

Αποτίμηση της δράσης αντιοξειδωτικών της διαίτας και εφαρμογή στην πρόληψη του καρκίνου



Κουρέτας Δημήτριος, PhD
Καθηγητής

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών



«Η τροφή μπορεί να είναι φάρμακο για τον άνθρωπο και το φάρμακο μπορεί να αναζητηθεί στην τροφή»

Ιπποκράτης, 460-377 π.χ.

- **Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι το 80% περίπου των καρκίνων στον άνθρωπο οφείλεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (π.χ. έκθεση σε χημικά καρκινογόνα, κάπνισμα, διατροφή, εργασιακό περιβάλλον).**

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση φυτικών τροφών μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου

Μελέτες που έχουν δείξει

Τύπος καρκίνου	προστασία από καρκίνο	Σχετικός κίνδυνος
	($p < .05$)	(μικρ. vs. υψηλ. τεταρτημόριο)
Επιθήλιο		
Πάγκρεας	9/11	2.8
Στομάχι	17/19	2.5
Πνεύμονες	24/25	2.2
Οισοφάγος	15/16	2.0
Τράχηλος μήτρας	7/8	2.0
Παχέος εντέρου	20/35	1.9
Ορμονοεξαρτώμενος		
Μήτρα/ένδομήτριο	3/4	1.8
Μαστός	8/14	1.3
Προστάτης	4/14	1.3

(Ames and Gold, *Drug Metabolism Reviews* 30:201-223, 1998)

Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών συνδέεται με μειωμένη εμφάνιση πολλών μορφών καρκίνου

ΓΙΑΤΙ;

Η χημειοπροστατευτική δράση των φυτικών τροφών οφείλεται στα φυτοχημικά τους συστατικά



- Τα φυτοχημικά συστατικά είναι μη θρεπτικά συστατικά που έχουν σημαντική βιολογική δράση.
- Για παράδειγμα, δρουν ως αντιοξειδωτικά και έχουν δράση παρόμοια με αυτή των ορμονών.
- Συνήθως δρουν συνεργικά, δηλαδή εμφανίζουν ισχυρότερη δράση όταν συνδυάζονται διαφορετικές κατηγορίες φυτοχημικών.
- Επίσης, παίζουν ρόλο στον καθορισμό της γεύσης, του αρώματος, των χρωμάτων και άλλων χαρακτηριστικών των φυτικών τροφών.

Τα περισσότερα μελετημένα φυτοχημικά


Τροφή	Φυτοχημικά
Allium (σκόρδο, κρεμμύδι, πράσο)	Allyl sulfides Αλλυλοσουλφίδια
Cruciferae (παρόδι, λάχανο, λαχανάκια Βρυξελλών, κουνουπίδι, παντζάρι)	Ισοβιολαβόλε/γλυκοσιολαβόλε Σουλφοραφάνη Ισοθιοκυανικό/θειοκυανικό Θεώλες
Solanaceae (τομάτες, πιπεριές)	Λυκοπένιο
Umbelliferae (καρότα, σέλινο, μαϊντανός)	Καροτενοειδή Φυλλίδιο Πολυακετυλίδια
Compositae (αγκινάρα)	Συλβερμίνη
Citrus (πορτοκάλια, λεμόνια, γκρέιπ-φρουτ)	Μονοτερπένια (λεμονένιο) Καροτενοειδή
Άλλα φρούτα (σταφύλια, βατόμουρα, κεράσια, μήλα, καρπούζια, ρόδι)	Πολυφαινόλες (πολυφαινολικά οξέα, φλαβονοειδή)
Φασόλια, σπόροι (σόγια, κριθάρι, βρώμη, λυγυρόσπορος, σιτάρι)	Φλαβονοειδή (ισοφλαβόνες) Πολυφαινολικά οξέα Σαπωνίνες
Βότανα, καρποφόρα Herbs, spices (ντζίντζερ, μέντα, θυμάρι, ρίγανη, βασιλικός, δενδρολίβανο, φασκόμηλο, μάραθος)	Gingerols Φυλβονοειδή Μονοτερπένια (λεμονένιο)
Γλυκίριτζι Πράσινο τσάι	Glycyrrhizin, Πολυφαινόλες (κατεχίνες)

Υπάρχουν επίσης χιλιάδες άλλα φυτοχημικά που δεν έχουν μελετηθεί


Οι τομάτες περιέχουν λυκοπένιο το οποίο ίσως προστατεύει από καρκίνο γιατί λόγω της αντιοξειδωτικής του δράσης προστατεύει το DNA από οξειδωτικές βλάβες


Τα λαχανάκια Βρυξελλών περιέχουν τη σουλφοραφάνη που πιστεύεται ότι έχει αντικαρκινική δράση




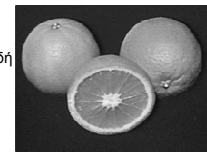
Τα μήλα είναι πλούσια σε φλαβονοειδή που έχουν παρουσιάσει αντικαρκινική δράση




Το σκόρδο περιέχει την αλλικίνη που ίσως μειώνει τα επίπεδα της χοληστερόλης και προστατεύει από καρκίνο του στομάχου




Τα βατόμουρα είναι πλούσια σε φλαβονοειδή


Το λιμονένιο των εσπεριδοειδών ίσως έχει αντικαρκινικές ιδιότητες. Επίσης είναι πλούσια στη βιταμίνη C που έχει αντιοξειδωτική δράση





Η ρεσβερατρόλη που βρίσκεται στα σταφύλια και το κρασί έχει πιθανή αντικαρκινική και καρδιοπροστατευτική δράση



Τα ισοφλαβονοειδή που περιέχονται στη σόγια έχουν δράση ανάλογη των οιστρογόνων και πιθανώς προστατεύουν από ορμονοεξαρτώμενους καρκίνους



Τα φασόλια είναι πλούσια σε φυτοιστρογόνα, φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα

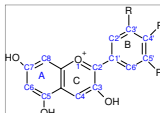
Οι ελιές είναι πλούσιες σε ουσίες όπως:

- Κιναμικό οξύ
- p-Υδροξυβενζοϊκό οξύ
- p-Υδροξυ-φαινυλπροπανοϊκό οξύ
- Πρωτοκατεχοϊκό οξύ
- p-Κουμαρικό οξύ
- Φερούλικό οξύ
- Καφεϊκό οξύ
- Tyrosol
- p-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ
- Βανιλινικό οξύ
- Καφεϊκό οξύ
- Hydroxy-tyrosol
- 3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ
- Oleonic acid

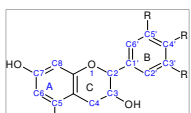
Μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες φυτοχημικών είναι οι φυτικές πολυφαινόλες

- Οι φυτικές πολυφαινόλες είναι μία μεγάλη και ετερογενής κατηγορία χημικών ενώσεων που παράγονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες από τα φυτά
- Οι γνωστές πολυφαινόλες υπολογίζονται σήμερα σε περισσότερες από 8000

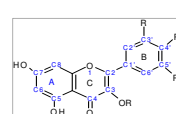
- Βασικό χαρακτηριστικό τους είναι ο αρωματικός δακτύλιος του βενζολίου στον οποίο συνδέονται μία ή περισσότερες υδροξυλικές ομάδες
- Η μεγαλύτερη κατηγορία πολυφαινολών είναι τα φλαβονοειδή



Φλαβονόλες

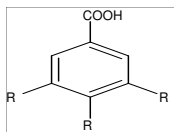


Φλαβονόλες

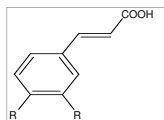


Ανθοκυανιδίνες

• Μία άλλη κατηγορία πολυφαινολών είναι τα πολυφαινολικά οξέα

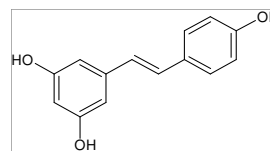


Υδροξυβενζοϊκό οξύ



Υδροξικινναμικό οξύ

• Η τρίτη σημαντικότερη κατηγορία πολυφαινολών που βρίσκεται κυρίως στα σταφύλια είναι τα στυλβένια



trans-ρεσβερατρόλη

Βιολογικές ιδιότητες φυτικών πολυφαινολών

- Η πιο σημαντική ιδιότητα των φυτικών πολυφαινολών όσον αφορά την επίδρασή τους στην ανθρώπινη υγεία θεωρείται η αντιοξειδωτική τους δράση, δηλαδή η ικανότητά τους να αναστέλλουν το σχηματισμό ή να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες
 - **Αντικαρκινική δράση**
 - i) επάγουν την κυτταρική διαφοροποίηση
 - ii) αναστέλλουν την αγγειογένεση
 - iii) παρουσιάζουν δράση ανάλογη των οιστρογόνων
 - **Καρδιοπροστατευτική δράση** (αναστέλλουν την οξείδωση της LDL, μειώνουν τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων)
 - Έχουν αντιϊκές, αντιαλλεργικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες

Σε ποιες πληθυσμιακές ομάδες μπορεί να εφαρμοστεί κυρίως η χημειοπροφύλαξη;

- Η χημειοπροφύλαξη μπορεί να εφαρμοστεί στο γενικό πληθυσμό καθώς και σε ομάδες υψηλού κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου όπως:
 - Σε άτομα με υψηλή έκθεση σε καρκινογόνα (π.χ. καπνιστές).
 - Σε άτομα που έχουν γενετική προδιάθεση για εμφάνιση καρκίνου (π.χ. γυναίκες με μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και BRCA2).
 - Σε άτομα με προκακοήθειες αλλοιώσεις (π.χ. δυσπλασίες σε ελιές).
 - Σε άτομα που έχουν υποβληθεί σε χημειοθεραπεία για την καταπολέμηση κακοήθων όγκων, έτσι ώστε να εμποδιστεί η επανεμφάνισή τους.

Κατηγορίες χημειοπροφυλακτικών παραγόντων

- Με βάση το στάδιο της καρκινογένεσης στο οποίο δρουν οι χημειοπροφυλακτικοί παράγοντες διακρίνονται οι εξής κατηγορίες:
 - 1) Αναστολείς του σχηματισμού του καρκινογόνου.
 - 2) Παράγοντες παρεμπόδισης της δράσης του καρκινογόνου, οι οποίοι αναστέλλουν την πρώτη φάση (initiation) της καρκινογένεσης.
 - 3) Παράγοντες καταστολής της νεοπλασματικής ανάπτυξης. Οι παράγοντες αυτοί αναστέλλουν την προαγωγική (promotion) ή την προοδευτική (progression) φάση της καρκινογένεσης.

Total polyphenol (PP) content by Folin-Ciocalteu assay, expressed in mg caffeic acid per 100 g of flesh or kernel

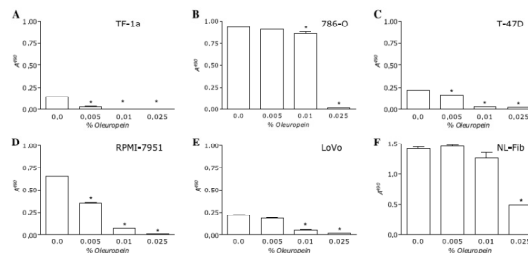
Type	Flesh	Kernel
<i>Tsakistes</i>	145	256
<i>Amfissa</i>	82	122
<i>Kalamon</i>	155	234
<i>Crete</i>	130	127
<i>Thrubes Crete</i>	171	51

Quantity of polyphenols (PP) and the respective quantity of olive flesh needed to decrease the initial DPPH[•] concentration by 50% (EC₅₀)

Type	EC ₅₀ (μg PP)	Quantity of flesh (g)
<i>Tsakistes</i>	30	0.02
<i>Amfissa</i>	32	0.04
<i>Kalamon</i>	33	0.02
<i>Crete</i>	52	0.04
<i>Thrubes Crete</i>	587	0.3

The results of GC/MS analysis in SIM mode in flesh and kernel for the five examined types of greek table olives expressed in mg of each polyphenol per 100 g of flesh or kernel (mg/100 g)

No	Phenolic compound	Retention time (RT)	Crete		Kalamon		Amfissa		Tzakolates		Throubes Crete	
			Flesh	Kernel	Flesh	Kernel	Flesh	Kernel	Flesh	Kernel	Flesh	Kernel
1	Cinnamic acid	16.70	3	1	2	5	0.9	0.6	4	2	ND	ND
2	Tyrosol	17.40	6	8	14	22	12	7	21	14	0.9	0.7
3	<i>p</i> -Hydroxy-benzoic acid	18.75	1	0.6	0.4	0.6	0.5	0.3	0.9	0.4	1	ND
4	<i>p</i> -Hydroxy-phenyl-acetic acid	19.07	0.6	1	0.9	0.9	0.5	ND	6	3	ND	ND
5	<i>p</i> -Hydroxy-phenyl-propanoic acid	22.54	2	2	7	8	2	6	6	3	0.2	0.4
6	Vanillic acid	22.77	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.03	0.3	0.2	0.3	0.1
7	Hydroxy-tyrosol	23.02	21	20	39	81	66	28	114	61	2	0.7
8	Protocatechuic acid	25.10	7	3	1	1	3	ND	2	0.5	4	ND
9	<i>o</i> -Hydroxy-phenyl-acetic acid	25.69	ND	0.8	0.2	0.6	0.04	ND	10	4	ND	ND
10	<i>p</i> -Coumaric acid	31.26	1	0.5	0.2	ND	0.1	ND	0.7	0.2	0.7	ND
11	Ferulic acid	38.51	0.04	0.05	ND	ND	0.01	0.04	ND	ND	0.1	ND
12	Caffeic acid	39.54	4	3	0.6	1	0.8	0.6	4	ND	1	ND
13	Oleonic acid	55.93	25	ND	12	ND	14	ND	25	ND	38	ND
Total			70.8	40.2	67.5	120.5	99.9	42.5	190.3	88.3	48.2	1.9



Experimental outcomes and survival for control and Oleuropein-treated mice

Mouse number	Ole treatment (9-12 days)	Experimental outcome	Survival (months)
1	None	Increased tumor	0
2	None	Increased tumor	0
3	None	Increased tumor	0
4	None	Increased tumor	0
5	None	Increased tumor	0
6	Ora (ad libitum)	Complete regression	18+
7	Ora (ad libitum)	Complete regression	14
8	Ora (ad libitum)	Complete regression	18+
9	Ora (ad libitum)	Complete regression	18+
10	Ora (ad libitum)	Complete regression	12
11	Ora (ad libitum)	Complete regression	18
12	Ora (ad libitum)	Complete regression	12
13	Ora (ad libitum)	Complete regression	15+
14	Ora (ad libitum)	Complete regression	14+
15	Ora (ad libitum)	Complete regression	14+
16	Ora (ad libitum)	Partial regression	3
17	Ora (ad libitum)	Early resection	N/A
18	IP injection	Early resection	N/A

Ole: Oleuropein. IP: intraperitoneal injection. "+" denotes the mouse was still alive at the time of manuscript submission.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΧΗΜΕΙΟΠΡΟΦΥΛΑΚΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

- Για την ανίχνευση χημειοπροφυλακτικών παραγόντων μπορούν να χρησιμοποιηθούν *in vitro* και *in vivo* μέθοδοι.

in vivo 89: 741-748 (2005)

Assessment of Antioxidant / Anticarcinogenic Activity of Plant Extracts by a Combination of Molecular Methods

DEMETRIOS STAGOS, EVANGELOS KARABERIS and DEMETRIOS KOURETAS

Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, GR-41221 Larissa, Greece

IN VITRO ΜΕΘΟΔΟΙ

- Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH
- Πρόκληση θραύσεων σε πλασμιδιακό DNA
- Ames τεστ (προκαρκωτικά κύτταρα)
- Ανταλλαγές μεταξύ αδελφών χρωματίδων ή SCEs (ευκαρυωτικά κύτταρα)
- Επίδραση στη δράση ενζύμων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση (π.χ. τοποϊσομεράση)

Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH

•Μέθοδος
 Η μέθοδος στηρίζεται στην απορρόφηση της ρίζας 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζόλιο (DPPH) το οποίο έχει μπλε χρώμα στα 517nm.

Όταν στο διάλυμα προστεθεί μία ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα DPPH ανάγεται με πρόσληψη ενός ατόμου υδρογόνου και μετατρέπεται σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη, η οποία έχει κίτρινο χρώμα, με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η οπτική απορρόφηση.

1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζόλιο

1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη

Επαγωγή θραύσεων σε πλασμιδιακό DNA με τη χρήση UV ακτινοβολίας και H₂O₂

pBluescript SK(+)	+	+	+	+	+	+	+
H₂O₂ + UV	-	+	+	+	+	+	+
Εκχύλισμα (µg/ml)	-	-	+	+	+	+	+
			100	200	400	800	1600

$H_2O_2 \xrightarrow{UV\text{radiation}} 2OH^*$

Επαγωγή θραύσεων σε πλασμιδιακό DNA από ρίζες ROO•

pBluescript SK(+)	+	+	+	+	+	+	+	+
AAPH	-	+	+	+	+	+	+	+
Εκχύλισμα (µg/ml)	-	-	+	+	+	+	+	+
			5	10	20	50	100	200

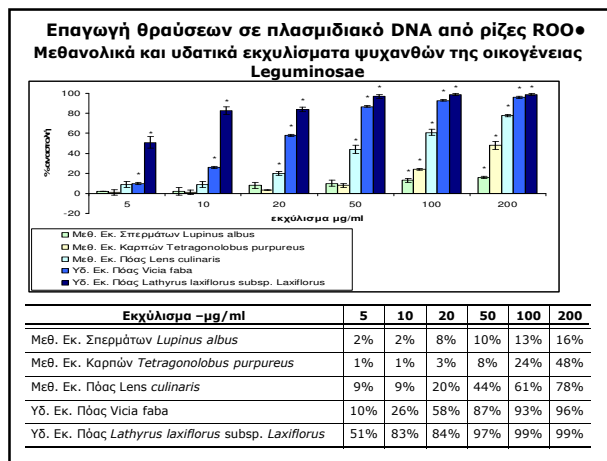
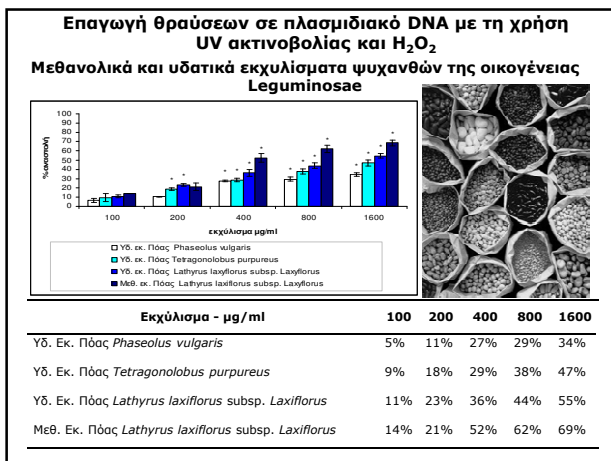
$AAPH \xrightarrow{37^\circ C} 2R^* + N_2$

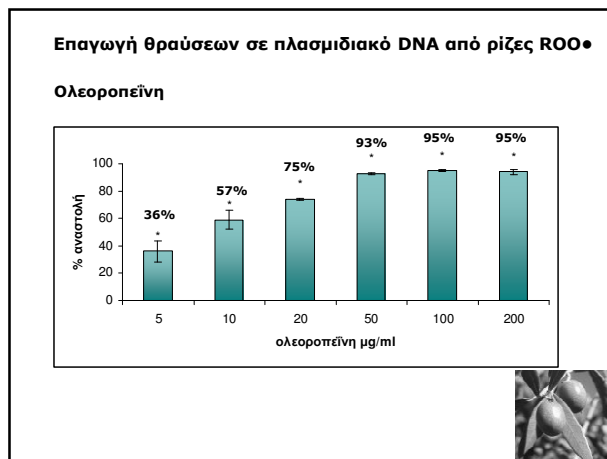
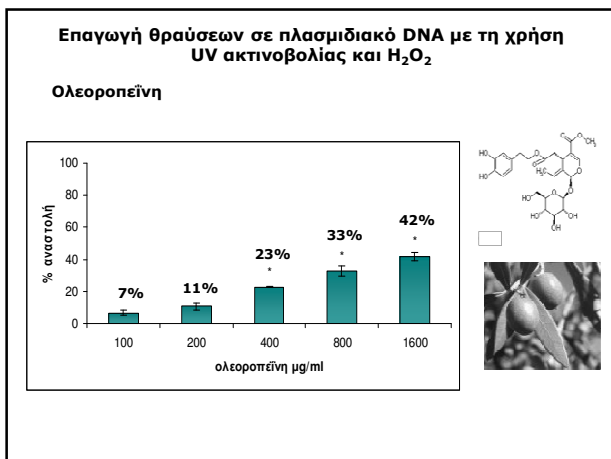
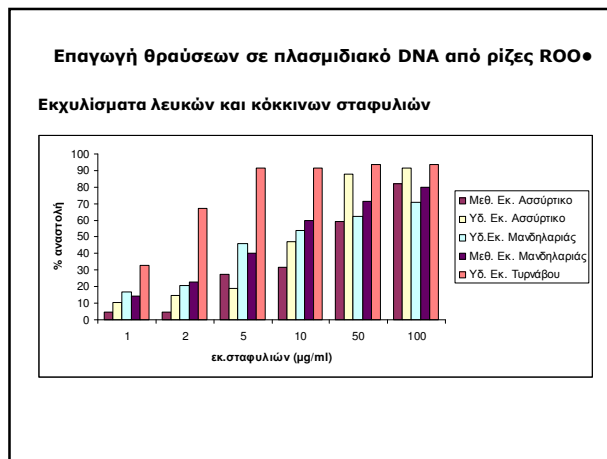
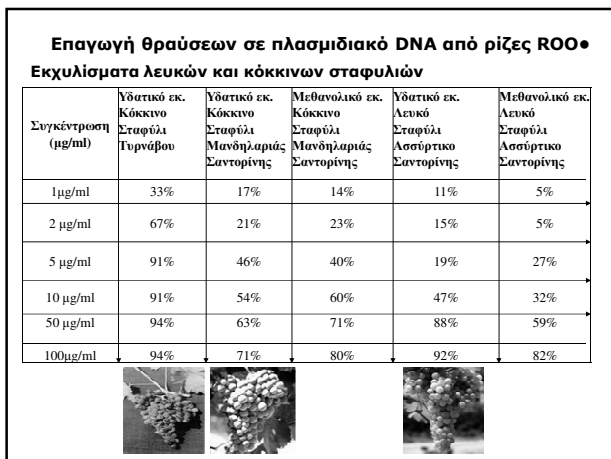
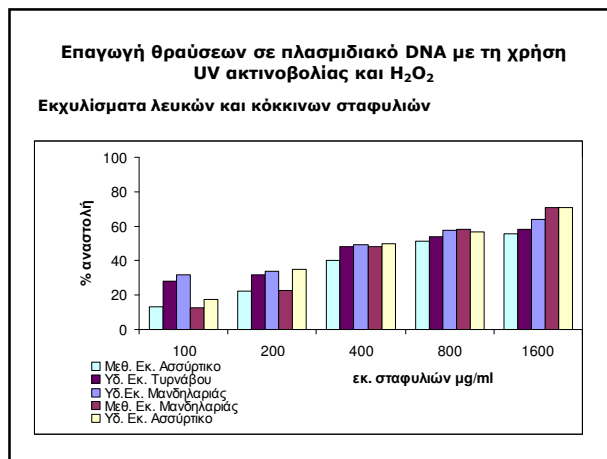
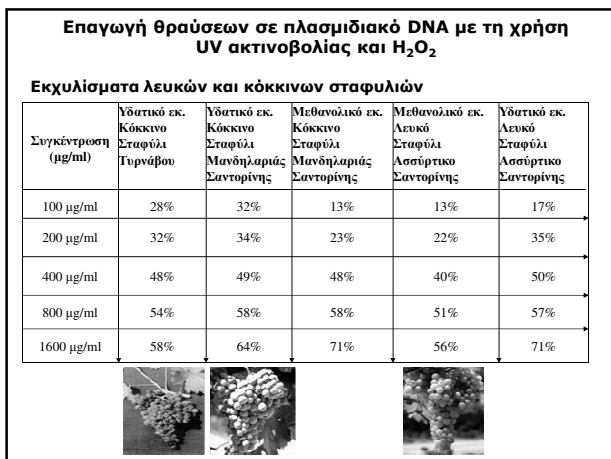
$R^* + O_2 \rightarrow ROO^*$

Επαγωγή θραύσεων σε πλασμιδιακό DNA με τη χρήση UV ακτινοβολίας και H₂O₂

Μεθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα ψυχανθών της οικογένειας Leguminosae

Leguminosae family plants	Plant part
<i>Phaseolus vulgaris</i>	seeds, aerial part
<i>Vicia faba</i>	aerial part
<i>Vicia tenuifolia</i> subsp. <i>stenophylla</i>	fructus, aerial part
<i>Lens culinaris</i>	aerial part
<i>Lupinus albus</i>	seeds, aerial part, seed coat
<i>Lotus edulis</i>	fructus, aerial part
<i>Lotus longisiliquosus</i>	aerial part
<i>Tetragonolobus purpureus</i>	fructus, aerial part
<i>Lathyrus sativus</i>	aerial part
<i>Lathyrus clymenum</i>	aerial part
<i>Lathyrus laxiflorus</i> subsp. <i>Laxiflorus</i>	aerial part








Table 1. Phenolic Compounds (Micrograms per Kilogram) in the Olive Oil Studied

Compound	Compound												Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
WOP1	25.9	176.8	52.3	500.4	573.6	207.6	6207.7	263.6	18.7	154.0	4.3	1.4	2929.3
WOP2	11.9	141.3	75.0	51.5	437.6	157.6	785.5	484.4	8.7	106.1	9.4	2.4	2285.5
WOP3	14.6	14.4	56.1	37.6	41.6	167.2	391.3	348.2	1.9	444.3	5.3	1.3	1226.0
WOP4	42.3	66.4	43.4	166.3	266.7	164.9	474	21.1	167.4	16.7	14.7	3.7	1328.9
WOP5	14.3	175.6	59.9	282.6	558.4	139.6	85.3	17.2	133.9	107.6	13.7	4.4	1527.8
WOP6	32.9	44.5	26.2	440.6	463.8	48.4	94.5	13.4	289.1	328.8	29.1	5.9	1510.7
WOP7	11.4	146.8	59.2	189.4	162.7	239.6	1211.9	944.2	1.4	101.9	6.2	1.9	3342.9
WOP8	8.6	475.6	69.6	130.6	740.5	203.2	536.5	249.6	72.2	527	12.0	5.2	2720.0
WOP9	83.1	315.2	69.4	23.3	1427.0	344.4	622.2	265.2	60.1	526.4	11.7	4.4	3095.5
WOP10	10.8	164.1	54.1	1.5	1332.7	427.1	778.5	437.2	9.2	1044	1.3	3.5	3361.3
WOP11	26.0	266.4	606.6	27.3	420.2	216.5	293.7	188.6	25.5	277.7	3.5	1.3	1731.3
WOP12	23.8	342.7	631.6	ND ^a	669.8	598.1	654.3	111.1	98.1	689.9	11.9	1.6	2596.9
WOP13	12.9	116.4	33.6	86.4	337.7	183.4	373.3	137.6	53.3	46.0	18.2	3.6	1333.3
WOP14	95.4	155.2	121.5	51.5	266.2	180.2	454.2	240.6	54.4	86.0	11.9	3.1	1627.9
WOP15	2.9	87.9	34.1	64.2	558.1	111.5	309.9	145.6	52.7	76.5	4.5	2.0	1244.8
OP1	11.7	133.7	55.3	38.4	216.3	122.4	402.9	233.6	5.4	63.5	3.0	1.8	1328.8
OP2	ND	91.6	53.9	38.5	248.1	116.7	390.5	113.3	50.5	105.2	7.3	2.0	1267.7
OP3	12.6	65.9	29.3	125.5	196.6	113.7	284.9	111.6	4.5	63.0	2.5	1.8	963.3
POU1	ND	22.5	0.7	7.1	13.3	11.2	161.1	41.2	8.1	8.2	ND	ND	197.6
POU2	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	16.4	10.1	20.8	1.9	4.3	3.6	57.3
POU3	0.4	1.2	ND	ND	ND	ND	16.2	7.5	4.6	3.4	5.4	3.9	40.0

^a ND: Not detected

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Journal of Agricultural and Food Chemistry

Mutation Research 609 (2006) 165–175

Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis

Community address: www.elsevier.com/locate/mutres

Activity of grape extracts from Greek varieties of *Vitis vinifera* against mutagenicity induced by bleomycin and hydrogen peroxide in *Salmonella typhimurium* strain TA102

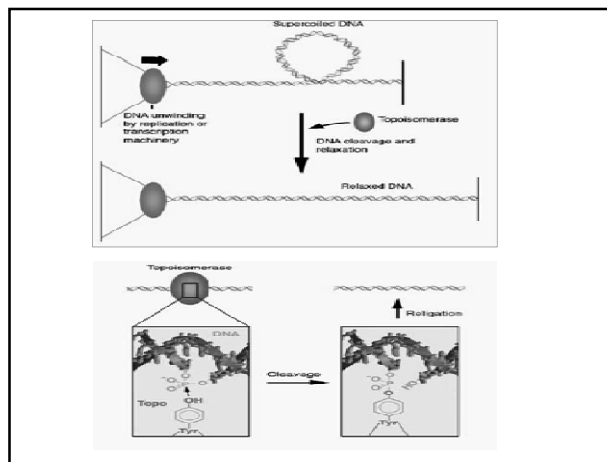
Demetrios Stagos^a, Georgios Kazantzoglou^b, Demetra Theofanidou^a, Georgia Kakaïopoulou^a, Prokopios Magiatis^b, Sofia Mitaku^b, Demetrios Kouretas^{a,*}

^a Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Plokiou 26 & Aiolou, GR 41221 Larissa, Greece
^b Division of Pharmacology and Natural Products Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Athens, Panepistimiopolis Zografou, GR 15771 Athens, Greece

Received 22 September 2005; received in revised form 14 February 2006; accepted 24 June 2006
 Available online 28 August 2006

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΦΥΤΙΚΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΤΟΠΟΪΣΟΜΕΡΑΣΗΣ Ι

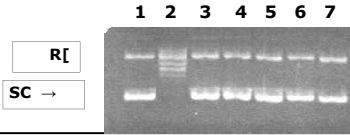
- Οι τοποΐσομεράσες είναι ένζυμα που χρειάζονται για την αντιγραφή, τη μεταγραφή και τον ανασυνδυασμό του DNA καθώς επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο στη δομή των χρωμοσωμάτων, τη συσπείρωση και αποσυσπείρωσή τους και το διαχωρισμό τους μετά την κυτταρική διαίρεση



- Επειδή οι τοποΐσομεράσες ρυθμίζουν σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες αποτελούν στόχο αντικαρκινικών και αντιμικροβιακών φαρμάκων
- Αρκετοί χημειοπροφυλακτικοί παράγοντες (π.χ. φυτικές πολυφαινόλες) έχουν αναφερθεί ως αναστολείς των τοποΐσομεράσων

ΜΕΘΟΔΟΣ

- Μέθοδος 'χαλάρωσης' του υπερελικωμένου DNA (DNA relaxation assay)



	1	2	3	4	5	6	7
pBR322	+	+	+	+	+	+	+
topoI	-	+	+	+	+	+	+
Εκχύλισμα (μg/ml)	-	-	800	400	200	100	50

- Με τη χρησιμοποίηση του λογισμικού Gel-Pro Analyzer 3.0 γίνεται ποσοτικοποίηση των ζωνών του DNA με βάση την οπτική πυκνότητα και το εμβαδόν τους

