλόμορφο β). Από την ανάλυση ποικιλότητας (*F-statistics*) προκύπτει ότι υπάρχει αρκετά έντονη διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών που εξετάστηκαν ( $F_{ST}=0,588$ ). Από τις τιμές των γενετικών αποστάσεων κατά Νεί προέκυψε ότι τα γένη *Algyroides* και *Lacerta* εμφανίζονται συγγενέστερα μεταξύ τους παρά με το γένος *Podarcis*. Το συμπέρασμα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με φυλογενετικές μελέτες που βασίζονται στην ανάλυση αλληλουχιών του mtDNA (Harris *et al.*, Proc. R. Soc. Lond. B: 1939-1948, 1998 / Harris & Arnold, Copeia: 749-754, 1999), ενώ δεν συμφωνεί με παλιότερες ανοσολογικές και ηλεκτροφορητικές μελέτες, σύμφωνα με τις οποίες το γένος *Lacerta* θεωρείται συγγενέστερο με το γένος *Podarcis* (Mayer & Lutz, Zool. Anz.: 89-105, 1990 / Mayer & Beny, Ann. Naturhist. Mus. Wien: 621-648, 1994).

*Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ 99/231.*



## ALLOZYMIC VARIATION AMONG REPRESENTATIVE LIZARD SPECIES OF THE FAMILY LACERTIDAE FROM GREECE

Tsekoura N.<sup>1</sup>, Fraguedakis S.<sup>1</sup>, Chondropoulos B.<sup>1</sup>, Valakos E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Section of Animal Biology, Department of Biology, University of Patra,  
260 01 Patra

<sup>2</sup>Dept of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of  
Athens, Panepistimiopolis 157 81 Athens, Greece

Contributing to the study of the genetic relations among lizards of the family Lacertidae, in the present study the allozymic variation of the species *Podarcis taurica*, *P. milensis*, *P. peloponnesiaca*, *Lacerta graeca* and *Algyroides moreoticus* was examined. These species belong to three of the four-lacertid genera distributed in Greece. Furthermore, the latter four of the above mentioned species are endemic to Greek herpetofauna while the latter three live sympatrically in Peloponnese.

More specifically, 14 loci were examined electrophoretically in 89 specimens. The allozymic data were elaborated with the statistical package BIOSYS-1.

Of the loci examined 13 were polymorphic. The locus PGM1 constitutes a genetic marker since it is fixed for different alleles between the genus *Podarcis* (allele  $\alpha$ ) and the genera *Lacerta* and *Algyroides* (allele  $\beta$ ). The *F*-statistics revealed a rather strong differentiation among the species examined ( $F_{ST}=0,588$ ). The values of Nei's genetic distance showed that the genera *Algyroides* and *Lacerta* are more closely related to each other than to the genus *Podarcis*. This conclusion is in accordance with other phylogenetic studies based on mtDNA sequence analysis (Harris *et al.*, Proc. R. Soc. Lond. B: 1939-1948, 1998 / Harris & Arnold, Copeia: 749-754, 1999), whereas argues with older immunological and electrophoretic studies that consider the genus *Lacerta* to be more closely related to the genus *Podarcis* (Mayer & Lutz, Zool. Anz: 89-105, 1990 / Mayer & Benyr, Ann. Naturhist. Mus. Wien: 621-648, 1994).

*This study was supported by PENED programme 99/231.*

***Ganoderma australe* (FR.) PAT., ΕΝΑΣ ΝΕΟΣ  
ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΜΥΚΗΤΑΣ ΤΗΣ ΙΤΙΑΣ (*Salix alba* L.)  
ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

**Π. Τσόπελας<sup>1</sup>, Α. Αγγελόπουλος<sup>1</sup>, Ζ. Γκόνου-Ζάγκου<sup>2</sup>  
και Ε. Καψανάκη-Γκότση<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Ινστιτούτο Δασικών Οικοσυστημάτων & Τεχνολογίας Δασικών  
Προϊόντων. Τέρμα Αλκμάνος, Πλίσια 115 28, Αθήνα

<sup>2</sup>Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας -  
Ταξινόμικής, Πανεπιστημιούπολη, 157 84 Αθήνα

Ο βασιδιομύκητας *Ganoderma australe* (Fr.) Pat.[=*G. adspersum* (Schulzer) Donk] βρέθηκε να προσβάλλει και να νεκρώνει δένδρα ιτιάς (*Salix alba* L.), στην περιοχή Παλιοχώρι της Πάρνηθας Αττικής. Τα προσβεβλημένα νεκρά δένδρα ήταν ηλικίας 30-50 ετών και ύψους 12-18 m. Γειτονικά δένδρα είχαν νεκρωθεί σταδιακά κατά τη διάρκεια διαφορετικών ετών, όπως ήταν εμφανές από το διαφορετικό στάδιο αποσύνθεσης των δένδρων. Η ασθένεια φαίνεται ότι είχε μεταδοθεί από δένδρο σε δένδρο με επαφή ή/και συνενώσεις μεταξύ των ριζών.

Ο μύκητας δημιουργεί λευκή σήψη στις ρίζες και στο σομό και το εγκάρδιο ξύλο του κατώτερου τμήματος του κορμού των δένδρων. Το ξύλο μετατρέπεται σε ανοιχτόχρωμο, μαλακό, σπογγώδες. Στη βάση του κορμού των νεκρών δένδρων είχαν αναπτυχθεί βασιδιοκάρπια. Αυτά είναι πολυετή, ξυλώδη, με άνω επιφάνεια κρουστώδη, μη γυαλιστερή, χρώματος καστανού και κάτω επιφάνεια με μικρούς κυκλικούς πόρους (4-5 ανά mm), λευκωπή έως κιτρινωπή. Τα σπόρια είναι ευρέως ελλειψοειδή, με διπλό τοίχωμα, 8.5-11x6-7.5 μm.

Αυτή είναι η πρώτη αναφορά του *Ganoderma australe* ως παθογόνου στην Ελλάδα και η πρώτη καταγραφή του διεθνώς σε αυτόν τον ξενιστή. Προηγούμενες καταγραφές του μύκητα στη χώρα μας, σε άλλα πλατύφυλλα και κωνοφόρα είδη, δεν τον αναφέρουν ως παθογόνο.

***Ganoderma australe* (FR.) PAT. A NEW PATHOGENIC  
FUNGUS OF WILLOW (*Salix alba*) IN GREECE**

**Tsopelas P.<sup>1</sup>, A. Angelopoulos<sup>1</sup>, Z. Gonou-Zagou<sup>2</sup>  
& E. Kapsanaki-Gotsi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>NAGREF-Institute of Mediterranean Forest Ecosystems, Terma  
Alkmanos, 115 28 Athens, Greece

<sup>2</sup>University of Athens, Dept. of Biology, Section of Ecology and Systematics,  
Panepistimiopolis, GR-157 84 Athens, Greece

The basidiomycete *Ganoderma australe* (Fr.) Pat.[=*G. adspersum* (Schulzer) Donk] was found to infect and kill willow (*Salix alba* L.) trees in Paliochori locality of Mount Parnis. The infected dead trees were 30-50 years of age and 12-18 m high. Neighboring trees were killed during different years, as was evident from the different stage of tree deterioration. The disease appears to spread from tree to tree through root contacts and/or root grafting.

The fungus causes white rot of the roots and of the sapwood and heartwood of the lower part of the trunk. At the base of the trunk of dead trees basidiocarps of the fungus had been developed. These are perennial, woody, on the upper surface with a characteristic crust, brown, dull, the lower surface cream-coloured to yellowish, with fine round pores (4-5/mm). Spores are broadly elliptical, with double walls, 8.5-11X6-7.5 µm.

This is the first report of *Ganoderma australe* as a pathogen in Greece and the first record on this host worldwide. Previous records of the fungus in our country, on other deciduous and coniferous species, do not report it as a pathogen.

## ΑΝΟΣΟΕΝΤΟΠΙΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ [H] ΣΕ ΠΟΡΟΓΕΝΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΜΑΣΤΟΥ ΣΕ ΗΜΙΛΕΠΤΕΣ ΤΟΜΕΣ ΕΠΟΞΙΚΩΝ ΡΗΤΙΝΩΝ

Χαβάκη Σ.<sup>1</sup>, Δ. Αρβανίτης<sup>2</sup>, Χρ. Κίττας<sup>1</sup>, Ε. Μαρίνος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή Παν/μίου Αθηνών, <sup>2</sup>Τμήμα Ανατομίας, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή Παν/μίου Θεσσαλίας, Λάρισα

Το αντιγόνο H (mAbH) έχει εντοπισθεί στο κυτταρόπλασμα καρκινικών κυττάρων πορογενών, διηθητικών καρκινωμάτων μαστού, σε τομές παραφίνης. Ο επίτοπος του mAbH περιλαμβάνει το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη και γειτονικό πρωτεϊνικό μέρος, έχει δε βρεθεί ότι φέρεται από την κυτταροκερατίνη 8 και άλλα 5 πεπτίδια. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός του mAbH, αρχικά στο φωτονικό μικροσκόπιο, σε πορογενή καρκινώματα μαστού εγκλεισμένα σε εποξικές ρητίνες, με την προοπτική της λεπτομερούς μελέτης της κατανομής του στο υπερμικροσκοπικό επίπεδο. Συνολικά μελετήθηκαν 7 πορογενή, διηθητικά καρκινώματα μαστού. Από κάθε περίπτωση, μικρά τεμάχια φρέσκου ιστού μονιμοποιήθηκαν, αφυδατώθηκαν, και τελικά εγκλείστηκαν σε μίγμα εποξικών ρητινών. Μετά την αφαίρεση του πολυμερούς των εποξικών ρητινών από ημίλεπτες τομές επιλεγμένων καρκινικών περιοχών, εφαρμόστηκε η έμμεση ανοσοϊστοχημική μέθοδος δύο βημάτων της ανοσοϋπεροξειδάσης, με χρήση DAB ως χρωμογόνου. Ακολούθησε χρώση με αιματοξυλίνη και παρατήρηση στο φωτονικό μικροσκόπιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν διάχυτη αντίδραση του mAbH τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον πυρήνα των περισσότερων καρκινικών κυττάρων. Σε μεμονωμένα καρκινικά κύτταρα η κυτταροπλασματική αντίδραση ήταν πιο έντονη, ενώ σε άλλα κύτταρα δεν παρατηρήθηκε αντίδραση στον πυρήνα. Στα δείγματα στα οποία είχε παραλειφθεί το πρωτογενές αντίσωμα, δεν παρατηρήθηκε αντίδραση. Συμπερασματικά, η ανοσοεντόπιση του mAbH σε ημίλεπτες τομές πορογενών διηθητικών καρκινωμάτων μαστού εγκλεισμένων σε εποξικές ρητίνες, δείχνει ότι ο τρόπος επεξεργασίας του ιστού προστατεύει την αντιγονικότητά του ως προς το mAbH. Έτσι, δίνεται η δυνατότητα το ίδιο ακριβώς υλικό να χρησιμοποιηθεί για την ανοσοϊστοχημική μελέτη της κατανομής του mAbH στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

## **IMMUNOLocalIZATION OF ANTIGEN [H] ON SEMITHIN EPOXY RESIN SECTIONS OF DUCTAL INFILTRATING BREAST CARCINOMAS**

**Havaki S.<sup>1</sup>, D. Arvanitis<sup>2</sup>, Chr. Kittas<sup>1</sup>, E. Marinos<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Laboratory of Histology and Embryology, Medical School, University of Athens, <sup>2</sup>Department of Anatomy, Histology and Embryology, Medical School of Larissa, University of Thessaly**

The antigen H (mAbH) was immunolocalized in the cytoplasm of cancer cells of paraffin embedded infiltrating ductal breast carcinomas. Its epitope, which is consisted of a carbohydrate moiety and the neighboring amino acids, is localized in cytokeratin 8 and another 5 cellular polypeptides. The purpose of this study was the immunolocalization of the mAbH under the light microscope in epoxy resin embedded ductal infiltrating breast carcinomas. In perspective of the detailed study of its ultrastructural distribution and its possible corelation with subcellular structures, 7 cases of infiltrating ductal breast carcinomas were studied. From each case, fresh small tissue fragments were fixed, dehydrated, and finally embedded in a mixture of epoxy resins. After the removal of the epoxy resin polymer of semithin sections of selected areas of cancer cells, the indirect immunoperoxidase method of two steps was applied, using DAB as chromogen. The sections were counterstained with hematoxylin and observed under the light microscope. The results showed diffuse staining of mAbH in the cytoplasm and the nucleus of the cancer cells. Occasionally, some cells revealed more intense cytoplasmic staining, while others were not stained in the nucleus. When the primary antibody was omitted, no reaction was observed. In conclusion, the immunolocalization of mAbH in epoxy resin semithin sections of infiltrating ductal breast carcinomas indicates that the procedure of tissue preparation preserves mAbH antigenicity. Thus, the opportunity is given to exactly the same specimen (studied under the light microscope) to be used for precise immunolocalization of mAbH at the ultrastructural level.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ L-ΛΥΣΙΝΗΣ ΑΠΟ ΤΟ  
ΣΤΕΛΕΧΟΣ *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21253 ΣΕ  
ΚΛΕΙΣΤΑ ΚΑΙ ΗΜΙΤΡΟΦΟΔΟΤΟΥΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ  
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

**Χάλκου Κ.Ι., Α.Α. Σαββίδης και Α.Δ. Καραγκούνη**

**Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη 15781 Αθήνα**

Ο κύριος όγκος της παγκόσμιας παραγωγής L-λυσίνης στηρίζεται στη ζύμωση υδρογονανθράκων από μεταλλαγμένα στελέχη του γένους *Corynebacteria*.

Κατά την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, όπως η L-λυσίνη, ο συντελεστής απόδοσης της ζύμωσης (παραγόμενο προϊόν / καταναλωθέν υπόστρωμα) είναι σημαντική παράμετρος εκτίμησης της δυνατότητας βιοτεχνολογικής εφαρμογής, τόσο από αποψη κόστους όσο και από άποψη απόδοσης σε προϊόν. Για να επιτευχθεί αύξηση της απόδοσης, ο κυτταρικός μεταβολισμός κατευθύνεται προς το επιθυμητό προϊόν με τη δημιουργία μεταλλαγμένων στελεχών. Παράλληλα, καθορίζονται οι άριστες συνθήκες του περιβάλλοντος και γίνεται προσπάθεια για την επίτευξή τους με εκμετάλλευση θρεπτικών υποστρωμάτων χαμηλού κόστους.

Μελετήθηκε η αύξηση του μεταλλαγμένου στελέχους *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21253 σε κλειστά και ημιτροφοδοτούμενα συστήματα καλλιέργειας. Εκτιμήθηκε η επίδραση διαφορετικών πηγών άνθρακα και αζώτου στην αύξηση του μικροοργανισμού και την παραγωγή L-λυσίνης με χρήση συνθετικών και εμπειρικών υποστρωμάτων.

## **L-LYSINE PRODUCTION BY *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21253 IN BATCH AND FED-BATCH CULTURES**

**Chalkou K.I., A.L. Savvides & A.D. Karagouni**

**Department of Botany, School of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis 15781 Athens, Greece**

The bulk of L-lysine production throughout the world depends on direct fermentation of carbohydrates by mutants of *Corynebacteria*.

For fermentation processes intensive in raw material use such as amino acids, the process yield (product produced / substrate consumed) is a critical measure of performance and economic viability. In order to increase the fermentation yield the cellular metabolism has to be redirected in favour of the desired product as opposed to biomass and side products by the development of mutant strains. In addition those environmental variables required for maximum productivity is necessary to be determined and their adaptation to the use of less expensive starting materials has to be achieved.

In the present work an auxotrophic mutant strain *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21253 was grown in batch and fed batch cultures. The effect of different carbon and nitrogen sources on L-lysine production was investigated in defined and semi-defined culture media.

## ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΦΙΣΤΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΚΟΝΙΑΣΤΩΝ ΤΟΥΣ ΜΕ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ

Χατζηδημητρίου Μ.<sup>1</sup>, Α. Κατσιώτης<sup>2</sup>, Α. Δρόσου<sup>2</sup>, Μ. Λουκάς<sup>2</sup>,  
Κ. Ποντίκης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Δενδροκομίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής  
<sup>2</sup>Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα

Η μέθοδος των RAPD χρησιμοποιείται ευρέως για την διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών αλλά και για την διαφοροποίηση μεταξύ των καλλιεργούμενων ποικιλιών. Η φιστικιά ανήκει στην οικογένεια Anacardiaceae και είναι δένδρο φυλλοβόλο και δίοικο. Στην Ελλάδα η φιστικιά καλλιεργείται συστηματικά από το 1860. Η πίο διαδεδομένη καλλιεργούμενη ποικιλία είναι η 'Αιγίνης', ενώ η 'Νυχάτη' και η 'Φουντουκάτη' απαντώνται διάσπαρτες σε φιστικεώνες ανά την χώρα. Μία καινούργια ποικιλία που έχει επιλεγεί από σπορόφυτα της 'Αιγίνης' είναι η καλλιεργούμενη ποικιλία 'Pontikis'. Οι παραπάνω ποικιλίες μαζί με τους τέσσερις τύπους των αρσενικών επικονιαστών, Α, Β, Γ και Δ, χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία. Οι επικονιαστές διαφέρουν μεταξύ τους στον χρόνο ανθοφορίας. DNA απομονώθηκε από νεαρά φύλλα με την μέθοδο CTAB και η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης χρησιμοποιήθηκε για να πολλαπλασιαστεί μέρος του γονιόματος των φυτών. Είκοσι εκκινητές δοκιμάστηκαν και εννιά επιλέχθηκαν. Τα προϊόντα διαχωρίστηκαν σε πηκτή αγαρόζης. Μήτρες ομοιότητας υπολογίστηκαν με την μέθοδο των Nei και Li και το δένδrogramma σχεδιάστηκε με το UPGMA. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η 'Φουντουκάτη' συγγενεύει με τον επικονιαστή τύπου Δ, ενώ οι άλλες τρεις καλλιεργούμενες ποικιλίες με τους επικονιαστές τύπου Γ ή Δ. Η 'Νυχάτη' συνδέεται με την 'Αιγίνης', ενώ και η 'Pontikis' ομαδοποιείται μαζί τους. Οι άλλοι δύο τύποι επικονιαστών, Α και Β, ομαδοποιούνται μεταξύ τους και είναι πίο απομακρυσμένοι από τους άλλους τύπους επικονιαστών και καλλιεργούμενων ποικιλιών.



## DISCRIMINATION AMONG PISTACIA CULTIVARS AND THEIR POLLINATORS USING MOLECULAR MARKERS

Hagidimitriou M.<sup>1</sup>, A. Katsiotis<sup>2</sup>, A. Drossou<sup>2</sup>, M. Loukas<sup>2</sup>,  
K. Pontikis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fruit Production Laboratory, Department of Crop Science

<sup>2</sup>Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology  
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, Athens

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) has been widely used to describe intra- and interspecific variation. *Pistacia* belongs to the Anacardiaceae family and is a deciduous and dioecious tree. In Greece *pistacia* is systematically cultivated since 1860. A number of cultivars are used in orchards with cv. 'Aeginis' prevailing followed by 'Nychati' and 'Fountoukati'. 'Pontikis' is a newly developed cultivar that has been selected from 'Aeginis' sporophytes. All of the above cultivars have been included in the present study, along with the four major pollinator types designated as A, B, C and D. The pollinators differ in time of flowering and their vigor. DNA has been isolated from young leaves using the CTAB method and PCR was used to amplify randomly part of the plant genome. Twenty decamer primers were tested and nine of them were selected for screening. Amplification products were separated electrophoretically in a 1.2% agarose gel. Similarity matrices were created using the Nei and Li similarity index and a dendrogram was constructed using the UPGMA cluster analysis. Little or no polymorphism is observed in individual plants belonging to the same cultivar. The male parent in cultivar 'Fountoukati', according to clustering results, must have been of type D. For the other three cultivars the pollinators could have been either of type C or D. Cultivar 'Nychati' is closely associated to cv. 'Aeginis', while cv. 'Pontikis' is also clustered to them. The other two pollinators, types A and B, are clustered together and are more distantly related to the other pollinator types and cultivars.

## ΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ ΔΥΟ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ: ΑΡΜΕΝΙΚΟΥ & ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ

Χατσατριάν Α. και & Α. Πέντζου-Δαπόντε

Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλονίκης

Με βάση τα ανατομικά του στοιχεία, την κατασκευή και λειτουργία των οργάνων ο άνθρωπος κατατάσσεται στα Πρωτεύοντα, μια τάξη των θηλαστικών. Έχει ιδιαίτερες προσαρμοστικές σχέσεις με το περιβάλλον του, είναι λογικό ον, ο εγκέφαλός του είναι μεγαλύτερος και πιο πολύπλοκος και το μεγαλύτερο μέρος του επιπλέον εγκεφάλου καταλαμβάνεται από τα κέντρα μνήμης, συνειρμού, ομιλίας, κ.α. Το είδος *Homo sapiens* περιλαμβάνει όλους τους σημερινούς ανθρώπους. Υπολογίζοντας όμως την ποικιλότητα που παρουσιάζει ο άνθρωπος, στάθηκε αναγκαίο να γίνει διάκριση και ταξινόμηση των ανθρώπων σε διαφορετικούς πληθυσμούς, με βάση τα φυσικά χαρακτηριστικά που κληρονομούνται. Εδώ ουσιαστικό λόγο είχε η Ανθρωπομετρία που ασχολείται με τη μέτρηση του ανθρώπινου σώματος. Τα χαρακτηριστικά που καθορίζουν την διάκριση ανάμεσα στις ανθρώπινες ομάδες είναι: χρώμα επιδερμίδας, σχήμα κρανίου, κατασκευή και αναλογίες του σκελετού, ανάστημα και βάρος, κατατομή προσώπου, σχήμα μύτης και χειλιών, χρώμα και δομή της ίριδας, μορφή και υφή των μαλλιών. Η έρευνα αυτή βασίστηκε στη μελέτη αυτών των γνωρισμάτων σε δυο πληθυσμούς: του Ελληνικού, που ανήκει στον Ινδοευρωπαϊκό πληθυσμό (με κύρια χαρακτηριστικά: μέτριο έως ψηλό ανάστημα, λεπτά χαρακτηριστικά προσώπου, δολιχοκεφαλία, βαθύ χρώμα επιδερμίδας, βαθύ καστανό χρώμα ματιών, το χρώμα των μαλλιών είναι μαύρο, καστανό, σκουρόξανθο) και του Αρμενικού, που ανήκει στον Αρμενικό πληθυσμό (με κύρια χαρακτηριστικά: μέτριο ανάστημα, βραχυκεφαλία, πλατύ κρανίο, φαρδύ μέτωπο, πλατιά και μεγάλη μύτη, παχιά χείλη, πυκνά φρύδια, μαύρα μαλλιά, καστανά μάτια). Η εργασία αυτή ολοκληρώθηκε με τη βοήθεια 1750 ατόμων (875 γυναίκες και 875 άνδρες) από κάθε πληθυσμό. Τα αποτελέσματα των ανθρωπολογικών γνωρισμάτων αυτών των ατόμων προσδιορίστηκαν με βάση τους πίνακες των Fischer - Saller (χρώμα μαλλιών), Martin- Schultz (χρώμα ματιών), Ziegelmayr (δομή ίριδας), Sergi (περίμετρος κεφαλιού), Poch (σχήμα προσώπου). Ύστερα από την στατιστική επεξεργασία με ειδικό πρόγραμμα για ανθρωπολογικές μελέτες, παρουσιάζονται συγκριτικές γραφικές παραστάσεις, που δείχνουν τις διαφορές ή τις ομοιότητες των δυο πληθυσμών.

## **ANTHROPOLOGICAL TRAITS OF TWO POPULATIONS: THE GREEK POPULATION AND THE ARMENIAN POPULATION**

**Chatsatrian L. & Athina Pentzou - Daponte**

**Biology Department, Faculty of Sciences, Aristoteleion University,  
Thessaloniki.**

If two people are considered different, and this is judged on the basis of the mental traits of certain populations, their education and culture, then we can classify them also on the basis of the physical traits, especially after the discovery of contemporary genetics, thus separating them into completely different races. There is however a way of distinguishing different groups of people based on their bodily characteristics. These characteristics are the following: skin color, shape of the skull, the build of the skeleton and its proportions, height, facial bones, shape of the nose and the mouth, hair type. This research was based on the study of anthropological traits of two populations: the Greek population which belonging to the Indo - European race (with principal characteristics: thin characteristic of the face, stature moderate until heigh, dolichocephalous, dark color of the skin, dark brown color of the eyes, hair are black, chestnut brown, dark blond) and the Armenian population which belonging to the Armenian race (with principal characteristics: moderate stature, brachycephalic, wide skull, broad and big nose, wide foreheads, thick eyebrows, black hair, brown eyes, fat lips). The specific measurements were taken from 1750 persons (875 men and 875 women) of each population. The results were based on the following tables: Fisher - Saller (color and type of the hair), Martin - Schultz (eye color), Ziegelmayer (iris structure), Sergi (head shape), Poch (shape of the face). After statistical processing by a special statistical study program, the comparative graphs are presented showing the similarities and the differences between the populations.

## ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ ΛΙΠΟΥΣ ΣΕ ΔΥΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ. ΑΙΤΙΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Χατσατριάν Α. και & Α. Πέντζου-Δαπόντε

Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλονίκης

Ένα από τα σημαντικότερα πεδία έρευνας της Φυσικής Ανθρωπο-λογίας είναι η μελέτη της ανάπτυξης του ανθρώπινου οργανισμού. Ο ρυθμός της αύξησης ελέγχεται από συνδυασμό εξωτερικών και εσωτερικών παραγόντων. Η προσοχή στην διατροφή και κατά συνέπεια στο βάρος έχει γίνει ήδη κοινωνική ανάγκη. Κυριαρχεί πλέον το πρότυπο του λεπτού, λιτοδίαιτου, από σωστούς όρους διατροφής χαρακτηριστικού αθλητικού τύπου. Ο σύγχρονος τρόπος ζωής, πέρα από τις ανέσεις που μας προσφέρει, έχει και τα αρνητικά του επακόλουθα. Εδώ σημαντικό ρόλο κατέχει η παχυσαρκία. Ο Οργανισμός Παγκόσμιας Υγείας χαρακτηρίζει πλέον την παχυσαρκία ως “επιδημία”. Από την κατάσταση αυτή δεν εξαιρούνται οι ανήλικοι (ένα στα πέντε παιδιά στον ελλαδικό πληθυσμό είναι παχύσαρκο). Παρατηρείται ότι, ενώ στην παιδική ηλικία η κατανομή του λίπους γίνεται ομοιόμορφα σε ολόκληρο το σώμα και στα δυο φύλα, με την ενηλικίωση και εξαιτίας της σεξουαλικής διαφοροποίησης, στις γυναίκες συσσωρεύεται κυρίως στην γλουτομηριαία περιοχή και στους άνδρες στην κοιλιακή χώρα. Ως υλικό για την έρευνα μας χρησίμευσαν 1750 άτομα από κάθε πληθυσμό (ελληνικό και αρμενικό), ηλικίας 12-30 χρονών, από τα οποία πάρθηκαν σωματομετρικά στοιχεία. Συμπληρώθηκαν ερωτηματολόγια με θέματα την ποιότητα της διατροφής, την κατάσταση της υγείας, την κληρονομικότητα, τις αθλητικές επιδόσεις του κάθε εξεταζόμενου. Ο προσδιορισμός του ποσοστού του λίπους του σώματος έγινε με τον Η/Υ Futrex-5000. Το ιδανικό βάρος υπολογίστηκε με τον διεθνή δείκτη Body Mass Index. Αναλύθηκε η επίπτωση της παχυσαρκίας σε μια σειρά από αυξημένες παθήσεις, όπως δύσπνοια, διαταραχές των αρθρώσεων, αρρώστιες καρδιάς και αγγείων, υπέρταση, εκφύλιση του ήπατος, διαβήτης, εγκεφαλικά και μερικές νέες μορφές καρκίνου. Το χαρακτηριστικό της παχυσαρκίας είναι ότι μπορούν να προσβληθούν τόσο τα μεμονωμένα όργανα όσο και πολλά μαζί. Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στον Η/Υ, με ειδικό πρόγραμμα για ανθρωπο-λογικές μελέτες. Συγκρίνονται οι στατιστικές αναλογίες των δυο πληθυσμών.

## **DISTRIBUTION OF FAT IN TWO POPULATIONS. CAUSES OF OBESITY. THE ROLE OF OBESITY IN CAUSING DISEASES**

**Chatsatrian L. & Athina Pentzou - Daponte**

**Biology Department, Faculty of Sciences, Aristoteleion University,  
Thessaloniki.**

One of the most important fields of Anthropology is the study of the growth of the human body. The rate of growth is controlled by a complex combination of external and internal factors. A flexible body without excess body fat is considered to be an indication of health. However the convenience of the modern way of living has some negative consequences. Obesity plays a significant role and is considered as the disease of this century. Children are not exempt from this situation (one in five children in Greeks population is obese). It has been observed that although in childhood fat is distributed uniformly over the entire body on both sexes, upon growing older and due to the differentiation of the sexes fat accumulates mainly round the thighs and buttocks in women and the abdomen in men. The research was conducted on a population of 1750 persons from every population (Greek and Armenian), aged 12-30 years old. Information was recorded with respect to their bodily measurements, the quality of their diet and health, hereditary factors and athletic performance. Calculations were made by computer to ascertain their fat ratio (Futrex-5000). The results will be discussed with reference to bibliography from Greece and abroad. The statistical processing of the results will be done computer (special statistical program for anthropological studies). An analysis will be made and we will comment on the growth rate curves, which are derived from the statistical processing. The ratios of the two populations will be compared. As will the role of obesity in causing various diseases (e.g. difficult breathing, trouble of the joints, diseases of the heart, high pressure, degeneration of the liver, diabetes, encephalic, some types of the cancer).

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΠΟΡΙΩΝ ΤΟΥ ΑΦΙΔΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Alternaria alternata*

Χατζήπαπας Π. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 ΡΙΟ

Ο αφιδοπαθογόνος μύκητας *Alternaria alternata* παράγει πολυκύτταρα σπόρια σε αλυσίδες των 5-9 σπορίων. Τα σπόρια μεταφέρονται με τον αέρα ή άλλα έντομα στις αφίδες, βλαστάνουν στην επιφάνεια του εξωσκελετού και με την βοήθεια απρεσσορίων που παράγονται στις άκρες των βλαστικών σωλήνων ο μύκητας εισέρχεται στο εσωτερικό του ξενιστή και καταναλώνει τους ιστούς του. Το πιο κρίσιμο στάδιο στη διαδικασία της μόλυνσης είναι η βλάστηση των σπορίων. Η βλάστηση επηρεάζεται κυρίως από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και το φως.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση των παραπάνω παραγόντων στη βλαστικότητα των σπορίων του *A. alternata*. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επίπεδα θερμοκρασίας (15, 20, 25, 30 και 35 °C), έξι επίπεδα σχετικής υγρασίας (75, 80, 85, 89, 95 και 100%) καθώς και δύο συνθήκες φωτός, φωτοπερίοδος των 16 ωρών φως/8 ωρών σκοτάδι και συνεχές σκοτάδι.

Σε όλες τις θερμοκρασίες η βλαστικότητα ήταν υψηλή και πάντα πάνω από 86%. Άριστη θερμοκρασία ήταν το εύρος 25 - 30 °C, αλλά υψηλή βλαστικότητα παρατηρήθηκε και στις άλλες θερμοκρασίες. Ο ρυθμός βλάστησης των σπορίων ήταν σημαντικά γρηγορότερος στο σκοτάδι σε όλες τις θερμοκρασίες. Φαίνεται ότι κάποιος παράγοντας ευνοείται στο σκοτάδι και επάγει την βλάστηση των σπορίων. Ο χρόνος που απαιτείται για την βλάστηση του 50% των σπορίων (GT<sub>50</sub>) στο σκοτάδι είναι πολύ μικρότερος από αυτόν που απαιτείται για το ίδιο ποσοστό βλάστησης στο φως. Τα σπόρια χρειάζονται 100% ΣΥ για βλάστηση. Η υγρασία φαίνεται να είναι ο σημαντικότερος περιοριστικός παράγοντας για την βλάστηση των σπορίων. Οι συνθήκες αυτές επικρατούν στη φύση στη μεσογειακή ζώνη και ευνοούν την ανάπτυξη και την δραστηριότητα του αφιδοπαθογόνου.

## **INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON SPORE GERMINATION IN THE APHIDO- PATHOGENIC FUNGUS *Alternaria alternata***

**Hatzipapas P. & Chr. Christias**

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

The aphidopathogenic fungus *Alternaria alternata* produces multicellular conidia in chains of 5-9 spores/chain. The conidia are air, or insect borne, they land on the aphids, germinate and produce germ tubes in the insect exoskeleton. The pathogen enters the host by means of infection pegs produced by appressoria. The most crucial stage in the process of pathogenesis is the germination of the spores. Spore germination is influenced by environmental factors, such as temperature, relative humidity (RH) and light.

In the present study the influence of the above environmental factors on spore germination was investigated. Five levels of temperature, i.e. 15, 20, 25, 30 and 35 °C, six levels of RH, i.e. 75, 80, 85, 89, 95 and 100% and two light regimes, a 16h light/8h dark photoperiod were tested.

Spore germination was high in all temperatures tested and reached a value of over 86%. Optimum temperature appeared to be the range between 25 and 30 °C, but the germination percentages were high in the other temperatures tested as well. The rate of spore germination was significantly higher in the dark in all temperatures. It appears that either the biosynthesis or the activity of some factor is favored in the dark, which induces spore germination.

The time required for 50% germination (GT<sub>50</sub>) in the dark was much shorter than the time required for the same germination percentage in the light. The spores required 100% RH for germination. It appears that of all factors affecting spore germination RH is the limiting one. The conditions affecting spore germination as stated above are prevalent in the Mediterranean zone and favor the development, spread and activities of the pathogen.

## ΜΟΡΦΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΤΗΣ ΑΘΕΡΙΝΑΣ (*Atherina boyeri* Risso, 1810) ΜΕΤΑΞΥ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΓΛΥΚΟΥ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΝΕΡΟΥ

**Χρυσάφη Ε. και Π. Κασπίρης**

**Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Πάτρα , ΤΚ 26110**

Από τα τρία είδη της οικογένειας Atherinidae που απαντούν στα ελληνικά νερά το είδος *Atherina boyeri* Risso, 1810, είναι το μοναδικό πολύ ευρύαλο, το οποίο σχηματίζει πληθυσμούς στα διάφορα περιβάλλοντα με ξεχωριστούς βιομετρικούς και μορφολογικούς χαρακτήρες. Πολλοί ερευνητές (όπως οι Kiener & Spillman 1969,1972; Marfin 1981,1982; Mistri & Colombo 1988; Kartas & Trabelsi 1990 και Trabelsi et al. 1994) από διάφορες περιοχές της Μεσογείου ασχολήθηκαν με το φαινόμενο του πολυμορφισμού της αθερίνας και κυριότερα από την κεντρική και δυτική λεκάνη

Μετά από εξέταση ατόμων της αθερίνας από πληθυσμούς των γλυκών νερών της λίμνης Τριχωνίδας και των παράκτιων θαλάσσιων περιοχών της δυτικής Ελλάδας, διαπιστώθηκαν σαφή και εμφανή μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά που διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Ξεχωριστά είναι τα γνωρίσματα που αφορούν στην οδόντωση, στις βραγχιακές άκανθες, στον αριθμό των σπονδύλων, στα λέπια κατά μήκος των πλευρών, στη μορφολογία των λεπιών και στην κατασκευή της άνω γνάθου.



## **MORPHOANATOMICAL DIFFERENCES OF SAND SMELT (*Atherina boyeri* Risso, 1810) BETWEEN POPULATIONS OF FRESH AND SEA WATERS**

**Chrisafi E. & P. Kaspiris**

**University of Patras -Department of Biology, Patra, 26110**

Among the three species of the family Atherinidae occurring in Greek waters, the species *Atherina boyeri* Risso, 1810 is the most euryaline. This species inhabits various environments and forms local populations with special biometric and morphological characters.

Many researchers from various mediterranean countries and mainly from the central and west mediterranean region ( Kiener & Spillman 1969, 1972, Marfin 1981, 1982, Mistri & Colombo 1988, Kartas & Trabelsi 1990 and Trabelsi et al. 1994) investigated the case of polymorphism of sand smelt.

The examination of specimens of the sand smelt (*A. boyeri*) from two different populations one from lake Trichonis ( W.Greece ) and another from the West Greek coasts, showed that there are clear and significant morphological and anatomical differences between the two populations.

These two populations exhibit great difference in the dentition, the gill rakers, the number of vertebrae, the lateral scales, the morphology of the scales and the structure of the premaxillar.

## ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΚΤΟΜΥΚΟΡΡΙΖΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΣΕ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΑ ΣΠΕΡΜΟΑΝΑΓΓΕΝΩΜΕΝΑ ΦΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ ΔΑΣΩΝ ΧΑΛΕΠΙΟΥ ΠΕΥΚΗΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Milne J.<sup>1,3</sup>, K. Ingleby<sup>2</sup>, P. Mason<sup>2</sup>, C. Legg<sup>1</sup>, M. Arianoutsou<sup>3</sup>

<sup>1</sup>University of Edinburgh, IERM, King's Buildings, West Mains Road, Edinburgh, EH9 3JY, Scotland (jeremy.milne@ed.ac.uk); olin.legg@ed.ac.uk).

<sup>2</sup>ITE, Bush Estate, Penicuik, Midlothian, EH26 0QB, Scotland (ki@ceh.ac.uk; pam@ceh.ac.uk).

<sup>3</sup>Τομέας Οικολογίας- Ταξινόμικης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784 Αθήνα ([marianou@biology.db.uoa.gr](mailto:marianou@biology.db.uoa.gr)).

Τα περισσότερα ξυλώδη φυτικά είδη των δασικών οικοσυστημάτων σχηματίζουν εκτομυκόρριζες με είδη Ασκομυκήτων και Βασιδαιομυκήτων. Οι μύκητες που συμμετέχουν στις συμβιωτικές αυτές σχέσεις δεν εμφανίζουν υψηλό βαθμό ειδίκευσης ως προς το φυτικό είδος - ξενιστή τους. Ετσι, είναι προφανές ότι άτομα του ίδιου φυτικού είδους αλλά και άτομα διαφορετικών φυτικών ειδών μπορούν να συνδέονται με δίκτυα μυκηλίων αυτών των μυκήτων. Τα δίκτυα αυτά μπορούν να συμβάλλουν στην εγκατάσταση των αρτιβλάστων μέσω της σύνδεσής τους με ένα εκτεταμένο μυκορριζικό μυκήλιο που τους παρέχει θρεπτικά και νερό από μια ευρεία περιοχή με μικρό ενεργειακό κόστος για το νεαρό φυτό. Τα δίκτυα των μυκορριζικών μυκήτων εντοπίζονται κυρίως στη στρωμνή και στα ανώτερα στρώματα του εδάφους και έτσι είναι ευάλωτα στην επίδραση της φωτιάς. Κατά συνέπεια, τα σπόρια ή τα μυκήλια που είναι απαραίτητα για την επιμόλυνση των αρτιβλάστων σε μία αναγεννώμενη δασική κοινότητα μπορεί να είναι μειωμένα και διάσπαρτα στο χώρο. Στα Μεσογειακά δάση κωνοφόρων οι νεαρές ρίζες που αναπτύσσονται στους αναβλαστάνοντες θάμνους μπορεί να παρέχουν τους υδατάνθρακες που είναι απαραίτητοι για την αναγέννηση των εκτομυκορριζικών μυκήτων. Ετσι, το έδαφος γύρω από τους θάμνους μπορεί να δρά ως καταφύγιο των δομών των μυκήτων που επιμολύνουν τις ρίζες των σπερμοαναγεννώμενων ειδών. Πειράματα με αρτίβλαστα *C. creticus* και *P. halepensis* που φυτεύονταν σε δασικά εδάφη έδειξαν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της αύξησης των αρτιβλάστων και της παρουσίας εκτομυκορριζών. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας παρουσιάζονται και συζητούνται τα πρώτα αποτελέσματα της ανάπτυξης αυτών των ριζικών σχηματισμών σε καμένα δάση χαλεπίου πεύκης της Κεντρικής Ελλάδας.

## FORMATION OF ECTOMYCORRHIZAS BY OBLIGATE SEEDERS IN POST-FIRE *PINUS HALEPENSIS* MILL. FORESTS IN GREECE.

Milne J.<sup>1,3</sup>, K. Ingleby<sup>2</sup>, P. Mason<sup>2</sup>, C. Legg<sup>1</sup>, M. Arianoutsou<sup>3</sup>

<sup>1</sup>University of Edinburgh, IERM, King's Buildings, West Mains Road, Edinburgh, EH9 3JY, Scotland (jeremy.milne@ed.ac.uk; colin.legg@ed.ac.uk).

<sup>2</sup>ITE, Bush Estate, Penicuik, Midlothian, EH26 0QB, Scotland (ki@ceh.ac.uk; pam@ceh.ac.uk). <sup>3</sup>Department of Ecology and Systematics, Faculty of Biology, University of Athens, 15784 Greece (marianou@biology.db.uoa.gr).

The majority of woody plant species in forest ecosystems form ectomycorrhizas with species of Ascomycetes and Basidiomycetes. Host-specificity of many ectomycorrhizal fungi is low and it is becoming increasingly clear that plants of the same and of different species in forest ecosystems can be connected by networks of fungal mycelial bridges. These may assist the establishment of seedlings which can become connected to a large mycorrhizal mycelium offering rapid nutrient and water acquisition from a wide area with minimal carbon cost to the young plant.

Ectomycorrhizal fungal networks are mainly concentrated in the litter and upper soil layers and are therefore prone to disruption by fires. Sources of fungal inoculum required by tree and shrub seedlings re-establishing in burned forest sites may thus be reduced and patchily distributed.

In Mediterranean pine forests early production of new roots by resprouting ectomycorrhizal shrubs may provide sources of carbohydrate for the regeneration of ectomycorrhizal fungi. Thus, the soil around resprouting shrubs may act as important refugia of fungal inoculum for ectomycorrhiza-forming seeders in the early post-fire forest environment. Preliminary studies carried out with seedlings of *Cistus creticus* and *Pinus halepensis* grown in forest soils indicate that there is a strong link between ectomycorrhizal colonization and growth. Evidence of the early development of ectomycorrhizas by these species establishing in burned forest sites is presented and ongoing research into spatial aspects of mycorrhizal development discussed.

## ΤΑ ΚΕΝΤΡΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠ.Ε.Π.Θ. ΚΑΙ Η ΙΔΙΑΙΤΕΡΗ ΘΕΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥΣ

**Γιώργος Φαραγγιτάκης, Οικονομολόγος - Βιολόγος**  
Υπεύθυνος του ΥΠΕΠΘ για τα Κέντρα Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης,  
Διευθυντής του ΚΠΕ Αργυρούπολης, Μιλήτου 179, 16451 Αργυρούπολη,  
τηλ 9956803, fax 9951683

Από το ΥΠ.Ε.Π.Θ. κατά την τελευταία 7ετία ιδρύθηκαν και λειτουργούν 18 Κ.Π.Ε. σε όλη την Επικράτεια προκειμένου να ενισχυθεί ο θεσμός της Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης (Π.Ε.) στα Σχολεία και στις τοπικές κοινωνίες. Τα Κέντρα αυτά παρέχουν εκπαιδευτικά και επιμορφωτικά προγράμματα, αναπτύσσουν θεματικά δίκτυα, τοπικές και διεθνείς συνεργασίες. Στελεχώνονται από ομάδα εκπαιδευτικών διαφορετικών ειδικοτήτων που απασχολούνται πλήρως σ' αυτά, ενώ διαθέτουν ικανοποιητικές υποδομές και εξοπλισμούς (εργαστήρια, βιβλιοθήκη, αίθουσες Η/Υ - διδασκαλίας και σεμιναρίων, εκπαιδευτικό κήπο, εκθεσιακούς χώρους κλπ) για να υλοποιηθούν τα προγράμματά τους, τα οποία διεξάγονται κατά το ήμισυ στις εγκαταστάσεις τους και κατά το άλλο μισό στο πεδίο. Αναπτύσσουν συνεργασίες με ΑΕΙ, Επιστ. Ιδρύματα, με την Αυτοδιοίκηση, με μη Κυβερνητικούς φορείς κοκ.

Εφαρμόζοντας στα προγράμματά τους τις βασικές αρχές της Π.Ε.: διεπιστημονική προσέγγιση, άνοιγμα του Σχολείου στην κοινωνία, συνεργατική μάθηση, ανάπτυξη κριτικής ικανότητας, πέρασμα από τα λόγια στην πράξη κλπ συμβάλλουν σημαντικά στο ξεδίπλωμα του τετράπτυχου "Ενημέρωση-Ευαισθητοποίηση-Εκπαίδευση-Ενεργοποίηση" προωθώντας στους νέους τις αξίες της οικολογικής ισορροπίας, της ποιότητας της ζωής και της βιώσιμης ανάπτυξης.

Στην προσπάθεια αυτή η συμβολή των Βιολογικών Επιστημών είναι καθοριστική (γνωστικό υπόβαθρο Βιολογίας, ιδιαίτερη συμβολή της Οικολογίας, εργαστήρια Βιολογίας, ασκήσεις πεδίου κ.α.). Κατά πόσο όμως γίνεται πράξη αυτό στα Κ.Π.Ε. του ΥΠ.Ε.Π.Θ. και ποιοί οι τρόποι στενότερης και λειτουργικότερης σύνδεσης αυτής της εκπαιδευτικής καινοτομίας με τις Βιολογικές Επιστήμες; (Είναι ένα από τα θέματα που συζητούνται μετά την αξιολόγηση της μέχρι τώρα λειτουργίας των Κ.Π.Ε.).

## **THE CENTERS OF ENVIRONMENTAL EDUCATION OF THE MINISTRY OF EDUCATION AND RELIGIOUS AFFAIRS AND THE CONTRIBUTION OF BIOLOGICAL SCIENCES IN THEIR FUNCTION**

**George Farangitakis, Economist - Biologist**

**Responsible for the Centers of Environmental Education at the Ministry  
of Education and Religious Affairs, Director of Argypolis Center of  
Environmental Education, 179 Militou Street, 16451 Argypolis, tel  
9956803, fax 9951683**

During the last seven years the Ministry of Education and Religious Affairs (MERA) has established 18 Centers of Environmental Education (C.E.E.) throughout Greece for the better implementation of the issue of Environmental Education (E.E.) at Schools and the local society. The Centers offer educational and training seminars, establish thematic networks and national and international partnerships. The staff of the Centers consists of full time working teachers having different disciplines. The Centers are well equipped (laboratory infrastructures, computer rooms, teaching and seminar rooms, botanical garden, exposition places, library etc) for carrying out their curricula, which take place both indoors and outdoors. The Centers collaborate with University and Research Institutes, local authorities, NGOs etc.

Work in the C.E.Es is conducted according to the concepts of E.E., i.e. interdisciplinary approach, open schools, collaborative learning, development of critical skills, action etc. C.E.Es contribute to the environmental awareness, education and action by promoting the issues of ecological equilibrium, quality of life and sustainable development especially in young people.

The contribution of Biological Sciences in this effort is essential (Biology as the main background, special role of Ecology, fieldwork, laboratory practicals etc). Does this occur in reality? What are the means to be followed for a better and more effective connection between this educational innovation and Biological Sciences? (This is one of the issues discussed after the evaluation of the work performed in C.E.Es so far).

## Η ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΚΟΥΚΟΥΝΑΡΙΑΣ (*Pinus pinea* L.)

Θάνος Κ.Α., Παναγιωτόπουλος Π. και M. Saeed

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα

Η κουκουναριά (*Pinus pinea* L.) είναι ένα από τα 4 τυπικά, Μεσογειακά είδη πεύκης, με αβέβαια όρια φυσικής εξάπλωσης, που απαντά σε χαμηλές περιοχές (0-150 m υψόμετρο) και συχνά σε αμμώδη εδάφη κοντά στη θάλασσα. Στην Ελλάδα, οι σημαντικότεροι πληθυσμοί βρίσκονται σε 3 παρόμοιους οικοτόπους: Κουκουναριές Σκιάθου, Σχινιάς Μαραθώνα και Στροφυλιά Αχαΐας.

Αντίθετα προς τη μεγάλη πλειονότητα των πεύκων, η ωρίμανση θηλυκών κώνων και σπερμάτων στην κουκουναριά απαιτεί όχι 2 αλλά 3 αυξητικές περιόδους ή 4 ημερολογιακά έτη (όπως στη χαλέπιο και στην τραχεία, *P. halepensis* και *P. brutia*, αντίστοιχα).

Τα σπέρματα της *P. pinea* είναι εδώδιμα και παρουσιάζουν σημαντικές ιδιαιτερότητες αφού είναι: α. από τα βαρύτερα του γένους (0.7-1 g), β. πρακτικά χωρίς πτερύγιο και επομένως γ. είτε ατηλέχωρα είτε ζώχωρα (και πάντως όχι ανεμόχωρα). Η συμμετοχή του σπερματικού περιβλήματος ανέρχεται στο 75% του συνολικού βάρους (ενώ έχει περιγραφεί λεπτόφλοια 'ποικιλία' *fragilis*) και ο μέσος αριθμός κοτυληδόνων είναι 11. Η διασπορά των σπερμάτων γίνεται στο τέλος του καλοκαιριού και η φύτευση στο πεδίο χρονοθετείται στο φθινόπωρο και στις αρχές του χειμώνα όπως και στα άλλα μεσογειακά πεύκα.

Η εργαστηριακή διερεύνηση της φύτευσης δείχνει μία ιδιαίτερα στενή θερμοκρασιακή εξάρτηση, δηλ. φύτευση σχεδόν αποκλειστικά στις "μεσογειακές" θερμοκρασίες 15 - 20 °C ενώ και το τάχος είναι αρκετά μικρό. Επιπλέον η φύτευση παρουσιάζει σχετικά μικρή απαίτηση φωτός.

Σε σχέση με την αιγιματική καταγωγή του είδους, την αμφισβητούμενη αυτοφυή γεωγραφική εξάπλωση και την περιορισμένη φυσική αναγέννηση παραμένουν πολλά ερωτήματα γύρω από την αναπαραγωγική βιολογία του είδους: η διάρκεια της νεανικής περιόδου, τα φαινόμενα πληροκαρπίας και βραδυχωρίας κώνων, ο ρόλος πτηνών ή θηλαστικών στη διασπορά και την "απόκρυψη" σπερμάτων, η παρουσία πολυστέλεχων ατόμων.

## REPRODUCTIVE AND SEED BIOLOGY IN UMBRELLA PINE (*Pinus pinea* L.)

Thanos C.A., Panayiotopoulos P & M. Saeed

Dept of Botany, Faculty of Biology, University of Athens,  
Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece

The umbrella pine (*Pinus pinea* L.) is one (out of 4) typical Mediterranean pine species and, although its natural geographical range is disputable, it usually grows on sandy, coastal terrain near sea level (0-150 m asl). In Greece, there exist 3 important populations (forests) at remarkably similar sites: Koukounaries (Skiathos Island), Schinias (Marathon, Attica) and Strophylia (western coastal Achaia).

In contrast to the vast majority of pine species, maturation of female cones and seeds requires 3 (and not 2) growth seasons or 4 calendar years (similarly to the Aleppo and East Mediterranean pines, *P. halepensis* and *P. brutia*, respectively).

The seeds of *P. pinea* are edible and quite exceptional in several aspects: a. they are among the heaviest in the genus (0.7-1 g), b. are virtually wingless and as a consequence c. are either atelechorous or zoochorous (but not anemochorous). Seed coat contribution amounts to 75% of total seed weight (nevertheless, a thin coated 'variety', *fragilis*, has been described) and the average number of cotyledons is 11. Seed dispersal takes place at the end of summer and field germination is timed during autumn and early winter (as is the case with the other Mediterranean pines). Laboratory investigations of germination have revealed a remarkably narrow temperature range, i.e. germination is manifested almost exclusively at the 'mediterranean' temperatures 15 - 20 °C whereas the rate of germination is quite slow. Moreover, there exists a relatively weak dependence of germination upon light.

In relation to the unresolved origin of the species, its dubious natural range and its limited natural regeneration, several issues of reproductive biology remain open to future scrutiny: the duration of the juvenile phase, the degree of masting and cone bradychory (serotiny), the role of birds or mammals in seed dispersal and caching, the presence of multi-stemmed trees.

## ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ *CYP17*, *COMT*, *ER* ΚΑΙ ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ: ΜΙΑ ΠΟΛΥΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗΣ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΟ

Βουτσινάς Γ.<sup>1</sup>, Β. Λαμπροπούλου<sup>1</sup>, Α. Ψιούρη<sup>2</sup>, Α. Παπαχατζοπούλου<sup>2</sup>  
Α. Βασιλείου<sup>3</sup>, Ε. Τζωρακοελευθεράκης<sup>4</sup>, Γ.Μ. Μανιάτης και Α.  
Αθανασιάδου<sup>2</sup>

Ινστ. Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», <sup>2</sup>Εργ. Γεν. Βιολογίας, Τμήμα  
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, <sup>3</sup>Υπολογιστικό Κέντρο, ΕΚΕΦΕ  
«Δημόκριτος», <sup>4</sup>Χειρουργική Κλινική ΠΠΝΠ, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Πατρών

Τα οιστρογόνα, ως ενεργοποιητές του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, έχουν συσχετιστεί με την πρόοδο του καρκίνου του μαστού. Επίσης, έχει προταθεί ότι τα οιστρογόνα παίζουν σημαντικό ρόλο και στην έναρξη της καρκινογενετικής διεργασίας στο μαστό, μέσω ενός μηχανισμού στον οποίο ενέχονται κατεχολικοί μεταβολίτες των οιστρογόνων. Στην εργασία αυτή ελέγξαμε τις ανωτέρω υποθέσεις σε μια πολυγονιδιακή μελέτη: προσδιορίστηκαν οι συχνότητες εμφάνισης γονότυπων πολυμορφικών γονιδίων, τα οποία σχετίζονται με τη μετάδοση του οιστρογονικού μηνύματος (*ER*) και το σχηματισμό κατεχολικών μεταβολιτών των οιστρογόνων, μέσω της βιοσύνθεσης τους (*CYP17*) ή/και της αδρανοποίησης τους (*COMT*) και μελετήθηκε η συσχέτιση τους με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε Ελληνίδες. Στη μελέτη αυτή, έγινε μια πρώτη προσπάθεια προσδιορισμού των συχνοτήτων εμφάνισης των πολυμορφικών αλληλομόρφων των ανωτέρω γονιδίων στον Ελληνικό πληθυσμό, χρησιμοποιώντας δείγματα ΟΝΑ λεμφοκυττάρων από 50 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 76 υγιείς δότες. Οι γονότυποι των σχετιζόμενων με τα οιστρογόνα γονιδίων προσδιορίστηκαν με τη χρήση της τεχνικής RFLP σε προϊόντα της αντίδρασης της PCR. Οι πολυμορφισμοί που μελετήθηκαν είναι οι *CYP17*/MspAI, *COMT*/NlaIII και *ER*/PvuII. Οι συχνότητες τους στους μάρτυρες συμφωνούν με τις τιμές που έχουν βρεθεί σε άλλες σχετικές μελέτες στις ΗΠΑ, Ταϊβάν, Ηνωμένο Βασίλειο και Νορβηγία. Οι συχνότητες των ομοζυγωτών ως προς τα πιθανολογούμενα αλληλόμορφα υψηλού κινδύνου, *CYP17*: A<sub>2</sub>A<sub>2</sub>, *COMT*: LL και *ER*: pp, βρέθηκαν να μη διαφέρουν σημαντικά στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες. Τέλος, αν και απαιτείται η μελέτη ενός μεγαλύτερου αριθμού ατόμων και των δύο ομάδων, φαίνεται ότι δεν υπάρχει κάποιος συνδυασμός γονότυπων των γονιδίων *CYP17*, *COMT* και *ER*, ο οποίος να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.



## **POLYMORPHISMS IN GENES CYP17, COMT, ER AND BREAST CANCER RISK: A MULTIGENIC STUDY ON CANCER SUSCEPTIBILITY**

**Voutsinas G.<sup>1</sup>, V. Labropoulou<sup>1</sup>, L. Psiouri<sup>2</sup>, A. Papachatzopoulou<sup>2</sup>,  
A. Vassiliou<sup>3</sup>, E. Tzoracoeleftherakis<sup>4</sup>, G.M. Maniatis<sup>2</sup> and A.  
Athanassiadou<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Inst. of Biology, NCSR «Demokritos», <sup>2</sup>Dept. of Gen. Biology, Medical School, University of Patras, <sup>3</sup>Computer Center, NCSR «Demokritos»,  
<sup>4</sup>Dept. of Surgery, Medical School, University of Patras**

Estrogens, as activators of cellular proliferation, have been related to breast cancer progression. Furthermore, estrogens have been proposed to play an important role in breast cancer initiation, via a mechanism in which catechol estrogen metabolites are involved. In this work, we examined these hypotheses in a multigenic case-control study: the frequencies of genotype polymorphisms were determined for genes involved in estrogen signal transduction (*ER*), as well as in catechol estrogen formation, via estrogen biosynthesis (*CYP17*) and/or inactivation (*COMT*), and their association with an elevated risk for breast cancer was studied in Greek women. In this study, there was a first attempt to determine the frequencies of polymorphic alleles of the above genes in the Greek population, using lymphocyte DNA samples from 50 breast cancer patients and 76 healthy controls. PCR-based RFLP assays were used to determine the genotypes of the estrogen related genes. The polymorphisms studied were *CYP17*/MspA1, *COMT*/NlaIII and *ER*/PvuII, and their frequencies in the healthy controls were found to be in close agreement with other studies carried out in the USA, Taiwan, UK and Norway. The frequencies of homozygotes for the putative high risk allele, *CYP 17*: A<sub>2</sub>A<sub>2</sub>, *COMT*: LL and *ER*: pp, were found not to differ significantly between patients and controls. Finally, although a larger number of samples need to be considered from both groups, it seems that no genotype combination of the genes *CYP17*, *COMT* and *ER* is associated with an elevated risk for breast cancer.

## **DNA DAMAGE OF HUMAN LYMPHOCYTES FROM POPULATIONS EXPOSED TO AIR POLLUTION AND SMOKING**

**Piperakis S.M. & E. Petrakou**

**DNA Repair Lab, Department of Biology, National Center for Scientific Research "Demokritos", 153 10 Aghia Paraskevi, Athens, Greece.**

Air pollution generated from motor engines, factories etc., contains compounds which are carcinogenic in animals and also are suspected to be carcinogenic to people. Smoking is another important variable for inducing significant alterations to the genetic material at molecular level, indicated by the increased frequency of SCE and hence increasing the risk of cancer. In this study, using the comet assay, we measured DNA damage and repair in lymphocytes exposed to UV irradiation and hydrogen peroxide from healthy individuals with different smoking habits living in Athens and outside Athens. Both factors seem to have an effect with smoking to have the most impact. Differentiation of four groups response at the level of DNA damage or subsequent repair was also observed. In conclusion, our study investigated the relationship between living area and smoking on DNA damage and showed that smoking is most significant damaging factor of the two.

## INDEX

- Boutaud A. 4  
 Canario A. 164  
 Chomilier J. 218  
 Franchini S. 84  
 Fen W. 100  
 Hudson B. 4  
 Ihle J. 246  
 Ilonen J. 172  
 Ingleby K. 290  
 Kathirithamby J. 94  
 Kershaw D. 204  
 Legg P. 290  
 Mallegni F-F. 152  
 Manson P. 290  
 Marine J-K. 246  
 Michael A. 4, 100, 204  
 Milne J. 290  
 Mornon J-P. 218
- A**
- Αβραμίδης Ν. 2, 118  
 Αγγελή Α. 4  
 Αγγελή Ι.Κ. 6, 8  
 Αγγελίδης Ν. 244  
 Αγγελόπουλος Α. 274  
 Αγγελόπουλος Κ. 216, 220, 270  
 Αθανασόπουλος Α. 234  
 Αλεβίζος Β. 250  
 Αλεξανδρίδης Ν. 234  
 Αλέξη Μ. 268  
 Αμάραντος Ι. 10  
 Αμίλλης Σ. 12  
 Αναγνωστοπούλου Π. 14  
 Ανδρέου Α. 16
- Murata N. 254  
 Pasquier C. 146  
 Power D. 164  
 Quader H. 22  
 Robert-Nicoud M. 182  
 Rojias-Gill A-P. 98  
 Saeed M., 294  
 Scandalios G. 232  
 Scarrocchio C. 258  
 Schneider K. 234  
 Schultes N. 28  
 Sinke R. 230  
 Sjaros M. 172  
 Socorro S. 164  
 Stetler-Stevenson W. 100  
 Wang D. 246  
 Woitek S. 52,134  
 Zhou B. 100  
 Ανδριανόπουλος Κ. 18  
 Ανδρονοπούλου Ε. 54  
 Αντωνέλλου Μ. 20,158  
 Αποστολάκος Π. 22  
 Αποστολοπούλου Μ. 46  
 Απτόσογλου Σ. 24  
 Αρβανίτης Δ. 276  
 Αρβανίτης Ν. 186  
 Αργυρόπουλος Α. 26  
 Αργυρού Ε. 28  
 Αριανούτσου Μ. 290  
 Αρχοντάκη Κ. 30,32  
 Ασπρούδας Ν. 216  
 Αυγουστίνος Α. 34, 256

**B**

Βαλάκος Σ. 14, 56, 248, 272  
 Βαξεβανέλης Σ. 226  
 Βαρσάμη Ζ. 36  
 Βασιλειάδου Κ. 38  
 Βεργανελάκη Α. 40  
 Βέρρας Μ. 42, 44  
 Βερροϊόπουλος Γ. 46  
 Βικτωράτος Π. 2, 118  
 Βισβάρδης Ε-Ε. 180  
 Βλάση Μ. 188, 260  
 Βογιατζής Ν. 48, 50  
 Βοργιάς Κ. 54

**Γ**

Γαζούλη Μ. 178  
 Γαϊτανάκη Κ. 6, 8, 226, 248  
 Γαλάτης Β. 22  
 Γαριού-Παπαλεξίου Α. 228, 256  
 Γερμανού Α. 56  
 Γεωργούση Ζ. 178  
 Γιάγκου Μ. 2, 38, 118  
 Γιακουμέλου Α. 200  
 Γιαννίσαρος Α. 58, 60, **296**  
 Γιαννόπουλος Ζ. 56  
 Γιαννουκάκος Δ. 188, 210, 260  
 Γιαννούτσου Ε. 62  
 Γιώτικα Ε. 64, 102  
 Γκίκας Δ. (πόστερ) 66  
 Γκιώκας Σ. 14  
 Γκριζιώτης Γ. 70  
 Γκόνου-Ζάγκου Ζ. 68, 274  
 Γουλιέλμος Γ. 72  
 Γουρζή Π. 228

**Δ**

Δάκος Β. 74  
 Δανηλίδης Δ. 92  
 Δεληβοριάς Π. 68  
 Δημητριάδης Β. 76  
 Δημόπουλος Ν. 18  
 Διαλλινάς Γ. 12, 28  
 Δολαψάκης Ν. 78, 80  
 Δουρής Β. 236  
 Δροσόπουλος Α. 128  
 Δρόσου Α. 16, 280

**Z**

Ζάγκρης Ν. 82  
 Ζαρκάδης Ι. 84  
 Ζαφειράτος Κ. 154  
 Ζαχαριουδάκης Σ. 86  
 Ζαχαροπούλου Α. 34, 42, 44, 98,  
 228, 256  
 Ζερβολέα Ε. 88  
 Ζερβού Δ. 234  
 Ζερβού Σ. 60  
 Ζης Α. 54  
 Ζούρος Ε. 72

**Η**

Ηλιάδης Π. 90  
 Ηλιόπουλος Η. 16, 32, 218  
 Ηλιόπουλος Κ. 138

**Θ**

Θάνος Κ., 294  
 Θεοδωράκη Μ. 98  
 Θεοφιλίδης Γ. 114, 266  
 Θρασυβουλίδης Α. 92, 150  
 Θωμαδάκη Ε. 140

**I**

Ισιδωρίδου Μ. 250  
 Ιωαννίδη Ε. 234

**K**

Καλδής Α.-Δ. 96  
 Καλαϊτζής Χ. 184  
 Καλογεράκης Ν. 116  
 Καλογιάννη Μ. 136, 166, 176  
 Καλόσακα Κ. 44, 98  
 Καλπαξής Δ. 10  
 Καραγιάννη Ε. 106, 192  
 Καραγκούνη Α. 36, 62, 120, 186, 278  
 Καραμεσίνης Ε. 204  
 Καραμεσίνης Π. 100  
 Καραμπαρμπούνης Α. 206  
 Κεράνη Ε. 64, 102  
 Κερδαμάκης Δ. 214  
 Καρμυράντζου Μ. 104  
 Καρούζα Α. 250  
 Καρπουχτής Ι. 40, 108, 110  
 Κασίρης Π. 288  
 Καστάνης Π. 32  
 Καστρησίου Ε. 112  
 Καστρίτση Ι. 268  
 Κατής Γ. 46  
 Κατρανίτσας Α. 46  
 Κατσανεβάκης Σ. 46  
 Κατσάνου Β. 114, 266  
 Κατσαρού Α. 46  
 Κατσίβελα Ε. 116  
 Κατσιφας Ε. 36  
 Κατσιώτης Α. 16, 128, 244, 280  
 Καψανάκη Ε. 274  
 Κίτσιου Π. 4, 100, 204  
 Κίττας Χ. 208, 276

Κλεομύτης Η. 118  
 Κλέτσας Δ. 88  
 Κρίλη Β. 128  
 Κολιάης Σ. 24  
 Κολιάκος Γ. 136, 166, 176  
 Κονδύλης Ε. 50  
 Κοράκη Δ. 120, 186  
 Κορμάς Κ. 122  
 Κοσμίδης Ν. 72  
 Κοτζαμάνης Ι. 268  
 Κουβάτση Α. 144  
 Κουκάκη Μ. 12  
 Κουλούκουσα Μ. 208  
 Κούρτη Α. 124  
 Κουσουλάκος Σ. 126  
 Κραββαρίτη Α. 236  
 Κρόκος Φ. 198  
 Κωβαίου Ο. 48, 50  
 Κωνσταντή Ο. 52, 134  
 Κωνσταντίνου Α. 136  
 Κωνσταντοπούλου Ε. 210  
 Κυριακίδης Ν. 130, 132  
 Κυρίτσης Σ. 244

**Λ**

Λάγια Α. 138  
 Λαδοπούλου Α. 210  
 Λαζαρίδου Μ. 74  
 Λάζου Α. 6, 160, 226, 242  
 Λαλλάς Γ. 140  
 Λάμπρης Ι. 84  
 Λαμπροπούλου Μ. 83  
 Λαμπροπούλου Χ. 50  
 Λαναράς Θ. 110  
 Λειβαδίτη Ο. 142  
 Λεκανίδου Ρ. 236  
 Λεονταρίδου Ι. 144

Λιακόπουλος Θ. 146  
Λιάππα Χ. 192  
Λούβρου Ι. 148  
Λουκάς Μ. 16, 30, 32, 72, 128,  
244, 280  
Λουτσέτη Σ. 150  
Λυμπεράτος Γ. 220  
Λυμπέρη Π. 90

## **Μ**

Μαζαράκου Γ. 178  
Μαζωμένος Β. 198  
Μαλαμίτση Α. 172  
Μαμούρης Ζ. 164, 238, 240  
Μανιάτης Γ. 106  
Μανώλης Σ.Κ. 138, 144, 152,  
154, 156  
Μαργαρίτης Λ.Χ.20, 52, 86, 100  
134, 158, 162, 182, 194, 206  
Μαργαρίτης Χ.Λ. 162  
Μαργέτης Π. 158  
Μαρίνος Ε. 208, 276  
Μάρκου Θ. 160  
Μαρμάρας Β. 83  
Ματθιόπουλος Κ. 34, 256  
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Μ. 34, 40,  
108  
Μαυράκη Ε. 92  
Μεθενίτη Α. 83  
Μεσσήνη Ν. 206  
Μηλαίου Α. 54  
Μίντζας Α. 34, 42, 44, 98  
Μιχαηλίδης Β. 190, 224  
Μούτου Κ. 164, 238, 240  
Μουτσόπουλος Χ. 192  
Μπαζός Ι. 60  
Μπαντέκας Χ. 166

Μπελεγράτη Μ. 168  
Μπελετσιώτης Ε. 170  
Μπουγιούκος Κ. 174, 222  
Μπουγουλιά Μ. 136, 176  
Μπούμπα Δ. 210  
Μπουρίκας Δ. 176  
Μπέης Ι. 6, 8  
Μπόζας Ε. 172  
Μπαρτσόκας Χ. 172  
Μυλωνά Α. 54  
Μωραίτης Κ. 138  
Μώρου Ε. 178  
Μωρούτ Π. 180

## **Ν**

Νέζης Ι. 182  
Νεοφύτου Ε. 184  
Νικολαΐδης Ν. 108,110  
Νικολακοπούλου Θ. 186  
Νικολόπουλος Γ. 188  
Νταλιάνης Σ. 190  
Ντότσικα Ε. 192  
Ντουρούπη Φ. 194  
Νυδριώτη Σ. 196

## **Ξ**

Ξένου-Κοκολέτση Μ. 198

## **Ο**

Οικονομίδου Β. 200, 202  
Οικονομίδου Ι. 142  
Οικονόμου Κ. 100, 204  
Οικονόμου-Αμίλλη Α. 78, 112,  
148, 150, 168

## **Π**

Παλαιός Γ. 146

Παλιακάσης Κ. 54  
 Παναγιωτόπουλος Π. 294  
 Παναγιωτοπούλου Μ. 214  
 Παναγοπούλου Ε. 208  
 Παναγόπουλος Δ. 206  
 Πανταζίδης Α. 210  
 Πανταζίδου Α. 148  
 Πάντου Μ. 66  
 Παππά Α. 170  
 Παπαγεωργίου Γ. 254  
 Παπαδάκη Μ. 76  
 Παπαδημητρίου Ε. 214  
 Παπαθανασίου Α. 212  
 Παπαϊωάννου Σ. 214  
 Παπακώστας Μ. 184  
 Παπαλέξη Φ. 216, 270  
 Παπαματθαίου Μ. 192  
 Παπανδρέου Ν. 218  
 Παπασιδέρη Ι. 20, 158, 182  
 Παπαστεριάδη Χ. 142  
 Παπουτσέλης Μ. 158  
 Παπασπύρου Σ. 122  
 Παρασκευοπούλου Ν. 83  
 Παργανός Ε. 246  
 Παστουρμά Ζ. 220  
 Πάσχου Π. 172  
 Παυλίδης Π. 174, 222  
 Παυλίδης Μ. 200  
 Παφίλης Π. 14, 56, 248  
 Πελεκάνου Μ. 188, 260  
 Πέντζου-Δαπόντε Α. 70, 144,  
 184, 196, 230, 282, 284  
 Πετράκου Ε. 298  
 Πετρουτσά Ε. 156  
 Πεχτελίδου Α. 226  
 Πιπεράκης Στ. 298  
 Πορτοκαλίδου Ξ. 224  
 Ποντικής Κ. 280

Πρατσίνης Χ. 88  
 Προκοπίου Ε. 154  
 Προμπονά Α. 96, 178  
 Προμπονάς Β. 146

## Ρ

Ράπτη Κ. 228  
 Ριζοπούλου Σ. 26, 234  
 Ροδάκης Γ. 236  
 Ρόμπολας Π. 262  
 Ρουμελιώτη Κ. 230  
 Ρούσσης Β. 112  
 Ρούτσιας Ι. 192

## Σ

Σαββίδης Α. 278  
 Σακαρέλλος Κ. 192  
 Σακαρέλου-Δαϊτσιώτου Μ. 192  
 Σακελλίου Λ. 180  
 Σαλάμε Ν. 248  
 Σαμαράς Κ. 48  
 Σαντάς Ρ. 92, 150  
 Σαντάς Φ. 92, 150  
 Σάμψων Α. 156, 248  
 Σέκερη – Παταργιά Κ. 250, 252  
 Σερασκέρης Σ. 242  
 Σεφέρη Μ. 188  
 Σιδέρης Ε. 180  
 Σκάνγκος Γ.  
 Σκανδάλιος Ι. 232  
 Σουρλίγκα Θ. 250, 252  
 Σταμάτης Κ. 238, 240  
 Σκούρας Ζ. 108, 110  
 Σκούρα Α. 158  
 Σούρδης Ι. 174, 222  
 Σουρμελή Σ. 236

ΣοφIANOΠΟΥΛΟΥ Β. 28, 180, 258  
Σπάθας Δ. 106  
Σταθάκος Δ. 88  
Σταματάκης Κ. 254  
Στεφανίδη Ε. 54  
Στεφάνου Γ. 18  
Στραβοπόδης Δ. 182, 246  
Στρατικόπουλος Η. 34, 256  
Σφυρόερα Γ. 84

**Τ**

Ταβουλάρης Σ. 258  
Τάρτας Α. 188, 260  
Τάτση Β. 40  
Τάφας Τ. 78, 262, 264, 268  
Τζαμαρίας Δ. 188, 260  
Τζιβελέκα Α. 112  
Τζίνια Α. 100, 204  
Τζιούφας Α. 192  
Τοπογλίδη Α. 114, 266  
Τουλούζη Ε. 192  
Τριανταφυλλίδης Γ. 268  
Τριανταφυλλίδης Κ. 238, 240  
Τριάντος Α. 136  
Τσαγκάρης Γ. 270  
Τσάκας Σ. 30, 32, 72  
Τσάπαλη Δ. 250, 252  
Τσεκούρα Ν. 272  
Τσερπίσταλη Κ. 30  
Τσιαπάλης Χ. 140  
Τσίγκανος Π. 264  
Τσιλίμπαρη Ε. 4, 100, 204  
Τσιρόπουλος Γ. 86  
Τσιώνου Χ. 210  
Τσόπελας Π. 274  
Τύπας Μ. 66, 170

**Φ**

Φαραγγιτάκης 292  
Φούντζηλας Γ. 210  
Φουντούλη Α. 64  
Φραγγεδάκη Σ. 272

**Χ**

Χαβάκη Σ. 276  
Χαβελές Κ. 180  
Χαβρεδάκη Μ. 140  
Χαλκίδης Χ. 118  
Χάλκου Κ. 278  
Χαμόδρακας Ι.Σ. 146  
Χαμόδρακας Σ.Ι. 104, 146, 200,  
202  
Χαντζή Δ. 268  
Χαραβάνη Β. 172  
Χατζηδημητρίου Μ. 280  
Χατζηιωαννίδης Κ. 48  
Χατζημιχαήλ Χ. 214  
Χατζήπαπας Π. 286  
Χατζηπέτρου-Κουρουνάκη Α. 2,  
38, 118  
Χατσατριάν Α. 282, 284  
Χειλέτης Χ. 154, 156  
Χονδρόπουλος Β. 272  
Χριστιάς Χ. 198, 286  
Χριστοδούλου Ε. 54  
Χρυσάνθης Γ. 98  
Χρυσάφη Ε. 288  
Χρυσικός Γ. 200  
Χρυσοβέργη Δ. 142

**Ψ**

Ψιούρη Α., 296