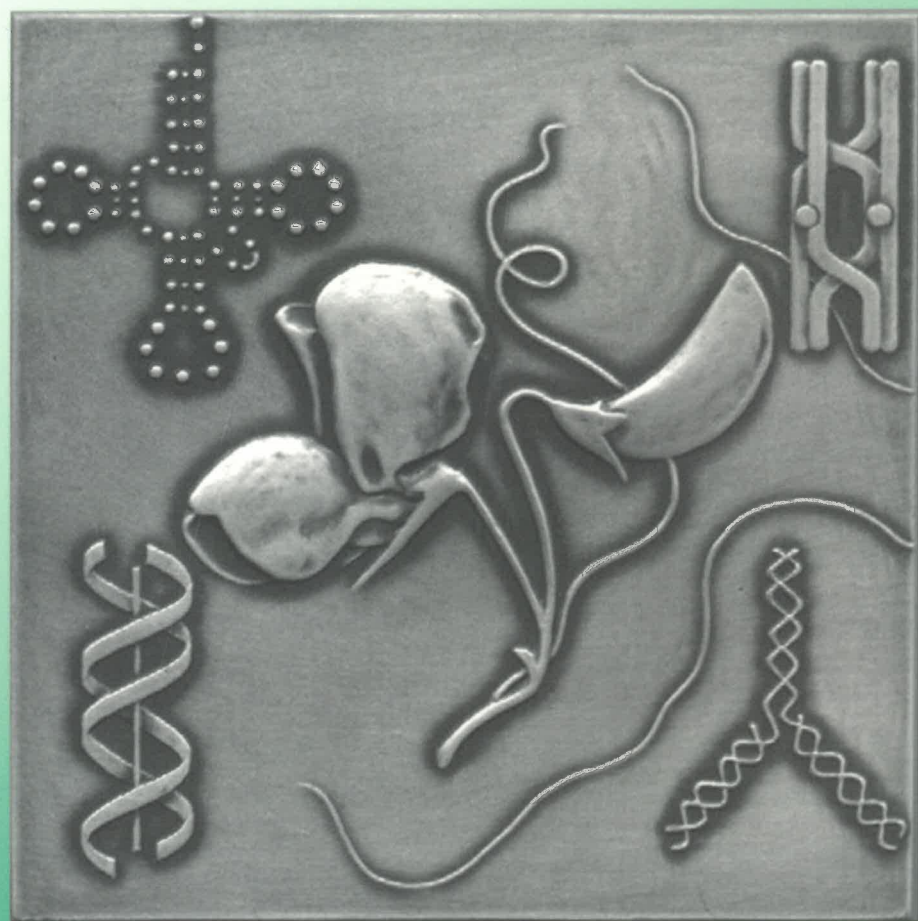




INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI PAN

1954-2004



WARSZAWA 2005

**INSTYTUT
BIOCHEMII
I BIOFIZYKI
PAN**

1954-2004

**Z DZIEJÓW BIOLOGII
MOLEKULARNEJ
W POLSCE**



WARSZAWA 2005

Koordynatorzy prac – Kazimierz Lech Wierzchowski i Zofia Zarębska
Wybór i opracowanie ilustracji – Zofia Zarębska

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa;
e-mail: secretariate@ibb.waw.pl; <http://www.ibb.waw.pl>

Zdjęcia pochodzą z archiwów: Lecha Laskowskiego, Magdaleny Fikus, Marii Agnieszki Siweckiej, Barbary Mazuś, Grażyny Muszyńskiej, Elżbiety Kuligowskiej, Marii Moniki Jeżewskiej, Przemysława Szafrąńskiego, Tadeusza Chojnackiego, Kazimierza Lecha Wierzchowskiego oraz Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN.

Na okładce i stronie tytułowej medal IBB PAN według projektu Macieja Szańkowskiego

Na załączonym dysku CD ROM znajduje się Bibliografia Prac IBB PAN (1954-2004) wraz z programem Acrobat Reader 4.0 pozwalającym na wyszukiwanie odnośników do publikacji według nazwisk Autorów lub ich kolejnych numerów (występują w nawiasach kwadratowych w rozdziałach Zakład Biologii Molekularnej i Zakład Biofizyki).

Wydanie II
Warszawa, 2005 r.

Skład i łamanie:
Agencja Wydawnicza i Reklamowa AKCES

SPIS TREŚCI

Pięćdziesiąt lat IBB – <i>Włodzimierz Zagórski-Ostoja</i>	V
IBB, założenia, osiągnięcia i perspektywy – <i>Józef Heller</i>	XIX
Zakład Biochemii Ewolucyjno-Porównawczej – <i>Maria Monika Jeżewska</i>	1
Początki na Krakowskim Przedmieściu; badania nad lipidami – <i>Tadeusz Chojnacki</i>	12
Zakład Biochemii Lipidów – <i>Ewa Świeżewska</i>	18
Zakład Biosyntezy Białka – <i>Przemysław Szafranski, Włodzimierz Zagórski-Ostoja</i>	26
Zakład Biologii Molekularnej – <i>Jarosław Kuśmerek</i>	35
Antymetabolity – <i>Tadeusz Kulikowski</i>	54
Zakład Biofizyki – <i>Kazimierz Lech Wierzchowski, M. Fikus, B. Rempola, A. Bierzyński, M. Dadlez, W. Bal</i>	57
Zakład Bioinformatyki – <i>Piotr Zielenkiewicz, A. Rabczenko</i>	77
Zakład Biochemii Roślin – <i>Grażyna Muszyńska</i>	79
Zakład Biochemii Drobnoustrojów – <i>Danuta Hulanicka</i>	91
Zakład Genetyki – <i>Andrzej Paszewski</i>	105
Festiwal Nauki – <i>Magdalena Fikus</i>	115
Solidarność w IBB – <i>Maria Agnieszka Siwecka</i>	117
Biblioteka im. Józefa Hellera – <i>Teresa Żyłka</i>	122
Ogólnokrajowe programy badawcze oraz Laboratoria Środowiskowe Instytutu – <i>K. L. Wierzchowski</i>	124
Kształcenie – Szkoła Biologii Molekularnej – <i>Grażyna Palamarczyk</i>	126
Kierownictwo, Pracownicy, Doktoranci	129
Prace IBB PAN (1954-2004) – CD-ROM we wkładce	

PIĘĆDZIESIĄT LAT IBB

Kilka słów o historii

Włodzimierz Zagórski-Ostoja

Pisanie historii instytutu naukowego może budzić uczucia ambiwalentne. I to z prostego powodu – terazniejszość w nauce zwycięża nad przeszłością w sposób bezapelacyjny, nieodwołalny, można nawet powiedzieć, że w sposób z punktu widzenia indywiduum po prostu nieludzki. Jak pisze Florkin: „generally speaking science is the study of an object that has no history, that is no history”, co znaczy tyle, iż w procesie badawczym stajemy za każdym razem przed problemem, który jest nowy. Jest on do rozwiązania, a to rozwiązanie ma zerwać z uprzednią wiedzą na temat badanego obiektu, inaczej bowiem – badania podjąć nie warto. Wiemy wszyscy dobrze, jak owo odkrywanie „rzeczywistości” jest jednocześnie trudne i pociągające. Udany eksperyment, ujawniający dotąd nieznaną, niesie w sobie demiurgiczne poczucie siły. Owo ujawnienie nowego może być postrzegane jako wydarzenie naturze jednej z jej tajemnic, poznawanie preegzystujących porządków (byłaby to wizja platońska) lub jako akt powołania do istnienia elementu rzeczywistości (to wizja właśnie demiurgiczna). Czy opowiemy się za jedną, czy drugą wersją – obie oparte są o ów nieustanny pęd do zajmowania się tym, co jest dotąd nieznane. I dlatego nauka jest rzeczywiście ahistoryczna. Owo odkrywanie to oczywiście zadanie trudne. Przynajmniej w naszej dziedzinie. Przynajmniej – w jej warstwie eksperymentalnej. Nasze doświadczenia są technicznie bardzo trudne. Oczywiście ze względu na naturę badań nad *bios*, sam bowiem fenomen życia jest i trudno uchwytany, i oparty o wysoce złożone mechanizmy. Ale i doświadczenia są trudne ze względu na dzisiejsze technicznie zaawansowane dziedziny. Przez to jest ona hermetyczna, bowiem zarówno konstrukcja eksperymentu jak i rozumienie wyniku

wymaga dziś operowania metajęzykiem, czyli zestawem pojęć wysoce specjalistycznych i – co więcej – solidnej wiedzy matematycznej i fizycznej. Zupełnie nieprawdopodobny rozwój metod analitycznych (zestaw wszystkich – omix) i syntetycznych (inżynierii genetycznej, komórkowej, organizmalnej) wymusza ciągłą rozbudowę warsztatu badawczego. Ogromna złożoność dziedziny prowadzi do tego, że spokojnie można powiedzieć, iż 90 % eksperymentów „nie wychodzi”. Zanim się trafi na właściwą drogę, trzeba się liczyć z kolejnymi doświadczeniami, trzeba wykazać – jedni powiedzą wytrwałość, drudzy – ośli upór. Co by się nie działo, trzeba umieć znieść niepowodzenie kolejnego eksperymentu, dowodzące przecież, że to sam eksperymentator jest ułomny. Takie stwierdzenie niweczy (czy może tylko równoważy) owo poczucie mocy wynikające z uczestnictwa w procesie poznawczym. Szczęśliwsi w tym względzie są biolodzy fenomenologowie. Biologia opisowa jest



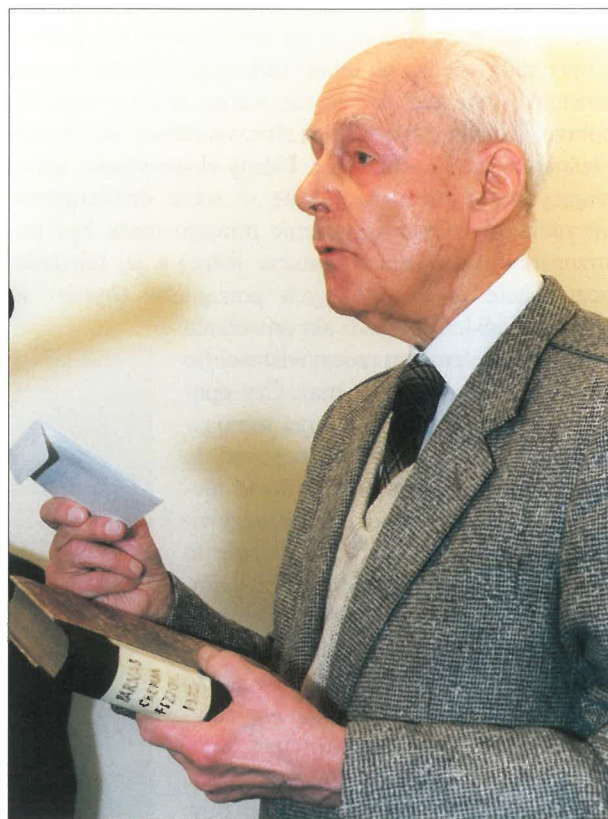
Dyrektor IBB PAN, Włodzimierz Zagórski-Ostoja otwiera Sympozjum Instytutu w 80-lecie urodzin Profesora Davida Shugara, 2 września 1995.

dziedzina bezpieczną zawodowo, bowiem każdy opis dokonany poprawnie a dotyczący nowego zjawiska jest wartościowy. Jest też bezpieczna dla psychologii badacza – opis nie stwarza owych napięć towarzyszących badaniom doświadczalnym, może być co najwyżej niepełny, ale nie niesie ryzyka, że będzie całkowicie niezgodny z istotą rzeczy. Jest wreszcie zawsze potwierdzeniem obowiązującego paradygmatu. A doświadczenia – są nieustannym sprawdzaniem paradygmatu.

W odróżnieniu od samego aktu poznawczego, przebieg ustalania i sprawdzania paradygmatów ma swoją historię i jej fragmentem są dzieje różnych instytucji naukowych, w tym – naszego Instytutu. Przyjrzyjmy się jej bliżej. Formalnie więc dopiero w dziesięć lat po wojnie powstał Zakład Biochemii PAN, będący załącznikiem Instytutu. I to było dziwne. Przecież biochemia w Polsce przed wojną była dziedziną silną, a więc stworzenie takiej placówki powinno właściwie nastąpić szybciej. Środowisko biochemiczne choć zdziesiątkowane przez wojnę odtwarzało przecież ośrodki badawcze w kilku uczelniach. Stworzenie mocnego Instytutu badawczego wydawało się więc po wojnie zgodne z potrzebą chwili. Ale filozofia dominująca w tej części Europy w owych latach, w kondensacie przedstawiona w „Krótkiej historii WKPb”, uznająca, że prawidła rządzące rzeczywistością są już poznane, właśnie przeciwstawiała się rozwojowi nauk doświadczalnych, niosących zagrożenie, iż dostarczą danych niezgodnych z istniejącą ideologią. Dlatego wśród nauk o życiu tępienie były genetyka, biochemia i mikrobiologia. Wszystko co mogło zrodzić nowe teorie, niespójne z obowiązującym wykładem dialektu spotykało się z oporem struktury systemowo opartym o przekonanie, że cała wiedza jest już osiągnięta. Tak więc, dopiero w tle „Odwilży” przywrócić można było właściwe miejsce naukom doświadczalnym. W tym samym roku 1956 powstaje Polskie Towarzystwo Biochemiczne i Instytut Biochemii i Biofizyki. Warto przypomnieć, że Katedra Biochemii na Uniwersytecie Warszawskim utworzona zostaje dopiero w 1958 roku, również na fali owych przemian. Instytut zakłada prof. Józef Heller. To piłsudczyk, legionista, doktor medycyny, przed wojną czynny w służbie zdrowia, zajmujący się – tak jak i wielu wówczas biochemików – całym wachlarzem różnych zagadnień. W istocie powinniśmy mu być wdzięczni choćby za to, że między innymi był sprawcą wprowadzenia jodowania soli spożywczej w Polsce. Co to jest wole, to już wielu z nas nawet nie wie, ale ja jeszcze w latach czterdziestych widziałem osoby z wolem na Podhalu. To wyglądało impresjonująco i w dodatku ten rozrost tarczycy powoduje ośpienie umysłowe. Czas wojny to – o ile rozumiem z korespondencji Jakuba Parnasa – do czerwca 1941 okres pracy Hellera we Lwowie. Po zajęciu Lwowa przez Niemców zostaje internowany w oflagu. Jak wielu polskich żołnierzy po wyzwoleniu wstępuje do Armii Polskiej na Zachodzie i zostaje komendantem szpitala wojskowego, po czym wraca do

Polski. Tu bierze udział w rekonstrukcji życia akademickiego we Wrocławiu. Według legendy w 1954 roku minister Eugenia Krassowska zwróciła się do kilku naukowców z zapytaniem o opinię na temat poprawy warunków rozwoju biochemii w Polsce. Pono, gdy inni zastanawiali się nad sformułowaniem odpowiedzi, Józef Heller zameldował się rano w Ministerstwie Oświaty, tu po wejściu do gabinetu pani wiceminister, podziękował jej za nominację na dyrektora przyszłego Instytutu. Zaskoczona minister nie potrafiła odmówić i stało się – ruszyły tryby maszyny administracyjnej doprowadzając do stworzenia IBB PAN. *Si non e vero, e ben trovato.*

W każdym razie w pierwszym zespole przyszłego Instytutu, będącym konfederacją różnych laboratoriów rozrzuconych po Warszawie, znajduje się prof. Ignacy Reifer i wkrótce – będący dziś dalej z nami – prof. Dawid Shugar. W tym pierwszym zespole znajduje się też grupa utworzona przez profesora Ernesta Syma: Przemysław Szafranski, Zofia Lassotowa, Jan Szarkowski. Ci młodzi wówczas ludzie mieli być zatrudnieni w pracowni zajmującej się metabolizmem prątką gruźlicy. Profesor Sym ściągnął ich z Politechniki Gdańskiej, lecz nie zdążył załatwić koniecznych formalności, zginął bowiem w wypadku samochodowym w drodze właśnie



Dziedzictwo IBB z Uniwersytetu Lwowskiego:
W trakcie Sympozjum IBB, 1994, Profesor Tadeusz Korzybski ofiaruje na ręce Dyrektora IBB egzemplarz podręcznika Jakuba Parnasa „Chemia fizjologiczna”, wydanego we Lwowie w 1922 roku.

z Gdańska do Warszawy. Józef Heller zatrudnia ich w Zakładzie Biochemii PAN a oni przynoszą nam istniejące do dziś związki z Madison Wisconsin (tu uwaga dla niewprowadzonych – asystentem w czasie studiów tej grupy był Waław Szybalski, opuszczający kraj w 1947 roku w Kopenhadze, gdzie swych studentów woził na ćwiczenia z chemii, jako że w zburzonym Gdańsku laboratoria nie istniały) oraz z Gdańskiem – gdzie tak ważna dla nas przyjaźń z profesorostwem Taylorami stała się podstawą jednej z osi działań Instytutu. Związki z Gdańskiem stają się trwałe, w latach 1957-1963 Instytut posiadał tam na Akademii Medycznej pracownię prowadzoną przez prof. Włodzimierza Mozolowskiego, przedwojennego kierownika Katedry Chemii Fizjologicznej na Uniwersytecie im. Stefana Batorego w Wilnie. Dziś filią Instytutu na Uniwersytecie Gdańskim, utworzoną w 1992 roku kieruje prof. Grzegorz Węgrzyn. Wkrótce do Instytutu dołącza prof. Tadeusz Korzybski – asystent prof. Jakuba Parnasa. W Warszawie wokół Instytutu gromadzą się też inni lwowscy egzule wśród nich – prof. Irena Mochnacka. W istocie nad kołyską Instytutu unosi się duch lwowskiej szkoły biochemicznej. Jej podstawową cechą było poszukiwanie mechanizmów badanych przemian metabolicznych a nie tylko ich roli fizjologicznej. To mechanistyczne podejście do reakcji biologicznych – ówczesny paradigmat biochemii trwa zresztą do dziś.

Zespoły Instytutu szybko wchodzą w badania związane z nowym systemem myślenia, z pojawiającą się w biologii kwestią kodowania. Tu wspomnieć należy zasługi obecnego wśród nas prof. Przemysława Szafranskiiego i jego grupy – Jadwigi Chroboczek, Ludwika Zimniak, Piotra Chomczyńskiego i zmarłych Stefana Klity i Stanisława Perzyńskiego. Bardzo ważne w tej dziedzinie są również prace Włodzimierza Szera, który w związku z antysemitkami hecami z marca 1968 opuścił Polskę na stałe, ale zawsze pozostawał z nami w ści-



Nestorzy Instytutu, David Shugar i Waław Gajewski



Jubileusz 25-lecia IBB (1954-1979)

Prezydium uroczystego posiedzenia 31 maja 1979: Kazimierz Lech Wierzchowski, Józef Heller, Teresa Natorff, Prof. Tadeusz Korzybski odczytuje nadesłane życzenia, sekretarka Anna Ziemska.

śłym kontakcie przyjacielskim i naukowym. Nowy element wprowadza do badań Instytutu następcą Hellera – prof. Waław Gajewski, w czym wspiera go prof. Władysław Kunicki-Goldfinger. A tym elementem – znów do dziś obecnym w profilu naukowym Instytutu – jest genetyka molekularna. Tadeusz Kłopotowski, Danuta Hulanicka, Michał Bagdasarian, Andrzej Paszewski tworzą grupę rozwijającą tę dziedzinę wspieraną przez prof. Piotra Słonimskiego i Waława Szybalskiego. Następnym naturalnym etapem związanym z tworzącą się w Instytucie kulturą biofizyczną było skierowanie uwagi na zagadnienia dziś traktowane jak przedmiot biologii strukturalnej. Pod rządami kolejnego dyrektora Instytutu, prof. Kazimierza Lecha Wierzchowskiego rozwijają się w jego zakładzie metody spektroskopowe. Jest to też okres wytężonej pracy organizacyjnej, związanej z tzw. „węzłowymi problemami badawczymi”. Warto pamiętać, że to wówczas prof. Andrzej Rabczenko rozbudowuje metody obliczeniowe w „mózgu IBB”, czyli w ulokowanym w suterenie na Rakowieckiej 36 laboratorium, gdzie stała bułgarska maszyna licząca. Następuje wówczas redefinicja pro-



Dyrekcja: Kazimierz Kleczkowski, Zofia Lassota, Ignacy Kosior.

filu badawczego Instytutu – uznajemy że ważnym dla nas przedmiotem badań jest metabolizm i struktura kwasów nukleinowych. Te badania przynoszą osiągnięcia w dziedzinie enzymologii kwasów nukleinowych (tu wymienić należy koleżanki i kolegów z pracowni kierowanych przez Monikę Jeżewską, Zofię Lassotową, Halinę Sierakowską i Jana Szarkowskiego). Łączą się też z zainteresowaniami metabolizmem RNA, owocującym wspaniałym odkryciem ligazy RNA w zespole Witolda Filipowicza, w którym pracowali Magdalena Konarska i Kazimierz Tyc. Biologia strukturalna lipidów – to osobna historia. Analizy struktur poliizoprenoidowych doprowadziły z jednej strony do rozwoju badań nad izoprenylacją białek, czy metabolizmem steroidów, a z drugiej – do pojawienia się sprawdzalnego rynkowo projektu biotechnologicznego. Ta pierwsza linia badań nad lipidami dziś wiąże się z genetyką grzybów niższych i *Arabidopsis* – zagadnieniami wiodącymi w kilku innych grupach instytutowych. Jest to klasyczny przykład tego, co daje współlistnienie różnych zespołów



35-lecie Instytutu (1989 rok)
Rozmowy w przerwie obrad: Magdalena Konarska, NN,
Jarosław Kuśmierk, Zygmunt Cieśla i inni;

obok Monika Jeżewska, Alicja Drabikowska



Uroczystości 35-lecia IBB (1989 rok) Przemawia Zofia Lassotowa

w jednej instytucji naukowej. Ta druga – znajduje swoje odbicie w katalogu kolekcji unikalnej izoprenoidów, dystrybuowanych przez firmę Larodan w całym świecie. Mówię tu oczywiście o osiągnięciach prof. Tadeusza Chojnackiego, prof. Grażyny Palamarczyk, prof. Ewy Kuli-Świeżewskiej i dr hab. Anny Szkopińskiej.

Dzisiejsze badania Instytutu koncentrują się wokół genomiki. W program sekwencjonowania genomu drożdży weszliśmy w 1992 roku za pośrednictwem oczywiście Piotra Słonimskiego. Analizę funkcjonalną genów drożdży podjął u nas zespół prof. Joanny Rytki, dr Marek Zagulski i jego zespół sekwencjonujący genom drożdży, dziś rozpoczął sekwencjonowanie i analizę funkcjonalną genomu *Paramecium* w ramach konsorcjum polsko-francusko-niemieckiego, doc. Piotr Ceglowski rozpoczął program masowego poznania genomów plazmidów i fagów, po jego przedwczesnej śmierci tak wspaniale kontynuowany w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów. Badania Zakładu Biochemii Roślin dziś przesycone są też paradygmatem genomicznym – wystarczy



tylko wspomnieć prace zespołów prof. prof. Andrzeja Jerzmanowskiego, Jacka Henniga, Grażyny Muszyńskiej czy Agnieszki Sirko.

Genomika to *lingua franca* dzisiejszej biologii i tego Instytutu. Dzieje się tak i dzięki temu, że mamy zespół bioinformatyków pod wodzą prof. Piotra Zielenkiewicza, tworzony przy współpracy między innymi Meira Edelmana i goszczącego często u nas Leona Estermana z Instytutu Weizmannna. Szeroko z tego podejścia korzystają znakomite grupy zajmujące się jedną ze specjalności Instytutu – mutagenezą (prof. Jarosław Kuśmierek, doc. Barbara Tudek, zespół prof. Zygmunta Cieśli). Oczywiście rozwijamy także podejścia masowe do śledzenia funkcji genomu. I tu pomocą służy nam rozwijający się zespół doc. Michała Dadleza. Wreszcie nie zapominajmy, iż strukturaliści – szczególnie NMR-owcy kierowani przez prof. Andrzeja Bierzyńskiego i prof. Andrzeja Ejcharta wnoszą w ów lekki chaos genomczno-proteomiczny nieco porządku, wprowadzając do naszego myślenia niezbędny element ładu opartego o zasady fizyki.

Tak wygląda zarys historii Instytutu. I teraz czas na kilka uwag.

Instytut naukowy to po prostu gmach odpowiednio wyposażony, gdzie na kilka czy kilkanaście godzin dziennie schodzą się konkretni ludzie. Nie istnieje nic takiego jak życie Instytutu, jego los itd. Jest to życie i los jednostek w jednym budynku wymieniających myśli, tworzących społeczność naukową. Wśród takich społeczności nie jesteśmy najmocniejszą na świecie. Istnieją od nas lepsze (ale i gorsze). Tym niemniej myślę, że jesteśmy społecznością specjalną, gdzie jakoś udało się nie wpuścić szczura zawiści, a praca jest ceniona i wyniki osiągnąć są pewne. Mało tu hucpy, sporo myślenia o otaczającym świecie i o wartości nauki. To ostatecznie wśród nas jest Magdalena Fikus z jej pasją dzielenia się wiedzą z innymi, naprawdę osadzoną w najlepszych tradycjach inteligencji. Może nie jesteśmy najefektywniejsi z punktu widzenia liczby publikacji, ale czasem lepiej zastanowić się parę razy zanim opublikuje się wynik nie do końca sprawdzony.

Mówiąc o naszych pięćdziesięciu latach trzeba



Uroczystości 35-lecia IBB

Po raz pierwszy mogliśmy nareszcie zaprosić wychowanków pracujących za granicą – Grażyna Palamarczyk, Anna Radomińska-Pyrek (USA), Barbara Mazuś (USA), Jerzy Paszkowski (Szwajcaria), Grażyna Muszyńska



Uroczystości 35-lecia IBB

Wieloletnia sekretarka Rady Naukowej – Małgorzata Wilczewska z doktorantką Ewą Popowską

wspomnieć, że ludzie związani z tym Instytutem obecni byli nie tylko przy stołach laboratoryjnych, ale i w życiu kraju. Nie warto wchodzić w kombatantstwo, ale powinien być tu wspomniany choćby śp. Roman Tomasik – szef naszej „Solidarności”, w 1989 rozliczający się ze zbieranej nielegalnie przez dziewięć lat składki związkowej, której nikt z nas nie odmawiał i powiadamiający, że gros jej szło na stypendia szkolne ufundowane dla dzieci z ubogich rodzin ludzi internowanych. W życiu spo-

łecznym jesteśmy dalej obecni. I nikogo w naszym środowisku nie dziwi, że w czasie obchodów naszego jubileuszu (26-29 listopad 2004) niejeden z nas przypiął sobie kokardkę w kolorze pomarańczowym a Piotr Słonimski rozpoczynając wykład inauguracyjny, założył czapkę akurat w tym kolorze. Przecież nie zostawi nas obojętnymi to, co akurat w tych dniach dzieje się wokół nas, co porusza myśli Ukraińców i Polaków.

Mieliśmy i mamy wielu przyjaciół. Nie będę tu wszystkich wymieniać. Ale bez zrozumienia istoty spraw nauki przez prof. Stefana Amsterdamskiego, prof. Witolda Karczewskiego i panią Małgorzatę Kozłowską nasz dzisiejszy warsztat pracy by nie powstał. Pamiętamy życzliwość prof. prof. Aleksandra Gieysztora, Henryka Samsonowicza, Romualda Klekowskiego, Tadeusza Bielickiego, Jerzego Gąsiorowskiego i Bronisława Geremka. Mamy i mieliśmy też i wrogów. Tych wspominać nie warto, jeśli kto ciekaw, to Mieczysław Choraży przesłał nam niedawno kopię swoich wystąpień na Prezydium PAN, broniących Instytutu i jego ludzi w okresie, w którym to trzeba było robić.

Myślę, iż słowa „po owocach ich, poznacie ich” określają najkrócej sposób widzenia świata obowiązujący w naszej społeczności, od początku wdrożony przez tych, co tworzyli jej fundamenty.

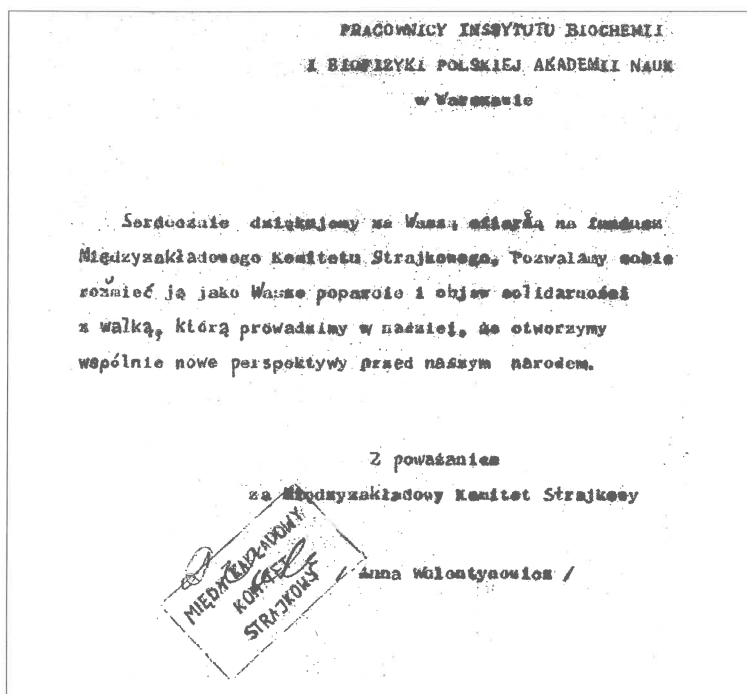
Glossa do historii – o pewnym okresie

W 1981 roku dyrektorem Instytutu zostaje prof. Andrzej Paszewski, mianując mnie wicedyrektorem ds. ogólnych a prof. Monikę Jeżewską – wicedyrektorem ds. naukowych. Paszewski był pierwszym w historii IBB

dyrektorem formalnie wybranym przez Radę Naukową i został zatwierdzony przez władze PAN. Był to wyłom w dotychczasowej praktyce i dobrze, że się tak stało, bo wkrótce Instytut stanął przed wyzwaniem stanu wojennego, na które dyrektorowi mającemu wsparcie swojej społeczności łatwiej było odpowiedzieć. A były one liczne, najpierw dotyczyły spraw indywidualnych, internowani zostali prof. Kunicki-Goldfinger, Stanisław Plewako, Jarosław Kosiński, ukrywali się prof. Gajewski i prof. Kłopotowski, w podziemiu działali Michał Dadlez i Grzegorz Boguta. Mimo początkowego wstrząsu „Solidarność” instytutowa nie dała się, spokojnie podjęła działalność nielegalną, wydawnictwa podziemne były kolportowane i składki związkowe zbierane między innymi przez Marka Wełnickiego (więcej nazwisk nie pamiętam – bo też i nie chodziło nigdy o to, by je znać).

Potem pojawiły się kwestie ogólniejsze. Członkowie partii, pracujący w Instytucie po 13 grudnia 1981 wystąpili z jej szeregów, co oczywiście stawiało ich w sytuacji ludzi z marginesu istniejących struktur aparatu Państwa za to wspaniale integrowało ich z bezpartyjnymi. Dostaliśmy też swoistego wyróżnienia – pan generał Jaruzelski w jednym ze swoich przemówień wymienił Instytut jako gniazdo wrogów państwa i ustroju, pojawiły się propozycje likwidacji IBB, pułkownik Szczygieł z MSW (taki podpis widniał na odpowiedniej decyzji) zlecił wydalenie z Polski prof. Shugara. Nie wiadomo czym by to się skończyło, gdyby nie interwencja prof. Aleksandra Gieysztora, bezpośrednio u generała. Wypominano potem tę interwencję ówczesnemu Prezesowi Akademii nie wyrażając zgody na jego kolejną kadencję. Wielu naszych kolegów zdecydowało się wówczas pozostać za

granicą (Ludwika Zagórska, Jadwiga Chroboczek, Wojciech Rychlik, Magdalena Konarska, Kazimierz Tyc). Witold i Aleksandra Filipowiczowie zmuszeni zostali w sposób brzydki do ucieczki z kraju, po powrocie z USA, mimo gwarancji nowego Prezesa PAN, odebrano im paszporty i poddano nękającym naciskom. Był to okres, o którym da się powiedzieć jedno: w całym kraju chodziło wówczas o przetrwanie normalnych więzi i struktur społecznych, poddanych atakowi ogłupiającego aparatu władzy. A że jedną z takich struktur są instytucje naukowe, toteż staraliśmy się, by owa zewnętrzna fala głupoty nie wpływała na zasady funkcjonowania Instytutu. Trwały więc na przykład zaawansowane prace nad genetyką drożdży, toczone się w grupie śp. Aleksandry Putrament. Tu śp. Anna Krużewska, współpracująca z Piotrem Słonimskim, skreowała i scharakteryzowała serię supresorów jądrowych kontrolujących geny mitochondrii (NAM-y) i supresorów mitochondrialnych kontrolujących geny mi-



Podziękowanie ze Stoczni Gdańskiej, 30 sierpnia 1980 r.

tochondrialne (MIM-y). Jej kolekcja do dziś jest użyteczna w rozwiązywaniu dwuznaczności odczytu kodu mitochondrialnego.

Padło tu nazwisko Piotra Słonimskiego – w tym okresie pomagał on całemu naszemu środowisku właśnie w utrzymaniu kontaktu z nauką światową, choćby zamawiając dla Instytutu prenumeraty *Cell* i *Nature*, ale też organizując możliwości staży laboratoryjnych i wspierając polskich badaczy za pośrednictwem Towarzystwa Kursów Naukowych, gdzie stypendia, które fundowała Solidarite France Pologne, założona przez między innymi Hannę i Agnieszkę Słonimskie, były w gestii prof. prof. Gajewskiego i Kunickiego-Goldfingera. W ogóle wcześniej nawiązane stosunki z francuskimi laboratoriami również w tym okresie okazały się trwałe. Pracował nad tym Jacques Faure, sekretarz ambasady francuskiej w latach 1980-1986, wpierali nas i przyszła Prezydent Akademii Francuskiej – Marianne Grunberg-Manago, i Francois Chapeville, i Anne-Lise Haenni, przyjmujący naszych pracowników w swoich laboratoriach Uniwersytetu Paris VII. Śp. Jean-Pierre Ebel wraz z Guy Dirheimerem wykorzystywał do pomocy nam przede wszystkim FEBS (tu anegdota – po tzw. „przemianach”, zdradzili mi, że w algorytmie rozdziału stypendiów FEBS, nikomu nic nie mówiąc, wprowadzili mnożnik 2 dla Polski...). W przypadku Ebela ta reakcja oparta była o głębokie doświadczenie osobiste. Znow w jakiejś rozmowie powiedział mi, że on – *Compagnon de Liberation* – twórca podziemnego uniwersytetu strasburskiego w Vichy, aresztowany w 1943 przez Gestapo przeżył Ravensbrück tylko dzięki pomocy kilku Polaków i że pomagając nam spłaca tylko dług. Związki z Francją znalazły swoje odbicie w podjętej przez Radę Naukową (pod przewodnictwem niezapomnianej śp. Zofii Lassotowej) w 1987 roku inicjatywie utworzenia Grupy Doradczej przy Radzie Naukowej IBB. Człon-

kostwo tej Grupy przyjęli właśnie Grunberg-Manago i Ebel. Nietrudno więc zrozumieć, że po 1989 roku to właśnie naukowcy francuscy wspierali tworzenie strukturalnych więzi – związków bliźniaczych między naszymi i ich laboratoriami. Te działania najpełniej wyrażają się w utworzeniu Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin, czynnego w latach 1994-2004 i przygotowanej jego kontynuacji w postaci *Groupment des Recherches Internationales*, poświęconego genomice porównawczej. Działalność Centrum opisana jest szczegółowo w odpowiednich raportach autorstwa prof. Stanisława Lewaka.



Podpisanie porozumienia o współpracy między Wydziałem Nauk Biologicznych PAN a Uniwersytetem Warszawskim, 30 czerwca 1994

Tekst Porozumienia odczytuje Włodzimierz Zagórski-Ostoja, Dyktor IBB PAN; słuchają: Romuald Klekowski, sekretarz II Wydziału PAN, Karol Taylor (Uniwersytet Gdański), Grażyna Palamarczyk, Ewa Symonides, dziekan Wydziału Nauk Biologicznych UW;



Ewa Symonides i Włodzimierz Zagórski podpisują Porozumienie, towarzyszą temu sekretarki IBB: Ała Bulanda i Danuta Dębczyńska. [Pierwsze formalne związanie placówki PAN-owskiej z placówką uniwersytecką.]

Nowa struktura

Właśnie współpraca z francuskimi laboratoriami nadała dynamikę transformacji Instytutu, mającej – moim zdaniem – do dziś swoje znaczenie nie ograniczające się tylko do IBB, będącej w jakimś sensie modelem reformowania instytucji badawczych w Polsce po zmianach ustrojowych. Współpraca bilateralna z instytucjami Państwa założyciela Unii Europejskiej wskazała, że to europocentryzm może być motywem naszej lokalnej polityki naukowej. Opierając się na wzorach francuskich, stowarzyszyliśmy się z Wydziałem Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, osadzając we wspólnej siedzibie Zakład Genetyki, Instytut Biologii Eksperymentalnej i Interdyscyplinarne Centrum Modelowania UW, tworząc konsorcjum instytucji PAN-owskich i uczelnianych. To do dziś jest chyba jedyny w Polsce przykład takiego rozwiązania, na pewno służącego wszystkim partnerom. Tworzenie takiej nowej formy organizacji nauki stymulował proces budowy nowej siedziby IBB (1988-1994), czemu towarzyszyło reformułowanie programu badawczego i rekonstrukcja zespołu. Sama budo-

wa (tu wielkie zasługi położył Bernard Wielgat) spełniała w tym procesie reorientacji Instytutu ową zalecaną przez Kazimierza Dąbrowskiego psychologiczną funkcję dezintegracji pozytywnej, polegającej na tym, iż realizacja wspólnego celu dezintegruje, likwiduje konflikty między partnerami ów wspólny cel sobie stawiającymi. Dla porządku tylko warto zanotować, że pierwsze poważne pieniądze inwestycyjne uzyskaliśmy w roku 1990, w 1992 wprowadziliśmy połowę zespołu do pierwszego pawilonu, w 1994 (w końcu listopada) otworzyliśmy całość nowej. I też tylko dla przypomnienia – wydaliśmy na budowę (17 000 m²) równowartość około 8 mln dolarów US, w tym 1/5 pochodziła ze środków własnych Instytutu. I w dodatku była to powierzchnia całkowicie, nowoczesnie wyposażona. Warto o tym wiedzieć, choćby po to by móc dokonać porównania z kosztami innych inwestycji. I pamiętać warto, że wiechę na nasz gmach wciągali Wacław Gajewski z Piotrem Słonińskim (tu ukłon w stronę kaprysów historii – przecież w poprzednim rozdziale widzieliśmy ich obu w nieco innej sytuacji...). Już wspominałem o roli, jaką spełniało w owym procesie transformacji Centrum Polsko-Fran-



DRUGIE SYMPOZJUM IBB „RESEARCH REPORT”, listopad 1994

Postępy prac referowali kierownicy Zespołów; Dyskusje odbywały się przy kawie w przerwach.

1. Referuje Monika Jeżewska, dyskutują Andrzej Paszewski i Zofia Lassotowa.
2. Referuje Joanna Rytko, słuchają Zofia Lassotowa, Andrzej Paszewski.
3. Referuje Zygmunt Cieśla;
4. W przerwie przy kawie Włodzimierz Jachymczyk z Aliną Taylor (Uniwersytet Gdański).

cuskie, łączące nas również ze środowiskiem krajowych biologów molekularnych, szczególnie z Instytutem Chemii Bioorganicznej PAN. Warto też przypomnieć, że dorobek tego Centrum to 120 publikacji doświadczalnych, powyżej 200 komunikatów, dwa patenty. I co ważniejsze – wejście w system współkierowania pracami doktorskimi przez polskich i francuskich uczonych, który jak dotąd zaowocował ponad trzydziestoma doktoratami przedstawianymi zgodnie z zasadami doktoratu europejskiego (praca pisana w języku kongresowym, oparta o doświadczenia wykonywane w laboratoriach polskich i francuskich). Ważne w transformacji Instytutu stało się powstanie jego Filii na Uniwersytecie Gdańskim, z inicjatywy prof. Karola Taylora. Cały proces tworzenia nowej struktury Instytutu znalazł wsparcie wśród naszych pracowników rozrzuconych poza granicami, zajmujących istotne pozycje w świecie nauki. Owo wsparcie wyraziło się w ich zgodzie na wejście w skład Grupy Doradczej, której członkowie odwiedzają nas często, wygłaszają wykłady, śledzą i oceniają nasze badania.

W tej nowej strukturze instytutowej znalazło się miejsce dla naukowców z krajów sąsiednich. W 1994

roku zorganizowaliśmy system stypendiów dla kolegów z Europy Środkowej i Wschodniej. Pieniądze na ten cel początkowo pochodziły z UNESCO a potem, za niepisaną zgodą CNRS, były częścią naszych kompensat za pieniądze francuskie przeznaczone na stypendia polskich doktorantów. System tych stypendiów od początku pozostaje pod opieką prof. Szafrąńskiego. I też dla pamięci warto odnotować, że w ciągu tych lat potrafiliśmy przyjąć w IBB naukowców na staże trwające łącznie ponad 120 miesięcy. UNESCO pomogło nam także w uruchomieniu programu bioinformatycznego „Polska-Izrael” wiążącego IBB z Instytutem Weizmanna. Ze strony izraelskiej wspierali nas w tym Ephraim Katzir-Katchalski, Michał Sela, Meir Edelman i Leon Esterman. Ze strony UNESCO – Dyrektor Generalny Federico Mayor. To właśnie Mayor wręczał medal UNESCO Michałowi Seli tutaj w Warszawie, a obaj wielcy naukowcy, nasi izraelscy przyjaciele – Katzir-Katchalski i Sela uhonorowali nas wchodząc w skład Rady naszego Centrum Doskonałości.

W tym samym roku stworzyliśmy w Instytucie „Fundusz powrotów”, znów na początku wspomagamy



DRUGIE SYMPOZJUM IBB „RESEARCH REPORT”, listopad 1994
Dyskusje przy kawie w przerwach obrad Sympozjum.

1. Jarosław Kuśmierek, Tadeusz Kulikowski.
2. Irena Pietrzykowska, Andrzej Rabczenko.
3. Grażyna Muszyńska, Tadeusz Chojnacki, Marcin Grynberg.
4. Małgorzata Piotrowska, Teresa Żołądek, Marzena Sieńko.

przez UNESCO a przeznaczony na pierwsze potrzeby warsztatu badawczego kolegów wracających do nas z zagranicy po dłuższych stażach.

Przypominam o tym wszystkim dlatego, że pamięć ulotna. Część kosztów budowy i powstający wówczas system stypendialny dla doktorantów były finansowane z budżetu Instytutu. To oznaczało że w latach 1990-1995 prowadziliśmy dość nietypową politykę finansową. Za zgodą wszystkich samodzielnych pracowników ograniczony został wzrost płac tej właśnie grupy. W sumie fundusze pozwalające na stworzenie systemu stypendiów doktorskich powstały z należnych im pensji. Była to decyzja społeczności instytutowej, o której nie wolno zapominać, decyzja wsparta autorytetem Zofii Lassotowej. Ten dziwny system, w którym pieniądze na stypendia doktoranckie pochodzą z budżetu Instytutu, działa do dziś i jakoś nikt nie zauważa, że w IBB (i innych instytutach) trwa kształcenie nowego pokolenia naukowców, niefinansowane ani przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji, ani przez Ministerstwo Edukacji Narodowej i Sportu. Tak to sobie jakoś w Polsce radzimy, chociaż nie jesteśmy rozpieszczani przez budżet.

A wracając do europocentryzmu – jakimś zwieńczeniem tego naszego kierunku działania stał się sukces Instytutu w konkursie Unii na Centra Doskonałości w krajach stowarzyszonych z UE ogłoszonym w 1998 roku. Warto wiedzieć, że na 169 instytucji naukowych z 11 krajów zostaliśmy sklasyfikowani na dziewiątym miejscu, najwyżej spośród polskich zespołów zajmujących się naukami przyrodniczymi. Jak dotąd, zespoły Instytutu w IV, V i VI Programach Ramowych sumarycznie były obecne w 20 finansowanych przez Unię projektach badawczych. Ta aktywność została zauważona, Instytut był dwukrotnie wyróżniony przez Rząd za tę część swojej działalności. Jeden z tych programów obejmuje stworzenie w Instytucie „Marie Curie Training site” Unii. Działalność Centrum, ośrodka szkoleniowego i innych programów koordynował w latach 1999-2004 Andrzej Rabczenko, za co mu chwała.

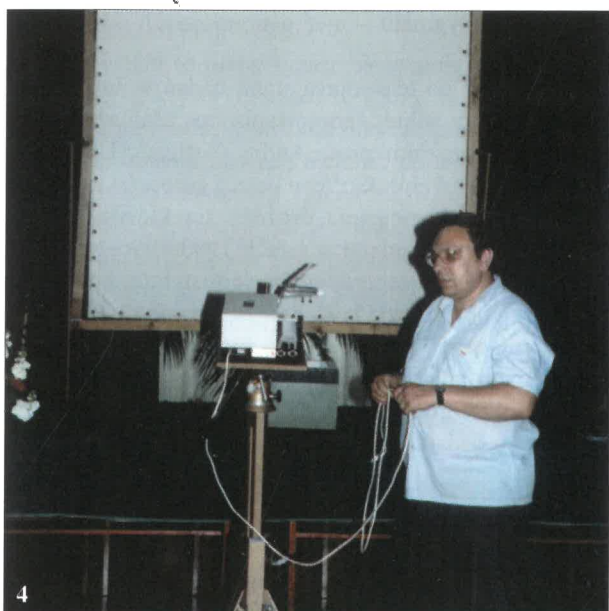
Tu kończę opis nowej struktury. Celem jej powołania było oczywiście skreowanie warunków do podjęcia nowych wyzwań badawczych, a nie samo owej struktury stworzenie. Sądząc po liczbie realizowanych programów, po klasyfikacjach w różnych systemach ocen krajowych i zagranicznych zespoły Instytutu tę strukturę wykorzystują. Dokumentacją tego była nasza tradycyjna sesja naukowa, organizowana już po raz piąty i poświęcona omówieniu tematyki badawczej placówki. Tym razem zbiegła się ona z pięćdziesiątą rocznicą powstania Zakładu Biochemii, przekształconego po niespełna dwóch latach w Instytut.

Jubileusz

Obchody pięćdziesięciolecia zorganizowaliśmy z pewną myślą. Chcieliśmy, by część oficjalna nie była

ich dominantą. I tak się stało – ograniczyła się ona do dwugodzinnej uroczystej sesji Rady Naukowej, prowadzonej przez Andrzeja Paszewskiego. W jej trakcie złożono nam gratulacje, cenimy sobie szczególnie te od Premiera Rządu RP oraz od prof. Andrzeja Legockiego, Prezesa PAN i naszego przyjaciela. Wielu pracowników Instytutu otrzymało odznaczenia państwowe. Szczególnym momentem i znakiem istnienia owej specjalnej więzi łączącej społeczność „instytutową” stało się wręczenie zasłużonej naszej profesurze wyróżnień Molecular Research Center. W imieniu dr Piotra Chomczyńskiego, Prezydenta MRC, wręczała je Jego córka, Dorota Mochacka. Owe wyróżnienia (dyplom i zestaw pamiątkowych monet) otrzymali prof. prof. Wierzchowski, Szafranski, Szarkowski, Jeżewska, Wielgat, Chojnacki, Shugar, Buchowicz, Hulanicka i autor tego szkicu.

Po tej części pożegnaliśmy lampką wina pięćdziesiąt lat Instytutu i wróciliśmy do pracy. Przez cztery następne dni w ramach konferencji „Comparative Genomics for Health and Environment” nasi pracownicy oraz krąg współpracowników i przyjaciół IBB przedstawiali swoje najnowsze wyniki. Wykłady wygłosili: Piotr Słonimski (CGM CNRS), Witold Filipowicz (FMI) Grzegorz Węgrzyn (Uniwersytet Gdański), Gunter Kahl (Wolfgang Goethe Universität), Katarzyna Bębenek (NIH), Roel Schaaper (NIH), Jolanta Jura (Uniwersytet Jagielloński), Maciej Żylicz (Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej), Jadwiga Chroboczek (Institute Biologie Structurale), Hilary Koprowski (Thomas Jefferson University), Ryszard Kole (Lineberger, Comprehensive Cancer Center), Paweł Henryk Herzyk (Institute of Biomedical and Life Sciences), Aleksander Spirin (Institute of Protein Research). Kolejnym sesjom poświęconym pracom zespołów instytutowych współprzewodniczyli goście honorowi: Waław Szybalski (McArdle Institute, Wisconsin), Judy Campbell (University of California), Christian Kubicek (Vienna University of Technology), Anna El'skaya (Institute of Molecular Biology and Genetics, Kiev), Aleksander Edelman (Hospital Necker). Konferencja stała się swoistym przeglądem pól badawczych zaawansowanej biologii molekularnej. Piotr Słonimski wprowadził słuchaczy w paradygmaty genomiki, Hilary Koprowski omówił nowe podejścia do uzyskiwania szczepionek, Witold Filipowicz przedstawił sprawę udziału regulacyjnych RNA w kontroli ekspresji genetycznej u eukariontów. Ryszard Kole wskazał nowe metody kontroli składowania genów w organizmach ssaków. Konferencja była przeglądem badań rozwijanych w Instytucie w 2004 roku. Jasne, że ważnym wśród nich jest genomika, zresztą konferencję otwierał referat jednego z twórców tej nowej dziedziny biologii. Biologia molekularna roślin w Instytucie koncentruje się wokół reakcji roślin na stres, umieszcza też te badania w aktualnym kontekście rozwoju nauki światowej. Interesują nas również próby otrzymywania szczepionek doustnych opartych o ekspresję wybranych anty-



HONOROWI GOŚCIE SYMPOZJUM IBB, 1994

1. Piotr Słonimski (Gif-sur-Yvette, Francja).
2. Michael Sela (Israel) w trakcie obrad Sympozjum.

3 i 4. Ci, którzy zadbali o wszystko przy obradach – Sekretariat Naukowy: Katarzyna Jagiełło, Ałła Bulanda, Ewa Kowalska; Michał Herburt przygotowuje projektor.

genów w roślinach. To dlatego uhonorował nas swoim wykładem Hilary Koprowski, twórca szczepionki przeciw polio, dziś animator programów szczepionkowych opartych o transgeniczne rośliny.

Jedną z naszych specjalności są badania nad mutagenезą, dotyczące zarówno mechanizmów generalnych, jak i swoistych, związanych z onkogenезą. Zespoły zajmujące się czynnością określonych genów prowadzą te analizy stosując podejścia masowe, ujawniające związki między działaniem badanego genu a ekspresją innych elementów genomu. Takie eksperymenty otwierają drogę do spojrzenia całościowego na czynności komórki i oznaczają, iż Instytut zaczyna wchodzić aktywnie w rodzący się nowy paradygmat przyrodznawstwa –

biologię systemów. Ta oczywista tendencja w istocie zawarta jest w wielu wystąpieniach, podczas sesji IV i V. Tu warto wspomnieć, iż w ostatnim wykładzie gościnnym Aleksander Spirin, jeden z twórców wiedzy o mechanizmach syntezy białka, przedstawiał techniki masowego otrzymywania białek w zrobotyzowanych układach biologicznych.

Nie chcę poświęcać więcej miejsca omawianiu naszej sesji jubileuszowej, zainteresowanych skieruję do opublikowanych materiałów „Comparative Genomics for Health and Environment”. Nie mogę jednak w tym miejscu nie wspomnieć o czterech pracach opublikowanych właśnie w okresie przygotowań i trwania naszej konferencji. Michał Dadlez dokładnie w dniu otwarcia konferencji przekazał mi szcztkę pracy „Global proteomic approach unmasks involvement of keratins 8 and 18 in the delivery of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)/ΔF508-CFTR to the plasma membrane”, *Proteomics* 2004, 4, 0000-0000 poświęconej mechanizmowi mukopoliwiscydozy. Jej autorzy wskazali, iż mutacja w kanale chlorkowym powodująca tę chorobę nie prowadzi do utraty aktywności kanału.

Wywołuje za to zupełnie niespodziewany efekt – zmutowany kanał zostaje związany w cytoplazmie przez keratynę 8 – białko cytoszkieletu i nie przedostaje się do błony komórkowej. Jeśli zmniejszy się syntezę owej „kotwicy” – keratyny 8, to zmutowany kanał „wyskakuje” na powierzchnię, inkrustuje błonę i jest w pełni czynny. To zupełnie nowe spojrzenie na patogenезę tej ciężkiej choroby, w oczywisty sposób otwierające swoiste perspektywy farmakologiczne (choćby oparte o syntezę peptydów zmniejszających interakcję zmutowanego kanału z keratyną 8) i diagnostyczne.

Drugą pracę wręczyła mi – także w trakcie konferencji – Małgorzata Łobocka. Publikacja „Genome of Bacteriophage P1” traktuje o genomie faga P1, podaje pełną sekwencję faga i profaga i analizuje wszystkie ramki odczytu zawarte w tej sekwencji. Jak na pracę doświadczalną jest ona w pewien sposób ekstrawagancka – ma aż 34 strony, *Journal of Bacteriology*, 2004, *186*, 21, 7032-7068 nie tylko przeznaczona na nią tyle miejsca, ale i opatruje ją komentarzem redakcyjnym, a co więcej – poświęca jej okładkę numeru. Praca już odnotowana została w *Nature*, szykowane jest jej omówienie w biuletynie *American Microbiological Society*. Na pewno będzie trwałym odnośnikiem literaturowym, dotyczącym faga, którego pochodną jest plazmid pBR i którego badania doprowadziły do poznania mechanizmów restrykcji i modyfikacji. Pełne poznanie jego genomu otwiera nowe perspektywy w badaniu współzależności między ekspresją genomu faga i komórki gospodarza. Znając tę sekwencję łatwo na przykład skonstruować mikrouzeregowania DNA faga i śledzić jego cykl życiowy w czasie – *in toto*. Nie muszę tu podkreślać, jak ważna jest znajomość genomów fagów w perspektywie myślenia o fagoterapiach.

Trzecią publikacją, ogłoszoną w końcu sierpnia 2004 jest praca Marka Zagulskiego i współpracowników „High Coding Density on the Largest Paramecium tetraurelia Somatic Chromosome” (*Curr. Biol.* 14(15) 1397-404, 2004) podająca sekwencję najdłuższego chromosomu somatycznego *Paramecium*. Autorzy przedstawiają też analizę informatyczną sekwencji, podają listę zawartych w niej genów. To wyniki o znaczeniu – jak i poprzednie – trwałym. Jest to druga praca tego zespołu poświęcona poznaniu genów orzęska, dlatego ważna, iż pozwoliła na stworzenie narzędzi informatycznych używanych w tej chwili przez „Genoscope” J. Weissenbacha do analizy i uporządkowania pełnego genomu *Paramecium*. Genom ten zawiera najprawdopodobniej 35 000 genów, jest więc pewnie nieco większy niż ludzki. Jego pełne sekwencjonowanie jest w tej chwili największym projektem genomowym w Europie, a nasze w nim uczestnictwo jest znaczące. Oczywiście wysiłek zespołu Marka Zagulskiego wpisuje się na trwałe w fundamenty wiedzy o genomice porównawczej. W kilka dni po konferencji Andrzej Kierzek przekazał nam kopię artykułu w *Nature* 432 (9 December 2004), którego jest współau-

torem („Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution”, aut. International Chicken Genome Sequencing Consortium). Kierzek jest jednym z autorów tej publikacji, a IBB, gdzie wykonuje badania, znalazł się wśród pięćdziesięciu głównych instytucji światowych prowadzących badania genomowe. Praca ta to jeden z kamieni milowych w genomice porównawczej, opisuje pełny genom ptasi (20-23 000 genów) i wskazuje na zasadnicze elementy architektury chromosomów kręgowców. I znów – będzie ona stanowić trwały wkład do światowej wiedzy biologicznej. Tak więc w końcu 2004 roku, w swoje pięćdziesięciolecie Instytut dzięki wspomnianym badaniom znajduje się w głównym nurcie nowego paradygmatu – ujęć genomicznych problemów biologii

Co dodać do tego opisu stanu badań w Instytucie? Nie odmówię sobie zanotowania tu zdania jednego z Gości sympozjum prof. Andre Goffeau (Universite Catholique Louvain). Goffeau – szef europejskiego programu sekwencjonowania drożdży (w którym zresztą braliśmy aktywny udział w latach 1993-1996) w czasie spotkania oceniającego działalność Instytutu, kończąc konferencję powiedział wprost: „takiego Instytutu, tak pracującego my w Belgii – nie mamy”. Niech ten komplement z ust jednego z najpoważniejszych autorytetów nauki europejskiej zakończy omówienie naszych aktualnych badań.

Perspektywy

Zajmowanie się futurologią – rozpoznaniem przyszłości, szczególnie przyszłości nauki to zadanie wdzieczne dla odpowiednich ciał zbiorowych. Ale – mniej ironicznie – pewne rzeczy, szczególnie dotyczące bliskiej przyszłości, przewidzieć można, można je też (i nawet pewnie należy) planować. Z punktu widzenia technicznego przewidujemy i planujemy kilka istotnych uzupełnień potencjału metodycznego Instytutu. W 2005 roku otworzymy pracownię mikroskopii (mikroskop konfokalny, doposażenie, mikroskop fazowy). Techniki mikroskopowe są istotnym składnikiem metod badawczych zespołów zajmujących się podejściami całościowymi do biologii komórki. Zostanie zakończona organizacja platformy proteomicznej, laboratorium organizowanego w przestrzeniach rezerwowych Instytutu (gmach D). Mamy zamiar otworzyć pracownię hodowli komórek zwierzęcych z prawdziwego zdarzenia (największe zainteresowanie tym wyrażają zespoły zajmujące się mutagenезą i naprawą DNA oraz wirusologiczne). Ta inicjatywa może być wspierana w ramach programu Krajowego Centrum Doskonałości powołanego przy Instytucie przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji. W ramach działania Kampusowego Centrum Zaawansowanych Technologii planujemy utworzenie kolejnej platformy Molekularnej Diagnostyki Medycznej. Jej program jest

naturalnym rozwinięciem działań Pracowni Sekwencjonowania i Syntezy DNA kierowanej przez dr Marka Zagulskiego. Za rozwojem badań nad biologią molekularną roślin winien dążyć rozwój technik tej dziedziny. Mamy zamiar wkrótce podjąć działania dążące do stworzenia nowej hali fitotronowej wraz z odpowiednią, bezpieczną biologicznie szklarnią. Czas rozważyć poważnie przesprzętowanie informatyki Instytutu, szczególnie w tle rosnącego w kraju zapotrzebowania na usługi European Molecular Biology Network, którego główny węzeł osadzony jest w IBB. Warto tu wspomnieć, iż z tych baz danych korzysta dziś już ponad 1000 abonentów i że nasze serwery gromadzą wciąż rosnące światowe dane genomiczne i strukturalne, udostępniają je całemu środowisku krajowemu.

Wszystkie te plany oparte są o mniej lub bardziej realne perspektywy finansowe. Liczymy przynajmniej po części na fundusze strukturalne UE przeznaczone na wsparcie rozwoju nowych technik, po części na środki krajowe. Jeśli chodzi o te pierwsze, to wyrównywanie poziomów cywilizacyjnych w krajach UE (czemu te fundusze mają służyć) jest strategią osadzoną w rzeczywistości politycznej Europy. Sądzę, że ów instytutowy europocentryzm, o którym uprzednio mówiłem, w następnych latach przyniesie rzeczywiste wzmoczenie rozwoju bazy badawczej w kraju. Również i ta świadomość, a nie tylko generalne rozważania geopolityczne powodowała, że tak cieszyliśmy się 1 maja 2004 roku z wejścia Polski do Unii Europejskiej, wywieszając flagi polską i unijną na frontonie Instytutu. I właściwie ten europocentryzm pozwala nam na rozsądne planowanie najbliższej przyszłości. Programy naukowe Instytutu będą

w sumie determinowane przez programy ramowe Unii. A tu będzie trwać wyraźna dominacja tego, co skrótowo się określa jako bio-info-med. I dominować będą dążenia do komercjalizacji osiągnięć tych dziedzin. Czy Instytut wniesie do tych programów swój udział? Na pewno zespoły IBB będą – jak już się dzieje – uczestniczyły w różnego rodzaju programach europejskich. Naszą siłą jest oczywiście doświadczenie w genomice i informatyce, zdobyte w ostatnim dziesięcioleciu i stanowiące dziś o swoistości kultury naukowej IBB. Naszą siłą jest też osiągnięcie przyzwoitego światowego poziomu w dziedzinie stosowania różnorodnych technik współczesnej biologii molekularnej. Łatwo zauważyć, że tematyka Instytutu jest dość zróżnicowana, ale wszystkie zespoły operują pewnym ujednoliconym *modus operandi* – zestawem opanowanych podstawowych technik badawczych biologii strukturalnej i genetyki molekularnej. W zasadzie można tu zaproponować analizę czynności i struktury dowolnego genu i jego produktu, co kilkanaście lat temu było dość odległą technicznie perspektywą. Paradoksalnie ów szeroki (zbyt szeroki zapewne) wachlarz tematyczny – przy osiągniętym wysokim poziomie technicznym – jest swojego rodzaju zaletą naszej jednostki. Tworzy to z Instytutu całość zdolną do łatwego absorbowania nowych tematów, do elastycznego reagowania na wyzwania i, co istotne, do podejmowania współpracy z różnymi zespołami w zakresie tematów koncentrujących w danej chwili uwagę środowisk naukowych czy decyzyjnych. Ta elastyczność leży u podłoża uczestnictwa Instytutu w systemach grantowych, czego dowodem jest nasza obecność w programach Unii, NIH, NATO, MNiI. Sądzę, że jest ona pochodną atmos-



IBB świętuje wejście Polski do Unii Europejskiej, zdjęcie wykonano 20 czerwca 2004.



Organizatorzy 29 Kongresu FEBS w Warszawie, prof. Liliana Konarska oraz prof. Włodzimierz Zagórski-Ostojka po zakończeniu obrad, 1 lipca 2004.

fery wolności nauki w istocie panującej od zawsze w Instytucie. Wierzę, że w następnych latach ta zasada nie ulegnie zmianie i że żadna parametryzacja nie zastąpi tu szacunku dla wysiłku poznawczego i zdrowego rozsądku. To właśnie tę postawę ciągłego zainteresowania nowym i rozbudowaną zdolność do uczestnictwa w rozwoju naszej dziedziny wnosimy do działań badawczych kontynentu. A jej nosicielami wierzę, że będą kolejne fale naszych doktorantów (było ich w IBB w końcu roku 2004 ponad stu), już w tej chwili będących liczącą się w Europie grupą młodych biologów molekularnych.

Jeśli chodzi o kontekst krajowy, to sprawy są mniej jasne. Niezdefiniowany dziś stosunek do roli nauk podstawowych w polskim społeczeństwie jest tylko pochodną ogólnego niezdefiniowania reguł działania owego społeczeństwa, ciągle jakby po omacku szukającego zapomnianych prostych zasad. Rozhuśtani między prymitywnymi opowieściami o liberalizmie ekonomicznym a spaczonym solidaryzmem, szukamy wciąż formuły porządku wewnętrznego, zapewniającego to, co ładnie po angielsku nazywa się *sustainable development*. Warto tu przypomnieć, iż jedną z takich prostych zasad w uporządkowanych społeczeństwach jest zapewnienie naukom podstawowym odpowiedniego miejsca. Skrajne propozycje społeczne w przypadku nauki niosą swoiste zagrożenie, solidaryzm roszczeniowy może wyrodzić się

w stagnację, komercjalizacja nauki – w hucpę. Obie rzeczy są dla rozwoju nauki niebezpieczne. Jeśli chodzi o tę drugą, to liczne doświadczenia z tzw. „poprzedniego okresu” mówią, iż dominacja myślenia o nauce tylko w kategoriach zastosowań kończy się źle. Jak często powtarza Federico Mayor: „po to, by mieć naukę stosowaną, najpierw należy mieć naukę”. Oczywiście w naszej dziedzinie myślenie praktyczne jest jednym z motorów badawczych. Ale nie należy się poddawać myśleniu życzeniowemu i tworzyć na użytek inwestora czy grantodawcy mitów o naszej wszechmocy. Wydaje mi się, że zespoły Instytutu nie zgrzeszą tu przeciw zdrowemu rozsądkowi, choć będzie to wymagać wysiłku, bowiem myślenie magiczne wcale nie odeszło z poprzednio dominującą filozofią, tyle że objęło inne cele życiowe. Wygląda na to, że tak jak w poprzednim okresie, kto nie obieca

gruszek na wierzbie, nie będzie chętnie widziany na świeczniku. Ale to jest po prostu – los naukowca. Nie być handlarzem idei, tylko ich analitykiem. Sądzę, że tego typu funkcja społeczna nauki będzie w sumie zauważona i że znajdziemy może nie wystarczające, ale jednak wsparcie Państwa. Niestety wydaje się, że czeka nas też wzrost konfliktów nauki z administracją. Jego źródłem będzie narastający nadmiar prawa. Problem dotyczy całego naszego społeczeństwa, ale nauka jest na to bardzo wyczulona. Wraz z innymi będziemy się porać z lokalnym mętniactwem prawnym, ubierającym się w piórka międzynarodowości, zakłócającym ciągłość działania i będącym wyrazem chęci kontroli nad każdym przejawem życia. Warto tu tylko przypomnieć że „nadmiar prawa jest bezprawiem”, bo daje pole woluntaryzmowi. Poważnej nauki nie da się uprawiać w przeregulowanym systemie, ponieważ krępuje on inwencję. Żeby i tu znaleźć jakiś element optymistyczny, można powiedzieć, że i systemy prawne mają tendencję do samoczyszczenia się, jednak pod warunkiem działania świątłych ludzi.

Wierzę (może nawet wiem), że typ kultury naukowej wypracowany w Instytucie, oparty o swobodę badań, szacunek dla osiągnięć i cenie innych, ma swoją wartość oczywistą dla nas, ale i stanowi jakiś wzór środowiskowy.

INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI

Założenia, osiągnięcia i perspektywy*

Józef Heller

Członek korespondent PAN

NAUKA POLSKA

Rok IX nr 1 (33) 1961

Biochemia jest dziś bez wątpienia jedną z najważniejszych rozwijających się nauk. Rozwija się nie tylko w głąb, pozwalając nam coraz lepiej wnikać w podstawowe procesy życia, ale i wszcz – opanowując sąsiednie dziedziny jak histochemia, mikrobiologia czy genetyka. Jest ona stosunkowo młodą gałęzią nauki, gdyż dopiero pod koniec XIX wieku zaczęła się wyodrębniać od fizjologii i chemii, z których wywodzą się jej początki. Jako wyraźna odrębna dyscyplina skryształizowała się jednak dopiero w 20-leciu międzywojennym. W tym okresie polska biochemia zajmowała w niej poważną pozycję. We Lwowie J. Parnas ze swoją liczną szkołą był współtwórcą współczesnych poglądów na metabolizm cukrowców.

W Krakowie L. Marchlewski był powszechnie uznanym autorytetem w zagadnieniach struktury chlorofilu, barwnika krwi i cukrów. W Warszawie S. T. Przyłęcki kładł fundamenty pod dzisiejsze zrozumienie białek złożonych. Szeroko były znane prace nad fermentacjami T. Chrzęszcza oraz pionierskie prace prof. K. Białaszewicza z pogranicza biochemii i fizjologii porównawczej.

Straty wojenne biochemii polskiej były przerażające nawet w zestawieniu z ogólnym bilansem strat nauki polskiej.

Z chwilą uzyskania dostępu do piśmiennictwa światowego stało się jasne, że rozwój biochemii przybrał tempo wręcz zawrotne. Postęp ten biochemia światowa zawdzięcza nadzwyczajnemu rozwojowi techniki laboratoryjnej, głównie przez zastosowanie sprzętu elektro- nowego oraz wielokrotnemu wzrostowi kadry. Wyposażenie materialne naszych pracowni, dostateczne lub nawet dobre w 1939 roku, w 10 lat później okazało się bez mała archaiczne, tak znaczny był postęp metodyczny w tym okresie. Zwłaszcza groźny był ubytek przez

śmierć i emigrację młodej kadry. Co więcej, tradycyjne kierunki wyższych studiów dawały absolwentom przygotowanie zbyt jednostronne w stosunku do wymagań, jakie stawiają nowoczesne badania biochemiczne. Metody fizykochemiczne, jak spektrofotometria, ultrawirówki, elektroforeza, mikroskopia elektronowa, stosowanie izotopów, prace w niskich temperaturach, delikatne mikrometody analityczne, coraz bardziej złożone eksperymenty enzymatyczne – wszystkie szeroko stosowane w świecie i to na co dzień – oddają nieocenione usługi,



Profesor Józef Heller w swoim gabinecie na Krakowskim Przedmieściu, 1956 r.

* Dyrektorem Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN jest prof. Józef Heller. Adres Instytutu: Warszawa, Krakowskie Przedmieście 26/28 (Przyp. red.)

ale wymagają przygotowania. Przyrodników i lekarzy trzeba więc było doszkalać w dziedzinie chemii i fizyki, chemików i fizyków zaś – w dziedzinie biologii.

W tym stanie biochemii polskiej zapadła w 1951 r. decyzja skoncentrowania wysiłków przez powołanie w Warszawie placówki biochemicznej przy Państwowym Zakładzie Higieny z wyraźnym założeniem, że ma to być załączek przyszłego Instytutu Biochemii. Skromny ten związek został przekształcony uchwałą Sekretariatu Naukowego PAN z dnia 2 V 1954 r. w Zakład Biochemii PAN. Zakład ten skupił około 30 pracowników nauki związanych z biochemią, a rozproszonych przedtem w trzech różnych placówkach warszawskich: Akademii Medycznej, PZH i SGGW. Zakład Biochemii miał przede wszystkim kształcić młodych pracowników, a równocześnie podjąć i rozwijać wielokierunkowe badania w podstawowych problemach biochemii. Utworzono wówczas 5 pracowni: Biochemii Ewolucyjnej, Biofizyki, Cytochemii, Immunochemii i Biochemii Roślin. Pracownie te, związane organizacyjnie, lokalowo były jednak rozrzucone w czterech różnych punktach miasta. Braki w podstawowym wyposażeniu aparaturowym ratował w pewnym stopniu fakt, że instytucje, na których bazie powstał Zakład, w miarę możliwości udostępniały korzystanie z ich wyposażenia. Niektóre aparaty po prostu wypożyczano okresowo, jak na przykład spektrofotometr z Centralnego Inspektoratu Standaryzacji czy też termostat lub lampę kwarcową z Instytutu Gruźlicy. W skład ówczesnego personelu naukowego Zakładu wchodziło 3 samodzielnych pracowników nauki i 2 pracowników z tytułem doktora. W tym stanie rozpoczęła się praca organizacyjna, szkoleniowa i badawcza.

Gdy po dwu latach podsumowano wyniki prac Zakładu, okazało się, że Zakład Biochemii skupia w swych ramach 4 profesorów, 3 docentów, 1 pracownika w trakcie usamodzielniania się oraz 34 pomocniczych pracowników nauki. Zespół ten legitymował się ogłoszeniem w okresie 2 lat około 40 publikacji naukowych. Kierunki prac badawczych reprezentowały różne dziedziny: od biochemii drobnoustrojów i wirusów, poprzez biochemię rozwoju osobniczego i biochemię roślin, aż do szczególnie aktualnej dziedziny – biofizyki. W tym też okresie Zakład przygotował się naukowo do rozpoczęcia prac z izotopami.

Niestety, sytuacja lokalowa zakładu pozostała niezmieniona, szczególnie dotkliwie dawały się odczuć braki w wyposażeniu aparaturowym, mimo iż w miarę możliwości starano się o uzupełnienie wyposażenia. Trzeba tu podkreślić, że spośród nauk biologicznych biochemia jest uzależniona od aparatury. To również było przyczyną, że praca naukowa Zakładu, mimo iż wielokierunkowa, nie odzwierciedlała jednak nowych kierunków badawczych.

To nienadążanie za rozwojem biochemii światowej, słuszne żądania pomocy od biochemików napływające z innych dziedzin nauki, a z drugiej strony mimo wszyst-

ko niemałe osiągnięcia wciąż rosnącej kadry Zakładu – zadecydowały o przekształceniu Zakładu Biochemii w Instytut Biochemii i Biofizyki PAN. Sekretariat Naukowy PAN podjął uchwałę o powstaniu Instytutu w dniu 10 I 1956 roku. Uchwała ta uwzględniała konieczność zarówno budowy nowego pomieszczenia dla Instytutu jak i wyposażenia go w niezbędną aparaturę.

Trzeba tu od razu stwierdzić, że sytuacja lokalowa *de facto* nadal nie uległa zmianie. Plany inwestycyjne przewidują budowę własnego gmachu i wówczas dopiero może ulec likwidacji bardzo uciążliwe rozbieganie lokalowe Instytutu, ciasnota panująca w pracowniach, tymczasowość ustawienia aparatury, złe warunki pracy i dodatkowe, zbędne w normalnych warunkach trudności organizacyjne.

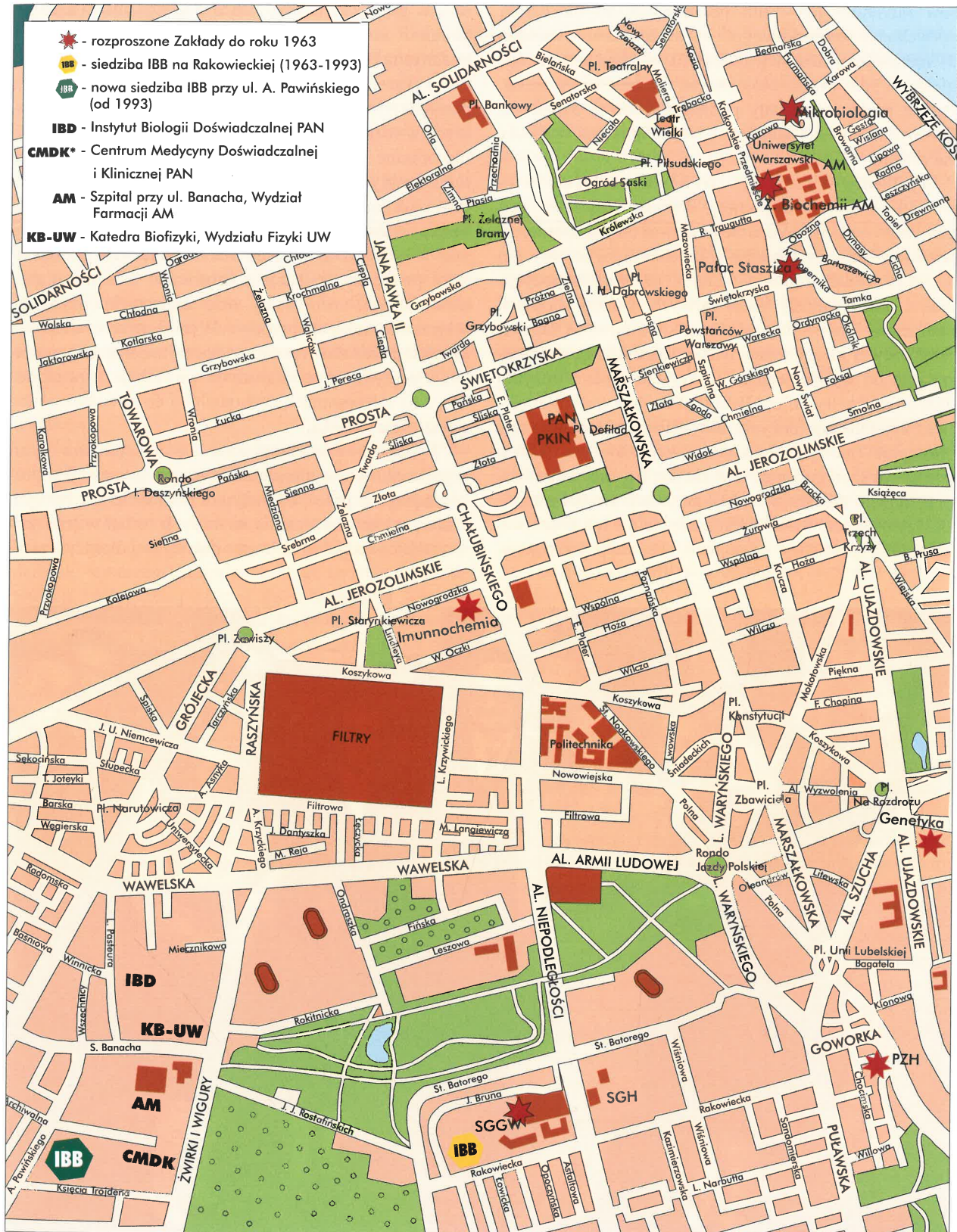
W okresie pierwszych 3 lat swego istnienia Instytut uzyskał zasadnicze wyposażenie aparaturowe, które pozwoliło podjąć badania o tematyce aktualnej w biochemii światowej.

W ostatnich 2 latach jednak sytuacja pogorszyła się i Instytut znowu nie nadąża za postępem technicznym. Tak, na przykład, badania nad biosyntezą białka, w których Instytut uzyskał wybitne osiągnięcia, wymagają obecnie wirówek dających 100.000-krotne przyspieszenie ziemskie. Rozporządzamy jedynie wirówką dającą 40.000-krotne przyspieszenie ziemskie.

W tych warunkach nasze frakcje podkomórkowe są mniej jednorodne, gorzej zdefiniowane, przez co i uzyskane wyniki tracą swoją moc przekonywującą.

Pomijam już przewagę jaką daje innym pracownikom automatyzacja. Nieustannie i dość powszechnie znane trudności z dostawą części zamiennych i konserwacją aparatów stają się zbyt często powodem straty tak czasu jak i niekiedy cennego materiału doświadczalnego. Stąd też wyjazdy naszych pracowników do ośrodków zagranicznych w niektórych przypadkach są niezbędnym warunkiem kontynuacji prac rozpoczętych w Instytucie. Wyposażenie nie nadąża za rozwojem naszych koncepcji badawczych i pewnych doświadczeń potrzebnych dla sprawdzenia naszych hipotez nie możemy podjąć na miejscu. Na 33 etaty pracowników ze stopniem naukowym przypada w Instytucie 17 etatów pracowników naukowo-technicznych. Stosunek ten w biochemii, w nauce, której podstawę stanowią doświadczenia na ogół skomplikowane, wymagające wieloetapowego przygotowania, jest niewłaściwy i pociąga za sobą niepotrzebne obciążenie pracowników nauki. Niestety, zarówno trudności etatowe, jak i już opisane, trudności lokalowe chwilowo uniemożliwiają stworzenie prawidłowych proporcji. Mimo tych dokuczliwych zresztą i niepotrzebnie pozerających czas i wysiłek trudności działalności naukowa Instytutu w ostatnich czterech latach przyniosła godne uwagi rezultaty.

Obecnie prace badawcze w Instytucie skupiają się wokół następujących problemów: 1) synteza białek i nukleopeptydów; 2) radiochemia i enzymatyka kwa-



* obecnie Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego

Rozmieszczenie lokali IBB w Warszawie (1954-2004)

sów nukleinowych i ich pochodnych; 3) biochemia oddychania komórkowego; 4) metabolizm owadów; 5) metabolizm azotowy roślin; 6) budowa immunologiczna a aktywność biologiczna; 7) biochemia nerki. Pewne problemy zostały podjęte jeszcze w Zakładzie Biochemii Polskiej Akademii Nauk, inne zaś wyłoniły się później.

Problemy syntezy białek i nukleopeptydów został podjęty dopiero wówczas, gdy pozwoliło na to wyposażenie pracowni (szybkoobrotowe wirówki, izotopy). Obecnie w biochemii światowej ten kierunek badań zajmuje jedną z czołowych pozycji. Nasze prace wniosły wiele nowych, bardzo istotnych elementów i pozwoliły wysunąć kilka nowych sugestii dotyczących mechanizmu syntezy białka. Prace te rozpoczęto od wyizolowania i wykrystalizowania enzymu aktywującego tryptofan. Była to pierwsza w piśmiennictwie krystalizacja enzymu aktywującego aminokwasy. Następnie, na tymże enzymie wykazano, że wbrew poglądom szeregu autorów witamina B₁₂ nie bierze bezpośredniego udziału w reakcji aktywacji aminokwasów. Dalszym etapem było stwierdzenie, że nie ma ilościowej zależności pomiędzy poziomem aktywacji aminokwa-

sów w grupie karboksylowej a intensywnością syntezy białka i zawartością tych aminokwasów w białkach badanych obiektów (jedwabnik, świnka morska). Wreszcie wykazano przy użyciu izotopów istnienie korelacji pomiędzy syntezą białek i syntezą kwasów nukleinowych w rozpuszczalnej części cytoplazmy oraz wykryto nie opisane dotychczas u ssaków związki o charakterze nukleopeptydów. Bliższa charakterystyka nukleopeptydów oraz badania nad ich syntezą *in vitro* i włączaniem w białka wskazują, że związki te mogą stanowić pośredni etap w biosyntezie białek. Ponadto znaleziono podobieństwa pomiędzy białkami mikrosomów a białkami rozpuszczalnymi cytoplazmy oraz badano intensywność włączania nukleopeptydów. Wyniki przemawiają za przyjętą przez nas hipotezą roboczą, według której wiązania peptydowe powstawałyby we frakcji rozpuszczalnej, a na mikrosomach dochodziłoby do powstania wtórnej struktury białka.

Wyrazem zainteresowania się specjalistów tymi wynikami było zaproszenie naszego pracownika prowadzącego te prace, do Instytutu Rockefellera w Nowym Jorku, celem powtórzenia niektórych badań w lepszych warunkach technicznych oraz dalszej współpracy z prof.



Profesor ze współpracownikami w 50-lecie pracy naukowej, luty 1973 r. Stoją od lewej: Zofia Porębska, Tadeusz Kłopotowski, Jan Szarkowski, Hanna Wehrowa, Leszek Tomaszewski, Zofia Lassotowa, Przemysław Szafrąński, Profesor, Jerzy Buchowicz, Pani Maria Hellerowa, Kazimierz Kleczkowski, Monika Jezewska, Kazimierz Lech Wierzchowski, Maria Piechowska.

Lipmanem. Za prace z tego zakresu przyznana została nagroda zespołowa II stopnia Państwowej Rady do Spraw Pokojowego Wykorzystania Energii Jądrowej za rok 1959/60 jako za szczególnie ważne osiągnięcie w dziedzinie zastosowania energii jądrowej w biologii. Była to już 5 kolejna nagroda przyznana Instytutowi przez tę Radę.

Problem chemii radiacyjnej kwasów nukleinowych i ich enzymatyki trwa w naszym Instytucie od początku istnienia placówki. Wiąże się on w sposób naturalny z zagadnieniami opracowywanymi w ramach innych problemów. W tym sformułowaniu stanowi domenę Zakładu Biofizyki. Badania biofizyczne wymagają złożonego i bardzo kosztownego wyposażenia aparaturowego. Mimo iż brakuje w tej dziedzinie są znaczne, za pomocą tych przyrządów, którymi rozporządzamy, udało się osiągnąć wiele ciekawych wyników.

Podjęto systematyczne badania nad fotochemią kwasów nukleinowych i ich pochodnych, posługując się syntetycznymi związkami modelowymi. Oligo- i polinukleotydy niezbędne do tych prac sporządzano metodami chemicznymi i enzymatycznymi. Badania te doprowadziły do stworzenia doświadczalnego modelu fotoreaktywacji biologicznej opartej na odwracalnej fotolizie reszt pirymidynowych w łańcuchu polinukleotydowym. Jest to obecnie jedyny, zadowalający model, który opierając się na solidnych faktach doświadczalnych pozwala wyjaśnić zjawisko fotoreaktywacji nie tylko jakościowo, ale i w pewnym stopniu również ilościowo. Stwarza to podstawę do dalszych doświadczeń *in vitro*.

Badania nad fotochemią pozwoliły ponadto wysunąć pewne wnioski o strukturze i stereochemii nukleozydów i niektórych polinukleotydów. Strukturę pochodnych kwasów nukleinowych badano też za pomocą metod spektralnych. Ostatnio opublikowano obszernie badania nad widmami, strukturą i działaniem enzymów na dwuhidropirymidyny, ich nukleozydy, nukleotydy oraz polimery łańcuchowe zawierające uwodorowane pirymidyny. Prowadzone są również badania nad wpływem stymulującym oligonukleotydów na syntezę białek, na przykładzie działania zdefiniowanych oligonukleotydów modelowych na syntezę streptolizyny S w streptokokach hemolitycznych. Pewne światło na strukturę kwasu dezoksyrybonukleinowego rzuciły badania nad degradacją kwasu apurynowego. Prace te dostarczyły danych o sekwencji reszt pirymidynowych w łańcuchu DNA. W procesie degradacji kwasu apurynowego zastosowano polipeptyd alifatyczny, protaminę, co pozwoliło wykorzystać ten układ również do badań nad rolą absorpcji wiązania peptydowego, w fotochemii białek. Znaczne postępy poczyniono również w dziedzinie syntezy niaturalnych nukleotydów i ich polimerów. Wykazano, że polimery kwasu 3-metylourydylowego, otrzymane przez nas zarówno metodą chemiczną jak i enzymatyczną, nie tworzą kompleksu z polimerami kwasu urydylo-

wego, przez co potwierdzono hipotezę Watsona i Cricka. Tego typu polimery okazały się też użyteczne w badaniach nad źródłem hyperchromii oligonukleotydów oraz nad specyficznością enzymów takich jak nukleaza i fosforylaza polinukleotydowa.

Przeprowadzono również obszerne prace w kierunku zastosowania izotopów promieniotwórczych w metodyce histochemicznej. Umożliwiło to opracowanie metod pozwalających na śledzenie kinetyki reakcji enzymatycznej w pojedynczym skrawku tkanki oraz na ilościową ocenę wpływu różnych czynników na przebieg badanych reakcji. Ta technika znajduje zastosowanie w ilościowej ocenie takich reakcji jak barwienie wg. Gramma, barwienie DNA itp., oraz – co jest bardzo istotne – pozwala na dokładną ocenę grubości mikrotomowych skrawków tkanek.

Wreszcie wspólnie z Państwowym zakładem Higieny zbudowano i uruchomiono źródło promieniowania o mocy 48 Curie. Pozwala to na podjęcie szeregu badań z dziedziny radiobiologii między innymi: badanie produktów naświetlania kwasów nukleinowych, szczególnie nadtlenuków, badanie wpływu naświetlania na zdolności transformujące DNA, jak i badanie bezpośredniego i pośredniego wpływu radiacji na enzymy i na żywe tkanki.

Wyniki dotychczasowych prac zdobyły w świecie ustaloną pozycję i wywołały propozycję zarówno stałej wymiany informacji, jak i bliższej współpracy, co też Instytut realizuje z pożytkiem.

Problem biochemii oddychania komórkowego rozwinął się na gruncie badań nad metabolizmem owadów. Z prac nad metabolizmem tyrozyny wyłoniło się zagadnienie reduktazy chinowej owadów i roli chinonów w oddychaniu komórkowym. Zachęcające wyniki własne, jak i narastające zainteresowanie biochemii światowej udziałów chinonów w oddychaniu skłoniły do rozciągnięcia naszych badań również i na inne objekty – nie tylko owadzie. W ten sposób badania nad biochemią oddychania komórkowego rozrosły się w Instytucie do rozmiaru odrębnego problemu. Między innymi wykazano, że owady zawierają tak koenzym Q₁₀ (3 gatunki) jak i koenzym Q₉ (1 gatunek) wbrew poglądom, jakoby koenzym Q₉ miał być specyficzny dla owadów i bakterii. Następnie badając koenzym Q wyizolowany z serca świni stwierdzono, że jest on redukowany przez dehydrogenazę bursztynową w obecności bursztynianu i że reakcja ta jest niewrażliwa na antymycynę A, a więc że zapewne cytochrom b nie jest związany z tą reakcją. Dla właściwej oceny tych wyników należy mieć na uwadze ogromne trudności techniczne, jakie nasuwa badanie ubichinonów. Nasze wyniki pozwalają nam nawiązać równorzędną dyskusję z ośrodkami przodującymi w tej dziedzinie. Z problemem biochemii oddychania komórkowego wiązać się też będą planowane prace nad strukturą mitochondriów i lokalizacją enzymów mitochondrialnych. Rozpoczęcie tych badań stało się

możliwe dopiero po uzyskaniu przez Instytut mikroskopu elektronowego i opanowaniu tej metodyki przez naszych pracowników. Uzyskanie w ubiegłym roku stypendium zagranicznego umożliwiło jednemu z pracowników naukowych Instytutu dłuższy pobyt w zakładzie prof. Frey-Wysslinga znanego specjalisty szwajcarskiego z dziedziny mikroskopii elektronowej.

Badania nad metabolizmem owadów są prowadzone konsekwentnie od chwili powstania Zakładu. Problem ten z każdym rokiem zajmuje więcej miejsca w biochemii światowej. Owady niszczą ponad 10% wszystkich plonów, a warunkiem skutecznej walki chemicznej jest dokładne poznanie ich metabolizmu. Uzyskano wszechstronny obraz fosforowego, przemiany cukrowej i przemiany nukleinowej u owadów. Wykazano, między innymi przy pomocy fosforu radioaktywnego, że pirofosforan nieograniczony nagromadzający się w *ducus ejaculatorius* wilczomlecza powstaje tam z ortofosforanu i w czasie kopulacji przechodzi do *bursa copulatrix*, gdzie pozostaje niezmienny do końca życia samicy. Pirofosforan nieorganiczny w *ducus ejaculatorius* gromadzi się w postaci niewrażliwej na pirofosfatazę i jest związany z dużymi fragmentami komórkowymi. Badania nad pirofosfatazą wilczomlecza wykazały, że enzym ten, obecny we wszystkich stadiach rozwojowych, u motyla zachowuje swoją aktywność w wiele miesięcy po jego naturalnej śmierci. Przy pomocy izotopu fosforu wykazano również cykliczność w nagromadzaniu się i znikaniu ortofosforanu w pewnych narządach gąsienicy wilczomlecza. Z prac nad przemianą fosforową u owadów wyrosły też ciekawe badania nad syntezą fosfolipidów, obecnie również rozszerzone na inne obiekty. Znaczny postęp w tej dziedzinie stał się możliwy dzięki zastosowaniu w pracy promieniotwórczego izotopu fosforu.

Badania nad przemianą nukleinową u owadów, początkowo bardzo żmudne, przyniosły rezultaty godne uwagi szczególnie z punktu widzenia biochemii porównawczej. Wykazaliśmy, że synteza kwasu moczowego przebiega u owadów wedle schematu poznanego już u ptaków i drobnoustrojów. Dotąd panowały w tej sprawie odmienne poglądy.

Wreszcie, badania nad metabolizmem cukrowym owadów wykazały niektóre osobliwości tego obiektu, dotyczące obecności i przemian trehalozy w różnych stadiach rozwoju osobniczego.

Innym problemem konsekwentnie prowadzonym od chwili powstania naszej placówki jest metabolizm azotowy roślin. Początkowo w ramach tego problemu opracowywano zagadnienia związane z występowaniem alkaloidów w roślinach użytkowych (łubiny). Dziedzina ta bardzo ważna dla rolnictwa jest słabo poznana od strony biochemicznej. Prace Instytutu, które były przedmiotem wielu publikacji, dotyczyły zarówno biosyntezy alkaloidów, jak ich mikrobiologicznego rozpadu. Stały się one również bodźcem do nowych, cieka-

wych rozwiązań w analizie biochemicznej. Te prace, o niewątpliwym znaczeniu teoretycznym i równocześnie o aspekcie praktycznym, są zresztą nadal kontynuowane.

Sprawa biosyntezy alkaloidów stanowi jednak tylko pewien wycinek ogólnej przemiany azotowej roślin. Z chwilą więc, gdy tylko stan kadr i wyposażenia osiągnął znośny poziom, badania w tym zakresie zostały rozszerzone. W pierwszym etapie wykazano obecność cyklu ornitynowego w roślinach. Następnie, śledząc dalej role tego cyklu metabolicznego, ustalono po raz pierwszy w piśmiennictwie światowym, że jest on także u roślin wyższy związany z syntezą rdzenia pirymidynowego. Zastosowanie izotopów otworzyło drogę do racjonalnego zaatakowania tego problemu. Wyniki uzyskane dotychczas stanowią istotny, oryginalny wkład w biochemię roślin, stworzyły podstawę do dalszego wielokierunkowego rozwoju badań.

Problem budowy immunologicznej, badanej w związku z aktywnością biologiczną, w tym sformułowaniu pojawił się ostatnim roku. Uprzednio pracownia, zajmująca się tym problemem, nastawiona była głównie na badania nad syntezą faga lizogenego. Śledzono, między innymi, syntezę faga lizogenego bakteriocyny w protoplastach po indukcji UV oraz badano zależność pomiędzy tą syntezą enzymu adaptacyjnego beta-galaktazydy, stwierdzając kompetycję tych dwóch procesów. Badano też wpływ zakażenia wirusem na metabolizm tkanki nowotworowej *in vitro*. W roku 1957 rozpoczęto badania nad mechanizmem transformacji pneumokoków, szczególnie nad przenikaniem DNA do komórki transformowanej. Ten kierunek badawczy, mimo szeregu godnych uwagi osiągnięć, które były przedmiotem wielu publikacji, był słabo reprezentowany w roku 1959 w związku ze zmianami personalnymi i organizacyjnymi. Po reorganizacji utrzymano badania nad mechanizmem transformacji bakteryjnej jako jeden z tematów, podjęto szersze badania nad glikoproteidami, ich budową i rolą biologiczną, oraz immunochemiczne badania antygenów powierzchniowych.

W roku 1959 powstała w Gdańsku Pracownia Biochemii Patologicznej Instytutu. Pracownia ta zainicjowała prace z zakresu aminoacydury. Ciekawe wyniki tych prac, mianowicie wywoływanie zespołu aminoacydury doświadczalnej pod wpływem zatrucia kwasem maleinowym oraz spostrzeżenia nad mechanizmem tego zjawiska, wzbudziły znaczne zainteresowanie po opublikowaniu wyników prac. Prace te rozrosły się do rozmiarów odrębnego problemu. Ten kierunek badań ma duże znaczenie dla medycyny jako model do badania funkcji nerek. Śmiertelność spowodowana schorzeniami nerek jest znaczna; skąpe wiadomości z zakresu biochemii nerek są czynnikiem hamującym postęp kliniczny, zmuszającym do działania w pewnym sensie po omacku. Badania podstawowe w tym zakresie zapełniają więc dotkliwą lukę. Omówione kierunki badawcze Instytutu

oparte na dotychczasowym dorobku doświadczalnym stanowią plan badań Instytutu na najbliższe pięciolecie.

Od 1956, to znaczy od chwili przekształcenia Zakładu Biochemii PAN w Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, liczba opublikowanych prac doświadczalnych dobiega obecnie 150. Ponadto opublikowano w tym czasie około 30 prac referatowych.

Instytut rozwinął również ożywioną współpracę z zagranicą w różnych formach. Stale utrzymywana jest wymiana odbitek prac publikowanych z ośrodkami biochemicznymi całego świata. Instytut wysyła rocznie na prośbę innych ośrodków około 500 odbitek prac.

W każdym roku Instytut gości u siebie biochemików z zagranicy przybywających bądź na krótkotrwały pobyt, bądź też na dłuższe okresy współpracy. Po kilka miesięcy pracowali w naszych pracowniach biochemii z ośrodków: czeskich, węgierskich i rumuńskich. Ponadto Instytut wizytowali naukowcy-biochemicy z: Anglii, Austrii, Czechosłowacji, Irlandii, Jugosławii, NRD, NRF, Rumunii, Stanów Zjednoczonych AP, Szwecji, Węgier i ZSRR. Wizyty te były okazją do owocnej wymiany informacji, a częstokroć zapoczątkowania współpracy.

Również i pracownicy Instytutu wyjeżdżali do ośrodków zagranicznych. Samodzielni pracownicy naukowci odwiedzili ośrodki naukowe: Anglii, Austrii, Belgii, Czechosłowacji, Danii, Francji, Kanady, NRD, NRF, Szwecji, Węgier, Włoch, Stanów Zjednoczonych

i ZSRR. Wyjazdy te były zwykle związane z wygłoszeniem w ośrodkach zagranicznych wykładów o pracach Instytutu, a w każdym przypadku przynosiły wymianę informacji i poglądów oraz były okazją do konfrontacji naszych osiągnięć z pracami znanych zagranicznych placówek biochemicznych.

Młodszy pracownicy nauki wyjeżdżali na krótsze pobyty (kursy) bądź długotrwałe staże do ośrodków naukowych: Anglii, Czech, Francji, NRD, NRF, Szwajcarii, Węgier, Stanów Zjednoczonych i ZSRR. Dłuższe pobyty przyniosły z reguły efekty w postaci publikacji, nabyte doświadczenie wzbogacało Instytut metodycznie i pozwalało rozszerzać zakres badań, a co więcej – opinia, jaką wysyłani pracownicy Instytutu zyskiwali w obcych ośrodkach, potwierdzała, że Instytut może liczyć na dobrą, szybko rozwijającą się kadrę. W chwili obecnej 4 pracowników naukowych Instytutu przebywa na wielomiesięcznym stażu w różnych ośrodkach biochemicznych w Stanach Zjednoczonych (Uniwersytety Wisconsin, Milwaukee i Columbia oraz Instytut Rockefellera w Nowym Jorku), wszyscy korzystają ze stypendiów przyznanych przez stronę zapraszającą. Ponadto nastąpi w najbliższym czasie wyjazd do Stanów Zjednoczonych i Szwecji 2 dalszych pracowników, którzy otrzymali stypendia udzielone przez Uniwersytet Harvard w Bostonie i Uniwersytet w Göteborg; są pertraktacje o wyjazd jeszcze 3 pracowników do Szwecji, NRF i Anglii.

Również udział pracowników Instytutu w międzyna-



W kulisach III-go Zjazdu Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych (III FEBS) w Pałacu Kultury i Nauki w Warszawie, 4-7 kwietnia 1966 – Przemysław Szafrąński, Włodzimierz Niemierko, Andrzej Morawiecki, Irena Mochnacka i David Shugar.



Prof. Kazimierz Lech Wierzchowski przedstawia 25-letni dorobek Instytutu.

rodowych sympozjach specjalistycznych, zjazdach i kongresach wzrastał z biegiem czasu. W ostatnim Światowym Kongresie Biochemii w Wiedniu brało udział 7 pracowników Instytutu, którzy zgłosili komunikaty, wygłosili je i brali udział w dyskusji na Kongresie.

Faktyczny rozwój kadry Instytutu znalazł też swój wyraz w uzyskiwaniu stopni naukowych. Stopień kandydata nauk lub doktora uzyskało 10 pracowników Instytutu, 3 uzyskało tytuł docenta, 1 – stopień docenta, 2 – tytuł profesora nadzwyczajnego i 1 – tytuł profesora zwyczajnego. Ponadto 2 osoby spoza Instytutu uzyskały u nas stopień kandydata nauk.

Struktura organizacyjna Instytutu obejmuje 3 zakłady: Biochemii Ewolucyjnej, Biochemii Roślin i Biofizyki oraz 2 pracownie: Biochemii Drobnoustrojów i Biochemii Patologicznej. Trzy zakłady i jedna pracownia mieszczą się w Warszawie, każda jednostka w innym lokalu. Pracownia Biochemii Patologicznej zaś znajduje się w Gdańsku.

Instytut posiada bibliotekę liczącą obecnie ponad 1000 tytułów wydawnictw książkowych i ponad 200 tytułów stale otrzymywanych wydawnictw ciągłych krajowych i zagranicznych. Do wzbogacenia księgozbioru przyczynia się w znacznym stopniu wymiana wydaw-

nictw. W ramach wymiany własnej Instytut otrzymuje ostatnio około 50 czasopism z 25 krajów, a ponadto szereg odbitek i wydawnictw książkowych. W tej dziedzinie praca Instytutu jest dobrze zorganizowana, a głównym kłopotem jest ciasnota, utrudniająca dostęp do posiadanego piśmiennictwa.

Instytut ma obecnie obsadzone 33 etaty dyplomowanych pracowników w tym zatrudnia 10 samodzielnych pracowników nauki. Spośród pomocniczych pracowników nauki 9 ma tytuł kandydata nauk lub doktora. Przewody doktorskie 4 pracowników są w toku, a kończy się przewody doktorskie 2 pracowników spoza Instytutu.

Instytut przyjmował również na przeszkolenie i staże pracowników z innych ośrodków w kraju bądź w celu zapoznania ich z metodami, stosowanymi w Instytucie, bądź na okresową współpracę w zakresie prowadzonych u nas tematów.

Te wysiłki podejmowane na miarę naszych możliwości trudno jednak uważać za spełnienie zadania kształcenia przez Instytut biochemików dla innych ośrodków. Realizacja tego podstawowego zadania, postawionego przed naszą placówką, już w chwili jej powołania, wymagała znacznie szybszego wzrostu etatów pracowników nauki niż to miało miejsce. Nawet przy obecnym stanie wyposażenia i kłopotach lokalowych Instytut był w stanie przygoto-

wać do pracy badawczej znacznie większą kadrę niż ta, którą teraz rozporządzamy. Jak to wynika z przytoczonych uprzednio danych, stan etatów pracowników nauki był nawet nieco wyższy w chwili powstawania Instytutu niż jest obecnie. Zapotrzebowanie na biochemików zaś stale wzrasta. Obok znacznych luk w już istniejących ośrodkach, powstają nowe placówki, (jak na przykład Instytut Żywności), których prace w znacznej części opierać się muszą na badaniach biochemicznych.

Setki etatów w resortowych instytutach badawczych obsadzone są przez pracowników, którzy nie mają niezbędnego wykształcenia biochemicznego. Szkolenie ich w tak ciasnym zakresie problematyki stosowanej należy uznać za pomysł chybiony, podobnie jakby na przykład szkolenie muzyków zaczynało od partytury orkiestrowej. Moim zdaniem przygotowanie fachowca w danej, użytkowej gałęzi nauki powinno być poprzedzone co najmniej 3-letnim stażem w placówce pracującej w zakresie zagadnień podstawowych danej nauki. Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, po zapełnieniu obecnych ram organizacyjnych, powinien zatrudniać około 120 pracowników nauki. Rotacja przy takim stanie zatrudnienia umożliwiałaby przekazywanie rocznie 30 wyszkolonych biochemików po 3-letnim stażu.

Należy mieć nadzieję, że w przyszłości warunki pozwolą na harmonijny rozwój Instytutu w obu kierunkach: utrzymania zdobytej pozycji jako placówki badawczej oraz zasilenia kadry biochemicznej.

Wielu zagranicznych gości zwracało uwagę na dysproporcję między trudnymi warunkami i szczupłością użytych środków a osiągniętym przez Instytut wynika-

mi. Było to możliwe dzięki bardzo ofiarnej i nieraz graniczącej z poświęceniem pracy grona młodych badaczy, którzy z uporem dążą do przywrócenia biochemii polskiej tego stanowiska w nauce światowej, jakie zajmowała przed wojną.

Warszawa, grudzień 1960 r.

ZAKŁAD BIOCHEMII EWOLUCYJNO-PORÓWNAWCZEJ

Maria Monika Jeżewska

Zakład Biochemii Polskiej Akademii Nauk powołany do życia w 1954 roku pod kierownictwem prof. Józefa Hellera składał się początkowo z 5 pracowni. Jedną z nich, Pracownia Biochemii Ewolucyjnej, gościła przez prawie 10 lat w starym gmachu Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej na terenie Uniwersytetu Warszawskiego. Prowadziła do niego przez bramę przy Krakowskim Przedmieściu aleją z dwoma rzędami starych jesionoklonów. Pamiętamy wysokie schody, drugie piętro, drzwi na lewo i Zakład Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej z naszą Pracownią Biochemii Ewolucyjnej, której kierownikiem była prof. Irena Mochnacka, a pracownikami – absolwenci różnych wyższych uczelni – najczęściej mający dopiero zdobywać stopnie naukowe. Musieliśmy sobie jakoś radzić z powojennymi niedostatkami wyposażenia laboratoriów. Wspólnie z pracownikami Zakładu Chemii Fizjologicznej użytkowaliśmy aparaturę naukową i odczynniki, razem prowadziliśmy zajęcia ze studentami i tworzyliśmy mieszane zespoły badawcze.

W 1957 roku Zakład Biochemii został przekształcony w Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, a nasza Pracownia w Zakład Biochemii Ewolucyjnej.

Tematy naszych prac krystalizowały się powoli. Grupa pracowników zmarłego tragicznie kierownika Zakładu Chemii Fizjologicznej prof. E. Syma (Zofia Lassota, P. Szafrąński, Ludmiła Szarkowska, J.W. Szarkowski i T. Głębiński) kontynuowała rozpoczęte wraz z nim prace nad metabolizmem prątka gruźlicy, ważne ze względu na rozpowszechnione po II wojnie światowej zakażenia gruźlicą. W latach 1954 – 1962 grupa ta opublikowała 16 prac dotyczących biochemii *Mycobacterium phlei*.

Prof. Heller proponował nowym pracownikom różne tematy. Od początku istnienia Zakładu Biochemii Ewolucyjnej prowadzone były badania w dziedzinie biochemii rozwoju osobniczego owadów. Ta wyjątkowo liczna grupa zwierząt, pełniąca najrozmaitsze funkcje

w biocenozie, ma wielki wpływ, tak dodatni jak i ujemny, na gospodarkę człowieka, a jako pasożyty i prznosiciele niebezpiecznych chorób pasożytniczych owady stanowią też bezpośrednie zagrożenie zdrowia, a nawet życia zwierząt gospodarskich i człowieka. Spowodowało to zwiększone zainteresowanie fizjologią i biochemią owadów. Zagadką była też około 100-krotnie większa w porównaniu do ssaków oporność owadów na szkodliwe działanie promieniowania jonizującego, zaobserwowana po przeprowadzanych po II wojnie światowej wybuchach jądrowych.

W 1963 roku, po przeprowadzce do budynku Instytutu Fermentacyjnego przy ul. Rakowieckiej 36, nasz Zakład zmienił nazwę na Zakład Biochemii Porównawczej, a jego kierownikiem został prof. dr n. med. Tadeusz Korzybski. Z biegiem czasu w naszym Zakładzie powstawały zespoły badawcze i powoływane były odpowiednie pracownie pod kierownictwem osób, które zdobyły status samodzielnych pracowników naukowych. Pierwszym, który uzyskał doktorat w 1958 roku na podstawie prac dotyczących przemiany glikozy w cyklu pentozowym, był mgr inż. Przemysław Szafrąński. Grupa pracowników pracująca z nim nad biosyntezą białka stała się załącznikiem wyodrębnionego w 1967 roku Zakładu Biosyntezy Białka.

W 1977 roku, po odejściu profesora Korzybskiego na emeryturę, kierownictwo Zakładu Biochemii Porównawczej objął prof. Jan Włodzimierz Szarkowski. W tym samym roku Pracownia Biosyntezy Fosfolipidów kierowana przez prof. Tadeusza Chojnackiego stała się samodzielną jednostką, przekształconą w 1992 roku w Zakład Fosfolipidów. W 1995 roku, po przejściu na emeryturę profesora Szarkowskiego, Zakład Biochemii Porównawczej został rozwiązany, a jego pracownicy przeniesieni do Zakładu Biosyntezy Białka. Jedynie pracownia prof. dr hab. Marii Moniki Jeżewskiej stała się osobnym, samodzielnym Laboratorium Metabolizmu Puryń.

Biochemia owadów – Maria Janina Piechowska

W 1954 roku dr M.J. Piechowska rozpoczęła pracę w Zakładzie Biochemii Ewolucyjnej jako adiunkt. Początkowo w nawiązaniu do prac J. Hellera [J. Heller, St. Karpiak, J. Zubikowa, Nature, 1950, 166, 187; J. Heller, Bull. Acad. Pol. Sci. Ci II, 4, 341-344, 1956], przedmiotem jej badań był metabolizm nieorganicznych fosforanów w narządach i tkankach motyla *Celerio euphorbiae*, a zwłaszcza rola wysokoenergetycznego pirofosforanu powstającego z ortofosforanu w narządach płciowych samców i przemieszczającego się podczas kopulacji do narządów płciowych samic [M.J. Piechowska, Acta Biochim. Polon. 3, 547-556, 1956; J. Heller, M.J. Piechowska, Bull. Acad. Pol. Sci. Ci. II, 4, 345-349, 1956; ibid. 6, 187-191, 1958; J. Heller, M.J. Piechowska, T. Chojnacki, ibid. 6, 7-10, 1958; Acta Biochim. Polon. 5, 343-354, 1958; ibid 7, 187-192, 1960].

Później wspólna praca nad włączaniem fosfocholiny do lipidów [T. Chojnacki, M.J. Piechowska, Acta Biochim. Polon. 8, 157-165, 1961] dała początek wieloletnim badaniom nad syntezą fosfolipidów, prowadzonym przez zespół T. Chojnackiego.

Następnie dr Piechowska zajęła się działaniem promieni jonizujących gamma na procesy endokryne u owadów: na procesy linienia, powstawanie deformacji postaci zewnętrznej i uszkodzeń narządów rozrodczych oraz na niedorozwój jaj i plemników [M.J. Piechowska, Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol., 13, 139-144, 1965; Monografia Biochemiczna nr 13 – praca habilitacyjna, 1965].

Dalsze badania doc. Piechowskiej i powiększającego się zespołu jej współpracowniczek koncentrowały się wokół roli hormonów metamorfozy – hormonu juvenilnego odpowiedzialnego za rozwój larwalny oraz ekdysonu sterującego procesem melanizacji i sklerotyzacji kutikuli. Dotyczyły one metabolizmu wolnej tyrozyny i jej niskocząsteczkowych połączeń: dwupeptydu – celebryny i glukozydu, wykrytych w hemolimfie i kutikuli w okresie przepoczwarczenia i stanowiących magazyny tyrozyny [Zofia Sienkiewicz, M.J. Piechowska, Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 21, 797-802, 1973; Z. Sienkiewicz, praca doktorska, 1973; Łucja Wilińska, praca doktorska, 1976]. Następnym tematem badań stały się cykliczne 3,5,-nukleotydy purynowe, będące u ssaków wewnątrzkomórkowymi pośrednikami działania hormonów. Ich rola w działaniu odrębnych hormonów owadów, aktywność działających na te nukleotydy fosfodwuesteraz, a także białka wiążące były badane u szarańchy *Schistoceria gregaria* i *Drosophila melanogaster* [Małgorzata Bielińska, M.J. Piechowska, Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 21, 471-478, 1973; ibid. 3, 1-5, 1975; ibid. 26, 289-294, 1978; Insect Biochem. 5, 647-651, 1975; Life Sci. 17, 1153-1158, 1975; M. Bielińska, praca doktorska, 1974].

Dalsze badania dotyczyły zmian zachodzących w genomie muszki owocowej *Drosophila melanogaster* pod wpływem szoku cieplnego i niedotlenienia komórek. Obejmowały one zmiany w syntezie mRNA oraz w poziomie białek tkankowych – obniżenie produkcji białek syntetyzowanych przed szokiem i wznowienie syntezy białek po szok [Ewa Kolanowska, M.J. Piechowska, Bul. Acad. Polon. Sci. Ser. Biol. 27, 993-997, 1979; E. Kolanowska, praca doktorska, 1980; M. Bielińska, Acta Biochim. Polon. 30, 355-360, 1983].

Bliżej zajęto się zmianami aktywności dehydrogenazy glutaminianowej i aminotransferazy tyrozyny w czasie szoku cieplnego i w rozwoju *D. melanogaster* [Joanna Nowak, M.J. Piechowska, Drosophila Inf. Serv. 58, 1982 ibid. 63, 102-104, 1986; Danuta Rzymkiewicz, praca doktorska, 1983; J. Nowak, praca doktorska, 1885; D. Rzymkiewicz, M.J. Piechowska, Comp. Biochem. Physiol. 88B, 289-292, 1987; ibid. 90B, 291-295, 1988]. W pracach tych pomagały pracownice techniczne Maria Musierowicz i Grażyna Jewdoszuk. W 1985 roku prof. M.J. Piechowska przeszła na emeryturę, ale prace pod jej kierunkiem były kontynuowane do 1989 roku.

Oddychanie tkankowe – Ludmiła Szarkowska

Badania nad oddychaniem owadów prof. J. Heller prowadził już w trudnych latach wojny 1940–1941. Zauważył wówczas, że podczas snu zimowego poczwerek motyli miejsce oddychania cytochromowego zajmuje jakiś inny mechanizm niewrażliwy na cyjanki. Profesor Heller zwrócił też uwagę na możliwą rolę chinonów w procesach oddechowych owadów [J. Heller, Acta Biol. Exper. 14, 229, 1947]. W 1954 roku tą tematyką zainteresowała Ludmiłę Szarkowską z zespołu zmarłego prof. E. Syma. Wyniki wspólnych prac Hellera i Szarkowskiej wskazywały, że w procesie utleniania tkankowego u owadów biorą udział reduktaza chinonowa i oksydaza polifenolowa utleniające NADH₂ i redukujące chinony do hydrochinonów [L. Szarkowska, Acta Biochim. Polon. 8, 352-353, 1956; J. Heller, L. Szarkowska, Bull. Acad. Polon. Sci. 4, 331-335, 1956; ibid. 6, 413-416, 1958; ibid. 6, 451-454, 1958].

W 1957 roku w pracowni Mortona (Liverpool, Anglia) wyizolowano z mitochondriów serca wołu składnik frakcji lipidowej o charakterystycznym widmie z maksimum absorpcji w 272 nm, nazwany początkowo koenzymem Q z racji udziału w procesach utleniania, a następnie z powodu powszechnego występowania – ubichinonem (UQ). W prace dotyczące występowania i roli tego związku w mitochondriach zaangażowały się największe ośrodki badawcze w USA i Anglii. Także Heller, Szarkowska i Hanna Michałek (asystentka Zakładu Chemii Fizjologicznej) włączyli się w badania nad rolą UQ w procesach utleniania, wykazując obecność

UQ w mitochondriach ssaków i w tkankach owadów [L. Szarkowska, praca doktorska, 1959; J. Heller, L. Szarkowska, A. Michałek, *Nature*, 188, 491, 1960; L. Szarkowska, A. Michałek, *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.* 8, 429-432, 1960]. Na podstawie identyfikacji ubichinonów występujących w tkankach zwierząt różnych gatunków dr Szarkowska [Post. Biochem. 6, 323-340, 1960] udowodniła, że długość łańcucha izoprenowego homologów UQ nie może być kryterium taksonomicznym rozwoju filogenetycznego, jak to powszechnie postulowano.

Wyniki badań nad miejscem UQ w łańcuchu oddechowym [L. Szarkowska, J. Heller, *Acta Biochim. Polon.* 8, 437-447, 1961] sugerowały, że może się on znajdować między dehydrogenazami bursztynianową i NADH a układem cytochromowym. W czasie stażu naukowego w pracowni Klingenberga w RFN Szarkowska, korzystając z unikatowej aparatury „double beam”, umożliwiającej precyzyjne oznaczanie zmian oksydoredukcyjnych UQ w różnych stanach funkcjonalnych mitochondriów, porównała je ze zmianami redukcji cytochromów *a* i *b*. Wyniki tych badań bezspornie dowiodły, że UQ jest niezbędnym składnikiem łańcucha oddechowego na głównym szlaku transportu elektronów [L. Szarkowska, habilitacja 1963, *Monografia Biochemiczna* 4, 1-60, 1964], co przeczyło sugestiom o jego ubocznej roli. O funkcji UQ jako niezbędnego składnika w transporcie protonów i elektronów świadczył także fakt, że ekstrakcja UQ z mitochondriów przerywała funkcjonowanie łańcucha oddechowego; dodanie zaś UQ przywracało jego działanie w obecności bursztynianu, ale nie NADH, co wydawało się przeczyć roli, jaką generalnie przypisywano ubichinonowi. Jednak jako stypendystka w pracowni Greena w USA, Szarkowska udowodniła, że stosując inną metodę ekstrakcji UQ, można przez dodatek egzogenego UQ przywrócić funkcję łańcucha oddechowego także z NADH; szybkość utleniania substratów przez odtworzony układ enzymatyczny okazała się zależna od obecności fosfolipidów mitochondrialnych, tworzących odpowiednie środowisko dla nierozpuszczalnego w wodzie UQ. Były to ostatnie prace Szarkowskiej [L. Szarkowska, *Arch. Biochem. Biophys.* 113, 519-525, 1966; K. Folkers, H.W. Moore, G. Lenaz, L. Szarkowska, *BBRC*, 23, 386-391, 1966; D.H. Mac Lennan, G. Lenaz, L. Szarkowska, *J.B.C.* 241, 5251-5259, 1966]. Jej nagła śmierć w USA w 1965 roku była niepowetowaną stratą dla Zakładu Biochemii Porównawczej.

W 1963 roku do zespołu Szarkowskiej dołączyła mgr Alicja Drabikowska, w 1964 roku – lek. med. Maria Erecińska, a w 1965 roku – mgr Elżbieta Kuligowska. Maria Erecińska zajęła się redukcjami NAD^+ z udziałem różnych substratów, sprzężonymi z produkcją energii w mitochondriach [L. Szarkowska, M. Erecińska, *Acta Biochim. Polon.* 12, 179-189, 1965; *ibid.* 12, 291-297, 1965; M. Erecińska, *ibid.* 13, 209-215, 1966; *ibid.* 14,



Pierwsze doktoraty w IBB. Ludmiła Szarkowska w okresie pracy nad rolą ubichinonu w łańcuchu oddechowym, 1960.

21-29, 1967; praca doktorska 1967; E. Kuligowska, M. Erecińska, *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.* 16, 467-471, 1968]. Dalsze prace Erecińskiej i Kuligowskiej dotyczyły oddychania tkankowego bakterii i drożdży [E. Kuligowska, M. Erecińska, *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.* 15, 323-327, 1967; M. Erecińska, E. Kuligowska, *ibid.* 16, 491-495, 1968; *Acta Microbiol. Polon.* 17, 299-304, 1968]. W 1969 roku Erecińska wyjechała do USA na stypendium podoktorskie na Uniwersytecie w Pensylwanii i nie powróciła, a mgr Kuligowska przeniosła się do zespołu doc. Jana W. Szarkowskiego.

Podjęte przez Alicję Drabikowską badania miały określić rolę UQ w procesach utleniania katalizowanych przez żelazoflawoproteinowe dehydrogenazy inne niż bursztynianowa i NADH. We wszystkich badanych tkankach UQ występuje w nadmiarze w stosunku do cytochromowych składników łańcucha oddechowego [L. Szarkowska, M. Klingenberg, *Biochem. Z.* 338, 674, 1963], co sugerowało że może on odgrywać rolę „rezerwuaru” redukujących równoważników (H^+ i e^-) dla wielu żelazoflawoproteinowych enzymów. Okazało się, że redukcja UQ przez żelazoflawoproteinową dehydrogenazę 1-fosfoglicerynianu jest katalizowana bez udziału cytochromowych składników mitochondrialnego łańcucha oddechowego [L. Szarkowska, A.K. Drabikowska, *Life Sciences* 7, 519-523, 1963]. Także dehydrogenaza cholinowa i nieznany przedtem enzym – mitochondrialna dehydrogenaza betainy redukują bezpośrednio UQ [A.K. Drabikowska i L. Szarkowska, *Acta Biochim. Polon.* 12, 387-394, 1965], podobnie jak i dehydroge-

naza sarkozynowa [A.K. Drabikowska, Acta Biochim Polon. 14, 241-247, 1967]. Wysłunięto więc tezę, że UQ pełni funkcję bezpośredniego akceptora dla wielu, jeśli nie wszystkich żelazoflawoproteinowych enzymów, tworząc ich powiązanie z układem cytochromowym [A.K. Drabikowska: praca doktorska, 1967]; opisano i skomentowano efekt stosowanego w eksperymentach tritonu X-100 na łańcuch oddechowy [A.K. Drabikowska, Acta Biochim. Polon. 15, 299-306, 1968]. Stwierdzono, że podobnie jak w mitochondriach zwierzęcych także w bakteriiach *Salmonella typhimurium* UQ jest redukowany przez bursztynian i NADH, a procesy oddechowe przebiegają w tzw. elementach membranowych (particulate fraction) z udziałem zlokalizowanych tam cytochromów *a*, *b* i *c*, flawoproteiny i UQ w stosunkach molowych 1 : 4 : 3 : 9 : 17 [A.K. Drabikowska, Acta Biochim. Polon. 16, 135-140, 1969; ibidem 17, 89-98, 1970].

Kontakty z dr Anną Kruszewską z Zakładu Genetyki IBB zapoczątkowały badania nad funkcją UQ w cytoplazmatycznym mutancie *Neurospora crassa*, którego procesy oddechowe są w znacznym stopniu niewrażliwe na cyjanek, a ilość UQ jest czterokrotnie większa niż w szczepie dzikim [A. K. Drabikowska, A. Kruszewska, J. Bacteriol. 112, 1420-1421, 1972]. Prace nad oksydacyjną fosforylacją u *Neurospora crassa* były kontynuowane podczas 15-miesięcznego stażu Drabikowskiej w University of California (USA) w latach 1970-1971 i po powrocie do IBB. Wykazano, że w tym łańcuchu oddechowym znajdują się jedynie dwa miejsca fosforylacji, a droga utleniania niewrażliwa na cyjanek jest drogą niefosforylującą. Zaproponowano schemat systemu utleniającego u mutantu *mi-1 Neurospora crassa*, przypisujący ubichinonowi działanie regulatorowe funkcjonowania tych dróg [A.K. Drabikowska, F.C. Kosmakos and A.F. Brodie, J. Bacteriol. 117, 733-740, 1974; A.K. Drabikowska, Acta Biochim. Polon. 22, 169-178, 1975; ibid. 25, 71-80, 1978; Life Sci. 21, 667-674, 1977; praca habilitacyjna, 1978]. Scharakteryzowano też składniki łańcucha oddechowego w nowo wyizolowanym szczepie *Methylomonas* PL1 w procesie utleniania metanolu i formaldehydu [A.K. Drabikowska, Biochem. J. 168, 171-178, 1977]. Przez te wszystkie lata w działalności Pracowni brała czynny, nieoceniony udział pracownica techniczna Apolonia Murawska.

Badania dotyczące procesów oddechowych i biochemii mitochondriów w Zakładzie Biochemii Porównawczej zostały zakończone w 1977 roku, a doc. dr hab. A.K. Drabikowska przeniosła się do Zakładu Biologii Molekularnej.

Rozwój osobniczy – Zofia Lassota

Jesienią 1954 roku adiunkt Zofia Lassota zrezygnowała z pracy w Zakładzie Chemii Fizjologicznej Aka-

demii Medycznej w Warszawie i przeszła do Pracowni Biochemii Ewolucyjnej PAN. Początkowo zajmowała się labilnymi związkami fosforowymi i fosfatami działającymi na wiązania pirofosforanowe w materiałach roślinnych [Z. Lassota, Acta Biochim. Polon. 2, 223-225, 1955; ibid. 6, 3-16, 1959; praca doktorska, 1959], a następnie wpływem promieniowania jonizującego na rozwój osobniczy owadów i różne procesy metaboliczne [Z. Lassota, Acta Biochim Polon. 10, 379-386, 1963; ibid. 12, 271-278, 1965; ibid. 12, 369-377, 1965; 14, 7-20, 1967; rozprawa habilitacyjna, 1967].

W powstającej pod kierownictwem doc. Z. Lassotowej grupie badawczej rozwinęły się badania nad układem cholinergicznym w ontogenezie owadów [Krystyna Grzelak, Z. Lassota, Bull. Acad. Polon. Ser. Sci. Biol. 14, 391-395, 1966; ibid. 16, 331-335, 1968; Z. Lassota, K. Grzelak, ibid. 17, 75-79, 1969]. Okazało się, że obok czynnej w układzie nerwowym acetylocholino w tkankach owadów występuje w dużych ilościach acetylo- β -metylocholina uczestnicząca prawdopodobnie w przemianach lipidowych. Zmiany poziomu tego metabolitu w czasie metamorfozy poczwarek *Celerio euphorbiae* skorelowane są ze zmianami aktywności acetylocholinoesterazy [K. Grzelak, Z. Lassota, A. Wroniszewska, J. Insect. Physiol. 16, 1405-1417, 1970; ibid. 17, 1961-1968, 1971; Z. Lassota, K. Grzelak, E. Grąbczewska, ibid. 18, 1169-1180, 1972; K. Grzelak, Maria Borucka-Mankiewicz, Z. Lassota, ibid. 19, 1511-1517, 1973; K. Grzelak, praca doktorska, 1972]. Wykazano, że wzrost aktywności acetylocholinoesterazy w diapauzujących poczwarkach *C. euphorbiae* jest sprzężony z procesami transkrypcji i translacji i zachodzi pod wpływem hormonu juvenilnego [K. Grzelak, Małgorzata Szyszko, Z. Lassota, J. Insect. Physiol. 20, 143-151, 1974; Insect Biochem. 5, 409-420, 1975; M. Szyszko, Z. Lassota, ibid. 7, 469-475, 1977].

Równolegle zajmowano się badaniem syntezy i funkcji RNA podczas embriogenezy. W diapauzujących embrionach jedwabnika morwowego *Bombyx mori* znaleziono podobne do polisomów struktury rybonukleoproteidowe zawierające nieulegający translacji kwas rybonukleinowy z sekwencjami poliadenylanów. Przejście embrionów w fazę rozwoju pociąga za sobą uruchomienie w jądrze syntezy i poliadenylacji nowego RNA, który może ulegać translacji [M. Szyszko, Z. Lassota, Bull. Acad. Polon. Ser. Sci. Biol. 20, 615-619, 1972; Insect Biochem. 7, 469-475, 1977; K. Grzelak, Ewa Szczęśna, Z. Lassota, ibid. 9, 125-128, 1979]. W badaniach nad transkrypcją RNA podczas wczesnej embriogenezy ptaków (we współpracy z dr Bożeną Olszańską z Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu) stwierdzono, że jądra komórek embrionów zawierają heterogenną populację cząsteczek RNA, w której wykryto ciężki jądrowy RNA z sekwencjami poliadenyłowymi i prekursorcy cytoplazmatycznego RNA [Z. Lassota, B. Olszańska, E. Grąbczew-

ska, Acta Biochim. Polon. 20, 133-143, 1973; B. Olszańska, E. Grąbczewska, Z. Lassota, Eur. J. Biochem. 42, 367-376, 1974; E. Grąbczewska, B. Olszańska, Z. Lassota, Acta Biochim. Polon. 24, 261-274, 1977; E. Grąbczewska, praca doktorska 1977].

Dalsze badania dotyczyły struktury jądrowych i cytoplazmatycznych RNA w embrionach kurzych i wątrobie szczura – występowania i charakterystyki fragmentów poli- i oligoadenylowych oraz fragmentów dwuniciowych. W odróżnieniu od RNA cytoplazmatycznych w RNA jądrowych fragmenty dwuniciowe mogą powstawać między cząsteczkami, co tłumaczyłoby naturę olbrzymich RNA jądrowych [Z. Lassota,

Joanna Michalik, M. Szyszko i Anna Krówczyńska, Acta Biochim. Polon. 26, 83-96, 1979; A. Krówczyńska, Z. Lassota, *ibid.* 28, 351-365, 1981; Z. Lassota, A. Krówczyńska, Molec. Cell Biochem. 51, 55-60, 1983; A. Krówczyńska, praca doktorska, 1981]. Opracowanie systemu *in vitro* do molekularnych badań we wczesnym okresie embrionalnym przepiórki umożliwiło śledzenie wpływu inhibitorów transkrypcji na rozwój zarodka [B. Olszańska, Z. Lassota, British Poultry, 21, 395-403, 1980; B. Olszańska, Barbara Kłudkiewicz, Cell Differentiation, 12, 115-120, 1983; B. Olszańska, praca habilitacyjna, 1985].

Zespół prof. Lassotowej prowadził też badania nad regulacją procesów transkrypcji i translacji RNA przez neurohormony: hormon juvenilny i ekdysteroidy w gruczołach przednich owadów. Obiektem badań był mól woskowy *Galleria melonella*, którego zsynchronizowane hodowle można prowadzić niezależnie od pory roku na syntetycznym pokarmie. We współpracy z Instytutem Entomologii Czeskiej Akademii Nauk prześlędzono syntezę RNA i białka w gruczołach przednich i wpływ hormonu juvenilnego na te procesy [J. Michalik, F. Sehnal, Z. Lassota, Acta Biochim. Polon. 31, 139-147, 1984; F. Sehnal, J. Michalik, J. Insect Physiol. 30, 119-126, 1984; J. Michalik, F. Sehnal, Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol. 37, 163-168, 1989; Ewa Szołajska, Acta Biochim. Polon. 37, 172-178, 1991; B. Kłudkiewicz, K. Grzelak, E. Szołajska, J. Michalik, *ibid.* 38, 53-59, 1991].

W mózgu mola woskowego wykryto czynnik mający wpływ na syntezę, rozpad i niektóre funkcje hormonu juvenilnego [J. Michalik, E. Szołajska, Z. Lassota, Experientia 48, 762-765, 1992; E. Szołajska, praca doktorska, 1992] oraz nowy typ kontroli biosyntezy białek w gruczole przednim przez zidentyfikowany w mózgu



Pracownice Zakładu w trakcie uroczystości 35-lecia IBB w 1989 roku: Agnieszka Siwecka, Krystyna Grzelak, Krystyna Gocman, Barbara Kłudkiewicz i Danuta Rzymkiewicz.

neuropeptydowy hormon – serikotropinę [J. Michalik, praca habilitacyjna, 1995]. Scharakteryzowano białka jedwabiu kokonu mola woskowego i miejsce ich syntezy w gruczole przednim. Dla dwóch z nich zbadano przebieg transkrypcji i translacji w czasie ostatniego stadium larwalnego oraz wpływ ekdysonu i hormonu juvenilnego na te procesy [K. Grzelak, E. Szczesna, F. Sehnal, Molec. Cell Endocr. 26, 341-351, 1982; K. Grzelak, P. Couble, A. Garel, B. Kłudkiewicz, H. Alrouz, Insect Biochem, 18, 223-228, 1988; K. Grzelak, B. Kłudkiewicz, Z. Lassota, Insect Biochem. Molec. Biol. 23, 211-216, 1993; B. Kłudkiewicz, praca doktorska, 1993; K. Grzelak, Comp. Biochem. Physiol. 11B, 671-681, 1995; K. Grzelak, praca habilitacyjna, 1995]. Badania te prowadzone były we współpracy z ośrodkami krajowymi (Zakład Fizjologii Bezkręgowców Uniwersytetu Warszawskiego, Zakład Biochemii Politechniki Wrocławskiej) i zagranicznymi (Uniwersytet im. Claude-Bernard, Lyon, Francja; Marquette University, Milwaukee, USA; Instytut Entomologii Czeskiej Akademii Nauk, Czechy).

W pracach brała aktywny udział wieloletnia pracownica techniczna Krystyna Gocman. W 1995 roku pracownicy Pracowni Rozwoju Osobniczego zostali przeniesieni do Zakładu Biosyntezy Białka.

Struktury podkomórkowe – Jan W. Szarkowski

Magister inż. J.W. Szarkowski rozpoczął pracę w Zakładzie Biochemii Ewolucyjnej w 1954 roku jako asystent i zajął się początkowo procesami oddychania roślin wyższych, a w szczególności oksydazami końcowymi [J.W. Szarkowski, Bull. Acad. Pol. Sci. Ci II



Pracownia Struktur Podkomórkowych, pokój 150 przy ul. Rakowieckiej 36 (1975). Od lewej: Tomasz Gołaszewski, Danuta Klarkowska, Jan Szarkowski (kierownik), Elżbieta Kuligowska, Maria Borucka-Mankiewicz.

4,371-374, 1956; *ibid.* 5, 1-3, 1957; *Acta Biochim. Polon.* 4, 129-134, 1957; praca doktorska, 1959, A. Frey-Wysling, J.W. Szarkowski, *Experientia*, 15, 462-463, 1959].

Dalsze badania skupiły się na porównywaniu kwasów rybonukleinowych i rybonukleaz w chloroplastach z komórek zielonych i etiolowanych roślin wyższych, m.in. marchwi [J.W. Szarkowski, Tomasz Gołaszewski, *Naturwiss.* 48, 457-458, 1958; *ibid.* 49, 135, 1962; *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Biol.* 11, 123-124, 1963; T. Gołaszewski, J.W. Szarkowski, *Acta Soc. Bot. Polon.* 33, 749-758, 1964; T. Gołaszewski, praca doktorska, 1964;

T. Gołaszewski, J.W. Szarkowski, Marek Ombach, *ibid.* 36, 199-217, 1967; 1965; J.W. Szarkowski, praca habilitacyjna, 1965].

Następnie zajęto się rozmieszczeniem i właściwościami kwasów rybonukleinowych i rybonukleaz w mitochondriach [Marta Rytel, J.W. Szarkowski, T. Gołaszewski, *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.* 17, 5-8, 1969; *Acta Soc. Botan. Polon.* 38, 25-34, 1969]. Okazało się, że szybkość biosyntezy RNA jest różna w poszczególnych podfrakcjach mitochondriów, co wskazuje na metaboliczną autonomię struktur tych organelli [M. Rytel, T. Gołaszewski, J.W. Szarkowski, *Bull. Acad. Sci. Ser. Sci. Biol.* 17, 651-659, 1969; *Acta Biochim. Polon.* 17, 11-120, 1970, *Acta Soc. Botan. Polon.* 40, 133-142, 1971; M. Rytel, praca doktorska, 1971]. Scharakteryzowano też kwasy rybonukleinowe rybosomów z komórek liści żyta [T. Gołaszewski, J.W. Szarkowski, Danuta Klarkowska, M. Rytel, *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.* 15, 531-537, 1967].

Materiałem do dalszych badań stały się zarodki żyta w okresie spoczynku i rozwoju. W ich podkomórkowych strukturach badano obecność i rozmieszczenie enzymów nukleolitycznych [Maria Agnieszka Siwecka, J.W. Szarkowski, *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.* 19, 445-449, 1971]. W szczególności określono zmiany aktywności rybonukleolitycznej związanej z rybosomami, zachodzące podczas kiełkowania [M.A. Siwecka, praca doktorska, 1972; M.A. Siwecka, T. Gołaszewski, J.W. Szarkowski, *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.* 21, 171-175, 1973]. Za pomocą mikroskopu elektronowego badano rozmieszczenie rybosomów w komórkach suchych i kiełkujących zarodków żyta i zaobserwowano tworzenie się struktur polisomowych w procesie kiełkowania [M.A. Siwecka, J.W. Szarkowski, *Cytobios* 9, 217-225, 1974]. W badaniach nad metabolizmem kwasów deoksyrybonukleinowych podczas kiełkowania wykryto frakcję pozajądrowego DNA oraz aktywność deoksyrybonukleolityczną w cytoplazmatycznych rybosomach [T. Gołaszewski, M. Rytel, J.W. Szarkowski, *Acta Biochim. Polon.* 19, 201-205, 1972; *ibid.* 20, 217-221, 1973; M.A. Siwecka, M. Rytel, J.W. Szarkowski, *ibid.* 26, 97-102, 1979].



Z balkonu pokoju 150 na I piętrze wyglądają – Elżbieta Kuligowska, Tomasz Gołaszewski, Jan Szarkowski, Maria Rytel. Drzewa sumakowe, bardzo dekoracyjne, przestaniały okna pracowni i co roku je przycinano (1975).

Zaobserwowano też pojawianie się w kiełkujących zarodkach aktywności kinazy tymidynowej o kluczowej roli w reutilizacji tymidyny i w organellogenezie chloroplastów [T. Gołaszewski, J.W. Szarkowski, *Int. J. Biochem.* 5, 597-599, 1974; T. Gołaszewski, M. Rytel, J. Rogoziński, J.W. Szarkowski, *FEBS Letters*, 58, 370-373, 1975].

W 1976 roku zmarł tragicznie dr Tomasz Gołaszewski i jego śmierć była ogromną stratą dla Pracowni.

Wiele roślinnych enzymów nukleolitycznych wyodrębniono i oczyszczono oraz zbadano ich specyficzność względem RNA i DNA. Szczególnie interesowano się enzymami wykazującymi specyficzność działania w odniesieniu do struktury badanych substratów.

Z cytosolu zarodków żyta otrzymano alkaliczną rybonukleazę, która hydrolizuje fosfodwuestrowe wiązania między wszystkimi rodzajami nukleotydów, uwalniając cykliczne 2', 3'-nukleozydo-dwufosforany [Elżbieta Kuligowska, praca doktorska, 1974] i kwaśną rybonukleazę wykazującą działanie endonukleazowe [E. Kuligowska, D. Klarkowska, J.W. Szarkowski, *Phytochemistry* 19, 31-35, 1980]. Z jąder zarodków żyta wyizolowano nukleazę hydrolizującą preferencyjnie dwuniciowe DNA [Maria Borucka-Mankiewicz, praca doktorska, 1976; M. Borucka-Mankiewicz, J.W. Szarkowski, *Acta Biochim. Polon.* 24, 289-99, 1977]. Z frakcji cytoplazmatycznych rybosomów zarodków żyta wyizolowano i oczyszczono do homogenności nukleazę typu I preferencyjnie hydrolizującą jednoniciowe RNA i DNA [M.A. Siwecka, M. Rytel, J.W. Szarkowski, *Acta Physiol. Plantarum*, 5, 105-111, 1983; *Acta Biochim. Polon.* 36, 45-62, 1989].

Z nukleoplazmy jąder zarodków żyta wyodrębniono endonukleazę Rn specyficzną do struktur jednoniciowych RNA i DNA [Anna Przykorska, J.W. Szarkowski, *Eur. J. Biochem.* 108, 285-293, 1980; A. Przykorska, praca doktorska, 1980].

Z chloroplastów liści pszenicy otrzymano endonukleazę Wch specyficzną względem jednoniciowego DNA [E. Kuligowska, D. Klarkowska, J.W. Szarkowski, *Phytochemistry* 27, 1275-1279, 1988].

Ze stromy chloroplastów pszenicy wyizolowano endonukleazę ChS specyficzną do jednoniciowego DNA, oczyszczono ją do homogenności i zbadano jej aktywność wobec DNA plazmidów Φ X174 i pBR322 [Magdalena Mońko, E. Kuligowska, J.W. Szarkowski, *Phytochemistry* 37, 301-305, 1994].



Imieniny prof. Jana Szarkowskiego, czerwiec 1994; stoją od lewej – Krystyna Grzelak, Danuta Klarkowska, Elżbieta Kuligowska, Profesor, Barbara Kłudkiewicz; siedzą od lewej – Magdalena Mońko, Krystyna Gocman, Ewa Świeżewska-Kula.

Prowadzono równocześnie badania nad wykorzystaniem enzymów nukleolitycznych (nukleazy Rn z jąder zarodków żyta oraz endonukleaz: Wch z chloroplastów i ChS ze stromy chloroplastów z liści pszenicy) do badania przestrzennej struktury tRNA, ustalając miejsca cięć w jednoniciowych fragmentach cząsteczek [A. Przykorska, M. Nalaskowska, E. Kuligowska, J.W. Szarkowski



Nasz „Pan Doktor” Zdzisław Matysiak przed przenosinami z gmachu IPF w czerwcu 1994.

J. Barciszewski, *Phytochemistry*, 30, 1749-1752, 1991]. Nukleazę ChS zastosowano do badania struktury tRNA^{phe} i tRNA^{asp} z drożdży. Do dalszych badań użyto tRNA^{Sec} o znanej strukturze drugo- i trzeciorzędowej z *Xenopus laevis* i natywny, zmodyfikowany tRNA^{Sec} z wątroby wołu. Wykazano że antykodon zmodyfikowanego tRNA^{Sec} z wątroby wołu jest słabiej dostępny dla nukleazy Rn, natomiast ramię dodatkowe w tym tRNA^{Sec} jest lepiej dostępne dla nukleaz Rn i ChS. Świadczy to o tym, że obecne w pętli antykodonu modyfikacje zmieniają konformację cząsteczki w tym rejonie, a ramię dodatkowe ma rozluźnioną strukturę i jest wyeksponowane na zewnątrz całej cząsteczki [A. Przykorska, *Biochimie* 77, 109-112, 1995; Joanna Gabryszuk, praca doktorska, 1995; A. Przykorska, praca habilitacyjna, 1996] Badania te były prowadzone we współpracy z Instytutem Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu i z Instytutem Biologii Molekularnej i Komórkowej CNRS (Strasbourg, Francja).

Doktor M.A. Siwecka wyizolowała z zarodków żyta związaną z rybosomami nukleazę II o budowie dime-rycznej, hydrolizującą dwuniciowe RNA i dwuniciowy DNA faga φX174. Okazało się, że nukleaza II jest specyficzna do zasad i w 5S rRNA z *Lupinus luteus* rozpoznaje i hydrolizuje wiązania UpA i CpA w silnie sparowanych rejonach dwuniciowych. Enzym ten jest pierwszym tego typu enzymem, degradującym dwuniciowe RNA, wyizolowanym z roślin wyższych i zapoczątkowuje nową klasę roślinnych nukleaz typu II [M.A. Siwecka; M. Rytel, J.W. Szarkowski, *Phytochemistry*, 21, 273-275, 1982; M.A. Siwecka, *Acta Biochim. Polon.* 44, 61-68, 1997; *Methods in Enzymology*, 342, 212-225, 2001]. Badania te prowadzone były we współpracy z Instytutem Chemii Biologicznej Uniwersytetu w Weronie (Włochy) Instytutem Biochemii RAN w Moskwie i Instytutem Chemii Bioorganicznej w Poznaniu, częściowo już w Zakładzie Biosyntezy Białka.



Pracownia metabolizmu puryn doc. Moniki Jeżewskiej, od lewej: prof. Tsuchida (Japonia), Jerzy Barankiewicz, Pani Docent, Zbigniew Kamiński w gmachu IPF, (1992).

W pracach Pracowni od chwili jej powstania brała czynny udział pracownica techniczna Danuta Klarkowska (zmarła w 2003 roku).

W 1995 roku pracownicy Pracowni Struktur Podkomórkowych przeszli do Zakładu Biosyntezy Białka.

Metabolizm związków purynowych – Maria M. Jeżewska

W październiku 1954 roku zaczęłam pracować jako asystentka w Pracowni Biochemii Ewolucyjnej pod kierunkiem prof. J. Hellera. Obiektem wieloletnich, wszechstronnych badań prof. Hellera nad fizjologią i biochemią owadów był motyl *Celerio euphorbiae*. Początkowo badaliśmy zmiany zawartości związków fosforanowych: fosfolipidów, kwasów nukleinowych, fosfoprotein i frakcji związków rozpuszczalnych podczas przebudowy ciała gąsienicy w ciało motyla *Antheraea pernyi* [J. Heller, M.M. Jeżewska, *Acta Biochim. Polon.* 1958, 6, 3-17] oraz *C. euphorbiae* w rozwoju doraźnym i prze-wlekłym [Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 6, 51-55, 1958; *ibid.* 8, 335-337, 1960].

Kolejnym tematem badań stała się biosynteza kwasu moczowego – końcowego produktu przemiany azotowej **Lepidoptera**. W początkach XX wieku sądzono, że powstaje on z mocznika oraz trójwęglowych kwasów dwukarboksylowych poprzez stadium pirymidyn i ta błędna hipoteza przetrwała w odniesieniu do owadów i ślimaków do późnych lat 50. Natomiast dla ptaków i bakterii na przełomie lat 40. i 50. ustalono inny przebieg biosyntezy układu purynowego z udziałem CO₂, kwasu mrówkowego oraz aminokwasów – glicyny, seryny, glutaminy i kwasu asparaginowego. Nasze badania dowiodły, że biosynteza kwasu moczowego również u motyli przebiega z wykorzystaniem tych drobnocząsteczkowych prekursorów [J. Heller, M.M. Jeżewska, *Bull. Acad. Sci. Pol. Ser. Sci.*, 7, 1-4, 1959; M.M. Jeżewska, praca doktorska, Uniwersytet Warszawski, 1961]. U motyli wykryliśmy rybozyd kwasu moczowego [J. Heller, M.M. Jeżewska, *Acta Biochim. Polon.*, 7, 469-u 473, 1960], który, jak sądziliśmy, mógłby być związkiem przejściowym w biosyntezie kwasu moczowego. Jednak zidentyfikowaliśmy go jako N-3 rybozyd [M.M. Jeżewska, Bohdan Gorzkowski, T. Sawicka, *Acta Biochim. Polon.* 14, 71-75, 1967]; prawdopodobnie bierze on udział w transporcie gorzej rozpuszczalnego kwasu moczowego.

Następnym obiektem badań nad biosyntezą układu purynowego u bezkręgowców stał się lądowy ślimak winniczek *Helix pomatia*. Wbrew przyjętym poglądom, okazało się, że końcowymi produktami jego metabolizmu azotowego są wyłącznie kwas moczowy, ksantyna oraz guanina; znakowana ¹⁴C glicyna wbudowywała się in

vivo w te puryny w taki sam sposób, jak w innych organizmach [M.M. Jeżewska, B. Gorzkowski, J. Heller, Acta Biochim. Polon. 1963, 10,55-65; ibidem 10, 309-314; ibidem 1964, 11, 135-138]. Te wyniki wraz z danymi uzyskanymi przez innych badaczy o udziale CO₂ i kwasu mrowkowego w biosyntezie kwasu moczowego u ślimaków lądowych *Otala lactea* ugruntowały pogląd, że układ purynowy powstaje w ten sam sposób we wszystkich organizmach żywych, i są powszechnie cytowane w literaturze światowej. Krytyczny przegląd danych literaturowych i porównanie ich z naszymi danymi złożyły się na pracę habilitacyjną [M.M. Jeżewska, habilitacja 1968; Monografia Biochemiczna 21, 1969]. Kontynuując badania nad przemianą puryn i pirymidyn u ślimaków B. Gorzkowski, asystent w Zakładzie Chemii Fizjologicznej AM, uzyskał doktorat na Akademii Medycznej w 1969 roku.

Moje badania z udziałem laborantki Ewy Winter nad składem wydalin z nefridium ślimaków z terenu Polski wykazały, że gatunki z rodzin **Helicidae** i **Limacidae** są purynoteliczne, a żyjące w tych samych środowiskach ekologicznych **Arionidae** nie wydalają puryn, co może wskazywać, że purynotelizm jest cechą filogenetyczną, a nie adaptacyjną [M.M. Jeżewska, Acta Biochim. Polon. 16, 313-320, 1969; Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol. 19, 23-26, 1971; ibid. 20, 365-368, 1972].

Enzymy biorące udział w przemianach związków purynowych u *H. pomatia* stały się przedmiotem wspólnych badań moich i mgr. Jerzego Barankiewicza. Na podstawie uzyskanych danych [J. Barankiewicz, praca doktorska, 1973; J. Barankiewicz, M.M. Jeżewska, Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol. 20, 1-4, 1972; ibid. 24, 253-257, 1976; ibid. 26, 581-588, 1978; Comp. Biochem. Physiol. 46B, 177-196, 1973; ibid. 52B, 239-244, 1975; ibid. 54B, 239-242, 1976] przedstawiliśmy schemat katabolizmu i reutilizacji związków purynowych w wątrobotrzustce *H. pomatia* [M.M. Jeżewska, J. Barankiewicz, Adv. Exp. Med. Biol. Vol. 76A, 206-211, 1977]. Ten pierwszy dla typu mięczaków (**Mollusca**) schemat potwierdziliśmy wraz z nowym członkiem zespołu, mgr Haliną Kadłubowską-Trembacz, w badaniach z użyciem izolowanych hepatopancreocytów *H. pomatia* [J. Barankiewicz, H. Kadłubowska, M.M. Jeżewska, Acta Biochim. Polon., 26, 11-19, 1979]. Jego swoistą cechą jest cykl: adenylan → adenozyne → adenina → adenylan z udziałem wykrytej przez nas specyficznej fosforylasy adenozyne, znalezionej przez innych badaczy u bakterii *Bacillus subtilis*, ale nieznaney w świecie zwierząt. Być może, ten cykl reakcji przyczynia się do zachowania wysokiego poziomu adenylanów u bezkręgowców mimo okresów anaerobiozy, głodu czy szoków termicznych podczas snu zimowego.

W drugiej połowie lat 60. uwagę wielu badaczy przyciągnęły genetyczne uszkodzenia przemiany pury-



Prof. Monika Jeżewska ze swoimi współpracownicami, Haliną Trembacz i Grażyną Jwdoszuk na tle spektrofotometru fluorescencyjnego, 30 grudnia 1999 w nowym gmachu IBB przy ul. Pawińskiego.

nowej u dzieci. Pierwszym zidentyfikowanym defektem był brak enzymu, fosforybozylo-transferazy hipoksan-tyno-guaninowej (HGPRT), dziedziczony recesywnie w sprzężeniu z chromosomem X, a jednym z jego klinicznych objawów – kilkunastokrotne zwiększenie ilości kwasu moczowego wydalanego w moczu (tzw. Zespół Lesch-Nyhana, ZLN). Inicjatorem badań nad ZLN w Polsce był dr J. Zaremba z Instytutu Psychoneurologicznego w Warszawie i od 1973 roku prowadziliśmy w naszej pracowni biochemiczną identyfikację ZLN u chorych chłopców i heterozygotycznego nosicielstwa ZLN u spokrewnionych z nimi kobiet. Odbiorcą tych ekspertyz był Instytut Psychoneurologiczny, a później Instytut Matki i Dziecka, Centrum Zdrowia Dziecka i różne szpitale; nasze wyniki weszły też w skład 6 publikacji klinicznych [1973, 1977, 1978, 1980, 1997, 1998]. W celach diagnostycznych oznaczaliśmy też poziom aminohydrolazy adenozyne (ADA) i fosforylasy nukleozydu purynowego (PNP) u dzieci z zaburzeniami oporności immunologicznej, co mogło być wynikiem genetycznie uwarunkowanego braku ADA i PNP. Badaliśmy też wpływ obniżonego poziomu HGPRT na aktywność tych dwóch enzymów w ZLN [J. Barankiewicz, M.M. Jeżewska, Adv. Exp. Med. Biol., 76A, 391-397, 1977] oraz zmiany aktywności enzymów reutilizujących puryny w powiązaniu z syntezą RNA w gruczołach mlecznych podczas ciąży i laktacji myszy [J. Barankiewicz, M.M. Jeżewska, P. Chomczyński, FEBS Letters, 60, 384-387, 1975].

Podsumowanie 25 lat naszych klinicznych badań ZLN przedstawiłam na 7. Sympozjum Europejskiego Towarzystwa do Badań Purynowego i Pirymidynowego Metabolizmu u Człowieka [Cell. Mol. Biol. Letters, 385, 1999] w Gdańsku. Członkostwo w tym Towarzystwie umożliwiło mi poznawanie aktualnych zagadnień związanych z badaniami nad przemianą purynową. Takim zagadnieniem było m.in. pojawianie się ksantyny w mo-

czu dzieci z ZLN i pacjentów chorych na skazę moczową, leczonych allopurinolem.

Badania nad przebiegiem ciągu reakcji: hipoksantyna → ksantyna → kwas moczowy, katalizowanym przez oksydazę ksantynową z mleka wyjaśniły, że proces ten zachodzi z przejściowym nagromadzeniem ksantyny, które zwiększa się pod wpływem allopurinolu, inhibitora enzymu [M.M. Jeżewska, Eur. J. Biochem. 36, 385-390, 1973; ibidem. 46, 361-365, 1974]. Badania z udziałem doktoranta Zbigniewa Kamińskiego, nad katalizą przez natywną, zależną od NAD^+ dehydrogenazą ksantynową z wątroby szczura wykazały taki sam przebieg hydroksylacji hipoksantyny jak katalizowany przez oksydazę [Z.W. Kamiński, M.M. Jeżewska, Biochem. J. 181, 177-182, 1979; ibidem, 200, 597-603, 1981; Z.W. Kamiński, praca doktorska, 1981]. Jednak w odróżnieniu od oksydazy, dehydrogenaza była hamowana w 50% przez powstający NADH już w jego fizjologicznych nanomolowych stężeniach, NAD^+ zaś w fizjologicznym mikromolowym stężeniu zapobiegał przejściu dehydrogenazy w oksydazę. A zatem u ssaków usuwanie hipoksantyny z puli wolnych puryn przez dehydrogenazę ksantynową mogłoby być *in vivo* modyfikowane przez stosunek NAD^+/NADH zmieniający się w komórce pod wpływem różnych czynników [M.M. Jeżewska, Z.W. Kamiński, Adv. Exp. Med. Biol. Vol. 122B, pp. 35-40, 1980]. Przy zahamowaniu dehydrogenazy ksantynowej reutilizacja pozostającej w puli hipoksantyny zwiększałaby poziom nukleotydów purynowych, ograniczając jednocześnie ich biosyntezę *de novo* i powstawanie kwasu moczowego. Innym czynnikiem, który mógłby wpływać na zahamowanie zarówno resyntezy, jak i biosyntezy *de novo* nukleotydów purynowych, jest spontaniczny i enzymatyczny rozpad podstawowego substratu dla obu tych procesów, 5-fosforybozylo-1-pirofosforanu, do rybozo-1-fosforanu [H. Trembacz, M.M. Jeżewska, Biochem. J. 271, 621-625, 1990].

Porównawcze badania nad oksydoreduktazami ksantynowymi z wątrób przedstawicieli gadów, ryb, płazów i ptaków z udziałem nowej doktorantki Barbary Zakrzewskiej ukazały zróżnicowanie ich właściwości katalitycznych [Z.W. Kamiński, M.M. Jeżewska, Comp. Biochem. Physiol. 78B, 447-451, 1984; ibidem. 80B, 371-375, 1985; B. Zakrzewska, M.M. Jeżewska, Comp. Biochem. Physiol. 84B, 361-365, 1989; ibidem. 97B, 135-139, 1990], które można wiązać z ich różną rolą w organizmach o odmiennym typie wydalania azotowego (ureo-, uriko-, amoniotelia) i potwierdziły unikatową funkcję regulacyjną dehydrogenazy ksantynowej, jedynie u ssaków hamowanej przez NADH [M.M. Jeżewska, Z.W. Kamiński, B. Zakrzewska, Adv. Exp. Med. Biol. 253B, 185-192, 1989; Jeżewska, Acta Biochim. 37, 331-344, 1990; B. Zakrzewska, praca doktorska, 1991]. Po doktoracie Barbara Zakrzewska wyjechała na staż do USA, skąd nie powróciła.

W 1986 roku przybyła do nas technik Grażyna Jewdoszuk. Pod koniec lat 70. i w ciągu lat 80. ukazało się sporo prac o metabolizmie nukleotydów purynowych w różnych pasożytach. Wyróżnia się on od metabolizmu kręgowych żywicieli ostatecznych i pośrednich żywicieli bezkręgowych brakiem biosyntezy nukleotydów purynowych *de novo*. Pasożyty muszą więc pobierać od żywicieli gotowe puryny, a jednym z enzymów, który mógłby to umożliwić, jest fosforylaza adenozykowa. Enzym ten nie występuje u kręgowych żywicieli i jego hamowanie mogłoby być chemoterapeutyczną metodą leczenia chorób pasożytniczych. Nowe metody rozdzielania białek za pomocą chromatografii kolumnowej oraz spektrofotometr nadający się do śledzenia przebiegu reakcji enzymatycznych w czasie umożliwiły nam oczyszczenie i zbadanie wielu właściwości katalitycznych tego enzymu ze ślimaka *H. pomatia* [H. Trembacz, M.M. Jeżewska, Biochem. Physiol., 104B, 481-487, 1993]. Dalsze badania wykazały powszechność występowania fosforylasy adenozykowej w ślimakach lądowych i słodkowodnych oraz w pasożytujących w nich larwalnych postaciach przywry (**Trematoda**) różnych gatunków. Aktywność tego enzymu była wysoka u ślimaków, a niska u przywry, co przeczyłoby jego udziałowi w procesie pobierania adeniny od żywiciela. Stwierdziłyśmy też znaczne różnice w aktywności innych enzymów przemiany purynowej między ślimakami i przywrami, i mały wpływ zakażenia pasożytami na poziom enzymów w wątrobo-trzustce tych żywicieli [H. Trembacz, M.M. Jeżewska, Comp. Biochem. Physiol., 107B, 135-139, 1994].

Okazało się, że adenozykowa fosforylaza (AdoPho) występuje także w gąsienicach, poczwarkach i dorosłych postaciach owadów oraz w dorosłej postaci przywry *Fasciola hepatica*, jest enzymem powszechnym u bezkręgowców [H. Trembacz, M.M. Jeżewska, Adv. Exp. Med. Biol. 1995, 370B, 509-512]. Podczas oczyszczania tego enzymu z dorosłej postaci *F. hepatica* pasożytującej w przewodach żółciowych krwi wyróżniłyśmy 3 jego formy o różnej masie cząsteczkowej i różnej specyficzności substratowej wobec naturalnie występujących nukleozydów adeniny: dwie formy specyficzne wobec adenozyminy i deoksyadenozyminy, trzecia także wobec 5'-metylotioadenozyminy. Wykryłyśmy też deaminazę o niskiej specyficzności wobec nukleozydów adeniny i zbadaliśmy inhibicję przez analogi nukleozydów o zmienionej budowie układu purynowego lub części cukrowej [H. Trembacz, M.M. Jeżewska, Adv. Exp. Med. Biol. 431, 711-717, 1998].

W latach 1998–1999 moje współpracowniczki odeszły do innych zadań: mgr. Halina Trembacz przeniosła się do Instytutu Onkologii, technik Grażyna Jewdoszuk zaś przeszła do Pożywkarni. Po moim odejściu na emeryturę, Laboratorium Metabolizmu Związków Purynowych przestało istnieć, kończąc 45 lat badań w Zakładzie Biochemii Porównawczej IBB.

Przemiana związków cukrowych*Teresa Sawicka*

Doktor Teresa Sawicka pracowała w Zakładzie Biochemii Ewolucyjnej, a następnie Biochemii Porównawczej od 1961 do 1995 roku. Zajmowała się głównie biosyntezą wielocukrów u bezkręgowców i kręgowców. Tytuł doktora nauk przyrodniczych uzyskała w 1968 roku na podstawie pracy dotyczącej biosyntezy galaktogenu u ślimaka *Helix pomatia* [T. Sawicka, T. Chojnacki, Comp. Biochem. Physiol. 26, 707-713, 1968]. Podczas rocznego stażu (1970/1971) w Narodowym Instytucie Zdrowia (Bethesda, USA) pracowała nad występowaniem glikozylotransferaz w krwi ludzkiej [T. Sawicka, FEBS Letters, 6, 346-348, 1971].

W 1982 roku uzyskała tytuł doktora habilitowanego na podstawie pracy dotyczącej heteropolisacharydów u ssaków [T. Sawicka, Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 21, 491-498, 1973; G. Spik, P. Six, S. Bouquet, T. Sawicka, J. Montreuil in: Glucoconjugates Research, Eds. J.D. Gregory, R.W. Jeanloz, Academic Press, 2, 933-936, 1979].

W latach 80. dr hab. T. Sawicka badała enzymy hydrolityczne w ścianach komórkowych roślin wyższych [T. Sawicka, Phytochemistry 26, 59-63, 1987; T. Sawicka, A. Kacperska, J. Plant Physiol. 145, 357-362, 1995].

W 1995 roku dr hab. T. Sawicka przeszła na emeryturę.

Doktoraty:

1958: Przemysław Szafrąński; 1959: Ludmiła Szarkowska, Zofia Lassota, Jan Włodzimierz Szarkowski; 1961: Tadeusz Chojnacki; 1962: Maria Monika Jeżewska; 1964: Tomasz Gołaszewski; 1967: Maria Erecińska,

Alicja K. Drabikowska, Stefan Klita; 1968: Teresa Sawicka; 1970: Anna Radomińska-Pyrek; 1971: Marta Rytel; 1972: Maria Agnieszka Siwecka, Zenona Grodzka, Krystyna Grzelak; 1973: Jerzy Barankiewicz, Zdzisław Matysiak, Zofia Sienkiewicz; 1974: Elżbieta Kuligowska, Małgorzata Bielińska, Wiesław Jankowski; 1976: Włodzimierz Sasak, Tadeusz Mańkowski, Maria Borucka-Mankiewicz, Łucja Wilińska; 1977: Ewa Grąbczewska, 1980: Ewa Kolanowska, Anna Przykorska; 1981: Anna M. Krówczyńska, Zbigniew Wawrzyniec Kamiński; 1983: Danuta Rzymkiewicz; 1985: Nowak Joanna; 1991: Barbara Zakrzewska; 1992: Ewa Szołajska; 1993: Barbara Kłudkiewicz; 1995: Joanna Gabryszuk.

Habilitacje:

Przemysław Szafrąński (1960), Ludmiła Szarkowska (1964), Jan Włodzimierz Szarkowski, Maria Janina Piechowska (1965), Tadeusz Chojnacki (1966), Zofia Lassota (1967), Maria Monika Jeżewska, Alicja Krystyna Drabikowska (1968), Teresa Sawicka (1982), Olszańska Bożenna (1985), Joanna Michalik, Krystyna Grzelak (1995), Anna Przykorska (1996).

Tytuł Profesora Nadzwyczajnego:

Przemysław Szafrąński (1967), Jan Włodzimierz Szarkowski (1971), Tadeusz Chojnacki (1972), Zofia Lassota (1974), Maria Janina Piechowska (1978), Maria Monika Jeżewska (1979).

Tytuł Profesora Zwyczajnego:

Przemysław Szafrąński, Jan Włodzimierz Szarkowski (1978), Zofia Lassota (1982), Maria Monika Jeżewska (1989).

POCZĄTKI: NA KRAKOWSKIM PRZED- MIEŚCIU

Wokół Zakładu Biochemii Porównawczej – kształtowanie kierunku badań nad lipidami

Tadeusz Chojnacki

W 1952 roku do Warszawskiej Akademii Medycznej przybył z Wrocławia prof. Józef Heller. Rozpoczął wykłady z chemii fizjologicznej dla II roku na Wydziale Lekarskim, zastępując doc. Kazimierza Zakrzewskiego. Była to ogromna różnica stylu. Po niezwykle energicznie (i ze zdecydowanie dyscyplinującymi działaniami) prowadzonych wykładach, wyraźnie ukierunkowanych na zagadnienia medycyny i farmacji, prof. Heller swym nadzwyczaj powolnym, swobodnym sposobem przekazywał kilkusetosobowej grupie słuchaczy podstawy chemii fizjologicznej, wypisując na tablicy wzory nawet najprostszych aminokwasów. Potem dopiero, po latach, można było sobie zdać sprawę, że były to raczej rozważania dla dorosłych o nauce, o kształtowaniu się nowej dyscypliny naukowej.

Niecierpliwi dwudziestolatkowie mający za trzy lata zacząć leczyć ludzi nie potrafili docenić głębi tej otwieranej dopiero dyscypliny naukowej, początków jej historii. Gdy na jeden z wykładów zamiast prof. Hellera przybył w zastępstwie doc. Zakrzewski – powitano go oklaskami. Woleliśmy wówczas porywające informacje o świeżo dokonanych frakcjonowaniach białek osocza krwi i innych efektownych dokonaniach farmakomedycyny (mieliśmy zaraz potem być zwykłymi lekarzami, a po kilkudziesięciu latach cenionymi chirurgami, ginekologami a nawet ministrami czy generałami). Wtedy jako dwudziestolatkowie słuchaliśmy z podziwem młodego trzydziestolatka – doc. Zakrzewskiego, a nie starszego, pięćdziesięcioletniego prof. Hellera, który, jak nam się wydało, mówiąc o nauce ciekawie, nie przekonał nas, że medycynę czekać może wielki postęp dzięki nauce. Brak nam było jeszcze jednej generacji naukowców-nauczycieli. Nie żyli twórcy polskiej biochemii – Przyłęcki i Parnas i szereg innych osób, które zabrała wojna i powojenne trudne czasy.

W Zakładzie Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej prof. Heller stworzył Zakład Biochemii Porównawczej PAN; tu rozpoczął swą historię Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, który zapowiadano już w 1956 roku w opracowaniu *10 lat nauki w Polsce Ludowej*. Pisano w tym opracowaniu o wybitnych osiągnięciach przyszłych luminarzy tej placówki, zatrudnionych w szeregu istniejących już instytutów i uczelni.

Kilka pokojów-pracowni na II i III piętrze gmachu Medycyny Teoretycznej zajmował w sposób nierozdzielny Zakład Biochemii Porównawczej z Zakładem Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej. Nie było między nimi ścisłego rozgraniczenia. Część pracowników była zatrudniona na dwu etatach, część na jednym. Profesor Heller kierował obu Zakładami.

Profesor Mochnacka (w pierwszych latach do 1954 roku docent) kierowała głównie Zakładem Chemii Fizjologicznej, choć w sprawy tworzącego się Zakładu była głęboko zaangażowana. W kilku pokojach-pracowniach mieli swoje miejsca pracy Konstancja Raczyńska-Bojanowska z Krystyna Bełżecką, pracujące nad hydrolyzatom białek krwi; często przychodziła do nich związana z tymi pracami prof. Irena Chmielewska z Uniwersytetu Warszawskiego. W kolejnych pokojach pracowali: Zofia Lassota, Ludmiła Szarkowska, Jan Szarkowski, Przemysław Szafranski i Tadeusz Głębiński – współpracownicy tragicznie zmarłego prof. Ernesta Syma, oraz Teresa Szymczyk, Zofia Porębska, Ewa Ostrowska (wyszła w tym czasie za bardzo już chorego Tadeusza Głębińskiego), Józef Roszkowski, Hanna Wehrowa, Marta Niewiarowska i Stefan Niewiarowski.

W pokoju tuż za gabinetem prof. Hellera i prof. Mochnackiej mieli swe miejsca pracy: prof. T. Korzybski, Czesława Niczko, Teresa Sawicka i Tadeusz Chojnacki. W tym pokoju powstawało wiekopomne dzieło *Antybiotyki* Korzybskiego, Kuryłowicza i Kowczyk-Gindifer, które po 50 latach, wydań polskich i tłumaczeń na kilka języków jest nadal w rękach wielu lekarzy.

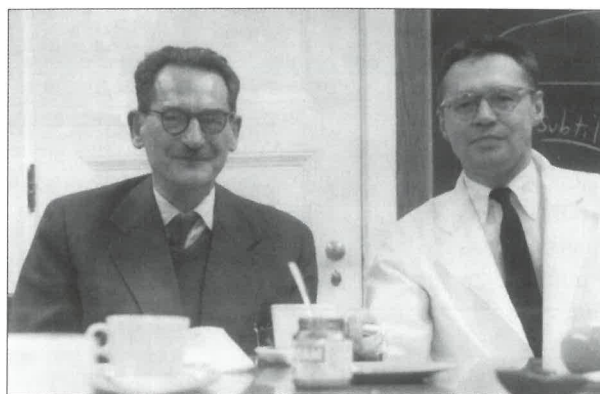
Stukała maszyna do pisania Hermes prof. Korzybskiego, obok pracował aparat Warburga, stukał też licznik G-M, rozpełzały się gąsienice w „stadium biegania”, odbywał się ceremoniał parzenia herbaty dla około 10 osób, co kwadrans rozlegał się dzwon z kościoła Wizytek.

Tematyka prac naukowych dużego, złożonego zespołu osób zajmujących się dydaktyką w Zakładzie Chemii Fizjologicznej i nowo kreowana tematyka biochemii porównawczej były bardzo rozproszone.

Głównym miejscem, gdzie rzeczywiście ulokowana była niepodzielnie Biochemia Porównawcza, stanowił pokój przejściowy do sali ćwiczeń dla studentów Akademii Medycznej. Tam było miejsce pracy pań Marii Janiny Piechowskiej i Moniki Jeżewskiej. Często przychodził do nas Leszek Tomaszewski w zielonym mundurze kapitana piechoty – zajmował się witaminą B12. Pamiętam też często przychodzącego francuskojęzycznego dr. Grunlanda ze współpracownicą – zajmowali się inozytalem. Mniej lub bardziej związani z tym miejscem pracy dydaktycznej i naukowej byli także: Danuta Hulaniczka, Ewa Sikorska, Michał Bagdasarian, Stefan Klita, Teresa Laskowska, Stanisław Perzyński, Jadwiga Lutowicz, Eugeniusz Sułkowski, Witold Sendeci, Hania Michałek. Tu rozpoczynały swą wieloletnią pracę młodziutkie Krystyna Gocman i Danuta Klarkowska. Obok prof. Mochnackiej główną osobą zajmującą się dydaktyką był doc. Wiesław Tysarowski. Zanim po stażu paryskim u P. Słonimskiego i Effrussiego rozpoczął prace nad drożdżami, dokonał syntezy kilku gramów kwasu wersenowego i obdzielił tą cenną substancją kompleksującą wapń, potrzebną to badań enzymatycznych i do analityki biochemicznej, wszystkich współpracowników. Na przełomie lat 50. i 60. następowało uściślanie składu osobowego jednostki należącej do PAN.

Dla potwierdzenia zamiaru tworzenia Instytutu duże znaczenie miała kilkutygodniowa wizyta prof. Hellera w Stanach Zjednoczonych w 1956 roku. Spotkania Hellera z wielu luminarzami biochemii w USA były bardzo pomocne dla rozwoju badań w Polsce. Ta amerykańska wizyta zostawiła za oceanem żywą pamięć działań prof. Hellera. Postacie takie jak: Albert Lehninger, Eugene Kennedy, Linus Pauling, David Greene stały się bliskie nauce w Polsce, a ich pracownie otwarto dla polskich stypendystów. Kilka cennych odczynników przywiezionych z USA pozwoliło prowadzić ważne i ciekawe badania.

W 1957 roku został sformowany Instytut Biochemii i Biofizyki PAN; Zakład Biochemii Porównawczej kierowany początkowo przez prof. Mochnacką był jego częścią. Zakład ten podobnie jak szereg innych jednostek nowo powstałego Instytutu oczekiwał przeniesienia do nowej wspólnej siedziby przy ulicy Rakowieckiej, co nastąpiło na przełomie lat 1963/1964. Wspomnieć trzeba jeszcze o kilku osobach: Kazimierzu Marciniaku, pani Broni i pani Zofii Falkowskiej – personelu laboratoryjnym, o pani Reginie Prokof (Nowickiej) sekretarce,



Józef Heller i Albert Lehninger na zjeździe w Baltimore, USA, 11.04.1965

panu Paczuskim – szklarzu pracującym na naszym piętrze i panu Stańczyku też bardzo doświadczonym szklarzu mającym pracownię w innym budynku. Pan Ryszard Szubiński przez pierwszych kilka lat był wspólnym, kompetentnym opiekunem naszej aparatury, a często i konstruktorem przyrządów.

Pani Małgorzata Wilczewska panująca nad sekretariatem nowo powstającego Instytutu sekretarowała Radzie Naukowej od samego początku, przez blisko 30 lat. Pani Wilczewska była prawą ręką dyrektora Instytutu. Obecnie blisko już 90-letnia zasługuje na wielkie uznanie za systematyczność, znajomość ludzi, dążenie do wzorowego porządku, doskonałą znajomość niemieckiego. Wszystko predestynowało ją do funkcji zastępcy dyrektora do spraw ogólnych; w rzeczywistości tę funkcję pełniła, choć w tamtych czasach formalnego powołania się nie doczekała.

W Pałacu Staszica, w jednym małym pokoju, mieściła się administracja placówki i pracowali tam: dyrektor administracyjny Michał Klisiak, pani Halinka Tekeli, pani Kazimera Rutkowska i pani Teresa Natorff.

Na lewo od wejścia do gabinetu prof. Hellera i prof. Mochnackiej było wejście do pokoju-biblioteki z masywnym ogromnym stołem, wokół którego były półki z czasopismami: niemieckojęzycznymi: H-S Z. Physiol. Chem., Biochemische Z., anglojęzycznymi Biochem. J. i J. Biol. Chem. i rosyjskimi Biochimia. Często odbywały się tam posiedzenia Komitetu Biochemii i Biofizyki z udziałem najważniejszych biochemików polskich; przewodniczyli chyba prof. Bolesław Skarżyński i prof. Tadeusz Baranowski, a sekretarowała Michał Bagdasarian.

Seminaria ogólne odbywały się w tej bibliotece albo w jednej z pracowni na piętrze.

Pewnego razu w 1953 roku na takie seminarium prof. Heller przyprowadził doc. Davida Shugara, świeżo przybyłego do Polski. David Shugar zabierał głos w sprawie pomiarów spektrofotometrycznych. Przez następne 50 lat był i jest nadal osobowością niepowtarzalną, polskim biochemikiem znanym i cenionym na świecie.

W tym czasie Zakład Biochemii w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, kierowanym

przez wybitnego uczonego Jana Dembowskiego, wiceprzewodniczącego Rady Państwa był już mocno okrzepłą, ustabilizowaną jednostką o wysokiej renomie, a tematyka biochemii porównawczej była z powodzeniem eksponowana przez prof. Wł. Niemerko. W tym samym niemal czasie w czasopiśmie *Nature* ukazał się artykuł o polifosforanach mola woskowego z pracowni Wł. Niemerki i praca Hellera, Karpiaka i Zubikowej o występowaniu nieorganicznego pirofosforanu u motyla wilczomlecza. Obie te prace na owadach dawały początek nowym kierunkom badawczym.

W Instytucie Biochemii i Biofizyki celem prof. Hellera było ustanowienie wszechstronnego podejścia i objęcie badaniami wszystkich dziedzin biochemii; w tym celu tworzone były w Zakładzie Biochemii Porównawczej zespoły badawcze zajmujące się białkami, kwasami nukleinowymi, procesami oddychania, lipidami, przy czym stale aktualne były badania na obiektach: *Celerio euphorbiae*, *Bombyx mori*, *Actia caja*, *Helix pomatia*, *Locusta migratoria*, *Sphinx pinastri*, *Sp. ligustri* i reprezentacje rodziny *Cheleuptoptera* – patyczaków.

Te różne obiekty biologiczne miały służyć realizacji celu prof. Hellera, aby sprawdzać drogi metaboliczne u odległych ewolucyjnie gatunków i próbować znaleźć podstawy biochemiczne niezwykłych zjawisk biologicznych, jak przeobrażanie, hibernacja, zjawiska ekofizjologiczne. Nadal dalecy jesteśmy od pełnego rozumienia tych zjawisk i nadal stanowią niezwykle atrakcyjny temat badawczy.

Dalszym celem prof. Hellera było stworzenie w Instytucie szerokiego pola badań biofizycznych, radiologicznych, mikrobiologicznych, wirusologicznych i immunologicznych a także analityki klinicznej poprzez włączenie istniejących już w Warszawie i poza Warszawą odpowiednich pracowni i zespołów. Nie wszystkie zamierzenia udało się spełnić. Bolesna strata doc. Ludmiły Szarkowskiej oznaczała stopniowo malejące zaangażowanie Instytutu, mimo wysiłków Alicji Drabikowskiej, Marii Erecińskiej i Elżbiety Kuligowskiej w badaniach nad oddychaniem tkankowym, które w połowie lat 50. dorównywały osiągnięciom Mortona w Liverpoolu i Klingenberga w Marburgu. Po wielu latach pozostała mało znana korespondencja Hellera i Szarkowskiej z Mortonem dotycząca polskiego priorytetu w badaniach nad oddychaniem chinonowym i jedna, dwie zawsze cytowane publikacje Szarkowskiej o ubichinonie, do których teraz wracamy w Instytucie z poczuciem żalu za porzucanymi wówczas kierunkami badawczymi.

Ambitne zamierzenie utworzenia pracowni wirusologicznej z kolei załamało się z powodu przykrego, nieoczekiwanego zawodu – wyemigrowania do Kanady i USA doc. Koziańskiego wraz z zespołem pracowników zaangażowanych w rozpoczęcie badań wirusologicznych w Polsce. Negatywne konsekwencje tego faktu pozostają do dziś. Było coś w tematykach badań nad

owadami, ślimakami i innymi obiektami wypełniającymi półki, stoły i terraria Zakładu Biochemii Porównawczej, co pokazywało tajemniczość procesu życiowego u setek zamkniętych w pudełeczkach zapalczanych, zimujących w lodówkach przez rok lub więcej, poczwarkach motyla wilczomlecza, wspaniałość bioróżnorodności na poziomie molekularnym i uniwersalność powstającej na naszych oczach nowoczesnej biochemii.

Te badania znajdowały także przekładnię do badań stosowanych; pozwalały w sposób kompetentny, z pożytkiem, brać udział w badaniach medycznych np. prof. M. Jeżewskiej nad metabolizmem zasad nukleinowych i nad galaktogenem doc. T. Sawickiej. Stąd weszła później do polskich klinik pediatrycznych oryginalna diagnostyka zespołu Lesh-Nyhana i galaktozemii.

W pokojach Zakładu Biochemii Porównawczej, głównie w gabinecie prof. Hellera i prof. Mochmackiej, miały swój początek Biuletyn PAN (redakcja biologiczna) i nowo powstające pismo *Acta Biochimica Polonica*. Od końca lat 50. przez kilka dziesięcioleci pani Anna Olszańska była nadzwyczaj sumiennym współtwórcą i redaktorem *Acta Biochimica Polonica* – obok głównych inicjatorów i redaktorów tego kwartalnika, prof. I. Mochmackiej i prof. W. Mozołowskiego.

Pod koniec lat 50. zespół na Krakowskim Przedmieściu pod kierunkiem K. Raczyńskiej-Bojanowskiej kończy polskie tłumaczenia podręcznika Frutona i Simmonds *Comparative Biochemistry* (1958, USA). Wybór tego dzieła jako podręcznika uniwersyteckiego dla polskich studentów to również wyraz szeroko aprobowanego kierunku nadawanego przez prof. Hellera.

W latach 1963-1964 następuje faktyczne wydzielenie zespołu PAN i przeprowadzka do gmachu Instytutu Fermentacyjnego przy ulicy Rakowieckiej 36. Tam znalazły siedzibę również inne zespoły. Na Krakowskim Przedmieściu pozostała ponad połowa osób, których nazwiska widnieją w niniejszym opisie. Została z nimi prof. Irena Mochmacka jako kierownik Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej. Osoby tworzące Zakład Biochemii Porównawczej, kierowany przez prof. T. Korzybskiego i wykluwająca się zeń jako Zakład Biosyntezy Białka pracownia prof. P. Szafrąńskiego, skupiająca już Witolda Filipowicza i Włodzimierza Zagórskiego, zajęły kilkanaście pokoi na I piętrze nowej siedziby.

Zespół tworzący Zakład Chemii Fizjologicznej, obciążony dydaktyką, uboższy w aparaturę naukową i pozbawiony w praktyce możliwości odbywania dłuższych staży naukowych za granicą, mógł pozazdrościć kolegom z PAN możliwości pełnego zaangażowania w pracę naukową. Zdaniem niektórych, np. prof. Wiesława Tysarowskiego, wyłączanie części pracowników naukowych stanowiących trzon zespołów badawczych w uczelniach i w Instytutach resortowych prowadziło do osłabiania tych ostatnich oraz do niekorzystnego zanikania kontaktu pracowników PAN z studium młodzieżą.

Ale czy można było działać w tamtych czasach inaczej? Utworzenie większych multidyscyplinarnych placówek naukowych było potrzebne do stworzenia bazy dla przyszłego rozwoju nauki w Polsce; można je było tworzyć tylko z „czegoś”, co już istniało.

W gmachu Instytutu Fermentacyjnego przy ul. Rakowieckiej i we własnej siedzibie przy ul. Pawińskiego

Późniejsze koleje Zakładu Biochemii Porównawczej w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN to spontaniczny rozwój szeregu kierunków badawczych przenoszonych na polski grunt w wyniku bliskiej współpracy naukowej z ośrodkami zagranicznymi i pozostawienie nieograniczonej swobody wyboru tematyki przez kolejnych kierowników, prof. T. Korzybskiego i prof. J. Szarkowskiego. Wybór tematyki badawczej był w pewnej mierze także wynikiem podporządkowywania własnej, oryginalnej działalności wprowadzanym w Polsce formom centralnego sterowania nauką, obowiązującym w Problemach Rządowych, Centralnie Sterowanych lub Resortowych. Nazwę Biochemia Porównawcza zachowywała pracownia kierowana przez prof. Monikę Jeżewską.

Inne pracownie skierowały się ku tematyce związanej z fizjologią, biologią molekularną i komórkową lub próbowały specjalizacji w produkcji i marketingu pewnych biochemikaliów (Kolekcja Poliprenoli).

Zespół zorientowany na biochemię lipidów stał się zaczątkiem Pracowni Glikolipidów kierowanej przez prof. G. Palamarczyk i Zakładu Biochemii Lipidów (do 2002 roku prof. T. Chojnacki, od 2003 roku prof. E. Świeżewska). Dawny Zakład Biochemii Porównawczej stał się ostatnio częścią istniejącego od kilkudziesięciu lat Zakładu Biosyntezy Białka, a przez kilkadziesiąt lat swego istnienia przekształcał się w sposób spontaniczny i naturalny w inne kierunki badawcze; było to jednak spowodowane także narzucaniem swego zdania przez dyrektora powstającej placówki. Nowo przyjętemu dwudziestolatkowi prof. Heller polecił zajmowanie się lipidami, gdy inne dziedziny biochemii, białka, kwasy nukleinowe, oddychanie były już porozdzielane między osoby, które i tak z własnej chęci odnajdywały się w różnych działach biochemii. Celem prof. Hellera było, by powstający Instytut zajmował się możliwie wszystkimi dziedzinami pojawiającymi się w obszarze biochemii.

Lipidy

– próby rozwijania tematyki badawczej

Przy oczywistym braku własnego doświadczenia dwa zalecenia miały kierować działaniami osoby otwierającej nieistniejący jeszcze dział badań nad lipidami



Tadeusz Chojnacki

– szukanie tematu badań w bibliotece oraz poszukiwanie aspektu porównawczego, poszukiwanie bioróżnorodności, a właściwie w tamtych czasach, przed 50 laty, potwierdzanie reguły podobieństwa biochemicznego w świecie żywym. Podporządkowanie się poleceniu dyrektora było czymś oczywistym, tym bardziej, że rzeczywiście obiekt badań, zasugerowany problem badawczy i możliwość posługiwania się nowoczesną metodyką badawczą były atrakcyjne, jeśli chciało się je dostrzec.

Tak było w naszym Instytucie z początkiem badań nad fosfolipidami. W tym czasie, gdy Józef Heller i współpracownicy opisali nagromadzenie nieorganicznego pirofosforanu w *ductus ejaculatorius* samca motyla wilczomlecza, biochemia odkrywała mechanizm pirofosforolizy i specyficzność nukleozydo-5'-trójfosforanów w przemianach lipidowych i cukrowych. Na naszych chromatogramach ekstraktów, bogatych w charakterystyczną błękitną plamę pirofosforanu, widniała także szaroniebieska plama fosfocholiny. Pozwalało to bez zastrzeżeń przyjąć, że właśnie w ciele owada, zgodnie z postulowanym mechanizmem E. Kennedy'ego, odbywa się intensywne reakcje syntezy cytydynodwufosfocholiny z CTP i fosfocholiny, w której powstaje pirofosforan, a następnie lecytyna, i że widać szczegóły tego procesu tak wyraźnie, jak w żadnym innym obiekcie. Badania nad lipidami uzyskały nowy impuls dzięki włączeniu do lipidowej tematyki problematyki nukleotydów. Dzięki możliwości współpracy z prof. D. Shugarem i doc. W. Szerem z naszego Instytutu aspekt nukleotydowy przemiany lipidów mógł

z powodzeniem stać się linią przewodnią w tworzonej „kierunku lipidowym”. Dzięki prof. Shugarowi mogliśmy zastosować do badań radioizotop fosforu, a doc. W. Szer zsyntetyzował i udostępnił nieodzowny do prac z nukleotydami dwucykloheksylokarbodiimid. Wtedy, w połowie lat 50. był już z nami prof. T. Korzybski, który już w latach 30. rozpoczął badania nad metabolizmem mięśnia przy użyciu radiofosforu w pracowni Parnasa i Hevesy’ego. W latach 50. mieliśmy już polskie przyrządy pomiarowe, liczniki G-M z cienkimi mikowymi okienkami, duże i ciężkie przeliczniki elektronowe dwójkowe (radzieckie) lub dziesiątkowe (bydgoskie, patrz zdjęcie na str. 27) i nieocenione klisze rentgenowskie. Profesor Korzybski miał za sobą niezwykle ważny okres uruchamiania w Polsce produkcji antybiotyków i stale był zaangażowany w opracowywanie najważniejszego dzieła swego życia – encyklopedii antybiotyków, która ukazywała się w wielu językach i kolejnych wydaniach. Ta wielowątkowość tematyczna, w której zgodnie z życzeniem prof. Hellera miał się rozwijać kierunek badań nad lipidami od razu zdeterminowała zainteresowania naukowe członków zespołu, przyjęcie założenia, że nie tylko lipidy mają być obiektem naszych badań.

Kierunek badań nad lipidami początkowo dotyczył głównie udziału nukleotydów w ich biosyntezie, specyficzności enzymów syntetyzujących fosfoglicerydy, w dużej mierze fosfolipidów układu nerwowego oraz grzybów.

Zupełnie nowy kierunek został rozpoczęty po napotkaniu w bibliotece pod koniec lat 60. kilku prac autorów amerykańskich o fosfoprenolach i ich udziale w biosyntezie cukrowych polimerów bakteryjnych. Prace te, głównie artykuł przeglądowy w Science P.W. Robbinsa stały się zaczątkiem zainteresowań spektakularną funkcją koenzymatyczną grupy lipidów izoprenoidowych. Rozpoczęcie własnych badań na ten temat w Instytucie Biochemii i Biofizyki miało miejsce pod koniec lat 60. i było początkiem pracy naukowej nowo przyjętego magistra – Wiesława Jankowskiego. Był to zarazem początek kształtowania się linii badań nad lipidami izoprenoidowymi, prowadzonymi do dziś. W tym czasie dogasała już tematyka badań nad „lipidami glicerydowymi”; po swym doktoracie i stażu zagranicznym w USA opuściła na zawsze pracownię i pozostała w USA Anna Radomińska-Pyrek. Doktor Teresa Sawicka po opublikowaniu w USA niezwykle interesującego spostrzeżenia o zależnej od grup krwi charakterystyce transglikozydaz osocza krwi ludzkiej nie włączyła się do tematyki lipidowej.

Rozpoczęcie badań nad lipidami izoprenoidowymi uzyskiwało już na starcie cenne wsparcie. Autorzy pierwszej polskiej publikacji o fosfoprenolach (W. Jankowski i T. Chojnacki) zostali laureatami nagrody im. J.K. Parnasa za najlepszą pracę doświadczalną wykonaną w kraju. Uruchomiono z inicjatywy dyrektora

Instytutu prof. W. Gajewskiego specjalny fundusz tzw. Dodatkowe Środki Budżetowe na dofinansowanie nowych kierunków badawczych, m.in. tematyki poliprenolowej.

Obok rozpoczęcia tematyki poliprenolowej Dodatkowe Środki Budżetowe miały wspierać kierunek badań nad genetyką *Neurospora crassa*, klasycznego obiektu badań nad biosyntezą lipidów cholinowych. W tym okresie miało miejsce włączenie do Instytutu Biochemii i Biofizyki uniwersyteckiego Zakładu Genetyki kierowanego przez prof. Wacława Gajewskiego. Doktor Anna Kruszewska z Zakładu Genetyki oraz dr Anna Radomińska-Pyrek i kończący swą pracę doktorską w zespole lipidowym lekarz – Zdzisław Matysiak badali specyficzność enzymów prowadzących do wytworzenia lipidowo związanej choliny. Preparatyka specjalnych dwuglicerydów oraz ich szczegółowa analiza i wytworzenie prekursorowych form w biosyntezie choliny było warunkiem ukończenia z powodzeniem doktoratu Zdzisława Matysiaka i kilku publikacji. Nawiazanie do klasycznej genetyki neurosporowej i naukę podstawowych terminów i procedur genetycznych zawdzięczamy dr Annie Kruszewskiej. Jej niespodziewana śmierć przerwała te badania.

Doktorat został przez Zdzisława Matysiaka obroniony i mimo zmiennych życiowych losów teraz po kilkunastu latach dr Matysiak nadal jest związany z naszym Instytutem. Jest nieocenionym partnerem dyskusji naukowych i stymulatorem kontaktów z medycyną. Ostatnio w sposób zupełnie niekonwencjonalny wykonywał badania i stał się współautorem publikacji o acylowanych pochodnych neuroprekaźników, głównie dopaminy [Pokorski et al. Drug Der. Res. 60, 217, 2003].

Odrobina goryczy wraca, gdy wspomina się reakcję czasopisma „Polityka” ośmieszającą piórem Daniela Passenta tytuł pracy doktorskiej dr. Matysiaka. Sformułowanie tytułu pracy: „Specyficzność dwuglicerydów w stosunku do cytydynowych pochodnych fosfomonoi fosfodwumetylo-aminoetanoli w reakcji biosyntezy fosfolipidów” miało świadczyć, że naukowcy w Polsce nie zasługują na aprobatę (publikacja na przełomie lat 60. i 70.).

Do pracy w zespole przyjęto dr Grażynę Palamarczyk, mgr Tadeusza Mańkowskiego mgr Włodzimierza Sasaka i panią Józefinę Hertel. Zacieśniono współpracę z dr Ewą Janczurą z Państwowego Zakładu Higieny, z Zakładem Chemii Organicznej Uniwersytetu Warszawskiego kierowanym przez prof. Świdarskiego i Instytutem Chemii Organicznej PAN kierowanym przez prof. M. Kocóra oraz rozpoczęto współpracę z prof. G. Dallnerem z Zakładu Biochemii Uniwersytetu Sztokholmskiego i Karolińskiego Instytutu Medyko-Chirurgicznego. Po latach obie te instytucje nadały dwu osobom z zespołu lipidowego, prof. Ewie Świeżewskiej i prof. T. Chojnackiemu honorowe doktoraty. Staliśmy

się atrakcyjnym partnerem współpracy naukowej dzięki osiągniętemu w Warszawie zaawansowaniu w dziedzinie chemii poliprenoli.

Dodatkowym wsparciem w pierwszym okresie tworzenia kierunku badawczego nad poliprenolami było uzyskanie grantu z Departamentu Rolnictwa USA z tzw. puli PL-480 na nasze badania oraz możliwość wizytowania wszystkich znaczących amerykańskich ośrodków naukowych zajmujących się naszą tematyką.

Rozwijające się badania nad chemią poliprenoli zostały poszerzone o badania ich funkcji biologicznej w szczególności dotyczące udziału tzw. koenzymów lipidowych w reakcjach glikozylacji białek. Stopniowo coraz częściej modelem badawczym stawały się drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Związało to część Zakładu Biochemii Porównawczej, a później Biochemii Lipidów, z pracami prowadzonymi w innych Zakładach, przede wszystkim w Zakładzie Genetyki IBB PAN. Ten kierunek badawczy rozwijany był początkowo przez dr G. Palamarczyk do której dołączyła w końcu lat 70. dr Anna Szkopińska. Początek lat 80. znacznie ograniczył możliwości rozwoju badań, także ze względu na ich rosnące koszty. Szukaliśmy nowych partnerów do współpracy. Jednym z nich był dr Christian Kubicek reprezentujący Zakład Mikrobiologii Politechniki w Wiedniu. Współpraca wymagała wprowadzenia nowego modelu badawczego grzyba nitkowatego *Trichoderma reesei*, a nasze prace coraz częściej miały charakter aplikacyjny. Rozpoczęcie współpracy zbiegło się z przyjęciem do IBB PAN mgr Joanny Kruszewskiej, która pod kierunkiem dr hab. G. Palamarczyk, rozpoczęła badania nad zależnością sekrecji i glikozylacji białek w *Trichoderma reesei*. Trzeba dodać, że badania te prowadzone są z sukcesem do dziś. Równoległe rozwijały się badania na drożdżach. Przełomem było wyprowadzenie się części Zakładu Biochemii Fosfolipidów w 1992 roku do nowego budynku przy ul. Pawińskiego 5a. Znalazł się tutaj zespół kierowany przez prof. G. Palamarczyk. Teraz w nowych warunkach udało się stworzyć grupę badawczą zajmującą się glikobiologią molekularną grzybów. Grupa ta w 2003 roku, po przejściu prof. Chojnackiego na emeryturę, została wydzielona z dawnego Zakładu Biochemii Lipidów w samodzielną pracownię Glikobiologii Grzybów.

Tematyka lipidowa w naszym Instytucie cierpiała na brak zaplecza metodycznego. Poza znacznym zaawansowaniem w stosowaniu technik izotopowych promieniotwórczych nie mieliśmy początkowo niczego z charakterystycznego dla lipidów warsztatu metodycznego.

Po zbadaniu zależnej od nukleotydów specyficzności enzymów syntetyzujących niektóre nielipidowe prekursorzy lipidów, zagłębienie się w problemy różnicowania molekuł lipidowych było niemożliwe bez rozbudowy specjalnych metodyk.

W latach 60. nieodzowna dla naszych zamierzeń badania lipidów chromatografia gazowa przeżywała okres swej świetności, ale zakupienie potrzebnej aparatury

było poza możliwościami; Instytut był ukierunkowany na rozbudowę parku ultrawirówek i spektrofotometrów. Nasze pierwsze doświadczenia w analityce i preparatyce lipidów odbyły się w Moskwie, na stażach w Instytucie Chemii Związków Naturalnych, w Zakładzie prof. L.D. Bergelsona i przy udziale jego współpracowników. Był to dobrze zorganizowany Zakład z nowoczesną aparaturą i dużym doświadczeniem w prowadzeniu badań nad lipidami, ugruntowanym ponaddwudziestoletnią powojenną praktyką. L.D. Bergelson był znany z odkrycia nowej klasy lipidów – pochodnych glikolu. Profesor Heller poznał go kiedyś w Berlinie (prof. Bergelson mógł poruszać się tylko wewnątrz KDLi) i zaproponował nawiązanie współpracy. Tak się też stało. Współpracownik prof. Bergelsona – W.A. Wawer przyjechał do Polski na miesiąc. Dowiedzieliśmy się, że w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt w Jastrzębcu stoi w magazynie nieużywany, nowy, niekompletny chromatograf, brytyjski Pye-104. Za kilka dni mieliśmy go już u nas, a nieoceniony Władimir Antonowicz, nie czekając na przeróżne części zapasowe, uruchomił go i nauczył nas, jak go wykorzystać. Wielka wdzięczność należy się dyrektorowi Instytutu w Jastrzębcu, prof. Maciejowi Żurkowskiemu, który nam dał ten aparat. Skąd pochodził ten wielki talent dr. Wawera? Trudne warunki pracy naukowej w Moskwie nauczyły go, jak sobie radzić nie tylko w pracy naukowej (umiał przerabiał np. na pięciobiegowe skrzynie biegów w ówczesnych samochodach). Pracy z lipidami nauczył się podczas stażu w Instytucie Šorma w Pradze. Uruchomiony przez niego chromatograf gazowy funkcjonował w naszym Instytucie przez ponad 20 lat. Najczęściej był wykorzystywany do badań cukrowców i nukleotydów. To, co mogliśmy zobaczyć w lipidach poprzez tradycyjne metody identyfikacji kwasów tłuszczowych, było łatwe i zbyt proste. Różnorodność molekuł cukrowców i ich pochodnych była znacznie ciekawsza.

Chromatograf gazowy nie mógł się nam przydać w badaniach nad poliprenolami i dolicholami. Nowym przyrządem, który stawał się podstawowym narzędziem, miał być chromatograf cieczowy; coraz bardziej stawał się nam potrzebny spektrometr magnetycznego rezonansu jądrowego.

Kierunek badań nad dolicholami rozwija od ponad 20 lat, także po swojej habilitacji w 2001 roku, doc. Anna Szkopińska. Jej wkład w rozwój tematyki poliprenolowej jest bardzo wszechstronny; przyniósł nowe informacje o enzymatycznej fosforylacji dolicholi, o specyficzności fosfodolicholi w reakcjach transglikozylacji dolicholi oraz wykrycie nieznanych dotąd grup dolicholi u drożdży.

Od kilkunastu lat kierunek lipidowy wraca na tory biochemii porównawczej. Poza wieloma publikacjami na temat enzymów związanych z biosyntezą i rolą lipidów izoprenoidowych widać nagromadzenie prac nad chemotaksonomią roślin. Poliprenole nabierają w pra-

cach w IBB PAN znaczenia jako markery bioróżnorodności roślin.

Zakład Biochemii Lipidów

Ewa Świeżewska

Tematyka wczesnych prac badawczych Tadeusza Chojnackiego dotyczyła gospodarki fosforowej motyla wilczomlecza (*Celerio euphorbiae*). W pracach tych badano zawartość organicznych difosforanów, ich syntezę z nieorganicznych prekursorów, tworzenie depozytów nieorganicznych fosforanów. W badaniach wykorzystywano [³²P] fosforany – związki unikatowe w latach 50. Prace wykonywane były w zespole, w którego skład obok Tadeusza Chojnackiego wchodziła dr Maria Piechowska i prof. Józef Heller. W 1961 roku T. Chojnacki, współpracując z prof. T. Korzybskim, opublikował pionierską pracę, w której dokonano syntezy chemicznej znakowanych izotopowo [³²P]fosfocholinoi, [³²P]fosfoetanolaminy i [³²P]fosfoseryny. W tym samym roku T. Chojnacki obronił pracę doktorską. Uzyskane związki służyły do badań syntezy fosfolipidów u ssaków i owadów. Pobyt dr Chojnackiego w pracowni prof. G. Ansella w Birmingham w 1962 roku umożliwił kontynuację tych badań i zaowocował serią interesujących publikacji. W pracy opublikowanej w Nature [196, 545, 1962] wykazano rolę nukleotydów cyto-

dynowych w syntezie fosfatydyloetanolaminy u ssaków. Prace publikowane w ciągu następnego pięciu lat, wykonywane w laboratorium w Warszawie oraz w czasie kolejnego pobytu dr. Chojnackiego w Birmingham, były kontynuacją tej tematyki. Szczególnie interesująca w tej serii wydaje się kolejna publikacja z Nature [210, 947, 1966], w której autorzy opisali enzymatyczną metodę syntezy CDP-etanolaminy. W 1965 roku T. Chojnacki uzyskał stopień doktora habilitowanego.

Dalsze prace nad nukleotydowymi pochodnymi cukrów prowadzone były z udziałem mgr Teresy Sawickiej (od 1961 roku). W 1968 roku Teresa Sawicka obroniła pracę doktorską. Przeprowadzenie przez doc. Chojnackiego i mgr Sawicką syntezy [³²P]galaktozylofosforanu umożliwiło opracowanie testu na galaktozemię [Polski Tygodnik Lekarski, 17, 625, 1969]. Późniejsze prace dr T. Sawickiej, po odbyciu przez nią stażu podoktorskiego wykonywane były w grupie prof. J. Szarkowskiego. Badania biosyntezy fosfolipidów kontynuowano z udziałem mgr Anny Radomińskiej-Pyrek (od 1965 roku) i mgr Zdzisława Matysiaka (od 1968 roku). Kilkanaście kolejnych prac dotyczyło metabolizmu fosfolipidów szlakiem zależnym od CTP. Podsumowaniem tego kierunku badań był rozdział w Methods in Enzymology [14, 121, 1969]. W 1970 roku mgr Anna Radomińska-Pyrek obroniła pracę doktorską, następnie odbyła staż podoktorski, a po powrocie kontynuowała badania nad udziałem poliprenoli w procesach transacy-



Konferencja polsko-austriacka w Mogilanach k.Krakowa w listopadzie 1986 r. „Biotechnologia tworzyw ligninowo-celulozowych”, zorganizowana przez Zakład Biochemii Lipidów IBB. Uczestnicy (od lewej): Andrzej Leonowicz, UMCS, Lublin (1y); Helena Oberman, Biotechnologia Politechniki Łódzkiej (4a); Ilnicka-Olejnczak – Instytut Przemysłu Fermentacyjnego (7a), Warszawa; w II rzędzie: Walter Steiner, Technical Univ., Graz (1y); Włodzimierz Ostrowski, UJ, Kraków (4y); Grażyna Palamarczyk (5a); Wiesław Rzędowski, dyrektor IPF (6y); Hermann Esterbauer, Inst. of Biochemistry, Graz (7y); Kurt Messner, Inst. of Biochemistry & Microbiology, Wien (8y); Wyżej stoją: Tadeusz Chojnacki (2i); Ortwin Bobleter, Inst. of Biochemistry, Innsbruck (5y); Andrzej Paszewski (6y); Christian Kubicek, Inst. of Biochemistry & Microbiology, Wien (9y); Marianne Hayn, Graz (11a).

lacji [Radomska-Pyrek et al., *Acta Bioch. Polon.*, 26, 125, 1979]. W 1979 roku wyjechała na stałe do USA.

Obrona pracy doktorskiej Z. Matysiaka odbyła się w 1973 roku. Po odbyciu stażu podoktorskiego dr Matysiak okresowo współpracował z kilkoma pracownikami Instytutu, a w połowie lat 90. zainicjował i do dziś kontynuuje badania nad metabolizmem acylowanych pochodnych dopaminy w mózgu ssaków [Pokorski et al., *Drug Dev. Res.* 60, 217, 2003] z Zakładem Biochemii Lipidów IBB oraz prof. Mieczysławem Pokorskim z Centrum Medycyny Klinicznej i Doświadczalnej PAN. W tym czasie równolegle prowadzone były badania we współpracy z prof. W. Gajewskim i A. Paszewskim nad metabolizmem cukrów u grzyba *Aspergillus*.

W latach 1969-1972 do grupy lipidowej dołączyło szereg nowych osób, co umożliwiło stworzenie metodycznych podstaw do badań nad nowym kierunkiem – poznawaniem funkcji koenzymów poliprenylowych. Wiesław Jankowski (zatrudniony w 1970 roku) przygotowywał kilkusetmiligramowe ilości dolicholi zwierzęcych oraz ich semisyntetycznych analogów. Tadeusz Mańkowski (zatrudniony w 1971 roku) opanował preparatyki znakowanych radiofosforem nukleotydów i heksozofosforanów. We współpracy z dr. W.A. Wawerem z Instytutu Chemii Związków Naturalnych w Moskwie Włodzimierz Sasak (w Instytucie od 1972 roku) dokonał rozeznania potencjalnych bogatych źródeł poliprenoli roślinnych. Znaczne doświadczenie w pracy z drożdżami wniosła do grupy lipidowej dr Grażyna Palamarczyk (zatrudniona w 1970 roku), a dr Ewa Janczura, bardzo doświadczony bakteriolog, pracownik Państwowego Zakładu Higieny, zapewniała odpowiedni standard prac nad biosyntezą heteropolisacharydów bakteryjnych.

Nowe oryginalne preparaty lipidowe próbowano komercjalizować początkowo we współpracy z firmą POCh-Gliwice, dając początek inicjatywie pod nazwą „Kolekcja Poliprenoli”.

W 1973 roku w Zespole rozpoczęła pracę pani Józefina Hertel, która zatrudniona była na etacie technika do 2003 roku. Pani Hertel nadal z nami współpracuje, pełniąc obowiązki sekretarki.

W 1972 roku ukazała się pierwsza z IBB praca dotycząca metabolizmu poliiizoprenoidów – tworzenia poliprenylofosfocukrów. Prace Zespołu dotyczące biosyntezy cukrowych pochodnych dolicholi u Eukariota prowadzono u szczura [Jankowski i Chojnacki, *Biochim. Biophys. Acta* 260, 93, 1972] i drożdży *S. cerevisiae* [Palamarczyk i Chojnacki, *FEBS Lett.* 34, 201, 1973]. Praca z tej samej tematyki dotyczącej biosyntezy bakteryjnych i eukariotycznych cukrowych pochodnych fosfopoliizoprenoidów [Jankowski i Chojnacki, *Acta Biochim. Polon.* 19, 51, 1972] wyróżniona została w 1974 roku Nagrodą im. J. Parnasa za najlepszą pracę eksperymentalną. Tematyka dotycząca różnych aspek-

tów biosyntezy, struktury i roli biologicznej alkoholi poliiizoprenoidowych jest kontynuowana.

Równolegle do poliiizoprenoidów Zespół zajmował się także metabolizmem fosfolipidów (prace dr Radomska-Pyrek we współpracy z dr Joanną Strosznajder z Centrum Medycyny Klinicznej i Doświadczalnej PAN w Warszawie), a także próbami wdrożenia metod izotopowych w diagnostyce galaktozemii u dzieci (współpraca Zenony Grodzkiej z Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie). Obrona pracy doktorskiej Z. Grodzkiej w IBB nastąpiła w 1972 roku. W 1972 roku doc. Chojnacki uzyskał tytuł profesora nadzwyczajnego.

W tym samym okresie opublikowano pierwszą z serii przygotowanych w IBB prac, dotyczącą występowania długołańcuchowych poliprenoli u roślin [Sasak i Chojnacki, *Acta Biochim. Polon.* 20, 343, 1973]. Przełomowe dla dalszego rozwoju badań nad poliprenolami i dolicholami było opracowanie metod: (i) semisyntetycznego uzyskiwania analogów dolicholi z poliprenoli (chemiczne selektywne uwodornienie α -reszty poliprenoli [Mańkowski et al., *Biochemistry*, 15, 2125, 1975] oraz (ii) rozdziału naturalnej mieszaniny prenologów [Chojnacki et al., *Anal. Biochem.* 69, 114, 1975]. W tym okresie nastąpiły także kolejne obrony prac doktorskich – w 1974 roku W. Jankowskiego, a w 1976 roku T. Mańkowskiego i W. Sasaka. Doktor W. Jankowski po odbyciu staży podoktorskich kontynuuje pracę w Zakładzie Biochemii Lipidów. Doktor T. Mańkowski po zakończeniu pracy w IBB w 1979 roku podjął pracę w Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie, a dr W. Sasak wyjechał na staż podoktorski do USA, gdzie nadal pracuje.

Tematyka prac prowadzonych pod kierunkiem dr Grażyny Palamarczyk po uzyskaniu stopnia doktora habilitowanego w 1979 roku dotyczyła przede wszystkim badania funkcji biologicznej poliprenoli. Modelem badawczym stały się drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Początkowo badania dotyczyły specyficzności transferaz syntetyzujących glikozylowane pochodne fosforanu dolicholu w stosunku do struktury lipidowego substratu [G. Palamarczyk, E. Janczura (1978), *FEBS Lett.* 77, 169-172, D.D. Pless, G. Palamarczyk (1978) *Biochim. Biophys. Acta* 529, 21-28]. Badania te poszerzono o współpracę z zespołem prof. Tannera z Uniwersytetu w Regensburgu (Niemcy) [Palamarczyk et al. (1979), *FEBS Lett.* 108:111-115; Palamarczyk et al. (1980), *Eur. J. Biochem.* 105:517-523]. Prowadzone prace dotyczyły również charakterystyki CTP zależnych kinaz lipidowych drożdży w tym – badania specyficzności substratowej kinazy dolicholu, opisaną po raz pierwszy w latach 80. [Palamarczyk et al. (1987), *Chemica Scripta* 27, 55-56, Szkopińska et al. (1988), *Archiv. Biochem. Biophys.* 266, 124-131].

W latach 80. zespół G. Palamarczyk nawiązał współpracę z Zakładem Mikrobiologii Politechniki w Wiedniu kierowanym przez dr. Christiana Kubicka. Rozpoczęcie

współpracy zbiegło się z przyjęciem do IBB PAN w 1986 roku mgr Joanny Kruszewskiej, która pod kierunkiem dr hab. G. Palamarczyk rozpoczęła badania nad zależnością sekrecji i glikozylacji białek w grzybie nitkowatym *Trichoderma reesei*. Było to równoznaczne z bardziej aplikacyjnym ukierunkowaniem naszych prac, gdyż *T. reesei* jest ważnym z punktu widzenia biotechnologii producentem białek o aktywności cellulitycznej. Badania te doprowadziły do wykazania związków funkcjonalnych pomiędzy aktywnością enzymów szlaku O-mannozylicacji białek a poziomem sekrecji glikoprotein o aktywności cellulitycznej w *T. reesei* [Kruszewska et al. (1989), J. Gen. Microbiol. 135:301-307; Kruszewska et al. (1990), J. Gen. Microbiol. 136: 1293-1298; Kruszewska et al. (1991), FEMS Lett. 80, 81-86]. Wymienione publikację weszły w skład pracy doktorskiej J. Kruszewskiej, przedstawionej w 1991 roku.

Od połowy lat 70. datuje się intensywna i niezwykle owocna współpraca grupy kierowanej przez prof. Chojnackiego z grupą prof. Gustava Dallnera (Department of Biochemistry, University of Stockholm). Pierwsza z licznych wspólnie opublikowanych prac dotyczyła tworzenia cukrowych pochodnych fosfoprenoli w systemie *in vitro* katalizowanego przez mikroosomy wątroby szczura [Bergman et al., Biochem. J. 172,123,1978].

Badano także pobieranie i fosforylację dolicholi w komórkach zwierzęcych – w wątrobie szczura, we współpracy z laboratorium prof. Gustava Dallnera oraz

w hodowanych *in vitro* komórkach zwierzęcych – badania prowadziła mgr Izabella Krajewska (zatrudniona w 1978 roku) z dr. W. Jankowskim. I. Krajewska-Rychlik pracowała w IBB do 1984 roku, a następnie przez pewien okres w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego; w 1990 roku obroniła przed Radą Naukową IBB rozprawę doktorską i uzyskała stopień doktora. W 1979 roku prof. Chojnacki uzyskał tytuł profesora zwyczajnego.

Interesujący wynik sugerujący wpływ dolicholi na zmianę fenotypu (indukcja przylegania do szklanych ścian naczyń) komórek nowotworowych modelowego raka wysiękowego Ehrlicha zaobserwowano we współpracy z grupą prof. Włodzimierza Korohody z Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie [Korohoda et al., Eur. J. Cell Biol. 21, 239, 1980]. W 1981 roku opublikowano procedurę chemicznej fosforylacji dolicholi – metodę niezwykle ważną dla dalszego rozwoju badań nad koenzymatyczną rolą tych związków, szeroko cytowaną w literaturze [Danilov i Chojnacki, FEBS Lett, 131, 310, 1981]. Szereg prac publikowanych w latach 80. we współpracy z grupą prof. Dallnera dotyczyło różnych aspektów wewnątrzkomórkowej lokalizacji, biosyntezy i metabolizmu dolicholu w wątrobie szczura. Badano także specyficzność enzymów katalizujących powstawanie cukrowych pochodnych poliizoprenoidów w komórkach drożdży. W badaniach tych uczestniczyła od 1980 roku dr Anna Szkopińska [Chojnacki et al., Biochim. Biophys. Acta, 793, 187, 1984], a w badaniach nad występowaniem roślinnych poliprenoli, w których uczestniczył od 1981 roku Tomasz Vogtman, wykazano sezonowe zmiany ich zawartości w tkankach fotosyntetyzujących – wzrost z wiekiem liścia [Chojnacki i Vogtman, Acta Biochim. Polon., 31, 15, 1984]. T. Vogtman zakończył pracę w Instytucie w 1989 roku. W latach 1982-1986 w Zespole pracował mgr W. Kulik.

Ciekawe obserwacje, w których wykazano, że dolichol zwiększa płynność modelowej dwuwarstwy fosfolipidowej i promuje tworzenie tzw. fazy heksagonalnej



Uroczystość wręczenia dyplomów *doctor honoris causa* Uniwersytetu Sztokholmskiego, 2 czerwca 1987 r., gratulacje składa prof. Sten Orrenius (Dziekan Wydziału Medycznego Karolinska Institutes), drugi z lewej prof. Tadeusz Chojnacki.

Laureaci tytułu *doctor honoris causa* Uniwersytetu Sztokholmskiego nadanych 2 czerwca 1987 r.: Tadeusz Chojnacki, Paul Greengard (noblista), Sten Orrenius, John E. Chapman, Thomas Lehner, Bert L. Valee, Sten Linder-Aronson, Bengt Samuelsson (noblista, Rektor Karolinska Institutes) i inni.





3^e Międzynarodowe Sympozjum: Dolichole i Poliprenole, Zakopane sierpień 1993 r. Sympozjum zorganizowane przez prof. Tadeusza Chojnackiego i współpracowników z IBB PAN.

typu II, poczynione we współpracy z grupą prof. G. Dallnera oraz prof. Ben de Kruijffa (Utrecht University), podsumowano w znakomitej pracy przeglądowej [Chojnacki i Dallner, *Biochem J.*, 251, 1, 1988] cytowanej także w podręcznikach akademickich (Lehninger, *Principles of Biochemistry*, 1990). W drugiej połowie lat 80. prowadzono badania nad specyficznością i również stereospecyficznością heksozylotransferaz (współpraca dr M. Mizuno i dr T. Takigawa, Kuraray Co., Okayama, Japonia oraz grupa prof. Dallnera). Kontynuowano z udziałem mgr Ewy Świeżewskiej (od 1983 roku) prace nad strukturą i występowaniem poliprenoli u roślin. Zaobserwowana akumulacja poliprenoli o wyjątkowo długich łańcuchach zawierających ok. 50 reszt izoprenowych w liściach rośliny *Potentilla aurea* poszerzała wiedzę o tej grupie związków, wskazując na ich bliskie pokrewieństwo do kauczuku [Świeżewska i Chojnacki, *Phytochemistry* 30, 267, 1991]. Prace te były podstawą pracy doktorskiej Świeżewskiej obronionej w 1990 roku. W tym okresie intensywnie zaczęto także rozwijać działalność Kolekcji Poliprenoli – udostępniono zainteresowanym laboratoriom na zasadzie wymiany naukowej lub komercyjnej szeroką ofertę preparatów naturalnych i semisyntetycznych poliizoprenoidów. We współpracy z dr Rainą Tosheva, z Uniwersytetu w Sofii w Bułgarii, badano występowanie poliizoprenoidów w tkankach zwierząt, a dr W. Jankowski badał występowanie dolicholi u przedstawicieli fauny Antarktyki i u nietoperzy. We współpracy z dr Tadeuszem Janasem z WSP w Zielonej Górze prowadzono badania nad wpływem różnorodnych poliizoprenoidów na biofizyczne parametry błon modelowych.

W latach 90. obiektem badań prowadzonych pod

kierunkiem prof. Chojnackiego stał się także ubichinon. Badania we współpracy z grupą prof. Dallnera wykazały, że retikulum endoplazmatyczne jest obok mitochondriów głównym miejscem biosyntezy ubichinonu w komórkach wątroby szczura [Kalen et al., *J. Biol. Chem.*, 265, 1158, 1990]. Badania te, podobnie jak równocześnie prowadzone badania nad biosyntezą dolicholu [Ericsson et al., *J. Biol. Chem.*, 266, 10602, 1991], możliwe były dzięki opracowaniu wydajnej metody chemicznej syntezy trytowanych prekursorów metabolicznych izoprenoidów o wysokiej specyficznej radioaktywności. Prace dotyczące występowania poliprenoli u roślin podsumowane zostały w obszernych pracach przeglądowych [Świeżewska et al., *Acta Biochim. Polon.*, 41, 221, 1994; Jankowski et al., *J. Plant Physiol.* 143, 448, 1994]. Badania nad udziałem dekaprenolu w biosyntezie ściany bakteryjnej prowadzono we współpracy z dr Beatą Wolucką (University of Louvain, Belgia) [Wolucka et al., *J. Biol. Chem.*, 269, 23328, 1994].

W 1994 roku Zakład Fosfolipidów przeniósł się do nowej siedziby Instytutu, zmieniając jednocześnie nazwę na Zakład Biochemii Lipidów. W tym samym roku odkryto, z udziałem mgr Elżbiety Skoczylas-Talarczyk, która dołączyła do grupy prof. Chojnackiego w 1992 roku, najdłuższe z dotychczas wyizolowanych poliprenole (których cząsteczka składa się z ponad stu reszt izoprenowych) występujące u roślin z grupy słonorośli [Skoczylas et al., *Plant Physiol. Biochem.*, 32, 821, 1994]. Dane eksperymentalne gromadzone w ramach badań nad roślinnymi poliprenolami pozwoliły na postawienie hipotezy, o możliwości wykorzystania składu naturalnej mieszanki tych związków jako markera chemo-

taksonomicznego u roślin. W 1996 roku Elżbieta Talarczyk obroniła pracę doktorską i rozpoczęła pracę zawodową poza IBB. W 2000 roku gościem Zakładu był przez kilka miesięcy dr Raijv Ranjan z T.P. Varma College, Narkatia Ganj, Bihar, z Indii, który zajmował się badaniami nad występowaniem długołańcuchowych poliprenoli i dolicholi u roślin.

Podsumowaniem prac nad biosyntezą ubichinonu u szczura była praca przeglądowa [Turunen et al., *Free Radic. Res.*, 36, 437, 2002], a wykorzystywana w wielu pracach eksperymentalnych metoda chemicznej syntezy znakowanego trytem difosforanu izopentenylu, prekursora izoprenoidów, opisana została jako rozdział w *Methods in Enzymology* [Chojnacki, *Meth. Enzym.*, 378, 152, 2004]. Zainicjowanie interesującego kierunku badań nad katabolizmem ubichinonu (współpraca prof. G. Dallner) było możliwe dzięki opracowaniu przez prof. T. Chojnackiego metody syntezy znakowanego trytem ubichinonu.

W latach 90. dwie osoby – pracownicy Zakładu kierowanego przez prof. Chojnackiego – uzyskały stopień doktora habilitowanego (dr Ewa Świeżewska w 1996 roku i dr Anna Szkopińska w 1997 roku) i kontynuowały badania nad związkami poliiizoprenoidowymi w ramach wyodrębnionych tematów własnych.

Prace prowadzone pod kierunkiem dr hab. Anny Szkopińskiej obejmują badania nad regulacją specyficzności i aktywności syntazy difosforanu farnesyli z wykorzystaniem opracowanego trójwymiarowego modelu drożdżowej FPPS [*Biochimie* 82, 733, 2000; *Cell Biology International* 28, 193, 2004], wzajemną regulacją aktywności głównych enzymów szlaku kwasu mewalonowego [FEBS Letters 434, 406, 1998; BBRC 267, 473, 2000] czynnikami transkrypcyjnymi indukującymi ekspresję drożdżowych genów *RER2* i *SRT1* kodujących *cis*-prenyltransferazę syntetyzującą odpowiednio krótko- i długołańcuchowe poliprenole [*Biochimie* 83, 427, 2001; *Acta Biochim. Polon.*, 49, 781, 2002] oraz regulację syntezy drożdżowych ubichinonów [praca przeglądowa *Acta Biochim. Polon.*, 47, 468, 2000].

Badania prowadzone pod kierunkiem prof. Ewy Świeżewskiej dotyczyły prenylacji białek roślinnych, biosyntezy roślinnych poliprenoli i dolicholi, a w ostatnim czasie także molekularnej charakterystyki Rab geranylgeranylotransferazy roślinnej – enzymu odpowiedzialnego za posttranslacyjną prenylację białek Rab u roślin. Badania nad biochemiczną charakterystyką Rab GGTazy prowadzone przez mgr. Vo Si Hunga (doktoranta w IBB w latach 1997-2000, stypendysty Ministerstwa Edukacji Narodowej) pozwoliły na wykazanie podobieństwa struktury tego enzymu u roślin i ssaków. Vo Si Hung obronił pracę doktorską w 2000 roku i wyjechał do Wietnamu. Obecnie pracuje na stanowisku podoktorskim w Japonii. Badania nad molekularną cha-

rakterystyką Rab GGTazy prowadzone są przez mgr Magdalenę Wojtas od 2001 roku we współpracy z Pracownią Biologii Molekularnej Roślin IBB. Badania nad mechanizmami wczesnych etapów biosyntezy poliiizoprenoidów u roślin, które rozpoczęła w 1998 roku mgr Karolina Skorupińska-Tudek, prowadzone są we współpracy z grupą prof. Michela Rohmera z University Louis Pasteur/CNRS w Strasburgu i prof. Olgą Olszowską z Wydziału Farmacji Akademii Medycznej w Warszawie. Dzięki opracowaniu we współpracy z grupą doc. Witolda Danikiewicza z Instytutu Chemii Organicznej PAN w Warszawie nowej metody (HPLC/ESI-MS) badania alkoholi poliiizoprenoidowych, wykazano zróżnicowanie spektrum tych związków w różnych organach rośliny [Skorupinska-Tudek et al., *Lipids* 38, 981, 2003]. Stosując tę metodę, udowodniono także, że dolichole modyfikują kowalencyjnie białka roślinne u *Arabidopsis thaliana* [Gutkowska et al., *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 322, 998, 2004]. Badania nad wpływem czynników środowiskowych na poziom akumulacji poliprenoli i dolicholi, prowadzone przez mgr Agnieszkę Bajdę od 2001 roku pokazały wzrost zawartości tych związków pod wpływem światła oraz niektórych czynników patogennych. W bieżącym 2004 roku w Zakładzie rozpoczęły pracę mgr Ewa Ciepichał i mgr Monika Zelman-Femiak. Tematyka badań mgr Ciepichał dotyczy struktury, akumulacji i mechanizmów biosyntezy alkoholi poliiizoprenoidowych. Projekt badawczy mgr Zelman-Femiak dotyczy prenylacji białek roślinnych. Równolegle kontynuowane były badania rozpoczęte przez E. Świeżewską w czasie stażu podoktorskiego w laboratorium prof. G. Dallnera nad biosyntezą ubichinonu i plastochinonu u roślin. Tematyka ta była rozwijana w latach 1996-2001 przez mgr Małgorzatę Wanke w czasie wykonywania w Zakładzie pracy doktorskiej, obronionej w 2001 roku. Od momentu obrony dr Wanke pracuje poza IBB. Wyniki tych badań podsumowane zostały w opublikowanej ostatnio pracy przeglądowej [Świeżewska, *Meth. Enzym.*, 378, 124, 2004]. We współpracy z laboratorium prof. Dallnera prowadzone są również badania nad biosyntezą i katabolizmem ubichinonu u ssaków.

W 1992 roku zespół kierowany przez prof. G. Palamarczyk wyprowadził się do nowego budynku IBB przy ul. Pawińskiego. Tutaj, w nowych warunkach lokalowych powstała nowa grupa badawcza zajmująca się glikobiologią molekularną grzybów. W skład zespołu wchodziły obok prof. G. Palamarczyk dr hab. Anna Szkopińska (do 2003 roku), dr Joanna Kruszewska oraz mgr Urszula Perlińska-Lenart, która została zatrudniona w IBB PAN w 1992 roku. W 2003 roku grupa ta została wydzielona z dawnego Zakładu Biochemii Lipidów w samodzielną pracownię Glikobiologii Grzybów. Do zespołu dołączyli doktoranci mgr Kariona Grabińska (uzyskała doktorat w 2001 roku i odbywa obecnie staż podoktorski na Uniwersytecie w Bostonie, w USA) mgr

Anna Janik (doktorat w 2004 roku, obecnie pracuje w IBB PAN). Od 1993 roku do dziś w pracowni Glikobiologii Grzybów wykonano kilkanaście prac magisterskich, a kilkoro naszych magistrantów rozpoczęło w tej pracowni studia doktoranckie. Są to Klaudia Kuranda, Jacek Orłowski oraz Katarzyna Machuła. Dwie inne magistrantki z zespołu – Anna Zakrzewska oraz Grażyna Sosińska – zostały skierowane na studia doktoranckie we współpracującej z nami placówce, tj. w zespole prof. Fransa Klisa z Bio-Centrum w Amsterdamie.

Badania pracowni koncentrują się wokół poznawania mechanizmów regulacyjnych w syntezie glikokoniugatów w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i w grzybie nitkowatym *Trichoderma reesei*. W tym zakresie zajmowano się wzajemnymi zależnościami pomiędzy poziomem syntezy steroli i poliprenoli w drożdżach *S. cerevisiae* w warunkach nadekspresji wspólnego substratu dla obu szlaków biosyntetycznych [Szkopińska et al. (1993) FEMS Lett., 112, 325-328; Szkopińska et al. (1996) Biochimie, 78, 111-116; Szkopińska et al. (1997) J. Lipid Res. 38, 962-968]. Należy tu dodać, że zarówno prace dr hab. Szkopińskiej, jak i praca doktorska Kariony Grabińskiej były wykonywane przy współudziale prof. F. Karsta z Uniwersytetu w Poitiers we Francji. Dalszy kierunek badaniom w tym zakresie nadały wyniki prac doktorskich dr Kariony Grabińskiej i dr Anny Janik, które wskazały na związki pomiędzy szlakiem biosyntezy dolicholu a integralnością ściany komórkowej drożdży [Grabińska i Palamarczyk (2002), FEMS Yeast Res. 2:259-65; Janik et al. (2003) Biochim Biophys Acta. 1621:22-30]. Wyniki te były podstawą do przyłączenia zespołu do V programu europejskiego badań nad regulacyjnymi aspektami integralności ściany komórkowej drożdży. Z powyższą problematyką również obecnie związana jest część tematyki badawczej pracowni Glikobiologii Grzybów.

Równolegle rozwijano badania nad zależnością pomiędzy glikozylacją a sekrecją białek w *T. reesei*. Prowadzone przez dr Joannę Kruszewską przy współudziale mgr Lenart oraz doktorantki Wioletty Górki-Nieć oraz przy współpracy z zespołem prof. Kubiceka z Politechniki w Wiedniu pozwoliły na skonstruowanie szczepów *Trichoderma reesei* o wysokiej wydajności sekrecji i zmienionej morfologii ściany komórkowej [Kruszewska et al. J. Appl. Environ. Microbiol. 65, 2382-2387].

Badania nad sekrecją i glikozylacją białek *T. reesei* zostały rozszerzone w kolejnych pracach prowadzonych tym razem we współpracy z zespołem prof. Merja Penttila (VTT, Fińskie Centrum Biotechnologii, Helsinki).



Zakład Biochemii Lipidów w grudniu 2003 roku: Wiesław Jankowski, Magdalena Wojtas, Tadeusz Chojnacki (kierownik), Karolina Skorupińska-Tudek, Józefina Hertel, Anna Szkopińska, Ewa Świeżewska (kierowniczka Zakładu od 2003 roku); z tyłu – Agnieszka Bajda oraz Monika Zelman-Femiak

Kontakty z zespołem fińskim umożliwiły sklonowanie genów kodujących kolejne etapy O-mannozylicacji białek w *T. reesei* oraz zbadanie efektu ich nadekspresji na aktywność enzymów cellulitycznych i poziom ich sekrecji [Zakrzewska et al. (2003) Appl. Environ. Microbiol., 69:4383-9]. Pozwoliły również na molekularną charakterystykę enzymów zaangażowanych w procesy glikozylacji w *T. reesei* oraz ich porównanie z analogicznymi enzymami w drożdżach *S. cerevisiae* [Kruszewska et al. (2000) Glycobiology 10, 983-991; Zakrzewska et al. (2003) Curr. Genet., 43:11-6]. Prace te stanowiły treść rozprawy habilitacyjnej dr J. Kruszewskiej, przedstawionej w październiku 2004 roku.

Wydaje się, że w najbliższej przyszłości zdobyta wiedza w zakresie badania zależności pomiędzy przebiegiem glikozylacji a integralnością ściany komórkowej drożdży będzie wykorzystana do poznania analogicznych procesów w grzybach patogennych. Prace te będą miały na celu znalezienie szlaków metabolicznych wrażliwych na działanie leków przeciwgrzybiczych. Jednocześnie doświadczenie zdobyte w zakresie genetycznych modyfikacji pozwalających na konstrukcję szczepów o podniesionej zdolności sekrecji może pozwolić na ich wykorzystanie do produkcji białek o znaczeniu terapeutycznym.

Pracownia Glikobiologii Grzybów

Grażyna Palamarczyk

Pracownia wyłoniła się z Zakładu Fosfolipidów w grudniu 2002 roku, pod kierunkiem dr hab. Grażyny

Palamarczyk, która wcześniej zajmowała się badaniem funkcji biologicznej poliprenoli i jako model badawczy wprowadziła drożdże (*Saccharomyces cerevisiae*), podobnie jak w innych pracowniach Instytutu. Powstało szereg prac w dziedzinie specyficzności transferaz syntetyzujących glikozylowane pochodne fosforanu dolicholu w stosunku do struktury lipidowego substratu [Palamarczyk, G., Janczura, E. *FEBS Lett.* (1978), 77: 169-172; Pless, D.D., Palamarczyk, G. *Biochim. Biophys. Acta* (1978), 529: 21-28]. W tej dziedzinie nawiązano współpracę z zespołem Prof. W. Tannera z Uniwersytetu w Regensburgu, Niemcy [Palamarczyk et al. *FEBS Lett.* (1979), 108: 111-115; *Eur. J. Biochem.* (1980), 105: 517-523]. Innym tematem naszych badań była charakterystyka CTP zależnych kinaz lipidowych drożdży, w tym badania specyficzności substratowej, opisaną po raz pierwszy w latach 80-tych, kinazy dolicholu [Palamarczyk et al. *Chemica Scripta* (1987), 27: 55-56; Szkopińska et al. *Archiv. Biochem. Biophys.* (1988), 266: 124-131].

W latach 80 tych zespół G. Palamarczyk nawiązał współpracę z Zakładem Mikrobiologii Politechniki w Wiedniu kierowanym przez dra Christiana Kubicka. Rozpoczęcie współpracy zbiegło się z przyjęciem do IBBPAN w roku 1986 mgr Joanny Kruszewskiej, która, pod kierunkiem dr hab. G. Palamarczyk, rozpoczęła badania nad zależnością sekrecji i glikozylacji białek w grzybie nitkowatym (*Trichoderma reesei*). Było to równoznaczne z bardziej aplikacyjnym ukierunkowaniem naszych prac, gdyż *T. reesei* jest ważnym, z punktu widzenia biotechnologii, producentem białek o aktywności cellulitycznej. Badania te doprowadziły do wykazania związków funkcjonalnych pomiędzy aktywnością enzymów szlaku O-mannozytacji białek a poziomem sekrecji glikoprotein o aktywności cellulitycznej w *T. reesei* [Kruszewska et al. *J. Gen. Microbiol.* (1989), 135: 301-307; *J. Gen. Microbiol.* (1990), 136: 1293-1298; *FEMS Lett.* (1991), 80: 81-86]. Wymienione publikację złożyły się na pracę doktorską dr J. Kruszewskiej, obronioną w 1991 roku.

W roku 1992 zespół kierowany przez Prof. G. Palamarczyk przeniósł się do nowej siedziby i w nowych warunkach lokalowych powstała grupa badawcza zajmująca się glikobiologią molekularną grzybów. W skład zespołu wchodziły obok Prof. Palamarczyk dr hab. Anna Szkopińska (do roku 2003), dr Joanna Kruszewska oraz mgr Urszula Perlińska-Lenart. W 2003 roku, po formalnym wydzieleniu pracowni Glikobiologii Grzybów, do zespołu dołączyli doktoranci: mgr Kariona Grabińska (obecnie na stażu w Uniwersytecie w Bostonie, USA, po doktoracie obronionym w 2001) mgr Anna Janik (po doktoracie w 2004 zatrudniona w IBB PAN). Przez 10 lat istnienia, w pracowni Glikobiologii Grzybów wykonano kilkanaście prac magisterskich, a kilkoro z magistrantów rozpoczęło w niej studia doktoranckie: mgr Klaudia Kuranda, mgr Jacek Orłowski oraz mgr Katarzyna Machuła. Dwie inne magistrantki z zespołu, Mgr Anna Zakrzewska oraz mgr Grażyna Sosińska, zostały skierowane na studia doktoranckie we współpracującej z nami placówce, w zespole Prof. Fransa Klisa z Bio-Centrum w Amsterdamie.

Obecna tematyka pracowni skupia się wokół badania mechanizmów regulacyjnych w syntezie glikokoniuugatów w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i w grzybie nitkowatym *Trichoderma reesei*. Zajmowano się również wzajemnymi zależnościami pomiędzy poziomem syntezy steroli i poliprenoli w drożdżach *S. cerevisiae*, w warunkach nadekspresji wspólnego substratu dla obu szlaków biosyntetycznych [Szkopińska et al. *FEMS Lett.* (1993), 112: 325-328; *Biochimie* (1996), 78: 111-116; *J. Lipid Res.* (1997), 38: 962-968]. Ważnym stimulatorem tych badań była współpraca dr hab. Szkopińskiej oraz dr Kariony Grabińskiej z placówką Prof. F. Karsta z Uniwersytetu w Poitiers we Francji. Dalszy kierunek tych prac wytyczyły wyniki badań dr Kariony Grabińskiej oraz dr Anny Janik, wskazując na związki pomiędzy szlakiem biosyntezy dolicholu a integralnością ściany komórkowej drożdży [Grabińska & Palamarczyk *FEMS Yeast Res.* (2002), 2: 259-265; Janik et al. *Biochim Biophys Acta.* (2003), 1621: 22-30]. Wyniki tych prac były podstawą do przyłączenia naszego



Pracownia Glikobiologii Grzybów, 2005. Stoją od lewej: Jacek Orłowski, Klaudia Kuranda, Prof. Grażyna Palamarczyk (kierowniczka Pracowni), dr hab. Joanna Kruszewska, Urszula Perlińska-Lenart; z tyłu – Wioletta Górka-Nieć, Grażyna Sosińska; przykucnięte: Renata Bańkowska, Katarzyna Machuła, dr Anna Janik.

zespołu do V-go programu europejskiego badań nad regulacyjnymi aspektami integralności ściany komórkowej drożdży.

Równolegle rozwijały się badania zależności pomiędzy glikozylacją a sekrecją białek w *T. reesei*. Badania te, prowadzone dr Joannę Kruszewską, przy współudziale mgr Lenart, doktorantki Wioletty Górki-Nieć oraz przy współpracy z zespołem Prof. Kubiceka z Politechniki w Wiedniu pozwoliły na skonstruowanie szczepów *Trichoderma reesei* o wysokiej wydajności sekrecji i zmienionej morfologii ściany komórkowej [Kruszewska et al. *Appl. Environ. Microbiol.* (1999), 65: 2382-2387).

Badania nad sekrecją i glikozylacją białek *T. reesei*, zostały rozszerzone w kolejnych pracach prowadzonych we współpracy z zespołem Prof. Merja Penttila (VTT, Fińskie Centrum Biotechnologii, Helsinki). Kontakty z zespołem fińskim umożliwiły sklonowanie genów kodujących kolejne etapy O-mannozylicacji białek w *T. reesei* oraz zbadanie efektu nadekspresji białek na aktywność enzymów cellulolitycznych i poziom ich sekrecji

[Zakrzewska et al. *Appl Environ Microbiol.* (2003), 69: 4383-9]. Umożliwiły również molekularną charakterystykę enzymów zaangażowanych w procesy glikozylacji w *T. reesei* oraz ich porównanie z analogicznymi enzymami w drożdżach *S. cerevisiae* [Kruszewska et al. *Glycobiology* (2000), 10: 983-991; Zakrzewska et al. *Curr Genet.* (2003), 43: 11-6]. Prace te weszły w rozprawę habilitacyjną dr J. Kruszewskiej, przedstawioną w październiku 2004.

Wydaje się, że w najbliższej przyszłości, zdobyta wiedza w zakresie zależności pomiędzy przebiegiem glikozylacji a integralnością ściany komórkowej drożdży będzie wykorzystana do poznania analogicznych procesów w grzybach patogennych. Prace te będą miały na celu znalezienie szlaków metabolicznych wrażliwych na działanie leków przeciw grzybiczych. Jednocześnie, doświadczenia zdobyte w zakresie genetycznych modyfikacji, pozwalających na konstrukcję szczepów o podniesionej zdolności sekrecji, może pozwolić na ich wykorzystanie do produkcji białek o znaczeniu terapeutycznym.



Międzynarodowe Sympozjum „Protein glycosylation and secretion in yeast and filamentous fungi” zorganizowane przez Pracownię Glikobiologii Grzybów IBB PAN w Wierzbie we wrześniu 2002 roku, w ramach EC5 Program [wyróżniono nazwiska partnerów współpracujących z Pracownią]

Od lewej: Prof. Tadeusz Chojnacki (2-i), Państwo Contreras z Uniw. w Gandawie, Belgia (4,5-ty), dalej kolejno – J.M. François [INSA, Tuluza, Francja], C.P. Kubicek [Politechnika Wiedeńska, Austria], M. Saloheimo [VTT, Helsinki, Finlandia]; z prawej strony: Agata Stasiak, Kasia Jagiełło-Wilgat, Doc. Piotr Cegłowski, W. Tanner [Regensburg, Niemcy]; Krysia Grzelak [11-ta], obok niej Teresa Żołądek, Urszula Perlińska-Lenart, Joanna Kruszewska i Prof. Grażyna Palamarczyk – główna organizatorka sympozjum.

ZAKŁAD BIOSYNTETY BIAŁKA

Zakład Biosyntezy Białka

Przemysław Szafrąński

W latach powojennych biologia, jak i inne dziedziny nauki, rozwijała się w Polsce z opóźnieniem spowodowanym brakiem kadr i wyposażenia laboratoriów. Bazą, na której powstawała biochemia, były Zakłady Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej oraz niektóre inne uczelnie i instytuty naukowo-badawcze. Jeden z pierwszych ośrodków biochemicznych w powojennej Polsce zorganizował prof. Ernest Sym na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej. W 1949 roku prof. E. Sym wraz ze swoim zespołem (Tadeusz Głębiński, Zofia Lassota, Przemysław Szafrąński, Ludmiła Szarkowska, Jan W. Szarkowski) przeniósł się do Warszawy do Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej. Niestety, przed objęciem funkcji kierownika Zakładu prof. E. Sym zginął w wypadku samochodowym. Na to stanowisko powołano prof. Józefa Hellera. W 1954 roku na bazie Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej powstał Zakład Biochemii PAN. Kierownikiem Zakładu został prof. J. Heller. W skład Zakładu wchodziło pięć Pracowni. Jedną z nich, Biochemii Ewolucyjnej, kierowana była przez prof. I. Mochnącką. Moje prace w tym okresie dotyczyły metabolizmu prątka gruźlicy – przemiany kwasu jabłkowego u różnych szczepów *Mycobacterium*, przepuszczalności błony komórkowej i bilansu energetycznego ludzkiego szczepu tbc H37Rv [P. Szafrąński, E. A. Sym: Gruźlica, 3-4, 427, 1950; P. Szafrąński: Acta Biochim. Polon. 1, 116, 1954; Z. Lassota, P. Szafrąński, L. Szarkowska, J. W. Szarkowski: Bull. Acad. Polon. Sci. II, 3, 11, 1955].

Kolejny okres pracy obejmuje badania nad przemianą cukrową u drobnoustrojów i zwierząt. W tym czasie droga bezpośredniego spalania glikozy w cyklu pentozowym była słabo poznana. Wykazałem zarówno w prątkach gruźlicy ludzkiej, jak i saprofitycznych prątkach *Mycobacterium* obecność szeregu enzymów tego cyklu. W badaniach zwrócono również uwagę na centralny

układ nerwowy, którego metabolizm w znacznym stopniu jest metabolizmem cukrowym. Stwierdzono, że niedostatek dwufosfotiaminy (witaminy B₁) jest czynnikiem ograniczającym spalanie glikozy w mózgu gołębia [P. Szafrąński: Acta Biochim. Polon. 3, 423, 1956; I. Mochnącka, P. Szafrąński: Acta Biochim. Polon. 3, 539, 1956].

W 1957 roku wyjechałem do Londynu, gdzie w Instytucie Badań Medycznych pracowałem nad izolowaniem z wątroby syntetazy aktywującej tryptofan. Po powrocie do kraju kontynuowałem badania nad aktywnością aminokwasów w gruczołach przednich jedwabnika morwowego, a następnie w różnych narządach świnki morskiej. Ważnym osiągnięciem było stwierdzenie, że poziom aktywacji aminokwasów nie zależy od ilościowego udziału poszczególnych aminokwasów w białku [J. Heller, P. Szafrąński, E. Sułkowski: Acta Biochim. Polon. 6, 165, 1959; Nature 183, 397, 1959]. Wyjaśniono również sporne w tym okresie zagadnienie roli witaminy B₁₂ w aktywacji aminokwasów. Osiągnięciem całkowicie oryginalnym było wyizolowanie z wątroby świnki morskiej peptydów połączonych wiązaniem kowalencyjnym z nukleotydami, które nazwaliśmy nukleopeptydami [P. Szafrąński, E. Sułkowski, T. Gołaszewski: Nature 184, 1940, 1959].

W 1960 roku wyjechałem do Nowego Jorku, gdzie przez rok pracowałem w Instytucie Rockefellera w Zakładzie prof. F. Lipmanna nad degradacją RNA rybosomów *Escherichia coli* [P. Szafrąński, B. G. Lane: Biochim. Biophys. Acta 61, 141, 1962].

W 1963 roku Zakłady i Pracownie Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN przeniosły się pod wspólny dach do budynku przy ul. Rakowieckiej 36. Zakład Biochemii Ewolucyjnej zmienił nazwę na Porównawczą, a kierownikiem został prof. Tadeusz Korzybski. Pracownia Biosyntezy Białka wchodziła w skład tego Zakładu i liczyła już ponad dziesięć osób. W 1967 roku pracownia została przekształcona w Zakład Biosyntezy Białka. Na kierownika Zakładu powołano prof. P. Szafrąńskiego.

Nasze badania w tym czasie dotyczyły specyficzności tRNA [P. Szafrąński, S. Klita: *Acta Biochim. Polon.* **11**, 61, 1964] i dwuznaczności kodu genetycznego. Stwierdzono, że układ z bakterii termofilnych wykazujący dwuznaczne odczytywanie poliU, po dodaniu rozpuszczalnej frakcji z *E. coli*, traci zdolność włączania leucyny i syntetyzuje wyłącznie polifeniloalaninę, co jest zgodne z kodem genetycznym [S. Perzyński, P. Chomczyński, P. Szafrąński: „*Biochem. J.*” **114**, 437, 1969; *Acta Biochim. Polon.* **16**, 379, 1969; P. Chomczyński, P. Szafrąński: *Biochem. J.* **121**, 159, 1971]. Kontynuowano także prace nad syntezą białek jedwabiu w gruczołach przednich jedwabnika morwowego *Bombyx mori*. Stosowano bezkomórkowe układy, w których informacyjny RNA pochodził z jedwabnika, a układ syntetyzujący białka z bakterii *E. coli* [P. Szafrąński J. Lutowicz, L. Pużyńska: *Life Sciences*, Nr 11, 845, 1963; P. Szafrąński, J. Passent: *Abh. Dtsch. Akad. der Wissen. zu Berlin, Klasse für Medizin*, Nr 1, 1968].

W 1964 roku wyjechałem do Strasbourga, gdzie w Instytucie Chemii Biologicznej Uniwersytetu pracowałem z prof. P. Mandelem nad izolowaniem z wątroby

nukleopeptydów. W tym samym roku wyjechałem do Waszyngtonu. W Instytucji Carnegie prowadziłem badania nad hybryzacją DNA bakteriofagów z DNA komórek gospodarza [D.B. Cowie, P. Szafrąński: *Biophys J.* **7**, 567, 1967].

W latach 1968 i 1972 przebywałem w Instytucie Roswell Park w Buffalo u prof. M. Laskowskiego Sr., gdzie wspólnie z kolegami opracowaliśmy metodę izolowania niezwykle specyficznego DNA z kraba *Cancer borealis*. W skład tego DNA wchodzi prawie wyłącznie adenina i tymina [A. Brzeziński, P. Szafrąński, P. H. Johnson, M. Laskowski: *Biochemistry* **8**, 1228, 1969].

Po powrocie do kraju rozszerzyliśmy badania o mechanizmy translacji RNA bakteriofaga f2 w bezkomórkowych układach z *E. coli*. Rezultaty przyniosły wyjaśnienie procesów związanych z syntezą płaszczki fagowego i fagowej RNA polimerazy. Wykazano istotną rolę uporządkowanej struktury RNA faga f2 w jego translacji. Do modyfikacji RNA użyto metoksyaminę – związek reagujący selektywnie z pierścieniem cytozyny. Stwierdzono, że w przeciwieństwie do natywnego RNA f2, zmodyfikowany RNA reaguje z wieloma rybosoma-



(u góry) Preparatyka gruczołów przednich jedwabnika: Krystyna Gocman, Tomasz Gołaszewski, Danuta Klarkowska, Jan Albrecht (praktykant) W latach 60. w laboratoriach palono papierosy. (obok) Danuta Klarkowska przy liczniku GM izotopów na Krakowskim Przedmieściu.

(na dole) Eugeniusz Sułkowski i Stefan Klita w pracowni przy ul. Rakowieckiej 36, I piętro, 1964. (obok) Wisia Lutowicz (Jadwiga Chroboczek), doktorantka, 1964.

mi, tworząc polisomy. Przedstawiono mechanizm represji translacji cistronu replikazy fagowego RNA. Wyniki dostarczyły dowodów, że struktura uporządkowanej matrycy, na której syntetyzują się białka faga f2 warunkuje prawidłową inicjację ich syntezy. Przedstawiono również schemat dotyczący dojrzewania cząsteczki bakteriofaga f2. Za prace te Zespół (P. Szafrąński, W. Zagórski, W. Filipowicz, L. Zagórska, A. Wodnar-Filipowicz, J. Chroboczek, A. Szkopińska) otrzymał w 1978 roku nagrodę państwową I stopnia [W. Zagórski, W. Filipowicz, A. Wodnar, A. Leonowicz, L. Zagórska, Szafrąński: Eur. J. Biochem. 25, 315, 1972; W. Filipowicz, A. Wodnar, L. Zagórska, P. Szafrąński: Biochem. Biophys. Res. Commun. 49, 1272, 1972; J. Chroboczek, M. Pietrzak, W. Zagórski: J. Virol. 12, 230, 1973; P. Szafrąński, W. Filipowicz, A. Wodnar-Filipowicz, L. Zagórska: W. Lipmann Symposium, ed. By Richter, Walter de Gruyter Verlag, Berlin – New York 610, 1974; L. Zagórska J. Chroboczek, W. Zagórski: J. Virol. 15, 509, 1975; J. Chroboczek, W. Zagórski: J. Virol. 16, 228, 1975; A. Szkopińska, W. Zagórski, L. Zagórska, P. Szafrąński: Eur. J. Biochem. 60, 289, 1975]. Procesy translacji zostały opisane w opracowaniu książkowym *Molekularne Podstawy Biosyntezy Białka* (P. Szafrąński, Ossolineum 1974). Prowadzono także badania nad rolą RNA rybosomów w translacji. Wykazaliśmy, że fosforoliza 16S rRNA *E. coli* prowadząca do usunięcia 160 nukleotydów od końca 3' tego RNA nie uszkadza rekonstrukcji rybosomów 30S i syntezy polifenylalaniny [L. Zagórska, A. Szkopińska, S. Klita, P. Szafrąński: Biochem. Biophys. Res. Commun. 95, 1152, 1980].

W końcu lat 70. problematyka badań zakładu została rozszerzona na układy eukariotyczne. Wyższe organizmy i bakterie rozwinęły różne drogi tworzenia mRNA i różne sposoby ich rozpoznawania przez rybosomy. Tematem naszych prac stała się rola końca 5' mRNA i kapturka m⁷G w tych procesach, a także ligaz RNA oraz ich udział w składaniu RNA. Układy bezkomórkowe pochodziły z kielków pszenicy, retikulocytów, komórek HeLa, *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa* i *Chlamydomonas*. Jako eukariotyczne mRNA stosowano RNA wirusów stokłosa (BMV), mozaiki tytoniu (TMV), żółtej mozaiki rzepy TYMV) i wirusów ziemniaczanych (PVY i PVX).

Zespół W. Zagórskiego wykazał, że translacja RNA wirusa BMV może być regulowana przez niezależną od cAMP kinazę białkową, którą wyizolowano z zarodków pszenicy. Ustalono fizykochemiczne właściwości tego enzymu oraz jego rolę w regulacji syntezy białek wirusa. Okazało się, że enzym ten ogranicza translację tych klas RNA BMV, które są odpowiedzialne za syntezę białek niestrukturalnych wirusa i nie wpływa na powstawanie białek płaszcza BMV. Regulacja odbywa się na poziomie inicjacji translacji i związana jest z fosforylacją niektórych białek układu translacyjnego [W. Rychlik,

W. Zagórski: Eur. J. Biochem. 106, 653, 1980; W. Rychlik, E. Kupidłowska, E. Nowak, W. Zagórski: Biochemistry 19, 5249, 1980; J. Chroboczek, L. Puchkova, W. Zagórski: J. Virol. 34, 330, 1980]. Trwałe poznawcze aspekty ma również obserwacja dotycząca autoproteolizy polipeptydu kodowanego przez długi policistronowy RNA wirusa TYMV. Wykazano, że syntetyzowany polipeptyd 195 000 K ulega autoproteolizie na dwa polipeptydy: 120 000 K i 78 000 K. Spostrzeżenie to wyjaśnia jeden z mechanizmów powstawania białek po zakończeniu ich elongacji [M.-D. Morch, W. Zagórski, A.-L. Haenni: Eur. J. Biochem. 127, 259, 1982]. Badania nad translacją roślinnych wirusowych RNA prowadzone były we współpracy z P. Kaesbergiem na Uniwersytecie Paryskim i z A.-L. Haenni na V Uniwersytecie Paryskim, gdzie W. Zagórski przebywał w latach 1975-1976 i 1980-1981, a także z A.S. Spirinem z Instytutu Białka w Puszczyno w 1973 roku. Badania nad translacją wirusowych RNA w bezkomórkowych układach z kielków pszenicy zaowocowały opracowaniem ogólnej metody na ten temat opisanej w *Methods In Enzymology* [M.D. Morch, G. Dugeon, W. Zagórski, A.-L. Haenni: 118, 154, 1986], a także w książce *Wirusologia Molekularna* (J. Chroboczek, W. Zagórski, PWN, Warszawa 1983).

Zespół W. Filipowicza poświęcił wiele czasu badaniom mechanizmu inicjacji biosyntezy białka w organizmach wyższych. Doświadczenia te zostały rozpoczęte w laboratorium prof. S. Ochoa w Uniwersytecie w Nowym Jorku, a następnie w Instytucie Biologii Molekularnej w Nutley, gdzie Filipowicz przebywał w latach 1974-1976. Prace te dotyczyły izolowania ze skorupiaka *Artemia salina* białka rozpoznającego kapturek m⁷G na końcu 5' mRNA [W. Filipowicz, Y. Furuichi, J.M. Sierra, S. Matuhukrishnan, A.J. Shatkin, S. Ochoa: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 1559, 1976; E. Szczęśna, W. Filipowicz, w *Translation of natural and synthetic polinucleotides* A. B. Legocki, University of Agriculture, Poznań, 133, 1977]. W badaniach tych usuwano enzymatycznie i chemicznie kapturek z mRNA i wykazano, że jego obecność ułatwia reakcję rybosomów z mRNA [A. Wodnar-Filipowicz, E. Szczęśna, M. Zankowalczevska, S. Matuhukrishnan, U. Szybiak, A. B. Legocki, W. Filipowicz: Eur. J. Biochem. 92, 69, 1978]. Zespół Filipowicza opracował także nowe układy bezkomórkowe do syntezy białka z *Saccharomyces cerevisiae* i *Neurospora crassa* [E. Szczęśna, W. Filipowicz: Biochem. Biophys. Res. Commun. 92, 563, 1980; E. Szczęśna-Skorupa, W. Filipowicz, A. Paszewski: Eur. J. Biochem. 121, 163, 1981]. Z RNA TMV wyizolowano wiodący 73-nukleotydowy fragment omega i wykazano po raz pierwszy, że rybosom 80S łączy się z tym fragmentem w nieobecności kodonu inicjującego AUG [W. Filipowicz, A.-L. Haenni: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 3111, 1979; M. Konarska, W. Filipowicz, H. Domdey, H. J. Gross: Eur. J. Biochem. 114, 221,

1981]. Badania nad mechanizmem inicjacji biosyntezy polipeptydów z użyciem fragmentu Ω doprowadziły do wykrycia nowego typu ligazy łączącej końce 5' i 3' RNA – kluczowej reakcji w składaniu RNA. Enzym ten wyizolowano z zarodków pszenicy i wykazano, że katalizuje on reakcję cyklicznego fosforanu 2',3' na końcu 3' RNA i fosforanu na końcu 5' z utworzeniem wiązania 2'-fosfomonoestrowego, 3',5'-fosfodwuestrowego [M. Konarska, W. Filipowicz, H. Domdey, H. J. Gross: *Nature* **293**, 112, 1981; M. Konarska, W. Filipowicz, H. J. Gross: *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **79**, 1474, 1982; W. Filipowicz, M. Konarska, H. J. Gross, A. J. Shatkin; *Nucleic Acids Res.* **11**, 1405, 1983].

Część wyżej wspomnianych wyników uzyskano przy współpracy z Uniwersytetem w Würzburgu i Instytutem Biologii Molekularnej w Nutley, gdzie Filipowicz przebywał w latach 1981 i 1982. Należy podkreślić, że odkrycie ligazy w zarodkach pszenicy i ustalenie mechanizmu jej działania dokonało się w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie.

Zapoczątkowało to wiele prac na ten temat w międzynarodowych laboratoriach.

Stan wojenny na początku lat 80. wpłynął wyjątkowo destrukcyjnie na Zakład. Aktywni pracownicy, którzy byli na stażu za granicą lub wyjechali w tym czasie z kraju, nie wrócili do Polski. Są to W. Filipowicz, A. Wodnar-Filipowicz, J. Chroboczek, M. Konarska, K. Tyc, W. Rychlik, P. Chomczyński, E. Szczęsna-Skorupa, M. Mieszczak, M. Kozłowski, L. J. Skrzeczkowski.

Na początku lat 80. zainteresowania Zakładu koncentrowały się na poznaniu mechanizmów translacji mRNA i jego składaniu w mitochondriach *Saccharomyces cerevisiae*, diagnostyce wirusa wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd) oraz ekspresji genów wirusa TYMV. Aparat translacyjny mitochondriów jest pod kontrolą dwóch genomów, mitochondrialnego i jądrowego. Wykazano, że supresory mutacji mitochondrialnych kodowane przez DNA jądrowy zmieniają skład białkowy mniejszej podjednostki mitytorybosomów, co prowadzi do zwiększonej dwuznaczności translacji w mitochondriach. Umożliwia to syntezę polipeptydów znoszących mutację mit [W. Zagórski, M. Boguta, M. Mieszczak, M. Claisse, B. Guirard, A. Spyridakis, P.P. Slonimski: *Curr. Genet.* **13**, 129, 1988]. Wykazano również, że syntetaza leucylo-tRNA w mitochondriach drożdży kodowana jest przez jądrowy gen NAM2 i że bierze ona udział

w składaniu genowym w tych organellach [W. Zagórski, B. Castaing, C.J. Herbert, M. Labouesse, R. Martin, P.P. Slonimski: *J. Biol. Chem.* **266**, no 4, 2537, 1991]. Opracowano także nowe metody izolowania mitochondriów i mitoplastów drożdżowych w pełni zachowujących funkcje oddechowe i syntezę białek [M. Kozłowski, W. Zagórski: *Anal. Biochem.* **172**, 382, 1988]. W badaniach nad ekspresją genomu wirusa TYMV stwierdzono, że jedno z białek tego wirusa 150 K powstaje na skutek proteolizy białka 206 K i że proces ten hamowany jest w 37°C i przywracany w 30°C lub 25°C [M.-D. Morch, G. Drugeon, P. Szafrąński, A.-L. Haenni: *J. Virol.* **63**, 5153, 1989]. Wspomniane badania prowadzone były przy współpracy z A.-L. Haenni w Instytucie J. Monoda, CNRS w Paryżu, gdzie przebywali Szafrąński i Zagórski w 1981 roku, oraz we współpracy z P. Slonimskim w Centrum Genetyki Molekularnej CNRS w Gif-sur-Yvette, gdzie przebywał Zagórski w latach 1970, 1985 i 1989.

Zespół Zagórskiego przygotował szereg sond molekularnych do detekcji wiroida PSTVd, wirusa liściowozwoju ziemniaka (PLRV) oraz wirusów ziemniaczanych PVY i PVX. Prace te oprócz celów poznawczych mają charakter aplikacyjny. Zakażenia upraw ziemniaków wirusami i wiroidami powodują poważne straty gospodarcze. Metody molekularnej detekcji tych patogenów zostały wprowadzone po raz pierwszy w kraju na szeroką skalę w IBB PAN [M. Wełnicki, L.J. Skrzeczkowski, A. Sołtyńska, P. Jonczyk, W. Markiewicz, R. Kierzek, B. Imiołczyk, W. Zagórski: *J. Virol. Meth.* **24**, 141, 1988; C. Żekanowski, M. Wełnicki, J. Skrzeczkowski, W. Zagórski: *J. Virol. Meth.* **30**, 127, 1990; M. Weł-



„Symposium polsko-francuskie” w mieszkaniu Ann-Lise Haenni w Paryżu, 19 marca 1980 r. Od lewej: Andrzej Legocki (Instytut Chemii Bioorganicznej, Poznań), Przemysław Szafrąński, Eugeniusz Gašior (UMCS, Lublin), Mieczysław Chorąży (Instytut Onkologii, Gliwice), Witold Filipowicz (Friedrich Miescher Institute, Basel, Szwajcaria), Gospodyni.



Spotkanie po latach prof. Przemysława Szafrąńskiego z dr. Eugeniuszem Sulkowskim (USA) w maju 1994 r. podczas Sympozjum w Compiègne pod Paryżem (Francja).

nicki, L. J. Skrzeczkowski, W. Zagórski, S. Skrzeczkowska, A. Kowalska-Noordam, M. Waś, W. Marczewski: *Potato Res.* **33**, 497, 1990; M. Wełnicki, C. Żekowski, W. Zagórski: *Acta Biochim. Polon.* **541**, 473, 1994]. Prowadzono także prace dotyczące molekularnej charakterystyki polskich izolatów wiroida PSTVd i ziemniaczanego wirusa PVY. Ustalono sekwencje ich genomów i niektóre fragmenty nukleotydowe powiązano z patogennością. Wykazano, że zjadliwość wiroida PSTVd jest związana ze strukturą domeny P tego wiroida [A. Góra, T. Candresse, W. Zagórski: *Arch. Virol.* **138**, 233, 1994; A. Góra, T. Candresse, W. Zagórski: *Arch. Virol.* **141**, 2045, 1996; A. Góra-Sochacka, A. Kierzek, T. Candresse, W. Zagórski: *RNA* **3**, 68, 1997]. Badania struktury izolatów PVY doprowadziły do zaproponowania molekularnej taksonomii PVY [A.M. Chachulska, M. Chrzanowska, C. Robaglia, W. Zagórski: *Arch. Virol.* **142**, 365, 1997; A. M. Chachulska, H. Fakhfakh, C. Robaglia, F. Granier, W. Zagórski, F. Vilaine: *J. Virol. Methods* **67**, 189, 1997]. Otrzymano także transformanty ziemniaków i tytoniu odporne na zakażenie wirusem PVY (Patenty nr P-322518 i P-322519). Wyniki badań na ten temat zostały również opublikowane w rozdziałach książkowych [W. Zagórski, A. Chachulska, A. Lipska-Dwuźnik, B. Flis, A. Pałucha w: *Use of agriculturally important genes in biotechnology* G. Hradzina Ed. IOS Press, 148, 2000; B. Flis, A. Chachulska, A. Pałucha: *Ibid.* 142]. Prace dotyczące wiroida PSTVd i wirusa PVY wykonano w ramach współpracy IBB PAN ze Stacją Fitoopatologii INRA, Bordeaux i Laboratorium Biologii Komórkowej INRA, Versailles, gdzie przebywały na okresowych stażach A. Góra-Sochacka i A. Chachulska w latach 1992–1997.

Pionierskie są badania nad strukturą białka Vpg związanego z genomem wirusa ziemniaczanego Y. Genom tego wirusa koduje białko Vpg, które wiąże się

kowalencyjnie z jego RNA. Zaproponowano strukturę tego białka i możliwość utworzenia wiązania fosfodwuestrowego z grupą OH Tyr-64 i 5' końcem RNA wirusowego [D. Płochocka, M. Wełnicki, P. Zielenkiewicz, W. Ostoja-Zagórski: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 12150, 1996].

W 1994 roku Instytut Biochemii i Biofizyki PAN przeniósł się z ul. Rakowieckiej 36 do nowego gmachu przy ul. Pawińskiego 5a. W następnym roku przeszedł na emeryturę dotychczasowy kierownik Zakładu Biosyntezy Białka, prof. Przemysław Szafrąński. W związku ze zmianą profilu badawczego IBB, Zakład Biochemii Porównawczej został w tym samym roku włączony do Zakładu Biosyntezy Białka. Na kierownika Zakładu powołano prof. Włodzimierza Zagórskiego.

Tematyka badań Zakładu została w znacznym stopniu rozszerzona. Oprócz dotychczasowych prac nad genetyczną stabilnością PSTVd i otrzymywaniem transgenicznymi roślin z kopią cDNA genomu tego wiroida, a także klonowaniem i ekspresją infekcyjnej kopii cDNA wirusa ziemniaczanego PVY w drożdżach oraz polimorfizmem polowych izolatów PVY, podjęto badania nad wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV), enzymami nukleolitycznymi roślin wyższych, hormonalną regulacją ekspresji genów u owadów i udziałem struktur chromatynowych w regulacji transkrypcji genów u roślin.

Stwierdzono, że w zakażonych PSTVd roślinach, RNA tego wiroida replikuje się jako populacja podobnych, ale nieidentycznych genetycznie cząsteczek. Prowadzi to do zmian infekcyjności wiroida [A. Góra-Sochacka, A. Kierzek, T. Candresse, W. Zagórski: *RNA* **3**, 68, 1997].

Uzyskano dowody, że cDNA wirusa PVY może ulegać ekspresji w komórkach drożdżowych. Analiza polimorfizmu polowych izolatów PVY wykazała, że zjadliwy izolat PVY^{NTN} odpowiedzialny za nekrozę bulw ziemniaków stanowi grupę o znacznym zróżnicowaniu [A. Pałucha: *Biotechnologia* **56**, 105, 2002].

W systemie bakulowirusa otrzymano nadekspresję białka helikazy wirusa HCV. Oczyszczono to białko, a także peptyd pep14 hamujący aktywność helikazy.

We współpracy z dr hab. J. Chroboczek z Instytutu Biologii Strukturalnej w Grenoble badano ekspresję neurotoksyny owadziej w nowych systemach bakulowirusa [L. Stokovska, Z. Bartoszewicz, E. Szołajska, I. Kikhno, A. Solomko, J. Michalik: *Protein Expr. Purif.* **22** (2), 242, 2001; E. Szołajska, J. Poznański, M. L. Ferber, J. Michalik, E. Gout, P. Fender, I. Bailly, B. Dublet, J. Chroboczek: *Eur. J. Biochem.* **271** (11), 2127, 2004].

Wspólne doświadczenia z Instytutem Molekularnej Biologii i Genetyki Ukraińskiej Akademii Nauk w Kijo-

wie doprowadziły do syntezy aktywnej biologicznie prolaktyny ludzkiej w systemie MaxBac [L. Strokovska, Z. Bartoszewicz, E. Szołajska, I. Kikhno, A. Solomko, J. Michalik: *Protein Expr. Purif.* **22**, 242, 2001; Patent nr P-346207].

Zespół dr hab. K. Grzelak, współpracując z Zakładem Fizjologii Bezkręgowców Uniwersytetu Warszawskiego, określił wpływ hormonów juwenilnego i 20-hydroksyekdyzonu na ekspresję genów kodujących białka zapasowe (LHP) mola woskowego *Galleria mellonella* [J. Godlewski, B. Kłudkiewicz, K. Grzelak, B. Cymborowski: *J. Insect Physiol.* **47**, 759, 2001; J. Godlewski, B. Kłudkiewicz, K. Grzelak, M. Beręświcz, B. Cymborowski: *J. Insect Physiol.* **49**, 551, 2003]. W układzie ekspresyjnym drożdży *Pichia pastoris* otrzymano i oczyszczono aktywne biologicznie białko wiążące hormon juwenilny (JHBP). Współpracując z Zakładem Biochemii Politechniki Wrocławskiej i doc. M. Dadlezem z Instytutu Biochemii i Biofizyki, wykazano, że z dwóch potencjalnych miejsc glikozylacji w tym białku tylko jedno ulega glikozylacji. Zlokalizowano także mostki -S-S- w cząsteczce JHBP [K. Grzelak, B. Kłudkiewicz, L. I. Kolomiets, J. Dębski, M. Dadlez, A. Lalik, A. Ożyhar, M. Kochman: *Protein Expr. Purif.* **31**, 173, 2003; J. Dębski, A. Wyśłouch-Cieszyńska, M. Dadlez, K. Grzelak, B. Kłudkiewicz, R. Kołodziejczyk, A. Lalik, A. Ożyhar, M. Kochman: *Arch. Biochem. Biophys.* **421**, 260, 2004].

Zespół dr hab. A. Przykorskiej badał strukturę kwasów nukleinowych, stosując uprzednio wyizolowane nukleazy z zarodków żyta i chloroplastów pszenicy. We współpracy z Zakładem Genetyki Uniwersytetu Warszawskiego wykazano, że arginina może wiązać się z nietłumaczonym odcinkiem 5' UTR mRNA arginazy *Aspergillus nidulans* i zmieniać jego strukturę drugorzędową. Może to wpływać na regulację translacji genu *agaA* kodującego arginazę [A. Przykorska, P. Borsuk, K. Solecka, P. Węgleński: *Eur. J. Biochem.* **268**, 179, 2001]. We współpracy z Instytutem Biologii Molekularnej i Komórkowej w Strasbourgu i Uniwersytetem w Kent przeprowadzono badania nad rolą struktury tRNA w ewolucji kodu genetycznego

[V. M. Perreau, G. Keith, W. M. Holmes, A. Przykorska, M. A. S. Santos, M. F. Tuite: *J. Mol. Biol.* **293**, 1039, 1999]. Wykazano także korelację między mutantami ludzkiego mitochondrialnego leucynowego tRNA i ich zdolnością do aminoacylacji w powiązaniu ze stanami chorobowymi u ludzi [B. Sohm, M. Frugier, H. Brule, K. Olszak, A. Przykorska, C. Florentz: *J. Mol. Biol.* **16**, 995, 2003]. Stwierdzono również wysoką specyficzność nukleazy ChS z chloroplastów pszenicy w stosunku do rozgałęzionych struktur DNA typu 5' „flap”. Zespół dr hab. A. Przykorskiej, współpracując z Centrum Klinicznym Uniwersytetu Necker, wyizolował nową specyficzną ludzką RNazę (Rnaza T84) i zbadał jej właściwości. [G. Przewłocki, J. Lipeczka, A. Edelman, A. Przykorska: *Nucl. Acids Res.* **26**, 4047, 1998].

Doktor A. Siwecka wyizolowała z zarodków żyta i scharakteryzowała nukleazę hydrolizującą dwuniciowy RNA. Jest to pierwszy tego typu enzym z roślin wyż-



Pożegnanie Rakowieckiej. Herbatka w gabinecie Profesora Szafrąńskiego w październiku 1992, goście: dr Ludwika Zimniak (obecnie w Univ. Arkansas, Little Rock, USA) oraz Prof. Jan Szarkowski.

szych [M.A. Siwecka: Acta Biochim. Polon. 44, 61, 1997; M.A. Siwecka: Methods in Enzymology 342, 212, 2001].

W 1994 roku w skład Zakładu Biosyntezy Białka weszła grupa prof. A. Jerzmanowskiego utworzona z pracowników Uniwersytetu Warszawskiego i Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN. Tematyką prac grupy jest rola histonu H1 w regulacji genów podczas rozwoju roślin. Histon H1 występuje w chromatynie roślin i zwierząt w postaci zróżnicowanych sekwenywnie wariantów. Opracowano unikatowy model do badania działania histonu H1 oparty na roślinach transgenicznym. Otworzyło to nowe perspektywy badawcze pozwalające określić związki między włączaniem określonych programów morfogenetycznych, a składem wariantów H1 chromatyny. Okazało się, że odwrócenie naturalnej proporcji składu wariantów histonu H1 w tytoniu prowadzi do drastycznych zaburzeń w rozwoju kwiatu objawiających się całkowitą męskosterylnością i niewytwarzaniem nasion [M. Prymakowska-Bosak, M. Przewłoka, J. Iwkiewicz, S. Egierszordff, M. Kuraś, N. Chaubet, C. Gigot, S. Spiker, A. Jerzmanowski: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 10250, 1996; M. Prymakowska-Bosak, M. R. Przewłoka, J. Ślusarczyk, M. Kuraś, J. Lichota, B. Kiliańczyk, A. Jerzmanowski: The Plant Cell 11, 2317, 1999].

Opisane wyniki są zgodne z identycznymi fenotypami wywołanymi u roślin w okresie suszy. Jest to uniwer-

salna strategia przystosowawcza roślin kwiatowych w niekorzystnych warunkach rozwoju. Przedstawiono hipotezę wskazującą, że zmiana normalnych proporcji wariantów H1 w chromosomach prowadzi do wytwarzania niezdolnych do zapłodnienia gamet [A. Jerzmanowski, M. Przewłoka, K. Grasser: Plant Biology 2, 586, 2000]. Z *Arabidopsis thaliana* wyizolowano białka BSH i AtSW13 homologiczne do drożdżowych SNF5 i SW13, które są składnikami kompleksu modelującego chromatynę [T.J. Sarnowski, S. Świeżewski, K. Pawlikowska, S. Kaczanowski, A. Jerzmanowski: Nucleic Acids Res. 30, 3412, 2002]. Wykazano także, że metylacja DNA u *Arabidopsis* jest związana z przebudową chromatyny zależną od ATP [J. Brzeski, A. Jerzmanowski: J. Biol. Chem. 278, 823, 2003].

W okresie od 1957 do 1990 roku przebywało na stażach w Pracowni, a następnie w Zakładzie Biosyntezy Białka IBB PAN 108 pracowników z wymienionych niżej instytucji krajowych i zagranicznych. Staże trwały zazwyczaj od paru tygodni do kilku miesięcy:

Zakład Farmakologii Wydziału Farmacji Akademii Medycznej w Krakowie,

Zakład Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Krakowie,

Zakład Fizjologii Roślin PAN, Pracownia Wirusologii w Krakowie,

Zakład Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Poznaniu,

Katedra Biochemii Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu,

Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu,

Zakład Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu,

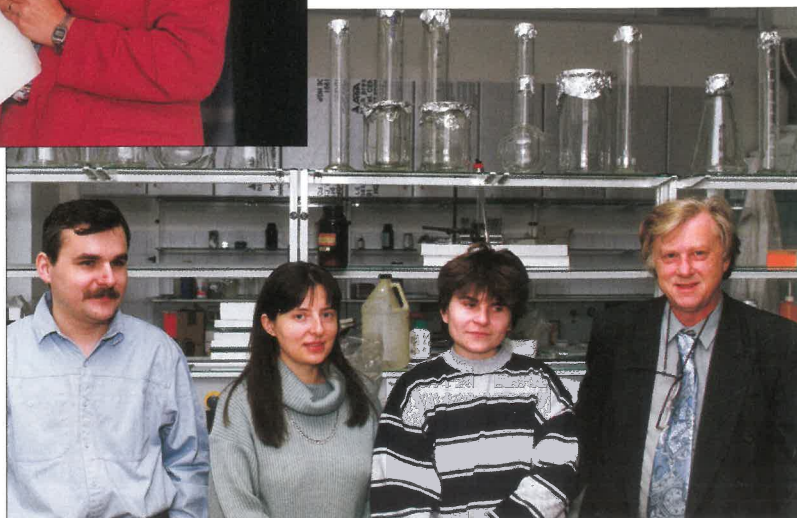
Zakład Biologii Nowotworów Instytutu Onkologii w Gliwicach,

Zakład Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Lublinie,



Referuje Anna Przykorska w trakcie I sympozjum, „Research Report”, 1994.

Dyrektor Włodzimierz Ostoja-Zagórski ze współpracownikami w laboratorium: Markiem Weńnickim, Anną Górą-Sochacką, Iwoną Rosą, 1994.



Katedra Mikrobiologii Ogólnej, Zakład Biochemii Uniwersytetu im. M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Patologii Klinicznej, Pracownia Genetyki Człowieka, Lublin,

Katedra Biochemii Uniwersytetu Warszawskiego; Katedra Biochemii SGGW w Warszawie, Katedra Hodowli Ogólnej Zwierząt, Instytut Biologii Roślin, Zakład Botaniki – SGGW w Warszawie, Zakład Radiobiologii w Warszawie, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie, Zakład Hodowli Doświadczalnej Zwierząt PAN w Jastrzębcu,

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt w Jastrzębcu; Instytut Ziemiaka w Młochowie, Instytut Farmacji Akademii Medycznej, Analiza Kliniczna, Wrocław,

Bułgarska Akademia Nauk, Laboratorium Badań Biochemicznych,

Instytut Biologii Doświadczalnej w Moskwie, Laboratorium Radiobiologiczne w Moskwie, Instytut Epidemiologii i Mikrobiologii im. Gamalei, Medycznej Akademii Nauk w Moskwie, Instytut Biologiczny Słowackiej Akademii Nauk w Bratysławie,

Katedra Biochemii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Komenskigo w Bratysławie,

Instytut Medycyny Doświadczalnej, Laboratorium Genetyki Biochemicznej, Katedra Genetyki Uniwersytetu w Leningradzie,

Max-Planck, Instytut Molekularnej Genetyki, Berlin, Instytut Syntezy Organicznej, Ryga, Centrum Badań Biologicznych, Szeged, Politechnika, Instytut Technologii, Zürich (ETH), Centralny Instytut Genetyki i Hodowli Kultur Roślinnych, Gatersleben,

Wydział Matematyczno-Przyrodniczy Uniwersytetu im. Markovića, Kragujevac,

Instytut Molekularnej Biologii, Berlin, Instytut Molekularnej Genetyki, Czechosłowackiej Akademii Nauk, Praga,

Zakład Mikrobiologii Technicznej, Kubańska Akademia Nauk, Hawana.

W 1992 roku Rada Naukowa Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN utworzyła Europejski Fundusz Stypendialny przy Instytucie. W ramach tego Funduszu przebywało na stypendiach długoterminowych w Zakładzie Biosyntezy Białka 16 osób z Ukrainy, Rosji, Węgier i Gruzji, w tym 10 osób z Instytutu Molekularnej Biologii i Genetyki Ukraińskiej Akademii Nauk w Kijowie.

W połowie lat 90. rozwinęła się współpraca IBB PAN z warszawskimi uczelniami w zakresie szkolenia nowych kadr biochemicznych. W Zakładzie Biosyntezy

Białka prace magisterskie wykonało 13 osób: siedmiu studentów Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, pięciu z Wydziału Biotechnologii SGGW i jeden z Wydziału Farmacji Warszawskiej Akademii Medycznej.

Doktoraty nauk przyrodniczych w zakresie biochemii uzyskali następujący pracownicy Zakładu Biosyntezy Białka (do 1967 roku – pracowni):

Eugeniusz Sułkowski	1960 r.
Michał Bagdasarian	1962 r. (przewód doktorski w warszawskiej AM)
Stefan Klita	1967 r.
Jadwiga Chroboczek	1969 r.
Piotr Chomczyński	1971 r.
Witold Filipowicz	1973 r.
Ludwika Zagórska	1973 r.
Stanisław Perzyński	1974 r. (przewód doktorski w warszawskiej AM)
Andrzej Wrede	1976 r.
Leszek Nowak	1977 r.
Aleksandra Wodnar-Filipowicz	1977 r.
Anna Szkopińska	1980 r.
Wojciech Rychlik	1980 r.
Elżbieta Szczęsna-Skorupa	1981 r.
Maria M. Konarska	1983 r.
Kazimierz Tyc	1985 r.
Maria Mieszczak	1987 r.
Mirosław Kozłowski	1989 r.
Marek Wełnicki	1989 r.
Magdalena Magierowska-Jung	1994 r.
Cezary Żekanowski	1996 r. (przewód doktorski na Wydziale Biologii UW)
Anna M. Chachulska	1998 r.
Marek Zagulski	1998 r.
Anna Góra-Sochacka	1998 r.
Radosław Tomaszewski	1998 r.
Jan Brzeski	1999 r.
Tomasz Calikowski	2000 r.
Tomasz Sarnowski	2003 r.

Pracownicy Zakładu Biosyntezy Białka, którzy habilitowali się w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN:

Przemysław Szafrński	1960 r. (przewód habilitacyjny w warszawskiej AM)
Włodzimierz Zagórski	1974 r.
Witold Filipowicz	1977 r.
Jadwiga Chroboczek	1978 r.
Anna Przykorska	1997 r.

Pracownicy Zakładu Biosyntezy Białka, którzy pracując za granicą, habilitowali się w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN:

Maria M. Konarska – 2000 r. (The Rockefeller University, New York),

Maria Hemmings-Mieszczak – 2001 r. (Friedrich Miescher-Institute, Bazylea).

Powyższe opracowanie wykonano na 50-lecie istnienia Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN. Uprzednio, w jubileusz 25-lecia, byłem organizatorem międzynarodowego sympozjum, które miało się odbyć 30-31 maja 1979 roku. Sympozjum nazwaliśmy „Modern trends in molecular biology”. Swój udział potwierdziło 22 badaczy z zagranicy. Niestety, dwóch naszych kolegów, prof. Piotr Słonimski i prof. Franek Chapeville, nie otrzymało wiz. W proteście nasz Instytut odwołał sympozjum.

**Zakład Biosyntezy Białka
– kontynuacja i transformacja
– kilka ostatnich lat**

Włodzimierz Zagórski

W 1989 roku Zakład znalazł się w sytuacji typowej dla wielu polskich zespołów badawczych. Zasadniczy trzon kadry naukowej znalazł się na emigracji, samodzielni pracownicy naukowcy – prof. Szafranski i autor tego fragmentu historii Zakładu – stanęli przed zadaniem odtworzenia zespołu.

Tytułem tylko przypomnienia, warto zaznaczyć, że w 1990 roku odwiedził nasz Instytut przedstawiciel nauki szwedzkiej, proponując transfer do Sztokholmu wybranej grupy pozostających w kraju aktywnych naukowców z IBB. Byłoby to właściwie zamknięcie naszych działań w kraju. Zamiast tego wybraliśmy (i inni koledzy z Instytutu) wersję, do której Polacy są przyzwyczajeni – próbę odtworzenia własnej rzeczywistości. Oznaczało to, że rozwój tematyki badawczej oparty będzie o działania grupy młodzieży pracującej nad swoimi doktoratami. Zgodnie z tradycjami Zakładu, możliwie nie ograniczano ich samodzielności, co oczywiście znalazło swoje odbicie w stopniowej transformacji tematyki zespołu. Samodzielność członków tej grupy (Magdalena Jung, Anna Chachulska, Anna Góra, Marek Zagulski) wspomagana była przez staże predoctoralne w laboratoriach francuskich (Hopital Salpetriere, INRA Versailles, INRA Bordeaux, Centre de Genetique Moleculaire CNRS), jak również przez powstałe w 1994 roku Polsko-Francuskie Centrum Biotechnologii Roślin. W rezultacie uzyskali oni doktoraty polsko-francuskie zgodnie z regułami studiów „współkierowanych” przez polskich i francuskich naukowców i odpowiadające standardom doktoratów europejskich. Tematyka Zakładu, choć oczywiście oparta była o kontynuację zainteresowań (ekspresja genetycznych wirusów RNA), uległa

zmianie. Badania *in vitro* nad mechanizmami translacji matryc naturalnych zostały zastąpione śledzeniem *in vivo* przebiegu infekcji wirusowej i patogenezy. Zakładało to opanowanie warsztatu transformacji roślin i podjęcie systematycznych badań nad zmiennościami sekwencji wirusowych.

Istotne było to, że rozwój tej nowej tematyki oparty został o współpracę międzyzakładową – szczególnie z Zakładem Biochemii Drobnoustrojów i Zakładem Genetyki. We współpracy z zespołem prof. Danuty Hulanickiej (Z.B.D.) prowadzone były badania nad ekspresją genetyczną wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV) [A. Pałucha, E. Sadowy, A. Kujawa, M. Juszcuk, W. Zagórski, D. Hulanicka: Acta Biochim. Polon. 54, 405, 1994; A. Pałucha, W. Zagórski, M. Chrzanowska, D. Hulanicka: Eur. J. Plant Pathology 104, 287, 1998; M. Juszcuk, W. Zagórski, D. Hulanicka.: Post. Biochem. 45, 87, 1999), a po odejściu na emeryturę prof. Hulanickiej członkowie jej zespołu (dr A. Pałucha, dr M. Juszcuk) przeszli do Zakładu Biosyntezy Białka, w którym dziś prowadzą swoje badania.

W ciągu omawianego okresu, zespoły Zakładu podjęły poważny wysiłek rozwoju metod znajdujących zastosowanie w badaniach całego Instytutu. Utworzona tu pracownia Bakulowirusowa (kierownik dr hab. Ludmiła Strokowska) wdrożyła system ekspresji białek w komórkach owadzych, wykorzystywany dziś przez wiele jednostek instytutowych [J. Michalik, E. Szołajska, L. Strokowska, W. Zagórski: FEBS, Nice, June 19-24, 1999. Biochimie, suppl. 6, p. 289, 1999; L. Strokowska, Z. Bartoszewicz, E. Szołajska, I. Kikhno, A. Solomko, J. Michalik: Protein Expr. Purif. 22 (2), 242, 2001; E. Szołajska, J. Poznański, M. L. Ferber, J. Michalik, E. Gout, P. Fender, I. Bailly, B. Dublet, J. Chroboczek: Eur. J. Biochem. 271 (11), 2127, 2004].

Pracownia kierowana przez dr hab. Krystynę Grzelak przyswoiła system syntezy białek w *Pichia pastoris*, wykorzystywany zarówno we współpracy wewnątrzinstytutowej, jak i z zespołami z innych ośrodków [K. Grzelak, B. Kłudkiewicz, L. I. Kolomiets, J. Dębski, M. Dadlez, A. Lalik, A. Ożyhar, M. Kochman: Protein Express. Purif. 31, 173, 2003].

W Zakładzie powstała też w 1992 roku (od 1998 roku samodzielna) Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów kierowana przez dr. M. Zagulskiego, znajdująca się pod opieką prof. J. Rytki (Zakład Genetyki). Pracownia ta z sukcesem uczestniczyła w europejskim programie sekwencjonowania genomu drożdży i jego analizie funkcjonalnej, co dokumentują liczne publikacje wymienione w dorobku Pracowni.

Tak więc Pracownie Zakładu w sposób autonomiczny uczestniczą dziś w pracach całego Instytutu, wnosząc do nich kulturę naukową związaną z wiedzą na temat procesów syntezy białka – owej tematyki założycielskiej Zakładu.

ZAKŁAD BIOLOGII MOLEKULARNEJ

Jarosław Tomasz Kuśmierk

Kierownik Zakładu – profesor David Shugar (1954-1985)

Zakład Biologii Molekularnej merytorycznie i organizacyjnie powstał z Pracowni Fizykochemii Biologicznej w Zakładzie Biochemii PAN utworzonej w 1954 roku i kierowanej przez prof. Davida Shugara. Pracownia ta w latach 1956/1957, kiedy został powołany Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, przekształciła się w Zakład Biofizyki. W 1973 roku nastąpił podział Zakładu na Zakład Biologii Molekularnej kierowany przez prof. Davida Shugara i Zakład Biofizyki kierowany przez prof. Kazimierza Lecha Wierzchowskiego. W 1998 roku z Zakładu wyodrębniła się Samodzielna Pracownia Antymetabolitów. Przedstawiony tu zarys historii Zakładu Biologii Molekularnej dotyczy jednostek organizacyjnych kierowanych przez prof. Shugara, a następnie po jego przejściu na emeryturę, kolejno przez prof. Celinę Janion i prof. Jarosława Kuśmierka. Historie Zakładu Biofizyki kierowanego od 1973 roku przez prof. Kazimierza Wierzchowskiego oraz Samodzielnej Pracowni Antymetabolitów kierowanej od 1998 roku przez prof. Tadeusza Kulikowskiego są przedmiotem odrębnych opracowań. Dla utrzymania ciągłości i spójności opisu oba te opracowania sięgają dalej wstecz poza wymienione lata 1973 i 1998. Z tego powodu opis dotyczący Zakładu Biologii Molekularnej jest zredukowany o wcześniejsze wątki dotyczące zespołów badawczych, które wyodrębniły się z zespołu prof. Shugara, jednakże nie udało się uniknąć pewnych powtórzeń.

W swoim artykule „O potrzebie rozwinięcia prac biofizycznych w Polsce” opublikowanym w „Kosmosie” w 1955 roku [39] prof. David Shugar podaje definicję biofizyki: „Termin biofizyka w ujęciu dzisiejszym obejmuje taki zakres pracy, w którym zagadnienia biologii i medycyny zarówno podstawowej, jak i stosowanej wymagają dla swego rozwiązania nawiązania do praw fizycznych bądź fizykochemicznych, jako też

odpowiednich metod [...] chcąc otrzymać pełny obraz, należy zjawiska biologiczne badać jednocześnie z punktu widzenia biologicznego, chemicznego i fizycznego. Jednakże istnieją pewne zakresy pracy, które zostały definitywnie określone jako biofizyczne w tym sensie, że obejmują zasadniczo badania fizyczne i fizykochemiczne systemów i składników biologicznych niezależnie od ich funkcji biologicznej”. Do takich badań prof. Shugar zaliczył m.in. badania struktury makromolekuł kwasów nukleinowych i białek, mechanizmu i kinetyki reakcji enzymatycznych oraz termodynamiki rozwoju i wzrostu komórek. Oczywiście akcentowana jest we wspomnianym artykule potrzeba stosowania gamy metod fizycznych i fizyko-chemicznych w badaniach obiektów biologicznych, takich jak techniki izotopowe, analiza rentgenostrukturalna, metody kwantowo-mechaniczne, różnego rodzaju spektroskopie, badania z użyciem technik mikroskopowych, ultrawirowanie i inne metody hydrodynamiczne, kalorymetria, techniki elektroforetyczne etc. Współcześnie, w okresie



Profesor David Shugar, kierownik Zakładu Biologii Molekularnej IBB PAN, 1985 r.



Pracownicy Zakładu Biofizyki przed gmachem przy ul. Rakowieckiej 36, w lipcu 1966 roku: Krzysztof Berens, Krystyna Myszkowska, Maja Żylonis, Zofia Kądziela, Estera Krajewska, Teresa Gołaszewska, Irena Pietrzykowska, Włodzimierz Szer, Celina Janion, Izabela Kułakowska, Tadeusz Kędracki (za nimi), Halina Sierakowska, Mirosława Piechowska, Kazimierz Lech Wierzchowski, Roman Lisewski, Andrzej Rabczenko.

burzliwego rozwoju biologii molekularnej i biofizyki wraz z jej wyrafinowanymi technikami, tamte rozważania i postulaty prof. Shugara mogą się wydawać oczywiste i trywialne, nie były one jednak takie w tamtych czasach, na początku lat 50. ubiegłego stulecia.

Postulaty dotyczące rozwoju biofizyki w Polsce znajdowały swoje odzwierciedlenie w organizacji i działalności naukowej powstającego zespołu prof. Shugara. Poważne ograniczenia ekonomiczne nie pozwalały oczywiście na podejmowanie badań wymagających kosztownej aparatury. Podkreślić należy tworzenie odpowiedniego potencjału intelektualnego przez gromadzenie w zespole ludzi o różnych specjalizacjach: fizykochemików, chemików, farmaceutów i biologów.

Wyposażenie Pracowni usytuowanej wówczas w pomieszczeniach Państwowego Zakładu Higieny było bardzo skromne, chociaż już od 1955 roku dysponowano dwoma spektrofotometrami UV: Unicamem SP 500 i radzieckim SF-4. Główną metodą rozdziału mieszanin reakcyjnych była chromatografia bibułowa. Do oznaczeń pH używano początkowo papierków wskaźnikowych, które krojono na węższe paseczki, aby maksymalnie oszczędzać ten deficytowy wówczas produkt. Pierwszy pH-metr wraz z Titrometrem zakupiono w 1956 roku. Ważnym etapem w wyposażaniu Pracowni była zakończona w końcu 1959 roku instalacja w podziemiach PZH źródła napromieniania, tzw. bomby

kobaltowej (źródło Co^{60} o mocy 60 Curie). Umożliwiło to prowadzenie prac radiobiologicznych, które były częściowo sponsorowane przez Państwową Radę ds. Wykorzystania Energii Jądrowej.

Początkowo badania prowadzone w Pracowni Fizykochemii Biologicznej były kontynuacją badań prof. Shugara prowadzonych podczas jego pracy w laboratoriach we Francji i w Belgii na początku lat 50. ubiegłego wieku. Badania te dotyczyły fotochemii i fotoreaktywacji enzymów (dehydrogenaza fosfotriozy, aldolaza, lizozym, rybonukleaza) oraz spektrofotometrii składników kwasów nukleinowych. Opublikowane wraz z J.J. Foxem w 1952 roku w „*Biochimica et Biophysica Acta*” [9, 199-218; 9, 369-84] prace dotyczące widm UV zasad i nukleozydów pirymidynowych, ich równowag kwasowo-zasadowych (wartości pK_a), a także dyskusja tautomerii zasad w oparciu o analizę podobieństwa widm UV „zamrożonych” przez alkilację form tautomerycznych były podstawowymi pracami w tej dziedzinie. Często je cytowano, a zastosowana w nich metodyka była wzorem do analogicznych badań. Pierwsze firmowane przez Pracownię i opublikowane w latach 1954-1956 przez prof. Shugara wraz z Ewą Syruczek-Gajewską prace doświadczalne dotyczyły inaktywacji rybonukleazy – termicznej oraz przez promieniowanie ultrafioletowe [15,16,47]. Pierwszy doktorat, który powstał w Pracowni pod kierunkiem prof. Davida Shugara,

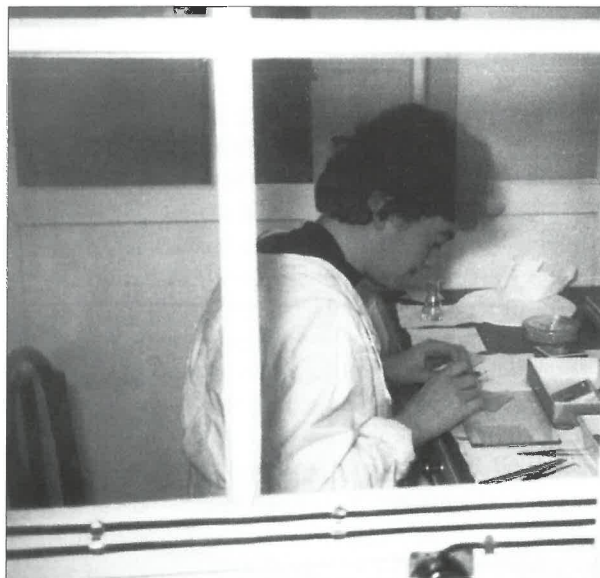
dotyczył kwasów nukleinowych. Była to praca Arnolda Adamca „Badania fizykochemiczne nad kwasem apurynowym” obroniona w 1959 roku.

W 1955 roku zorganizowano w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie kurs „Zastosowanie izotopów w biologii” [71]. Wykładowcami byli pracownicy PAN i PZH – D. Shugar, K. L. Wierzchowski, E. Gajewska, J. Meduski, Z. Kochańska, A. Jarmolińska, A. Zbrożyna, a także fizycy z Instytutu Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego. Kurs skupił około 60 zapalonych pracowników naukowych ze środowiska biochemiczno-biologicznego i medycznego w całej Polsce. Zastosowanie izotopów w badaniach biologicznych i medycznych było wówczas wielkim *novum*. Polska jako kraj za „żelazną kurtyną” nie miała dostępu do źródeł zachodnich, a właśnie w tym czasie Związek Radziecki udostępnił Polsce swoje zasoby izotopów promieniotwórczych.

Przy udziale i poparciu Instytutu Badań Jądrowych oraz Komitetu Biochemicznego PAN wydano wówczas skrypt *Zastosowanie izotopów w biologii*, pod redakcją Davida Shugara przy współpracy J. Meduskiego i K.L. Wierzchowskiego, stanowiący pokłosie kursu. Przez pięć lat skrypt ten był jedynym polskim źródłem na temat zastosowania izotopów, aż do wydania przez CELOR w 1961 roku *Poradnika ochrony radiologicznej*.

Profesor David Shugar oraz Halina Sierakowska i Halina Szemplińska z Pracowni Cytochemii kierowanej przez Aleksandra Szenberga podjęli wówczas badania nad zastosowaniem izotopów radioaktywnych w ilościowych oznaczeniach histochemicznych [120, 121, 125]. Metody te miały jednakże stosunkowo ograniczoną zdolność rozdzielczą, dlatego też później Halina Sierakowska, która po wyjeździe Aleksandra Szenberga za granicę przeszła do zespołu prof. Shugara, zajęła się opracowywaniem znacznie czulszych i bardziej specyficznych metod lokalizacji enzymów.

Zainstalowane w 1959 roku silne źródło promieniowania γ (wspomniana wyżej bomba kobaltowa w PZH) pozwoliło na badania wpływu tego promieniowania zarówno na makrocząsteczki, jak i na całe organizmy. Wymienić tu należy opublikowane w początku lat 60. prace prof. Davida Shugara nad chemią radiacyjną pirymidyn i modelowych oligonukleotydów [251, 267] (z Danielą Barszcz), lizozymu i rybonukleazy [296] (z Zofią Tramer), a także nad wpływem promieniowania γ na regenerację wątroby szczuża [295] (z Celiną Janion). Prace te były wstępem do prac doktorskich Zofii Tramer (obecnie Zarębskiej) „Niektóre zagadnienia mechanizmu działania promieniowania jonizującego na rybonukleazę” (1964) i Danieli Barszcz „Wpływ promieniowania jonizującego na niektóre składniki kwasów nukleinowych i polirybonukleotyd adenilowy” (1967). W późniejszych latach nastąpiła jednak zmiana tematyki naukowej wspomnianych współpracowniczek prof. Shugara – Celiną Janion zajęła się mutagenezą, nato-



Przygotowanie szkiełek z enzymami do naświetlania deuteronomi w cyklotronie w Bronowicach k.Krakowa – Zofia Tramer (1960)

miast Zofia Tramer i Daniela Barszcz – fotochemią kwasów nukleinowych.

Fotochemia kwasów nukleinowych była, jak się wydaje, jednym z kierunków najbardziej intensywnie i konsekwentnie rozwijanych od początku istnienia Pracowni. Pierwsze w tej dziedzinie prace prof. Shugara z Kazimierzem Wierzchowskim, publikowane w międzynarodowych czasopismach, takich jak: *Biochimica et Biophysica Acta* [92, 96] czy *Journal of Polymer Science* [119], włączyły się w światowy nurt badań w tej dziedzinie. Badania nad odwracalną fotohydratacją pirymidyn pod wpływem promieniowania ultrafioletowego prowadzone w modelowych układach monomerów i polinukleotydów pozwoliły na poznanie szczegółowych mechanizmów tych reakcji oraz na sformułowanie wniosków dotyczących roli tych reakcji w odwracalnej fotoinaktywacji mikroorganizmów, które zostały opisane w pracy doktorskiej Kazimierza Lecha Wierzchowskiego (1960).

Badania prof. Davida Shugara i współpracowników (Kazimierza Wierzchowskiego, Zofii Tramer, Aleksandry Śmietanowskiej, Magdaleny Fikus, Ewy Sztumpf (obecnie Kulikowskiej), Ireny Pietrzykowskiej, Estery Krajewskiej) w dziedzinie fotochemii kwasów nukleinowych oraz oddziaływania promieniowania ultrafioletowego na mikroorganizmy były prowadzone do końca lat 70. Wniosły one istotny wkład w wyjaśnienie molekularnych mechanizmów mutagennego i letalnego działania promieniowania ultrafioletowego. Profesor David Shugar wraz z Douglasem McLarenem byli autorami pionierskiej monografii *Photochemistry of proteins and nucleic acids* (Pergamon Press, 1964). W 1976 roku prof. David Shugar za osiągnięcia w tej dziedzinie został wyróżniony Złotym Medalem im. Nielsa Finsena przez Międzynarodowe Stowarzyszenie Fotobiologów.

W 1960 roku do zespołu prof. Shugara dołączył chemik organik Włodzimierz Szer. Faktycznie Włodzimierz Szer rozpoczął pracę w zespole prof. Shugara trzy lata przed uzyskaniem etatu w IBB. Zatrudniony w Instytucie Antybiotyków pracował wieczorami w laboratorium prof. Shugara, wykonując prace zleczone. Zapoczątkowany przez niego „nurt syntezy chemicznej” w mniejszym lub większym stopniu występuje w całej późniejszej historii Zakładu. Syntezy analogów i chemiczne modyfikacje zasad DNA, nukleozydów i nukleotydów dostarczały związków do najróżniejszych badań. Często dopiero dostępność odpowiednich pochodnych umożliwiała podjęcie konkretnych badań. Pierwsze prace Sзера opublikowane wraz z prof. Shugarem w latach 1960-1962 dotyczą metylowania kwasu urydylowego [211], syntezy estrów metylowych nukleotydów i badania ich jako substratów enzymów nukleolitycznych [268, 285, 303]. Pojawiają się też pierwsze prace dotyczące syntezy, badania struktury polinukleotydów i ich kompleksów: kwasów poli(N-metylourydylowego) [240], poli(5-bromourydylowego) [257]. Niektóre z tych prac, jak wydaje się z perspektywy ponad 40 lat, miały charakter wręcz pionierski i były szeroko cytowane, jak np. praca opublikowana w 1961 roku w *Acta Biochimica Polonica* [240]. W okresie kiedy struktura DNA zwana była jeszcze częstokroć „the Watson-Crick hypothesis”, Juliusz Marmur, jeden z liderów w niezbyt wówczas jeszcze zróżnicowanej dziedzinie kwasów nukleinowych, pisał w prestiżowym wydawnictwie *Progress in Nucleic Acid Research* [1 (1963), str. 253]: „The strongest evidence to date of the involvement of hydrogen bonds in maintaining helix stability comes from the experiments on synthetic polynucleotides by Szer and



Wieloletnia sekretarka Zakładu Biologii Molekularnej, Ewa Kowalska, 1994 r.

Shugar (1961). They found that, in contrast to polyU, poly methyl U (N-methyl U) exhibits no secondary structure nor will the latter polymer form any complexes with polyA. Thus, by blocking the formation of one hydrogen bond in one of the aromatic rings, interstrand hydrogen bond interactions are prevented. Other than the possibility that the introduction of the methyl group causes structural distortions due to steric hindrance, it is difficult to explain Szer and Shugar's results in terms except by hydrogen bonding”. Badania dotyczące struktury własnej polinukleotydów, ich kompleksów z komplementarnymi polinukleotydami, wpływu różnego rodzaju modyfikacji zasad i reszty cukrowej na trwałość tych struktur, będą przez długie lata przedmiotem badań w Zakładzie. Były one podstawą pracy doktorskiej Włodzimierza Sзера (1961).

W 1963 roku, po scaleniu rozproszonych w różnych miejscach Warszawy Zakładów we wspólnej siedzibie Instytutu przy ul. Rakowieckiej 36, w Zakładzie Biofizyki istniały trzy grupy badawcze o wyodrębnionych tematykach. Tworzyły się wokół naturalnych liderów, stopniowo, na podstawie wspólnej tematyki. W 1964 roku Zakład został zasilony grupą doktorantów, którzy weszli do poszczególnych grup tematycznych. Należy podkreślić, że skład tych grup był w pewnej mierze płynny. Jedną z nich wyodrębniła się wokół dr Kazimierza Wierzchowskiego w połowie lat 60. Stanowili ją: Krzysztof Berens, Roman Lisewski, Izabela Kułakowska, Ewa Litońska, Elżbieta Stępień, a w badaniach uczestniczyły także Magdalena



David Shugar i jego uczniowie – Zofia Zarębska, Celina Janion, Irena Pietrzykowska, Annie Lepoutre (gość), Kazimierz Lech Wierzchowski, Ewa Kulikowska, Magdalena Fikus, Daniela Barszcz, Mirosława Piechowska – przed siedzibą IBB w kwietniu 1985 r. (zdj. Lucien Lepoutre).

Fikus i Zofia Tramer. Problematyka grupy dotyczyła początkowo badań podstawowych mechanizmów fotochemii kwasów nukleinowych, potem również związanych z tym badań stanów wzbudzonych puryn i pirymidyn, a także badań tautomerii, momentów dipolowych i asocjacji warstwowych zasad DNA. Jednocześnie zainteresowania prof. Shugara kierowały się coraz wyraźniej ku biologii molekularnej, co spowodowało, że w 1973 roku z Zakładu Biofizyki został wydzielony Zakład Biologii Molekularnej działający pod jego kierownictwem. W Zakładzie Biofizyki pozostała grupa prof. Wierzchowskiego, który objął kierownictwo Zakładu, oraz grupa informatyczna Andrzeja Rabczenki. Szczegółowe omówienie badań tej grupy przed 1973 rokiem jest dołączone do historii Zakładu Biofizyki kierowanego przez prof. Wierzchowskiego.

W skład grupy dr Włodzimierza Szera, zajmującej się głównie syntezą i badaniem właściwości polinukleotydów a także syntezami analogów, wchodził Leszek Nowak, Andrzej Rabczenko, Ryszard Kędracki, Marek Świerkowski oraz Barbara Żmudzka, która później utworzyła własną pracownię w Instytucie Onkologii. Do grupy Haliny Sierakowskiej (doktorat 1965), która zajmowała się oznaczaniem aktywności i lokalizacją histochemiczną enzymów nukleolitycznych, należały Halina Szemplińska i Małgorzata Zan-Kowalczevska. Profesor Shugar był inicjatorem badań we wszystkich wymienionych wyżej grupach. Ponadto bezpośrednio z nim współpracowały osoby, które rozwijały własną tematykę i stały się w późniejszym czasie liderami następnych grup: Zofia Tramer (obecnie Zarębska, fotochemia DNA, doktorat 1964); dr Irena Pietrzykowska (fotochemia zasad oraz mutageneza bakterii i fagów); Celina Janion (mutageneza bakteryjna, doktorat 1965); Mirosława Piechowska (transformacje bakteryjne, doktorat 1967); Ewa Sztumpf (obecnie Kulikowska) (fotochemia DNA, doktorat 1967, po doktoracie przeszła do pracy w Katedrze Biofizyki na Uniwersytecie Warszawskim); Andrzej Rabczenko (struktura polinukleotydów, doktorat 1972; później zajął się bioinformatyką w Zakładzie Biofizyki kierowanym przez prof. Wierzchowskiego); Tadeusz Kulikowski (syntezy analogów nukleotydów, nukleotydów i polinukleotydów, doktorat 1973); Jarosław Kuśmerek (modyfikacje nukleotydów, doktorat 1974).

Po zaproponowaniu przez Watsona i Cricka w 1953 roku modelu struktury DNA i wykazaniu najpierw przez Avery'ego a potem przez Hersheya, że DNA jest nośnikiem infekcyjnych właściwości bakterii i wirusów, powszechnie

akceptowana była idea, że DNA jest nośnikiem informacji genetycznej. Spowodowało to w następnych latach spopularyzowanie w wielu laboratoriach na całym świecie badań nad strukturą DNA (a także RNA), rolą różnych czynników wpływających na jego strukturę i funkcję informacyjną, enzymami biorącymi udział w jego metabolizmie a także nad chemią nukleotydów, nukleotydów i polinukleotydów. Jak widać z zarysu kierunków badań, były one również dominujące w naszym Zakładzie.

Związki naszego Zakładu z zachodnimi uczonymi były zawsze żywe, głównie dzięki osobistym kontaktom prof. Shugara. Dalsze ich intensywne ożywienie nastąpiło po III Zjeździe FEBS, który odbył się w Warszawie w kwietniu 1966 roku. Wtedy wszyscy pracownicy naszego Instytutu mieli możliwość osobistego kontaktu z wieloma uczonymi z Europy i Ameryki. W Zjeździe uczestniczyło kilku aktualnych (Hans Adolf Krebs, Frederick Sanger, Severo Ochoa) jak również przyszłych laureatów Nagrody Nobla (Har Gobind Khorana, Peter D. Mitchell, Edwin Gerhard Krebs). Dla naszego Zakładu ważne były spotkania z wybitnymi fachowcami w dziedzinie chemii nukleotydów: A.M. Michelsonem (Wielka Brytania) i D.G. Knorrem (ZSRR), enzymatycznej syntezy polinukleotydów: F.J. Bollumem (USA), transformacji bakterii: R. Hotchkisem (USA) oraz w dziedzinie mutagenezy indukowanej: L. Grossmanem (USA) i E.I. Budowskim (ZSRR). Spotkania te zaowocowały osobistymi kontaktami oraz stażami zagranicznymi w najlepszych ośrodkach świata. Najciekawsze wystąpienia zjazdowe zostały utrwalone wydaniem w Polsce w 1967 roku przez PWN wspólnie z Academic Press książki *Genetic elements*, pod redakcją prof. Davida Shugara.

W latach 60. i 70. ubiegłego wieku w Zakładzie intensywnie rozwijano badania nad polirybonukleotydami. Badania modelowych polinukleotydów, w tym rów-



Profesor John Boag (Sutton, Anglia) z rodziną Państwa Kulikowskich, Boże Narodzenie, 1989 r.

niez zwierających specyficzne modyfikacje, dostarczały informacji na temat roli oddziaływań planarnych i warsztowych między zasadami, roli grupy 2'-OH rybozy a także innych czynników w strukturze kwasów nukleinowych. Oczywiście warunkiem przeprowadzenia badań było uzyskanie odpowiednich polinukleotydów. Metody syntezy chemicznej pozwalały wówczas na uzyskiwanie jedynie krótkich oligomerów. Synteza polirybonukleotydów była możliwa dzięki odkryciu przez Marianne Grunberg-Manago i Severo Ochoa fosforylasy polinukleotydowej, enzymu który z 5'-dwufosforanów nukleozydów syntetyzował polinukleotydy. Od M. Grunberg-Manago, a także od S. Ochoa, H. Matthaei i U.Z. Littauera, otrzymywaliśmy próbki tego enzymu, używane następnie przez nas do preparatyki polinukleotydów. Synteza polinukleotydu zawierającego modyfikacje wymagała oczywiście poprzedniej syntezy odpowiedniego substratu, czyli odpowiednio zmodyfikowanego 5'-dwufosforanu nukleozydu. Było to pole do popisu dla chemików syntetyków. O ile 5'-dwufosforany niemodyfikowanych nukleozydów były dobrymi (z wyjątkiem 5'-GDP) substratami dla fosforylasy polinukleotydowej, to modyfikowane nukleotydy często okazywały się substratami opornymi. Trzeba było wielu prób i subtelnych wariacji warunków reakcji, aby uzyskać upragniony polimer.

Badania polinukleotydów były intensywnie prowadzone w latach 60. w grupie dr. Włodzimierza Szera. Znaczna część prac dotyczyła roli podstawników w pozycji 5 pierścienia pirymidynowego w stabilizacji struktury polinukleotydów. Doprowadziły one do nieoczekiwane wniosku, że grupa metylowa w pozycji C5 uracylu lub cytozyny, która nie może mieć żadnego wpływu na wiązania wodorowe tworzone przez te zasady, wzmacnia w istotny sposób strukturę drugorzędową i komplementarne własności kompleksotwórcze polinukleotydów pirymidynowych [320, 326, 419, 420, 468, 489]. Odkrycia te, publikowane m.in. w „Journal of Molecular Biology”, przyczyniły się do ustalenia istotnego, a dopiero kiełkującego poglądu: o ile wiązania wodorowe stanowią podstawowy mechanizm rozpoznawczy tworzenia się par zasad, to stabilność dupleksu zależy w decydującej mierze od oddziaływań warstwowych, będących z kolei pochodną oddziaływań hydrofobowych. Jednakże, jak wykazali to później Świerkowski i prof. Shugar, zmiana podstawnika w pozycji C5 uracylu z grupy metylowej na bardziej hydrofobową, ale jednocześnie większą grupę etylową, dramatycznie obniża stabilność struktur tworzonych przez poli(5-etyloU) [775]. Podobny wpływ wykazuje grupa etylowa w pozycji C5 cytozyny [1309]. Wskazuje to na istotną rolę czynników sterycznych w stabilności polinukleotydów i ich komplementarnych kompleksów. Prace dotyczące syntez oraz badań polinukleotydów zawierających 5-metylo- i 5-etylouracyl złożyły się na pracę doktorską Marka Świerkowskiego (1969), a zawierających 5-ety-

locytozynę – na pracę doktorską Tadeusza Kulikowskiego (1973).

Zastosowanie przez Szera i Ochoa zmodyfikowanych syntetycznych polinukleotydów o ściśle sprecyzowanych własnościach w charakterze mRNA do biosyntezy białka *in vitro* wykazało, że wzmożone własności kompleksotwórcze (i niezależnie od tego – podniesiona siła jonowa środowiska) mogą doprowadzić do dwuznaczności kodu genetycznego [405a, 405b]. Te publikacje również znalazły szeroki oddźwięk, m.in. cytowane były przez Jamesa Watsona we wczesnych wydaniach jego monografii *The Molecular Biology of the Gene*. Warto chyba dodać, że niestawnej pamięci Trofim Łysenko powoływał się na nie w swoich wykładach w Akademii Rolniczej w Moskwie jako na „dowód”, że środowisko zmieniać może wrodzone cechy organizmu; *pro captu lectoris habent sua fata libelli...* Mówił o tym z ironią i wręcz pogardą wybitny fizykochemik rosyjski, nieżyjący Michaił Wolkenstein w czasie swego pobytu w Warszawie w połowie lat 60.

Prace dotyczące kodu genetycznego miały pewien praktyczny i niespodziewany, a korzystny dla Instytutu, skutek: wykonane były przez dr. Szera w znacznej mierze w laboratorium Severo Ochoa w Nowym Jorku i na ich kontynuację w Polsce udało się uzyskać spory jak na owe czasy grant dolarowy na przyrządy, odczynniki itp. Warto tu wspomnieć, że w tamtych czasach każdy, nawet niewielki zastrzyk pieniężny w walucie wymiennej, pozwalał podnieść standard badań poprzez zakup niezbędnych chemikaliów i enzymów niedostępnych w Polsce. Oprócz wspomnianego grantu od Severo Ochoa, głównie dzięki kontaktom prof. Shugara badania naukowe w naszym Zakładzie korzystały z finansowego wsparcia m.in. World Health Organization, International Atomic Agency, Wellcome Foundation, U.S. Department of Agriculture. Nie bez znaczenia był również fakt, że część tych funduszy była przeznaczana na wspomnienie niewielkich uposażeń pracowników naukowych.

Kolejny aspekt badań nad biosyntezą białka to wiązanie syntetycznego mRNA do rybosomów. Nowak i Szer wykazali, że nawet polimery pozbawione struktury drugorzędowej, tzn. niezdolne do tworzenia komplementarnych kompleksów i do kodowania, np. poli(5,6-dwuhydroU) bądź poli(N-metyloU), wiążą się do podjednostki rybosomalnej 30S we współzawodnictwie z kodującymi polimerami niemodyfikowanymi, np. poli(U) [515, 572]. Prace te były dyskutowane we wnikliwie na ogół czytanych wówczas anonimowych komentarzach redakcyjnych w londyńskim „Nature” („Another approach to ribosome function comes from Szer and Nowak [...] This [...] strongly supports [...] evidence that the messenger is not held by base-pairing, but rather by some interaction most probably involving phosphate groups and perhaps ribosomal proteins” [Nature **214**, 122, 1967]. W październiku 1967 roku dr Włodzimierz Szer wraz rodziną wyemigrował do

Stanów Zjednoczonych. Tam przez wiele lat był profesorem na New York University School of Medicine.

Zaplecze techniczne warsztatu badawczego dr. Włodzimierza Szera a także część tematyki przejął Tadeusz Kulikowski. Obok wspomnianych wyżej badań nad wpływem podstawnika alkilowego w 5 pozycji pirymidyn na stabilność polinukleotydów, grupa Tadeusza Kulikowskiego zaczęła rozwijać systematyczne badania nad nowymi analogami składników kwasów nukleinowych o potencjalnych właściwościach przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych. Grupa ta była początkiem Samodzielnej Pracowni Antymetabolitów formalnie wyodrębnionej w 1998 roku (omówienie tego wątku badań jest dołączone do historii Pracowni).

Zespół Haliny Sierakowskiej zajął się opracowywaniem specyficznych metod lokalizacji enzymów nukleolitycznych. Dzięki pomocy i technikom ustawionym przez grupę dr. Szera, mała grupa Haliny Sierakowskiej o przygotowaniu biologicznym mogła podjąć się syntezy estrów naftyloowych różnych nukleotydów. Uwolnioną w reakcji enzymatycznej komponentę naftyłową sprzęgano z solami dwuazoniowymi, uzyskując nierozpuszczalny barwny osad obrazujący lokalizację enzymu. Prace te zostały uwieńczone sukcesem i umożliwiły lokalizację szeregu enzymów nukleolitycznych. Były jak na owe czasy awangardowe i zostały włączone do materiału podręcznikowego z dziedziny histochemii (A.G.E. Pearse, Histochemistry), dopiero później zostały zastąpione technikami immunohistochemicznymi. Ester naftyłowy 5'-fosforanu tymidyny okazał się specyficznym substratem dla fosfodwuesterazy I zwierząt i umożliwił histochemiczne zlokalizowanie tego enzymu w tkankach szczura [350, 360]. Wyniki te uzupełniono przy pomocy różnicowego frakcjonowania komórek wątroby szczura, prowadzonych wspólnie z Marią Erecińską (Zakład Biochemii Ewolucyjnej IBB), które wykazały występowanie tego enzymu w błonie plazmatycznej. Jednocześnie zlokalizowano fosfodwuesterazę II w lizozomach, co wskazuje na jej aktywność w trawieniu wewnątrzkomórkowym [745]. Badania nad cytochemiczną i histochemiczną lokalizacją nukleaz w tkankach zwierzęcych były tematem pracy doktorskiej Haliny Sierakowskiej obronionej w 1965 roku pod kierunkiem prof. Shugara.

Dla uzyskania specyficznych substratów dla rybonukleaz bakteryjnych typu T1 i T2 oraz rybonukleaz zwierzęcych zsyntetyzowano szereg 3'-naftylofosforanów nukleozydów oraz szereg 5'-podstawionych pochodnych 3'-naftylofosforanu urydyny, służących do kolorymetrycznych oznaczeń aktywności tych enzymów oraz umożliwiających histochemiczną lokalizację RNazy trzustkowej w tkankach ssaków. Użyty substrat jest oporny na rybonukleazy z wątroby i śledziony, co pozwala odróżnić rybonukleazę trzustkową, o funkcji trawienia zewnątrzkomórkowego, od pozostałych kwaso- i termostabilnych rybonukleaz alkalicznych

o funkcjach wewnątrzkomórkowych [456, 492, 880, 895]. Powyższe wyniki stanowiły punkt wyjścia dla wyodrębniania kwaso- i termostabilnych rybonukleaz człowieka i ich charakterystyki pod względem specyficzności, właściwości fizykochemicznych i heterogenności narządowej, a także możliwości zastosowania w diagnostyce. Badania te były prowadzone we współpracy z dr. Aliną Bardoń z Instytutu Matki i Dziecka, a wyniki były publikowane w *Biochimica et Biophysica Acta* oraz *Clinica Chimica Acta* [1210, 1431, 93/76]. Badania te były przedmiotem pracy doktorskiej Małgorzaty Zan-Kowalczewskiej obronionej w 1973 roku pod kierunkiem prof. Shugara.

Zsyntetyzowane związki wykorzystano także dla badań swoistości nukleaz roślin. Stwierdzono, że nukleaza z fasoli złocistej hydrolizuje estry 3'-fosforanów rybonukleozydów do nukleozydów i estrów kwasu fosforowego, co stanowi cechę unikalną wśród fosfodwuesteraz [1211]. Użycie pochodnej 5'-naftylofosforanu tymidyny pozwoliło na lokalizację pirofosfatazy typu I w tkankach roślin wyższych [1427, 1701]. Badania te były przedmiotem pracy doktorskiej Ryszarda Kole wykonanej pod kierunkiem doc. Haliny Sierakowskiej i obronionej w 1976 roku. Następnie przy udziale Marcjanny Bartkiewicz (doktorat pod kierunkiem doc. Sierakowskiej w 1985 roku) oczyszczono pirofosfatazę do stanu niemal homogenności i ustalono jej właściwości i swoistość substratową [2274, 2280]. Zdolność do hydrolizy wiązań pirofosforanowych przy braku aktywności wobec wiązań międzynukleotydowych typu 3'-5' umożliwiły zastosowanie tego enzymu do usuwania 7-metyloguaniny z „cap-u” eukariotycznych mRNA. Badania te były użyteczne w poznaniu mechanizmów translacji. Współpracując z grupą Witolda Filipowicza (Zakład Biosyntezy Białka IBB), wykazano, że usunięcie 5'-fosforanu 7-metyloguaniny z mRNA reowirusa, globiny królika oraz *A. salina* powoduje niemal całkowitą utratę zdolności tych mRNA do ulegania translacji w bezkomórkowym układzie biosyntezy białka poprzez utratę zdolności wiązania się z rybosomami [1553].

Prace prowadzone przez doc. Halinę Sierakowską i jej grupę pozostawiły trwałe i znaczące ślady w dorobku naukowym Instytutu. Publikacje tej grupy, w tym prace przeglądowe doc. Sierakowskiej z prof. Shugarem w *Progress in Nucleic Acids Research and Molecular Biology* [588, 1565], są często cytowane w literaturze naukowej. Grupa wykształciła troje doktorów (Zan-Kowalczevska, Kole i Bartkiewicz) oraz kilkoro magistrów i była czynna do 1985 roku, kiedy to uległa rozpadowi wskutek wyjazdu za granicę większości jej członków. Ryszard Kole jest obecnie profesorem na University of North Carolina w Chapel Hill. Marcjanna Bartkiewicz pracuje na Yale University, gdzie początkowo prowadziła badania w pracowni noblisty Sidneya Altmanna. Docent Halina Sierakowska początkowo współpracowała z prof. Włodzimierzem Szerem w New

York University a potem przez wiele lat z Ryszardem Kole w Chapel Hill. Od kilku lat, po powrocie do kraju, ponownie bierze udział w pracach naszego Instytutu, wykorzystując swoje wieloletnie doświadczenie w redakcji prac naukowych.

Celina Janion początkowo pracowała w Pracowni Cytochemii kierowanej przez doc. Szenberga, gdzie zajmowała się badaniem aktywności enzymów w regenerującej wątrobie szczura. W końcu lat 50. zaczęła współpracować z prof. Shugarem, początkowo kontynuując prace rozpoczęte w pracowni doc. Szenberga. Odkrycie 5,6-dwuhydryourydyny w tRNA spowodowało wzrost zainteresowania właściwościami dwuhydropirimidyn. Praca na temat podstawowych właściwości dihydro-pochodnych uracylu i cytozyny, ich nukleozydów i nukleotydydów oraz oligonukleotydydów opublikowana przez Janion i prof. Shugara w *Acta Biochimica Polonica* w 1960 roku [192] wywołała ogromne zainteresowanie. Świadczy o tym ponad 300 próśb o odbitki kierowanych do autorów. Badania nad dihydropirimidynami były tematem pracy doktorskiej Celiny Janion (1965).

Dalsze badania dr Celiny Janion dotyczyły modyfikacji zasad kwasów nukleinowych przez różne związki chemiczne, takie jak: semikarbazyd oraz hydroksylamina (HA) i jej pochodne. Badania reakcji między cytozyną i HA doprowadziły do wyjaśnienia chemicznych podstaw mutagennego działania HA. W roztworach wodnych HA ulega addycji w pozycji 6 do podwójnego wiązania cytozyny, grupa 4-aminowa w 5,6-dwuhydropochodnej ulega szybkiej wymianie na hydroksylaminową, a następnie w wyniku eliminacji cząsteczki HA i odtworzenia podwójnego wiązania powstaje N⁴-hydroksycytozyna. Ważnym osiągnięciem dr Janion było wykazanie, że HA może również reagować przez bezpośrednie podstawienie grupy 4-aminowej cytozyny grupą hydroksylaminową, co wykazano w przypadku 5-podstawionych cytozyn, które nie dają produktu addycji HA do podwójnego wiązania. Odkrycie to wyjaśniało mechanizm mutagenyzy hydroksylaminowej u fagów parzystych, w których wszystkie cytozyny DNA są zastąpione przez 5-podstawione cytozyny, a także ugruntowało przekonanie, że reakcja wymiany grupy aminowej w cytozynie na hydroksylaminową jest podstawą mutagennego działania HA. Badania nad mechanizmem działania i mutagennością HA były przedmiotem wielu prac publikowanych przez dr Janion wraz z prof. Shugarem [442, 454, 602, 608, 696, 748].

Dopełnieniem tych badań prowadzonych następnie przez dr Janion z Ewą Popowską i Elżbietą Kajtaniak było wykazanie, że rybonukleozyd N⁴-hydroksycytydyna, produkt reakcji HA z cytydyną, jest silnym mutagenem dla bakterii *S. typhimurium* i *E. coli* [1209, 1611] oraz bakteriofagów [1736]. Właściwości tych nie mają ani zmodyfikowana zasada, ani zmodyfikowany deoksynukleozyd. Stwierdzono, że N⁴-hydroksycytydyna (po redukcji rybozy do dezoksyrybozy, co prawdopodobnie

zachodzi na poziomie CDP) zostaje wbudowana do DNA. Badano też metabolizm N⁴-hydroksycytydyny i wykazano, że ulega ona enzymatycznej redukcji do cytydyny w komórkach bakteryjnych. Wyniki tych badań opublikowano m.in. w *Nucleic Acids Research* [1352, 1372, 1577]. Badania nad mutagennymi właściwościami N⁴-hydroksycytydyny i jej metabolizmem były podstawą pracy doktorskiej Ewy Popowskiej (1977, promotor doc. C. Janion). Następnie ustalono w szeregu modeli biologicznych u bakteriofagów i bakterii, że związek ten jako jedyny mutagen działa wysoce selektywnie i powoduje wyłącznie, mutacje typu tranzykcji par zasad AT → GC [1736, 1833, 2075a]. Możliwe, że podstawą specyficzności mutagennej N⁴-hydroksycytydyny jest wbudowanie jej do DNA w miejsce reszt tyminy i redukcji tej zasady do reszt cytozyny.

Odkrycie mutagennego działania N⁴-hydroksycytydyny spowodowało zainteresowanie dr Janion poszukiwaniem nowych mutagennych analogów zasad. Wraz z techniczką Krystyną Myszkowską dr Janion syntetyzowała i przebadła wiele nowych analogów [1423, 1611, 1756, 2046]. Szczególnie przydatny do badań nad mutagenizacją okazał się analog purynowy, 2-amino-N⁶-hydroksyadenina. Jest to jeden z nielicznych analogów zasad, który powoduje mutacje w różnych systemach biologicznych, tak odmiennych jak bakterie, drożdże, komórki mysie i ludzkie. Związek ten został wybrany jako wzorcowy mutagen do porównań różnego typu testów, a także do porównań wyników z różnych laboratoriów w zainicjowanym w 1985 roku przez National Institute of Environmental Health Sciences, USA, w międzynarodowym programie współpracy w dziedzinie badań nad genotoksycznością mutagenów środowiskowych. Wynikom tych badań było poświęcone specjalne wydanie *Mutation Research* (No 1, tom 253, 1991) zatytułowane „A collaborative study on the genetic toxicology of 2-amino-N⁶-hydroksyadenine”. W artykule wstępnym, otwierającym wydanie, redaktorzy Frederick de Serres i David Hoel piszą: „An opportunity to initiate such a program of research was presented by the discovery of the potent mutagenic activity of the purine analog 2-amino-N⁶-hydroksyadenine (AHA) in *Salmonella* (Janion, 1976; Janion and Myszkowska, 1981)”. Doktor Celina Janion zaprezentowała w tym wydaniu artykuł „Base-pairing models to account for the mutagenicity and specificity of the purine analog 2-amino-N⁶-hydroksyadenine” [2755].

Część badań prowadzonych przez dr Celinę Janion dotyczyła preparatyki i badania właściwości polinukleotydydów. Wśród różnych strategii i metod stosowanych dla uzyskania odpowiednich substratów fosforylasy polinukleotydydowej, enzymu syntetyzującego polinukleotydy z 5'-dwufosforanów nukleozydów, warto wymienić metodę enzymatycznej syntezy 5'-fosforanów nukleozydów wprowadzoną w naszym Zakładzie przez dr Celinę Janion. W metodzie tej stosowano surowy ekstrakt

z kielków pszenicy jako źródło fosfotransferazy i fosforan p-nitrofenylu jako donor grupy fosforanowej dla selektywnej fosforylacji grupy 5'-OH nukleozydu. Ta prosta metoda na ogół z dobrą wydajnością dawała 5'-fosforylowane pochodne modyfikowanych w różnoraki sposób nukleozydów i można było ją łatwo stosować także w mikroskali. Wyczerpującego opracowania metody dokonali Giziewicz z Shugarem i została ona opublikowana w książce *Nucleic Acid Chemistry. Improved and New Synthetic Procedures, Methods and Techniques* (Pt 2, pp. 955-961; New York 1978, John Wiley & Sons). Po raz pierwszy dr Celina Janion zastosowała tę metodę do fosforylacji 2'-O-metylocytydyny i przygotowania substratu do syntezy kwasu poli (2'-O-metylocytydylowego). Opublikowane następnie wraz ze Żmudzką i prof. Shugarem prace nad właściwościami tego polinukleotydu zapoczątkowały nowy kierunek badań w grupie prof. Shugara dotyczących roli grupy 2'-O-metylowej w strukturze RNA [747, 778]. Inne prace dr Janion dotyczyły polinukleotydów zawierających analogi zasad (N⁴-hydroksycytozynę, 2-aminopurynę i 2,6-dwuaminopurynę) i były związane z próbami wyjaśnienia ich mutagennego działania przez badanie zdolności tworzenia komplementarnych par [696, 1140, 96/76].

Duże znaczenie poznawcze miały badania dr Janion prowadzone nad wpływem różnorodnych systemów naprawczych DNA na poziom mutacji indukowanych. Stwierdzono znaczne różnice w poziomach mutacji w szczepach bakterii z uszkodzonym system naprawy źle sparowanych zasad w DNA (mismatch repair system; MMR) w porównaniu ze szczepami dzikimi zarówno dla mutacji indukowanych N⁴-hydroksycytydyną, jak i analogami puryn [2111, 2182, 2259, 2193, 2473]. Badano także wpływ analogów zasad oraz metanosulfonianu metylowego (MMS) na indukcję systemów SOS i „adaptive response” [2182, 2382, 2593, 2606]. Powstała w tym nurcie badań praca „Effect of bacterial host repair systems on the viability of hydroxylamine and methyl methanesulfonate treated T4 and lambda bacteriophages” opublikowana przez dr Celinę Janion w 1982 roku w *Molecular and General Genetics* [2112] została wysoko oceniona przez Filadelfijski Instytut Informacji Naukowej jako „ważna koncepcyjnie” i umieszczona w bibliografii Science Citation Index jako „cited core document”. W badaniach prowadzonych w dziesięcioleciu 1980-1990 uczestniczyli: Ewa Śledziwska-Gójska (doktorat 1981), Katarzyna Bębenek (doktorat 1986), Stanisław Plewako oraz Andrzej Płachta.

Prowadzone przez dr Zofię Zarębską fizykochemiczne badania nad strukturą i stabilnością polimerów zawierających uszkodzenia fotochemiczne: dimery tyminy, uwodnione produkty pirymidyn, addukty etylenu do tyminy, wykonane w latach 1969-1975 [322, 681], były fundamentem do następnych badań związanych z biochemią kliniczną. Od 1972 roku dr Zofia Zarębska

nawiązała współpracę z Kliniką Dermatologiczną Akademii Medycznej w Warszawie, z zespołem kierowanym przez prof. Stefanę Jabłońską. Badano działanie ultrafioletu na skórę ludzką w trakcie leczenia łuszczyicy terapią świetlną. Dwie immunosurowice poliklonalne: anti-DNA-dimery tyminy (anty-DNA-T<>T) oraz otrzymaną po raz pierwszy w świecie anti-DNA-psoraleny (anty-DNA-PSO) zastosowano w charakterze sondy w przebiegu procesów naprawy DNA [2269, 2270]. Prace te opublikowane w *Photochemistry and Photobiology* były często cytowane w artykułach oraz w monografiach w latach 80. W dalszych badaniach prowadzonych na stażu na Wydziale Dermatologii Uniwersytetu Harvarda w Bostonie (1983-1986) opracowano metodę wykrywania i badania naprawy *in situ* uszkodzeń DNA-PSO powstałych w warunkach fototerapii PUVA w skórze zwierząt i w wycinkach skóry ludzkiej [2409].

Mirosława Piechowska rozpoczęła pracę w naszym Zakładzie w 1961 roku. Poprzednio pracowała w Zakładzie Antybiotyków PZH, gdzie w zespole prof. Romana Pakuły zajmowała się genetyczną transformacją bakterii. Jej badania doprowadziły do wykrycia czynnika, wydzielanego przez zdolne do transformacji paciorkowce, który prowokował tę zdolność u bakterii, uprzednio jej pozbawione. Dalsze badania nad tym zagadnieniem w zespołach prof. Pakuły i prof. Dobrzańskiego w PZH doprowadziły do wyodrębnienia i scharakteryzowania białkowego czynnika kompetencji. Badania nad transformacją prowadzone przez Mirosławę Piechowską w naszym Zakładzie dotyczyły optymalizacji procesów transformacji oraz frakcjonowania DNA w celu wzbogacenia transformującego DNA w pożądane markery. Trzeba tu zaznaczyć, że w tamtych czasach nie były znane enzymy restrykcyjne, które obecnie pozwalają łatwo selekcjonować fragmenty DNA niosące wybrane markery. Metody przez nią opracowane dawały ponad 20% wydajność transformacji [560, 570], wobec ok. 1%, wg danych literaturowych. Innym odkryciem było stwierdzenie letalnych skutków pobierania dużych ilości homologicznego i heterologicznego DNA przez bakterie [514, 539]. Badania te zostały zawarte w pracy doktorskiej Mirosławy Piechowskiej obronionej w 1967 roku.

Podczas stażu podoktorskiego w laboratorium prof. M. S. Foxa w Massachusetts Institute of Technology w USA dr Piechowska rozpoczęła badania nad mechanizmem pobierania oraz nad losem pobranego DNA w komórkach *Bacillus subtilis*. Wykazano, że pobrany przez bakterie DNA występuje w kompleksie z białkowymi składnikami komórki bakteryjnej i jego włączenie do DNA biorcy odbywa się we fragmentach jednołańcuchowych o ciężarze cząsteczkowym ok. 10⁶ daltonów [50/71]. Dalsze badania nad tymi zagadnieniami po powrocie do kraju zaowocowały publikacjami w *Journal of Bacteriology* i *Molecular and General Genetics*, często

cytowanymi w literaturze światowej [1406, 1407a, 1490]. Część prac dotyczyła badania DNA wyodrębnionego z transformalnych szczepów *B. subtilis*, gdzie wykryto kilkunastoprocentową frakcję jednoniciowego DNA [2075b]. Badania te były przedmiotem prac doktorskich Anny Sołtyk (1976, promotor prof. David Shugar) oraz Magdaleny Piwnickiej (1979, promotor doc. Mirosława Piechowska).

Duża część badań prowadzonych przez doc. Mirosławę Piechowską dotyczyła wybiórczości receptorów komórkowych *B. subtilis* wobec DNA różnych fagów zawierającego modyfikowane zasady: uracyl, putrescynylo-tyminę i jej acetylowaną pochodną, 5-hydroksymetylocytozynę i jej glikozylowaną pochodną, a także wobec podwójnoniciowego RNA fagów f_2 . Badania te wykazały, że z wyjątkiem glikozylacji oraz wprowadzenia grupy 2'-OH w RNA, badane modyfikacje są tolerowane przez receptory i takie DNA są wydajnie pobierane przez bakterie. Badania te były prowadzone w szerokiej współpracy międzynarodowej z udziałem naukowców czeskich (J. Doskočil), hiszpańskich (P. Lopez i M. Espinoza) oraz kanadyjskich (R.A.J. Warren), a ich wyniki były publikowane w *Molecular and General Genetics* [1490, 2238], *Journal of Bacteriology* [1897, 2090] i *Journal of Virology* [2050].

Doktor Irena Pietrzykowska dołączyła do naszego Zakładu w 1964 roku. Poprzednio pracowała w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów IBB i tam obroniła doktorat w 1963 roku, wykonywany pod kierunkiem prof. Edmunda Mikulaszka. Początkowo zajmowała się termiczną reaktywacją fagów inaktywowanych promieniowaniem UV, a następnie badaniem 5-etylouracylu i 5-bromouracylu, które, jak się okazało, mogą zastępować tyminę w DNA fagów [510, 529]. Interesujące były badania nad 5-etylouracylem, bliskim analogiem tyminy. 5-Etylodeoksyurydyna jest efektywnym inhibitorem wirusów opryszczki i ospy, pomimo to może ona zastąpić większość tymidyny w DNA faga T3, bez wywoływania efektów mutagennych i letalnych. Badania przemian fotochemicznych 5-etylodeoksyurydyny doprowadziły do odkrycia nowego typu reakcji fotochemicznej, a mianowicie dealkylacji. Reakcja ta obserwowana przy naświetlaniu przy $\lambda=254$ nm jest konkurencyjna w stosunku do znanej reakcji dimeryzacji obserwowanej z większą wydajnością przy $\lambda>265$ nm. Mechanizm reakcji polega na utworzeniu przez grupę etylową pierścienia 5,6-cyklobutanowego, a następnie wydzielenia etylenu z utworzeniem niepodstawionej deoksyurydyny. Wyniki tych badań były publikowane między innymi w *Science* [623]. Późniejsze badania (prof. Shugara z Krajewską) tej reakcji z użyciem 5-propylo- i 5-izopropylo- pochodnych deoksyurydyny potwierdziły ten mechanizm [907].

Zastąpienie w DNA tyminy przez 5-bromouracyl, w przeciwieństwie do takiej zamiany przez 5-etyluracyl, prowadzi do mutacji. Badania prowadzone w grupie

dr Pietrzykowskiej doprowadziły do wyjaśnienia mechanizmu mutageny indukowanej bromouracylem. Wykazano, że bromouracyl obecny w DNA faga lub bakterii ulega dehalogenacji do uracylu. Uracyl jest usuwany przez DNA-glikozylazę uracylową, a powstające w wyniku tej reakcji miejsca apirymidynowe stanowią główne uszkodzenia przedmutacyjne. Mutagenesa indukowana bromouracylem zależy od genów zaangażowanych w naprawę miejsc apirymidynowych, a także wymaga funkcji SOS. Wyniki tych badań opublikowane m.in. w *Mutation Research* [2168, 2200] wykazały, że postulowana uprzednio przez Freese [E. Freese *J. Mol. Biol.* 1, 1959 87-105] hipoteza, iż mutagenne właściwości bromouracylu są wynikiem błędnego parowania zasad podczas replikacji, okazała się niewystarczająca dla wytłumaczenia zjawisk zachodzących *in vivo*. Badania nad mutagenesą indukowaną bromouracylem były przedmiotem prac doktorskich Jolanty Szyszko (1980) oraz Małgorzaty Krych (1982) kierowanych przez doc. Irenę Pietrzykowską. Obie doktorantki po zakończeniu przewodów doktorskich wyjechały na staże naukowe do USA, gdzie nadal pracują.

Ważnym osiągnięciem doc. Ireny Pietrzykowskiej dokonany w współpracy z dr Barbarą Żmudzką z Instytutu Onkologii było wykazanie po raz pierwszy roli DNA polimerazy β z grasicy cielęcej w naprawie uszkodzeń DNA. Wyniki tych badań opublikowane w *Nucleic Acids Research* [198/80] oraz *FEBS Letters* [219/81] zostały potwierdzone przez innych badaczy dopiero wiele lat później.

Znaczna część prac chemicznych realizowanych w Zakładzie dotyczyła syntezy nukleozydów alkilowanych w części cukrowej. Naturalnie występujące w RNA 2'-O-metylonukleozydy a także ich 3'-izomery były dostępne w reakcji z dwuazometanem. Występowała jednakże potrzeba uzyskania nukleozydów i nukleotydów podstawionych grupami metylowymi i etylowymi również w innych pozycjach części cukrowej. Badania prowadzone przez Jarosława Kuśmierka doprowadziły do odkrycia, że w silnie alkalicznych roztworach wodnych, grupy hydroksylowe rybozy w cytydynie ulegają alkilowaniu przez siarczany dwualkilowe, podczas gdy reszta cytozynowa pozostaje praktycznie nieaktywna. Zastosowanie różnego rodzaju alkalistabilnych grup chroniących w cytydynie, alkilowanie 5'-CMP oraz następnie dezaminacja pochodnych cytydynowych pozwoliły na uzyskanie różnych O'-metylowanych i O'-etylowanych pochodnych cytydyny i urydyny oraz 5'-CMP i 5'-UMP. Badania te zostały opublikowane m.in. w *Biochemistry* [1105] i w *Acta Biochimica Polonica* [1169]. Opracowana metoda pozwoliła na przygotowanie substratu i następnie na syntezę i badanie właściwości kwasu poli-2'-O-etylouracylowego [1149] i były one podstawą pracy doktorskiej Jarosława Kuśmierka (1974, promotor prof. David Shugar).

Metoda alkirowania okazała się także skuteczna w uzyskaniu O'-alkilowanych pochodnych 1- β -D-arabino-furanozylocytozyny [977, 1051, 1100], a także O'-alkilowanych rybo-, arabino- i ksylofuranosydów adeniny [97/76, 1579]. Metoda, na przykładzie syntezy O'-alkilowanych pochodnych 1- β -D-arabino-furanozylocytozyny, została zaprezentowana w książce *Nucleic Acid Chemistry. Improved and New Synthetic Procedures, Methods and Techniques* [Pt 1, pp. 239-248; New York 1978, John Wiley & Sons].

Dostępność różnego rodzaju alkirowanych w części cukrowej rybozydów, arabinozydów i ksylozydów umożliwiła przeprowadzenie badań dotyczących konformacji części cukrowej w nukleozydach [1180, 90/76, 173/79], oddziaływania grup hydroksylowych pentozy z zasadą [1578] oraz ich kwasowości [150/78]. O'-alkilowane nukleozydy były również testowane jako potencjalne środki przeciwwirusowe, głównie w pracowni prof. Erica De Clercq'a w Belgii [113/77, 1571]. Znaczna część badań dotyczących syntezy i właściwości fizykochemicznych była prowadzona z udziałem pracowników Zakładu Biofizyki Uniwersytetu Warszawskiego (Zygmunt Kazimierzczuk, Edward Darzynkiewicz, Irena Ekiel, Mieczysław Remin, Henryk Sierakowski). Trzeba również podkreślić istotny wkład w tych badaniach kierowanych przez prof. Shugara doktorantów IBB – Jerzego Giziewicza (doktorat 1976) i Lecha Dudycza (doktorat 1981).

Znaczna część prac prowadzonych przez prof. Shugara i współpracowników dotyczyła konformacji, w tym równowagi konformacyjnej *syn-anti* nukleozydów i nukleotydu purynowych oraz ich acyklicznych analogów. Zagadnienia konformacji były badane w odniesieniu do oddziaływań substrat-enzym. Uwaga poświęcana analogom acyklicznym wynikała z faktu, że związki z tej grupy wykazują właściwości przeciwwirusowe [np. 9-(2-hydroksy-etoksymetylo)-guanina, powszechnie znana jako lek Zovirax]. Badania obejmowały m.in. syntezę modelowych związków dla konformacji *syn* (np. z podstawnikiem 8-hydroksyizopropylowym) oraz dla konformacji *anti* (8,5'-anhydropochodne). Pozwalało to wyznaczyć dla tych skrajnych form parametry konformacyjne w roztworze za pomocą spektroskopii NMR, a w niek-

tórych przypadkach również w stanie krystalicznym za pomocą rentgenografii. Uzyskane w ten sposób dane ułatwiały badania konformacji różnego typu nukleozydów i nukleotydu, ich pochodnych i analogów metodami NMR. Znaczący udział w tych badaniach mieli wspomniany wyżej Lech Dudycz oraz Piotr Lassota (doktorat 1986, promotor prof. David Shugar). Badania zależności między konformacją a właściwościami substrat/inhibitor estrów fosforanowych acyklonukleozydów w różnych systemach enzymatycznych (rybonukleazy, nukleotyduazy, fosfodwuesterazy) prowadził Jarosław Cieśla (doktorat 1992, promotor prof. David



Seminarium Zakładu Biologii Molekularnej pt. GMO (genetycznie modyfikowane organizmy); referuje Jarosław Cieśla (w środku), 14 stycznia 2004 r.

Shugar). W badaniach tych uczestniczył Ryszard Stolarski z Zakładu Biofizyki Uniwersytetu Warszawskiego (NMR), część badań była prowadzona w laboratorium prof. G. I. Birnbauma z National Research Council of Canada (rentgenografia). Badania te zaowocowały wieloma publikacjami, jak np. z udziałem Lecha Dudycza w *Biochemistry* [1978] i w *Biochimica et Biophysica Acta* [213/80], z udziałem Piotra Lassoty w *Biochemistry* [2306] i w *Zeitschrift für Naturforschung* [2549] oraz z udziałem Jarosława Cieśli w *Zeitschrift für Naturforschung* [2681].

Ścisła współpraca Zakładu Biologii Molekularnej IBB z Zakładem Biofizyki Instytutu Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego wynikała z faktu, że prof. Shugar był kierownikiem obu Zakładów. Uniwersytecki Zakład Biofizyki został zorganizowany przez prof. Shugara w 1965 roku z inicjatywy ministra szkolnictwa wyższego oraz dyrektora Instytutu Fizyki Doświadczalnej, prof. Jerzego Pniewskiego. W organizacji tego Zakładu brali udział współpracownicy prof. Shugara z PAN, m. innymi prof. Kazimierz Wierz-

chowski, dr Magdalena Fikus oraz dr Ewa Kulikowska. W połowie lat 60. oba Zakłady, uniwersytecki i PAN-owski, realizowały wspólną tematykę naukową, wielu pracowników Zakładu PAN-owskiego uczestniczyło w nauczaniu studentów. Pole Mokotowskie, oddzielające ówczesną siedzibę IBB przy ul. Rakowieckiej od siedziby Zakładu uniwersyteckiego przy ul. Żwirki i Wigury, było obszarem ciągłych wędrówek w obu kierunkach – na wykłady i na seminaria; przenoszono także odczynniki i części aparatury. Ze względu na ciasnotę panującą w siedzibie IBB, kilku doktorantów chemików z Zakładu w IBB (Jarosław Kuśmierk, Jerzy Giziewicz, Lech Dudycz, Piotr Lassota) pracowało w pomieszczeniach uniwersyteckiego Zakładu Biofizyki. Wszystkie te czynniki doprowadziły do wzmoczonych interakcji międzyludzkich, co z kolei owocowało wspólnymi badaniami i wspólnymi publikacjami pokrótce omówionymi wyżej. Warto tu podkreślić, że nacisk na wspólne badania był dwukierunkowy: z jednej strony od góry przez wspólnego szefa, z drugiej strony, pracujący często przy tych samych stołach laboratoryjnych młodzi ludzie sami wzajemnie się inspirowali.

Duża liczba prac, które powstawały w tym czasie w uniwersyteckim Zakładzie Biofizyki, miała jako autora z afiliacją IBB PAN jedynie prof. Shugara, niemniej jednak wydaje się, że można je również w pewnym sensie traktować jako dorobek Zakładu Biologii Molekularnej IBB. Trudno wymieniać tu wszystkie badania, pozostaniemy więc przy niektórych ważniejszych, wybranych z tych, które były związane z tematyką realizowaną w Zakładzie PAN. Do nich na pewno należą badania tautomerii zasad DNA i RNA oraz ich mutagennych pochodnych.

Badania prowadzone przez Annę Psodę dotyczyły tautomerii inozyny oraz tiopirymidyn [960, 1101]. Inozyna występuje w trzeciej pozycji antykodonu nie-



Mijają lata... „Shugarówny” we wrześniu 1978; Daniela Barszcz, Celina Janion, Zofia Zarębska, Magdalena Fikus, Halina Sierakowska, Mirosława Piechowska przed dawną siedzibą IBB (zdj. Lucien Lepoutre, stażysta z Uniwersytetu w Leuven, Belgia).



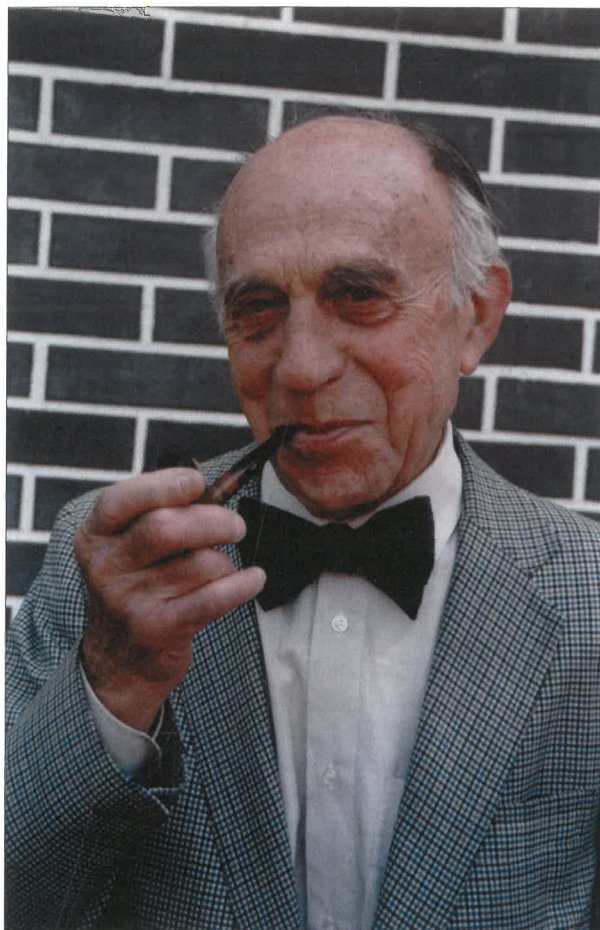
Seniorki Instytutu przed nową siedzibą IBB przy ul. Pawińskiego: Hanna Kozłowska, Irena Pietrzykowska, Daniela Barszcz, czerwiec 2004 (zdj. Lech Laskowski)

których tRNA. Sformułowana przez Cricka w 1966 roku „wobble hypothesis” tłumaczyła degenerację kodu genetycznego możliwością tworzenia przez zasadę występującą w trzeciej pozycji antykodonu niestandardowych wiązań z odpowiadającą zasadą w kodonie („non-Watson-Crick base pairing”). Niektórzy badacze spekulowali, że tworzenie niestandardowych par przez inozynę zachodzi z udziałem różnych form tautomerycznych inozyny. Opublikowana w 1971 roku w *Biochimica et Biophysica Acta* [960] praca Anny Psody i prof. Shugara dostarczyła za pomocą spektroskopii UV i IR dowodów, że inozyna w roztworach występuje wyłącznie w formie ketonowej. Publikacja ta zakończyła spekulacje na temat możliwości występowania inozyny w różnych formach tautomerycznych.

Inna grupa badań prof. Shugara dotyczyła N⁴-hydroksycytozyny i N⁶-hydroksyadeniny, pochodnych zasad powstających w DNA pod wpływem mutagenu hydroksylaminy. Badania te prowadzone były wraz z Borysem Kierdaszukiem i Ryszardem Stolarskim z Zakładu Biofizyki UW i we współpracy z ośrodkami zagranicznymi (C. E. Hagbergiem ze Szwecji i G. I. Birnbaumem z Kanady). Analiza rentgenograficzna kryształów oraz badania metodami NMR w roztworach dostarczyły podstawowych danych fizycznych dotyczących struktury, tautomerii i oddziaływań z innymi zasadami tych mutagennych pochodnych zasad. W wyniku tych badań powstała seria prac opublikowanych w światowych czasopismach, m.in. w *Biochemistry* i *Nucleic Acids Research* [2166, 2186, 2247, 2251, 2275].

Doktor Jarosław Kuśmierk, zdobywszy podczas wykonywania doktoratu wiedzę i doświadczenie na temat alkilowania nukleozydów, podczas stażu podoktorskiego w latach 1975/1976 w pracowni prof. Bea Singer na Uniwersytecie Kalifornijskim w Berkeley, w USA, zajmował się środkami alkilującym jako czynnikami mutagennymi. Jego badania nad alkilowaniem pirymidyn i modelowych polinukleotydów pogłębiły wiedzę na temat czynników różnicujących N- i O-alkilowanie zasad DNA oraz doprowadziły do wykrycia nieznanych dotychczas produktów alkilowania – O²-aklilopirymidyn [1494a, 1494b]. Dalsza, trwająca do połowy lat 90. współpraca z prof. Singer, realizowana podczas następných wyjazdów do jej laboratorium, a także prowadzona korespondencyjnie, dotyczyła badania właściwości kodujących O-alkilowanych tymin w układach *in vitro* [164/78, 2181, 2390].

Inna grupa badań rozpoczętych we współpracy z prof. Singer dotyczyła adduktów aldehydu chloroocetowego (CAA), metabolitu kancerogenu przemysłowego chlorku winylu, tzw. etenopochodnych zasad DNA. Badania obejmowały zarówno chemię powstawania etenoadduktów, syntezę etenonukleozydów i nukleotydów oraz polinukleotydów zawierających etenoaddukty; badania właściwości kodujących etenoadduktów *in vitro*, jak też badania nad reperacją etenoadduktów



Założyciel Zakładu Biologii Molekularnej, Profesor David Shugar po przejściu na emeryturę jest nadal czynnym pracownikiem IBB, lato 2004 r.

[2164, 2198, 2470, 2471, 2632, 2776, 2826, 2850]. Współpraca z prof. Singer zaowocowała artykułem przeglądowym pt. „Chemical Mutagenesis” opublikowanym w 1982 roku w *Annual Review of Biochemistry* [2121]. Artykuł ten był często cytowany w latach 80. przez innych autorów. Prace dotyczące chemicznych podstaw mutageny wywoływanej środkami alkilującymi oraz aldehydem chloroocetowym złożyły się na rozprawę habilitacyjną Jarosława Kuśmierka (1984).

Kierownik Zakładu – profesor Celina Janion (1985-1997)

Po przejściu prof. Davida Shugara na emeryturę, kierownictwo Zakładu Biologii Molekularnej objęła prof. Celina Janion. Profesor Shugar uczestniczył nadal w pracach Zakładu, współpracując głównie z grupą prof. Kulikowskiego (więcej w części dotyczącej Pracowni Antymetabolitów). Jego aktywność oczywiście nie ograniczała się tylko do tego. Aktywnie współpracował i współpracuje do dziś z wieloma laboratoriami w kraju i za granicą. Przede wszystkim należy wymienić jego

kierownictwo nad częścią badań w Zakładzie Biofizyki UW. Jeden z nurtów badań zapoczątkowanych w połowie lat 80. i prowadzonych do dziś to badania nad fosforylaza nukleozydów purynowych, kluczowym enzymem metabolizmu puryn. Niedobór tego enzymu u ludzi powoduje obniżenie komórkowej odpowiedzi immunologicznej i prowadzi do zaburzeń funkcji limfocytów T. Inhibitory tego enzymu mogą mieć zastosowanie lecznicze jako selektywne środki immunosupresyjne. Fundamentalna praca przeglądowa „Purine nucleoside phosphorylases: properties, functions and clinical aspects” autorstwa Agnieszki Bzowskiej, Ewy Kulikowskiej i prof. Davida Shugara opublikowana w 2000 roku w *Pharmacology and Therapeutics* [88, 349-425] zawiera podsumowanie światowych badań w na ten temat, w tym również istotnego udziału w tych badaniach prof. Shugara i współpracowników.

Inny ważny nurt badań, w którym aktywnie od wielu lat uczestniczy prof. Shugar, to zagadnienia transferu grupy fosforanowej w układach biologicznych. Kierowana przez niego grupa w Zakładzie Biofizyki UW (Borys Kierdaszuk, Krzysztof Krawiec i inni) zajmuje się ostatnio badaniami specyficzności kinaz nukleozydowych zarówno w odniesieniu do substratu, jak i donora grupy fosforanowej [3284, 3311, 3405, 3724]. Profesor Shugar jest również jednym z głównych organizatorów międzynarodowych konferencji naukowych „Inhibitors of protein kinases” współorganizowanych przez Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, które odbyły się kolejno w 1998, 2001 i 2003 roku w Warszawie.

We wrześniu 1995 roku, dla uhonorowania 80. rocznicy urodzin prof. Davida Shugara, zostało zorganizowane w naszym Instytucie międzynarodowe „Sym-

posium on structure and biological functions of nucleic acid components and their analogues, and related topics”. Referaty wygłosiło ponad trzydziestu zaproszonych przez Jubilata naukowców z Polski i zagranicy. Profesor Shugar wygłosił referat „The NTP phosphate donor in kinase reactions: is ATP a monopolist?”. Materiały Sympozjum zostały opublikowane w specjalnym wydaniu *Acta Biochimica Polonica* (No. 1, tom 43, 1996).

Po objęciu kierownictwa przez prof. Janion w Zakładzie funkcjonowało sześć grup badawczych. Tematyka grup prof. Celiny Janion, prof. Ireny Pietrzykowskiej i doc. Jarosława Kuśmierka skupiała się wokół różnych zagadnień związanych z mutagenезą. Grupa doc. Zofii Zarębskiej realizowała tematykę związaną z patogenezą i fototerapią łuszczycy. Grupa doc. Tadeusza Kulikowskiego zajmowała się syntezą oraz badaniami właściwości przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych modyfikowanych nukleozydów i nukleotydów. Badania tej grupy są omówione w opracowaniu dotyczącym Pracowni Antymetabolitów, wyodrębnionej z Zakładu w 1998 roku. Liderzy wymienionych pięciu grup kontynuowali tematykę rozpoczętą w poprzednim okresie, natomiast doc. Mirosława Piechowska swoje zainteresowania zmieniła.

Prowadzone poprzednio przez doc. Mirosławę Piechowską badania dotyczyły transformacji genetycznej bakterii. Wobec odkrycia zjawiska szoku cieplnego u *Escherichia coli* zapoczątkowała ona badania nad tym zjawiskiem u *Bacillus subtilis*. Badania prowadzone przy współdziałaniu Anny Fabisiewicz wykazały, że wrażliwość na szok jest uzależniona od fazy wzrostu *B. subtilis* oraz, że szok cieplny powoduje wzrost syntezy białek zlokalizowanych w błonie komórkowej [2604, 2611]. Wyniki badań były częścią pracy doktorskiej Anny Fabisiewicz (1994), początkowo kierowanej przez doc. Piechowską a po przejściu jej na emeryturę w 1988 roku, pod kierunkiem prof. Celiny Janion.



Kierownicy Zakładu Biologii Molekularnej: Celina Janion (1985-1997) i Jarosław Kuśmierk (1998- do dziś) referują postępy prac swoich zespołów w trakcie Sympozjum IBB, 1994.

Grupa prof. Celiny Janion: Elżbieta Grzesiuk, Ewa Śledziwska-Gójska, Andrzej Płachta, Anna Fabisiewicz, Anna Wójcik, Barbara Tudek – kontynuowała badania nad wpływem bakteryjnych systemów naprawczych DNA na poziom mutacji spontanicznych i indukowanych. Niezależnie od tego głównego nurtu badań udoskonalono system identyfikacji supresorowych tRNA. Identyfikacja supresorowego tRNA pozwala na dokładne oznaczenie specyficzności powstających mutacji i określenie, jakie zmiany zachodzą w sekwencji DNA pod wpływem mutacji [2799, 2819].

Dużo uwagi poświęcono mutagenemu działaniu metanosulfonianu metylowego (MMS). Związek ten metyluje zasady DNA, indukuje mutacje a także powoduje u *E. coli* indukcję komórkowych systemów naprawczych, SOS oraz systemu odpowiedzi adaptacyjnej („adaptive response”). Badano współzależności pomiędzy niektórymi funkcjami systemu SOS (np. indukcja polimerazy V) a systemem wycinania źle sparowanych zasad („mismatch repair” MMR) oraz zjawiskiem „mutation frequency decline” (MFD) w mutagenzie indukowanej MMS. Wiadomo było, że ponad 80% mutacji indukowanych po działaniu MMS zależy od obecności genów *umuDC* kodujących DNA polimerazę V. Stwierdzono też, że znaczna część uszkodzeń premutagennych, powstających pod wpływem MMS, jest usuwana przez system MMR. Identyfikacja specyficzności mutacji wykazała, że mutacje, którym zapobiega system MMR są inne niż te, które powstają przy udziale polimerazy V. Uszkodzenia naprawiane przez system MMR prowadzą do tranzycji GC→AT, i te mutacje nie są zależne od genów *umuDC*. Natomiast większość mutacji (80%) obserwowanych w komórkach z aktywnym systemem MMR prowadzi do transwersji AT→TA, i te mutacje



Kierowniczkami pracowni: Anna Bębenek, Ewa Śledziwska-Gójska, Elżbieta Grzesiuk, Barbara Tudek – na Kongresie Mutageny Środowiskowej w Tuluzie, Francja we wrześniu 1997 r.

zachodzą tylko wtedy, gdy w bakterii jest aktywna kodowana przez geny *umuDC* polimeraza V [2606, 3282]. Stwierdzono ponadto, że poziom mutacji AT→TA można znacznie podwyższyć poprzez nadprodukcję polimerazy V [2606, 3282], oraz wykazano że MMS-indukowane mutacje AT→TA (ale nie mutacje GC→AT) ulegają zjawisku MFD [2891, 3006]. Badania prowadzone *in vitro* na plazmidowych DNA wykazały, że DNA uszkodzone przez MMS jest naprawiane w warunkach MFD. Dotychczas uważano, że MFD jest związane wyłącznie z indukcją mutacji powstających przez naświetlanie promieniami UV [3006].

Kontynuowano rozpoczęte przez doc. Piechowską wraz z Anną Fabisiewicz badania nad szokiem cieplnym. Badano, czy istnieją powiązania w *E. coli* między indukcją białek szoku cieplnego a indukcją systemu SOS. Okazało się, że indukcja systemu szoku cieplnego nie wpływa na indukcję systemu SOS. Nieoczekiwanie stwierdzono, że szok cieplny powoduje obniżenie ekspresji operonu *lac*. To obniżenie było najprawdopodobniej związane z niedostatkami cAMP lub obniżeniem,



Imieniny 28 maja 1999; stół przygotowały trzy solenizantki – Magdalena Fikus, Maria-Anna Grąźiewicz i Joanna Krwawicz. Pracownicy Zakładów Biol. Mol. i Biofizyki wspólnie: Barbara Tudek, Elżbieta Grzesiuk, Joanna Krwawicz, Ewa Waszkowska, Iwona Kolasa, Piotr Pawłowski, Maria-Anna Grąźiewicz, Zofia Zarębska, Hanna Kozłowska, Agnieszka Maciejewska i wielu innych poza obiektywem aparatu.

w podwyższonej temperaturze, stałości kompleksu cAMP-CRP koniecznego dla inicjacji transkrypcji [2831]. Badania nad szokiem cieplnym i analiza białek szoku były tematem pracy doktorskiej Anny Fabisiewicz rozpoczętej pod kierunkiem doc. Mirosławy Piechowskiej (1994, promotor prof. C. Janion).

Działalność naukowa prof. Celiny Janion, intensywnie prowadzona również po jej przejściu w 1997 roku na emeryturę, stanowi trwały i znaczący ślad w dorobku Instytutu. Profesor Janion jest autorką około 60 doświadczalnych prac naukowych publikowanych w krajowych i międzynarodowych czasopismach. Jest również autorką wielu prac przeglądowych i krytycznych. Wypromowała sześciu doktorów, a dokładniej sześć pań doktor. Jedną z jej byłych doktorantek, Katarzyna Bębenek, jest profesorem w National Institute of Environmental Health Sciences, w USA, druga, doc. Ewa Śledziwska-Gójska jest kierowniczką grupy w Pracowni Mutagenyzy i Reperacji DNA w naszym Instytucie. Dwie panie doktor, które pracowały w jej zespole, obecnie doc. Elżbieta Grzesiuk i doc. Barbara Tudek są kierowniczkami grup w Zakładzie Biologii Molekularnej.

Grupa prof. Pietrzykowskiej (Anna Bębenek, Magdalena Felczak, Anna Czajkowska) zajmowała się mechanizmami indukcji mutacji przez promieniowanie UV w komórkach *E. coli*. Wykryto i scharakteryzowano nową mutację *isfA*, która powoduje zahamowanie SOS-zależnej mutagenyzy oraz zahamowanie wielu innych SOS-zależnych funkcji. Gen *isfA* pełni prawdopodobnie ważną rolę w komórkach *E. coli* w regulacji zjawisk kontrolowanych przez system SOS. Kiedy funkcje SOS stają się niepotrzebne, następuje aktywacja genu *isfA*, którego produkt hamuje aktywność genu *RecA** i wygasza system SOS. Wykorzystanie mutacji *isfA* pozwoliło na wykazanie w komórkach *E. coli* z konstytutywnie wyrażonym systemem SOS dwóch różnych dróg mutagenyzy: SOS- i UmuDC-zależnej, która jest hamowana, oraz SOS-niezależnej, która nie jest hamowana w komórkach z mutacją *isfA*. Badania te były przedmiotem publikacji w *Molecular and General Genetics* [3055, 3103] oraz w *Mutagenesis* [3386], a także przedmiotem pracy doktorskiej Anny Bębenek (1997, promotor prof. Irena Pietrzykowska). Profesor Pietrzykowska rozpoczęła wówczas badania nad mechanizmami mutagenyzy w warunkach niepermissywnych dla replikacji DNA, obecnie kontynuowane (praca doktorska Joanny Krwawicz).

W grupie kierowanej przez doc. Jarosława Kuśmierka (Małgorzata Mroczkowska, Agnieszka Bukowska, Iwona Kolasa, Ewa Borys) prowadzono badania nad mutagennością aldehydu chlorooctowego (CAA) i tworzonych przez niego etenoadduktów zasad DNA. Stwierdzono, że indukowany w *E. coli* system odpowiedzi adaptacyjnej działa antymutagennie nie tylko w stosunku do środków alkilujących, ale także w sto-

sunku do CAA. Wykazano, że jeden z genów tego systemu *alkA*, kodujący glikozylazę 3-metyloadenina-DNA, jest odpowiedzialny za obniżenie częstości mutacji indukowanych przez CAA [2884, 2987]. Obserwacja ta potwierdzała wyniki wcześniejszych badań z innych laboratoriów, że glikozylaza ta i jej ludzki homolog wycinają 1,N⁶-etenoadeninę i N²,3-etenoguaninę z DNA. Inne badania dotyczyły właściwości kodujących N²,3-etenoguaniny, w których potwierdzono zdolność tej pochodnej do powodowania tranzycji G→A [2768, 2870]. Badania nad mutagennością CAA oraz nad właściwościami N²,3-etenoguaniny były podstawą pracy doktorskiej Małgorzaty Mroczkowskiej (1993, promotor Jarosław Kuśmierk). Badania prowadzone w grupie doc. Kuśmierka w IBB na przełomie lat 80. i 90. wzajemnie się uzupełniały z jego opisanymi wcześniej badaniami prowadzonymi w tym samym czasie w Berkeley, w laboratorium prof. B. Singer.

Docent Zofia Zarębska wraz z dr Danielą Barszcz we współpracy z grupą prof. Jabłońskiej z Akademii Medycznej w Warszawie prowadziły badania nad rolą inhibitorów z osocza ludzkiego w patogenyzy łuszczycy. Ustalono, że jedną z przyczyn ostrych stanów zapalnych w łuszczycy jest niedobór α-1-proteinaz w osoczu oraz wykryto izoformy inhibitora charakteryzujące się obniżoną termostabilnością [2560, 2635].

Kierownik Zakładu – profesor Jarosław Kuśmierk (od 1998 roku)

Po przejściu z końcem 1997 roku prof. Celiny Janion na emeryturę, obowiązki kierownika ZBM zaczął pełnić prof. Jarosław Kuśmierk. Jednocześnie grupa prof. Tadeusza Kulikowskiego rozpoczęła swoją działalność poza strukturą Zakładu jako Pracownia Antymetabolitów. Począwszy od 1998 roku, przeważająca część tematyki badawczej Zakładu dotyczy zagadnień związanych z mutagenyzą realizowanych w czterech grupach badawczych kierowanych przez: prof. Jarosława Kuśmierka („Chemiczne podstawy mutagenyzy”), prof. Irenę Pietrzykowską („Mechanizmy mutagenyzy indukowanej przez promieniowanie UV”), doc. Barbarę Tudek („Oksydacyjne uszkodzenia DNA”) oraz doc. Elżbietę Grzesiuk („Mutacje indukowane i adaptacyjne”). Natomiast grupa doc. Zofii Zarębskiej realizuje temat „Mechanizmy działania fotochemoterapii PUVA”. Badania prowadzone w Zakładzie w dużej mierze są nastawione na wyjaśnianie molekularnych podstaw chorób związanych z uszkodzeniami DNA oraz na praktyczne aspekty medyczne i weterynaryjne.

Pracownicy Zakładu aktywnie uczestniczyli w ostatnich latach w organizacji dwóch międzynarodowych konferencji naukowych dotyczących mutagenyzy i naprawy DNA. Na szczególne podkreślenie zasługuje rola doc. Barbary Tudek, która była przewodniczącą komi-

tetów organizacyjnych obu konferencji. W konferencji „Mechanisms of DNA Repair and Mutagenesis; on the 100th Anniversary of the Discovery of Polonium and Radium” zorganizowanej w IBB w październiku 1997 roku uczestniczyło 120 naukowców z Polski i z całego świata. Z kolei „32nd Annual Meeting of European Environmental Mutagen Society; DNA Damage and Repair: Fundamental Aspects and Contribution to Human Disorders” we wrześniu 2002 roku zgromadził w IBB ok. 300 naukowców. Obszerny raport z tego Zjazdu ukazał się w „DNA Repair” [76/M]. Plonem obu konferencji były bloki artykułów przeglądowych oraz prac oryginalnych w Acta Biochimica Polonica autorstwa naukowców o światowej renomie.

Grupy prof. Kuśmierka i doc. Tudek ściśle ze sobą współpracują. Wyniknęło to ze zbieżności tematyki, co z kolei zaowocowało współuczestnictwem w kierowanych przez doc. Tudek projektach badawczych finansowanych przez Unię Europejską – „Exocyclic adducts as new risk markers for DNA damage in man” (1998-2000, 4PR UE), „Oxidative stress and chronic diseases: exocyclic DNA adducts as markers for disrupted genomic integrity and risk” (2000-2003, 5PR UE) oraz projektu „DNA adducts, repair and carcinogenesis” realizowanego w ramach Centrum Doskonałości Biotechnologii Molekularnej IBB PAN (2000-2004, 5PR UE). Wspólny obszar zainteresowań obu grup dotyczy badań nad skutkami uszkodzeń DNA wywołanych stresem oksydacyjnym. Powstające Reaktywne Formy Tlenu (RFT), niezależnie od bezpośredniego uszkodzania DNA, inicjują równolegle proces peroksydacji lipidów (LPO), który prowadzi do powstania całej gamy kilkudziesięciu wysoce reaktywnych związków chemicznych, głównie z grupy α , β -nienasyconych aldehydów (enali), takich jak np. akroleina i *trans*-4-hydroksynonenal (HNE) oraz jego epoksyd (EH). Te wysoce reaktywne związki, reagując z zasadami DNA, prowadzą do powstawania różnorodnych egzocyklicznych adduktów zasad DNA. Z peroksydacją lipidów związane jest powstawanie m.in. eteno-adduktów zasad, które uznano za markery ekspozycji organizmu na znany kancerogen przemysłowy chlorek winylu. Badania prowadzone w obu grupach dotyczą powstawania, stabilności, struktury, właściwości kodujących i mutagennych oraz naprawy różnego typu adduktów tworzonych przez RFT i produkty LPO. Część badań dotyczy porównań poziomu adduktów i ich reperacji w tkankach nowotworowych i ich zdrowych obrzeżach oraz w limfocytach pochodzących od zdrowych dawców.

Z ważniejszych publikacji należy wymienić prace dotyczące mutagennych i kodujących właściwości puryn z otwartym pierścieniem imidazolowym (tzw. pochodne Fapy) prowadzone w zespole doc. Tudek [3391, 3419, 3461, 3717]. Wykazano, że obecność w DNA niepodstawionych Fapy umiarkowanie hamuje syntezę DNA *in vitro* oraz, że hamowanie to jest zależne od sek-

wencji matrycy i rodzaju polimerazy DNA. Zasugerowano również, że Fapy-adenina indukuje SOS-zależne mutacje A→G. Część wyników tych prac przedstawiono w pracy doktorskiej Marii Anny Grażewicz (1999, promotor prof. Celina Janion).

Inna grupa prac dotyczy naprawy i właściwości kodujących produktów przegrupowania etenoadeniny, pochodnych z otwartym pierścieniem pirymidynowym. Na podstawie badań kinetycznych oraz badań NMR i MS uściślono mechanizm oraz strukturę produktów przegrupowania. Wykazano, że w przeciwieństwie do etenoadeniny, która jest wycinana przez DNA glikozylazę 3-metyloadeniny, pierwotny produkt przegrupowania jest wycinany przez bakteryjne glikozylazy typowe dla uszkodzeń oksydacyjnych, białka Fpg i Nth a także przez ich eukariotyczne odpowiedniki. Ze względu na fakt, że produkt przegrupowania wykazuje ok. 20-krotnie wyższy potencjał mutageny od rodzimej etenoadeniny, przeprowadzono badania inkorporacji dNTP naprzeciwko produktów przegrupowania etenoadeniny przez kilka różnych polimeraz DNA; następnie, na podstawie modelowania komputerowego zaproponowano schematy tworzenia par przez produkty przegrupowania z zasadami DNA [3565, 3630, 3801].

Badania nad poziomem endogennych uszkodzeń DNA 8-oksoguaniny, etenoadeniny i etenocytozyny oraz nad aktywnością glikozylaz usuwających te uszkodzenia z DNA wykazały istotne różnice tych parametrów między tkankami zdrowymi i nowotworowymi, a także między typami nowotworów [3751, 3752]. Aktywność glikozylazy ANPG, usuwającej z DNA 1,*N*⁶-etenoadeninę oraz glikozylazy 8-oksoguaniny (OGG1) była obniżona u pacjentów z nowotworem płuca (badane w leukocytach krwi obwodowej) w stosunku do grupy zdrowych ochotników. W przeciwieństwie do ANPG aktywność glikozylazy wycinającej 3,*N*⁴-etenocytozynę jest obniżona jedynie w grupie pacjentów z gruczołowym rakiem płuca, którego etiologia wiązana jest raczej z chronicznymi stanami zapalnymi niż z paleniem tytoniu. Wyniki te wskazują na istotną rolę stresu oksydacyjnego i systemu naprawy przez wycinanie zasad w patologii raka płuc u człowieka, szczególnie w rozwoju specyficznego typu histologicznego – raka gruczołowego. Stanowią również podstawę do poszukiwania polimorfizmów genów naprawy DNA lub modulatorów aktywności białek naprawczych jako nowych czynników indywidualnej wrażliwości ludzi na nowotwory płuc. Całość wyżej omawianych badań dotyczących nowotworów oraz dotyczących produktu przegrupowania etenoadeniny omawia szczegółowo praca doktorska Elżbiety Speiny (2003, promotor doc. Barbara Tudek).

Kolejnym badanym w Pracowni zagadnieniem są konsekwencje obecności w DNA adduktów 4-hydroksynonenalu (HNE) oraz szlaków ich naprawy. HNE jest jednym z głównych produktów peroksydacji lipidów w komórce i wykazano, że indukuje on mutacje i nowo-

twory u zwierząt doświadczalnych. Dotychczas znane były cykliczne propano-addukty HNE i guaniny z sześciowęglowym łańcuchem bocznym. Stwierdzono, że HNE tworzy długołańcuchowe addukty ze wszystkimi czterema zasadami DNA. Identyfikacją tych struktur zajmuje się grupa prof. Kuśmierka. Obecność produktów długołańcuchowych pochodnych hamuje syntezę DNA i wywiera efekt mutageny (najsilniejszy efekt mutageny wywierają addukty cytozyny) oraz rekombinogeny u *E. coli*. W eliminacji szkodliwych skutków tych adduktów u *E. coli* biorą udział systemy naprawy DNA przez wycinanie nukleotydów oraz przez rekombinację, a także specyficzna do uszkodzonego DNA polimeraza IV, która może odblokowywać replikację zatrzymaną na adduktach HNE [3833].

W grupie prof. Kuśmierka badano właściwości kodujące modyfikowanych zasad, 2-chloroadeniny i izoguaniny (2-oksoadeniny) oraz wpływ kontekstu matrycy na te właściwości. Stwierdzono, że właściwości kodujące izoguaniny różnią się w zależności od rodzaju 3'-sąsiadującej zasady w matrycy. Zmiany te dają się racjonalnie wytłumaczyć jako wynik zróżnicowanych oddziaływań warstwowych prowadzących do zmiany proporcji tautomerów izoguaniny w centrum aktywnym polimerazy DNA [3329, 3700]. Wyniki tych prac były podstawą pracy doktorskiej Agnieszki Maciejewskiej (2002, promotor prof. Jarosław Kuśmierk). Inna grupa badań w zespole prof. Kuśmierka prowadzonych przez Ewę Borys-Brzywczy dotyczy naprawy adduktów egzocyklicznych przez glikozylazy DNA. Wykazano w nich, że bakteryjna glikozylza AlkA, ale nie jej ludzki odpowiednik, wycina addukty akroleiny i aldehydu krotonowego z DNA [3326]. Addukty tych aldehydów do cytozyny, podobnie jak addukt CAA, 3,N⁴-etenocytozyna, są



Zespół Badań nad mutagenezą środowiskową: Elżbieta Grzesiuk (kierowniczka), Jadwiga Nieminuszczy, Michał Wrześniński oraz Anna Sikora, wrzesień 2004 r.

także substratami bakteryjnej glikozylazy Mug. Badania nad naprawą adduktów egzocyklicznych są podstawą pracy doktorskiej Ewy Borys-Brzywczy (w przygotowaniu).

Realizacja przedstawionych w zarysie badań była możliwa dzięki szeroko zakrojonej współpracy prowadzonej przez obie grupy zarówno wewnątrz Instytutu (Laboratorium NMR, Pracownia Spektrometrii Mas, Zakład Bioinformatyki), jak i z instytucjami naukowymi w Polsce (Akademia Medyczna w Bydgoszczy – prof. Ryszard Oliński, Centrum Onkologii w Warszawie – prof. Janusz Siedlecki) oraz za granicą (International Agency for Research on Cancer, Francja – prof. Alain Barbin, Institute Gustave Roussy, Francja – prof. Jacques Laval, dr Murat Sapparbaev).

W grupie kierowanej przez doc. Elżbietę Grzesiuk „Mutacje indukowane i adaptacyjne” oprócz kontynuacji tematyki rozwijanej uprzednio przez prof. Celinę Janion, dotyczącej mechanizmów powstawania mutacji spontanicznych i indukowanych środkami alkilującymi, UV i światłem halogenowym, zainicjowano trzy nowe kierunki badań: (1) mechanizmy powstawania mutacji spontanicznych w komórkach *E. coli* fazy stacjonarnej, tzw. mutacji adaptacyjnych; (2) badanie wpływu pola elektromagnetycznego charakterystycznego dla jelita cienkiego ssaków na wzrost bakterii *E. coli* oraz (3) badania nad aktywnością antybakteryjną soku trzustkowego.

Należy podkreślić, że znacząca część tych badań prowadzono przy



Młodzi uczestnicy 32. EEMS, wrzesień 2002, IBB PAN, Warszawa; Aneta Nowosielska, Joanna Krwawicz, Magdalena Nowara, Wojciech Wojtowicz, Tomasz Obtulowicz, Marek KomisarSKI.

aktywnym współudziela profesora-senior Celiny Janion, która niezależnie od pisanie prac krytycznych i przeglądownych [3482, 3584, 76/M], poprzez bezpośredni nadzór brała udział w planowaniu prac doświadczalnych. Część tych prac dotyczyła wrażliwości na światło halogenowe różnych szczepów *E. coli*, w tym mutantu *hemH1* akumulującego protoporfirynę IX, fotosensybilizator odpowiedzialny za podwyższenie poziomu uszkodzeń oksydacyjnych DNA pod wpływem światła widzialnego [3201, 3371, 3706]. Jedną z ciekawszych obserwacji z tych badań jest to, że mutant *hemH1*, a szczególnie jego szczepy pozbawione zdolności naprawy miejsc apurynowych i apirimidynowych w DNA, wykazują pod wpływem światła zwiększoną letalność, a nie wykazują zwiększonej mutagenności. Badania te były podstawą pracy doktorskiej Anny Wójcik (obecnie Sikory; 1999, promotor prof. Celina Janion).

Celem badań nad mutacjami adaptacyjnymi było określenie wpływu obecności podwyższonego, na skutek długotrwałego głodzenia, poziomu polimeraz reparacyjnych. W doświadczeniach wykorzystano szczep *E. coli*, w którym rewersja *argE3* do *Arg⁺* świadczy o powstaniu supresora bądź mutacji w samym genie *argE3*. Najważniejszym wynikiem badań jest stwierdzenie, że mechanizm powstawania mutacji spontanicznych w intensywnie dzielących się komórkach różni się od mutageny zachodzącej w bakteriach głodzonych fazy stacjonarnej. Różny jest też udział polimeraz naprawczych i głównej polimerazy replikacyjnej w przebiegu mutageny w obu wariantach hodowli [3481]. Opisane wyniki przedstawiono w pracy doktorskiej Anetty Nowosielskiej (2002, promotor doc. Elżbieta Grzesiuk).

Zupełnie nowatorskie badania w naszym Instytucie, podjęte w grupie doc. Elżbiety Grzesiuk, dotyczą wpływu zmiennego pola elektrycznego o niskim napięciu, charakterystycznego dla mięśniówki gładkiej jelita cienkiego ssaków („myoelectrical migrating complex” – MMC), na wzrost bakterii *E. coli*. W badaniach modelowych *ex vivo* wykorzystano skonstruowane przez autorów urządzenie generujące pole o charakterze MMC jelita cieląt. Okazało się, że w optymalnych warunkach hodowli, pole to modyfikuje wzrost i podziały bakterii [3585]. W dalszych badaniach wykazano, że działanie na komórki *E. coli* polem o charakterze MMC chroni te komórki przed letalnym działaniem promieniowania UV oraz, że efekt ten wynika z indukcji białek szoku cieplnego [3583]. Wydaje się, że dalsze badania w tym kierunku mogłyby przynieść ciekawe wyniki zarówno co do podstaw fizycznych tego zjawiska, które

pozostają ciągle niewyjaśnione, jak i co do homeostazy mikrobiologicznej w przewodzie pokarmowym ssaków.

Kolejnym zagadnieniem badanym w zespole doc. Elżbiety Grzesiuk jest antybakteryjna aktywność soku trzustkowego. Częściowo oczyszczono i wstępnie scharakteryzowano polipeptyd o właściwościach antybakteryjnych z soku trzustkowego prosiąt. Analiza przy pomocy spektometrii mas wykazała identyczność sekwencji tego peptydu z sekwencją peptydu spazmolitycznego [3734]. Badania dotyczące dwóch ostatnich tematów były przedmiotem pracy doktorskiej Daniela Laubitza obronionej w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego i nagrodzonej przez Radę Naukową Wydziału Weterynarii SGGW (2001, promotor doc. Elżbieta Grzesiuk). Oba tematy związane z fizjologią zwierząt zespół doc. Elżbiety Grzesiuk realizuje we współpracy z Instytutem Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Jabłonie (prof. Zabielski) oraz z Zakładem Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Lund w Szwecji (prof. Pierzynowski).

Grupa kierowana przez prof. Irenę Pietrzykowską kontynuowała rozpoczęte na początku lat 90. badania nad mechanizmem mutageny w warunkach niepermissywnych dla replikacji DNA, traktując to jako model mutageny w wolno dzielących się komórkach somatycznych organizmów wyższych, gdzie powstanie i nagromadzenie mutacji może inicjować procesy nowotworowe. Opracowano model indukcji mutacji przez UV i MMS w warunkach niepermissywnych dla replikacji DNA. Użyto faga λ *susO₈* z mutacją typu *amber* w genie *O* faga, kodującym białko *O* niezbędne do inicjacji replikacji DNA fagowego. Fag λ *susO₈* może replikować swoje DNA w szczepie *E. coli* C₆₀₀ *supE*, natomiast nie



Zespół badań oksydacyjnych uszkodzeń w DNA: Maja Zielińska, Barbara Tudek (kierowniczka), Leena Maddukuri, Elżbieta Speina, Joanna Krwawicz, Tomasz Obtułowicz, przed swoją pracownią w styczniu 2004 r.

jest zdolny do replikacji w szczepie *E. coli* 594 *su*, posiadającym supresora mutacji amber. Porównując mechanizm mutagenyzy faga λ *susO*₈ w szczepie niepermissywnym i permissywnym wykazano, że mechanizmy powstawania mutacji w fagu λ *susO*₈ w tych dwóch systemach są różne. Zaproponowano mechanizm, że w warunkach niepermissywnych mutacje powstają głównie podczas naprawy uszkodzeń DNA przez wycinanie zasad (system BER, uważany dotychczas za bezbłędny) w obecności wysokiego poziomu białka UmuD(D') i podstawowego poziomu białka UmuC [3805].

Doktor Anna Bębenek, członek grupy prof. Pietrzykowskiej, w latach 1998-2001 przebywała na stażu w laboratorium prof. Johna Drake'a w National Institute of Environmental Health and Sciences w USA. Jej badania nad mechanizmami wierności replikacji polimerazy DNA z bakteriofaga RB69 prowadzone w USA, publikowane ostatnio w *Genetics* [3676], zapoczątkowały nowy projekt badawczy w naszym Zakładzie. Dotyczy on badania wierności replikacji przez mutanty tej polimerazy. Miejsca mutacji zaprojektowane w oparciu o znaną strukturę polimerazy dotyczą aminokwasów istotnych w procesie katalizy replikacji.

Grupa doc. Zofii Zarębskiej w ostatnich latach zajmowała się badaniami fotoadduktów psoralenu do nienasyconych kwasów tłuszczowych jako elementów składowych błony komórkowej i rolą tych adduktów w indukcji apoptozy w ludzkich limfocytach. Badania prowadzono we współpracy z Instytutem Nauk Farmaceutycznych w Padwie. Ustalono między innymi strukturę adduktów psoralenu do kwasu olejowego w lecytynie oraz do wolnego kwasu linolowego [3362, 3478, 3527]. Badania te były podstawą pracy doktorskiej Ewy Waszkowskiej (1999, promotor doc. Zofia Zarębska). Obecne badania we współpracy z Zakładem Immunologii Wydziału Biologii UW dotyczą udziału fotoproduktów psoralen-nienasycone kwasy tłuszczowe w procesy apoptozy. Wykazano, że kombinacja kwas arachidonowy-ultrafiolet A jest znacznie bardziej efektywna w indukcji apoptozy limfocytów niż sam kwas arachidonowy. Badania te mogą się przyczynić do zwiększenia efektywności fotochemoterapii PUVA w leczeniu łuszczyca, która polega na usuwaniu neoplastycznych klonów limfocytów T z organizmu człowieka.

Pracownia Antymetabolitów

Tadeusz Kulikowski

Pracownia Antymetabolitów, kierowana przez prof. Tadeusza Kulikowskiego, wydzielona została formalnie z Zakładu Biologii Molekularnej dopiero w 1998 roku. Jednak ten kierunek badań zapoczątkowany przez prof. Davida Shugara i kontynuowany przez prof. Tadeusza Kulikowskiego ze współpracownikami rozwija się owocnie od 1967 roku, jako cykl badań nad nowymi

analogami składników kwasów nukleinowych o potencjalnych właściwościach przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych. Wyniki tych badań publikowano, w ogromnej większości, w czasopiśmie o dużym zasięgu międzynarodowym, takich jak *Journal of Medicinal Chemistry*, *Biochimica et Biophysica Acta*, *Biochemical Pharmacology*, *Biochemical and Biophysical Research Communications* oraz *Biochemistry*.

Do czołowych osiągnięć badawczych okresu początkowego, które weszły w skład pracy doktorskiej Tadeusza Kulikowskiego (1973, promotor prof. David Shugar) należy zaliczyć otrzymanie i zbadanie struktury nowych, modelowych alkilonukleozydów [695, 881, 1110], a zwłaszcza selektywnych i nietoksycznych związków z klasy 5-etylonukleozydów zastosowanych przeciw opryszczce [1213, 1220, 1697, 1735, 175/79, 1898, 2063, 2302] (Zbigniew Zawadzki – doktorat 1984).

W pracach zespołu w latach 60., 70. i na początku lat 80. brała również czynny udział asystentka techniczna Maria Żylonis.

W tym okresie, dzięki kontaktom prof. Davida Shugara z Katolickim Uniwersytetem w Leuven w Belgii została zapoczątkowana długoletnia współpraca z czołowym europejskim instytutem wirusologicznym Rega Institute for Medical Research, w którym Tadeusz Kulikowski odbył między innymi dwa owocne staże naukowe. Współpraca ta umożliwiła badanie właściwości przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych szeregu nowych, otrzymywanych w Zakładzie Fizykochemii Biologicznej analogów, co zaowocowało szeregiem wspólnych publikacji [1735, 175/79, 1898, 2063, 2302]. Ten program badawczy, realizowany w bardzo ciężkich i prymitywnych warunkach, rozszerzono również na syntezę i badania właściwości nowych modelowych polinukleotydydów i ich dwuniciowych kompleksów (Tadeusz Kulikowski, David Shugar) [1309].

Kontakty międzynarodowe były poszerzone o współpracę z czołowym kanadyjskim ośrodkiem zajmującym się badaniami strukturalnymi metodami rentgenograficznymi – Division of Biological Sciences, National Research Council (Tadeusz Kulikowski, David Shugar) [177/79].

W latach 70. i 80. XX wieku grupa uczestniczyła w Rządowych Programach badawczych PR-6 i CPBR 11.5 (Zwalczanie Chorób Nowotworowych, Chemioterapia Doświadczalna). Programy te obejmowały zarówno syntezę nowych analogów purynowych i pirymidynowych – zasad, nukleozydów i nukleotydydów o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych – jak i badanie ich struktury oraz właściwości fizykochemicznych: tautomeria, konformacja, kompleksy z syntazą tymidylanową (T. Kulikowski, Z. Zawadzki, D. Shugar) [1680, 1754, 132/A] oraz własności biologicznych (mutagenyza 5-halogenouracyli) (D. Shugar, I. Pietrzykowska, T. Kulikowski) [1674]. Nowe syntezы analogów zostały ukierunkowane na otrzymywanie

inhibitorów enzymów szlaków metabolicznych kwasów nukleinowych, przede wszystkim fluorowanych nukleozydów i nukleotydów, potencjalnych inhibitorów kluczowego enzymu syntezy DNA – syntazy tymidylanowej (TS) oraz enzymów katabolizujących – fosforylasy urydynowej i tymidynowej.

Do zespołu dołączyli młodzi chemicy wykonujący doktoraty pod kierunkiem prof. Tadeusza Kulikowskiego: Krzysztof Felczak (1994) i Maria Bretner (1997) oraz biochemik, doc. dr hab. Alicja Drabikowska prowadząca badania nad inhibitorami/substratami fosforylasy urydynowej i tymidynowej [2282, 2339, 288/A, 291/A, 3042, 3114, 3175, 3236].

Po 1990 roku, dzięki uzyskaniu przez prof. Tadeusza Kulikowskiego szeregu grantów KBN stopniowo poprawiało się wyposażenie zespołu w aparaturę i odczynniki.

Do znaczących osiągnięć zespołu w tym okresie należy zaliczyć otrzymanie nowych, tionowanych [2580, 2869, 2950, 2998, 3043, 3060, 3061, 3112, 3225, 3236, 3407] i fluorowanych pochodnych 2'-deoksyurydyny [2282, 2411, 2425, 2452, 288/A, 2723, 3286] i N⁴-hydroksycytydyny [2698, 2720, 2725, 3303, 3531] o charakterze wolnowiązających, kompetywnych inhibitorów TS, potencjalnych selektywnych środków przeciwnowotworowych (M. Bretner, K. Felczak, T. Kulikowski, D. Shugar). Badania biochemiczne wykonane zostały przy współpracy z Instytutem Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego PAN. Wykryto również szereg interesujących właściwości fizykochemicznych, w tym konformację i tautomerię modyfikowanych nukleozydów. Badania tych związków metodami spektroskopii UV/CD, NMR i IR, przy współpracy z Zakładem Biofizyki IBB PAN, Zakładem Biofizyki UW oraz z Instytutem Fizyki PAN wykazały, że w zależności od środowiska występują istotne różnice w proporcjach form tautomerycznych zasad. Wyniki doświadczalne pozostawały przy tym w zgodzie z wynikami obliczeń teoretycznych *ab initio* (metodą SCF/6-31) (K. Felczak, M. Bretner, J. Poznański, T. Kulikowski) [132/A, 2722, 2881, 2997, 3556].

Dla uzyskania bardziej selektywnie działających związków przeciwnowotworowych zsyntetyzowano i zbadano serię nowych 6-podstawionych nukleozydów o nietypowej konformacji „syn”, uzyskując m.in. szereg silnych, selektywnych i bardziej opornych na fosforolizę *in vitro* inhibitorów komórek białaczkowych (K. Felczak, A. Drabikowska, T. Kulikowski, D. Shugar, współpraca z Department of Clinical Chemistry, Uniwersytet w Tampere, Finlandia) [2465, 288/A, 291/A, 2724, 3114].

Pojawienie się w latach 80. epidemii AIDS skłoniło zespół do podjęcia badań nad nukleozydowymi inhibitorami retrowirusa HIV oraz jego odwrotną transkryptazą. W celu ustalenia przyczyn toksyczności 3'-azydotymidyny (AZT), podstawowego leku terapii AIDS, zbadano oddziaływania jego metabolitów z syntazą tymidy-



Prof. Tadeusz Kulikowski przedstawia wyniki prac swego zespołu na Sympozjum IBB w 1994 r.

lanową, wykazując umiarkowaną inhibicję tego enzymu (T. Kulikowski, D. Shugar, współpraca z Instytutem Biologii Doświadczalnej PAN) [2584, 2722]. W celu obniżenia toksyczności syntetyzowano i zbadano 5-hydroksymetylo pochodne AZT i 3'-fluorotymidyny, otrzymując związki nietoksyczne, ale o umiarkowanej aktywności przeciwko HIV (T. Kulikowski, J. Poznański) [2887, 3747].

W następnych latach zespół powiększył się o doktorantkę Agnieszkę Miazgę i o biochemika dr Marię A. Siwecką, natomiast na emeryturę przeszła doc. Alicja Drabikowska.

Szybkie powstawanie oporności podczas chemioterapii przy użyciu AZT spowodowało konieczność przeprowadzenia dalszych poszukiwań nowych analogów tego związku, a zwłaszcza analogów nukleozydowych niewywołujących oporności krzyżowej z AZT i wykazujących dobry indeks selektywności. Podczas syntezy analogów 3'-fluorotymidyny (FLT), najsilniejszego, ale toksycznego inhibitora HIV, uzyskano szereg wartościowych wyników, z których najcenniejszym okazało się otrzymanie szeregu analogów FLT, tionowanych w pierścieniu pirymidynowym, o wysokiej aktywności przeciwko HIV i bardzo niskiej cytotoksyczności, a w związku z tym o bardzo dobrych indeksach selektywności (A. Miazga, J. Poznański, K. Felczak, stażysta z białoruskiego Mińska N.A. Poopiko, T. Kulikowski

i D. Shugar) (współpraca z Instytutem Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN) [3042, 3142, 3757]. Zbadanie oddziaływań 5'-trifosforanów tych związków z odwrotną transkryptazą retrowirusa HIV (HIV RT) pozwoliło wyjaśnić mechanizm aktywności przeciwwirusowej opierający się na kompetycyjnej inhibicji HIV RT skorelowanej, jak wykazano, z aktywnością przeciwwirusową (A. Miazga, N.A. Poopiko, M.A. Siwecka, T. Kulikowski) [3756, 3757]. Ponadto, we współpracy z Zakładem Toksykologii Instytutu Przemysłu Organicznego w Pszczynie, zbadano *in vivo* (na zwierzętach) właściwości farmakotoksikologiczne najbardziej obiecującego analogu 2-tio-3'-fluorotymidyny, wykazując brak toksyczności tego związku, co kwalifikuje go jako pierwszy polski potencjalny lek przeciwko HIV/AIDS.

W związku z wymaganiami nowoczesnej, wielolekowej terapii HIV/AIDS opracowano syntezę i zbadano właściwości przeciwwirusowe nowych związków z grupy nienukleozydowych inhibitorów odwrotnej transkryptazy HIV (NNRTI), takich jak 5-alkilo-6-fenylselenenylouracyle, wykrywając w przypadku 5'-propyloanalogu znaczące właściwości przeciwwirusowe, oparte na allosterycznej inhibicji odwrotnej transkryptazy (K. Felczak, A. Miazga, T. Kulikowski) [3407, 3422, 3666].

W 1999 roku rozpoczęto nowy cykl badań poświęconych poszukiwaniom nowych inhibitorów ATPazy/helikazy RNA wirusów z rodziny *Flaviviridae*, takich jak: wirus zapalenia wątroby typu C (HCV), wirus Zachodniego Nilu (WNV) oraz wirus japońskiego zapalenia mózgu (JEV). Tematyka tych badań została później (w 2002 roku) ujęta projektem Komisji Europejskiej „HCV Inhibitors” QLRT-2001-01079, łączącym współpracę naukową trzech zespołów polskich, dwóch niemieckich i jednego francuskiego: Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk (Warszawa, Polska), Instytutu Przemysłu Organicznego oddział w Pszczynie (Pszczyna, Polska), Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin (Hamburg, Niemcy), Institut für Crystallographie, Freie Universität (Berlin, Niemcy), Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale, INSERM Unit 271 (Lyon, Francja), oraz Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN (Warszawa, Polska). Projekt ten ma charakter interdyscyplinarny, obejmuje bowiem syntezę chemiczną

nowych inhibitorów, a następnie badanie ich struktury i właściwości fizykochemicznych, farmako-toksikologicznych i przeciwwirusowych, badanie oddziaływań z ATPazą/helikazą oraz badanie struktur enzymów w kompleksach z inhibitorami, za pomocą krystalografii.

Koordynatorem projektu Komisji Europejskiej został prof. Tadeusz Kulikowski, a konsultantem – prof. David Shugar. Do zespołu złożonego z Krzysztofa Felczaka, Marii Bretner, Marii A. Siweckiej i Agnieszki Miazgi dołączyło kolejno czworo młodych chemików oraz wirusolog Andrea Baier z Niemiec, stypendystka fundacji Marii Curie. W tym okresie, dzięki uzyskaniu poważnych dotacji finansowych, Pracownia została znakomicie wyposażona w aparaturę, rzadkie odczynniki i izotopy i uzyskała nowe możliwości rozwojowe.

Synteza i badanie właściwości fizykochemicznych i biologicznych szeregu pochodnych ribawiryny, ATP oraz pochodnych benzotriazolu [3112, 3471, 3554, 3589, 3662] i ich nukleozydów pozwoliło na uzyskanie szeregu efektywnych inhibitorów ATPazy/helikazy RNA wirusów *Flaviviridae* – potencjalnych środków przeciwwirusowych. Szereg analogów wykazało właściwości specyficznych inhibitorów enzymu i może się okazać selektywnymi inhibitorami replikacji wirusów *Flaviviridae*, w tym wirusa zapalenia wątroby typu C (współpraca z Zakładem Wirusologii Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Hamburg, Niemcy). Badania kinetyczne tych związków oraz porównanie miejsc wiążących ATP wykazały, że mechanizm działania takich inhibitorów helikazy nie opiera się na oddziaływaniu z miejscem wiążącym ATP, ale na wiązaniu się do allosterycznego miejsca wiążącego nukleozydy/nukleotydy (M. Bretner, M. Siwecka, A. Baier, D. Shugar, T. Kulikowski) [3718, 3727, 3756, 3758, 3746].

Dalsze badania wyżej wymienionych analogów mogą doprowadzić do opracowania nowych potencjalnych leków przeciwko zakażeniom wirusami *Flaviviridae*, w tym pierwszego polskiego leku przeciwko zapaleniu wątroby typu C.

Zespół ponadto rozpoczął w 2003 roku, w ramach dodatkowego grantu Komisji Europejskiej „dUTPase”, cykl badań obejmujący poszukiwania nowych selektywnych środków przeciwko pasożytom, należącym do klasy inhibitorów pasożytniczej dUTPazy.

Historia Zakładu Biofizyki

Twórcą Zakładu Biofizyki i jego kierownikiem do 1973 roku był prof. David Shugar. Z jego inicjatywy w 1954 roku utworzona została Pracownia Fizykochemii Biologicznej w ówczesnym Zakładzie Biochemii PAN, na terenie Zakładu Biochemii Państwowego Zakładu Higieny. Pracownia otrzymała status Zakładu Biofizyki z chwilą przekształcenia ZB PAN w Instytut Biochemii i Biofizyki. W miarę usamodzielniania się

współpracowników prof. Shugara utworzyły się w nim nieformalne zespoły badawcze: fotochemii kwasów nukleinowych Kazimierza L. Wierzchowskiego, syntezy i struktury polinukleotydów Włodzimierza Szer¹, histochemii i biochemii enzymów nukleolitycznych Haliny Sierakowskiej oraz mechanizmu mutagenyzy Celiny

¹ Wyjechał na stałe z Polski w 1967 roku. Przez wiele lat pracował potem w Zakładzie Biochemii prof. Severo Ochoa na Uniwersytecie Nowojorskim, obejmując funkcję kierownika Zakładu po przejściu prof. Ochoa na emeryturę.



Zespół Zakładu Biofizyki w 1966 roku (Rakowiecka 36).

W I rzędzie – Krzysztof Berens, Celina Janion, Maria Żyłonis i Krystyna Myszkowska; w II rzędzie – Wanda Dynarowska, Włodzimierz Szer, Estera Krajewska, Mirosława Piechowska i Roman Lisewski; z tyłu – Andrzej Rabczenko, Halina Sierakowska, Irena Pietrzykowska, Ryszard Szubiński, Leszek Nowak, Kazimierz L. Wierzchowski, Teresa Gołaszewska, Elżbieta Stępień i Tadeusz Kędracki.



Imieniny Kazimierza – Wierzchowskiego (po lewej) i Kleczkowskiego (po prawej), w środku – Krzysztof Berens, 4 marca 1965 r.

Janion. W 1973 roku kierownictwo Zakładu Biofizyki objął prof. K.L. Wierzchowski, kontynuując wraz ze swoim zespołem badania biofizyczne z zakresu fotochemii, struktury elektronowej i oddziaływań molekularnych zasad pirymidynowych i purynowych w kwasach nukleinowych. Natomiast pozostałe, bardziej biologicznie zorientowane zespoły badawcze, utworzyły pod kierownictwem prof. D. Shugara Zakład Biologii Molekularnej. Konsekwencją tego podziału jest przedstawienie w niniejszym rozdziale całości badań nad fotochemią kwasów nukleinowych, od chwili ich zapoczątkowania w 1955 roku przez Shugara i Wierzchowskiego. Odniesienia do nich w kontekście innych wątków badawczych Zakładu sprzed 1973 roku znajdują się ze zrozumiałych względów również w rozdziale o działalności Zakładu Biologii Molekularnej.

Rozwój problematyki badawczej Zakładu Biofizyki po 1973 roku zapoczątkowało włączenie do niego grupy

dr. A. Rabczenki, zajmującej się modelowaniem molekularnej struktury i przemian konformacyjnych elementów budowy kwasów nukleinowych. W 1975 roku przeszła do Zakładu z Katedry Biofizyki UW dr hab. Magdalena Fikus i zorganizowała własny zespół, który zajął się początkowo badaniem mechanizmu działania enzymów restrykcyjnych, a następnie badaniem wpływu pól elektrycznych na modelowe komórki *Neurospora crassa* oraz opracowaniem metod ekspresji niewielkich, modelowych białek w komórkach bakteryjnych. Wiązało się to z planowanym rozszerzeniem problematyki Zakładu o zagadnienia dotyczące struktury i funkcji białek. Badania w tej dziedzinie podjął na początku lat 80. dr Andrzej Bierzyński, po powrocie ze stażu podoktorskiego w laboratorium prof. R. L. Baldwina na Uniwersytecie Stanforda w USA (1979-1981), gdzie zajmował się wewnątrzcząsteczkowymi oddziaływaniami stabilizującymi α -helikalną strukturę białek. Ich przedmiotem stały się mechanizmy fałdowania się polipeptydów w natywne struktury białkowe oraz wiązania wapnia przez białka. Na początku lat 80. dr Jerzy Smagowicz podjął prace nad molekularnym mechanizmem selekcji substratów przez polimerazę RNA z *Escherichia coli* w procesie inicjacji transkrypcji. Była to kontynuacja jego badań z tego zakresu na stażu podoktorskim (1975-1978) w laboratorium dr. Karla-Heinza Scheita (Max-Planck-Institut f. Physikochemische Biologie, Getynga, RFN). Przedmiotem naszych dalszych badań stał się molekularny mechanizm powstawania kompleksu transkrypcyjnego. W 1984 roku przyszedł do Zakładu dr Krzysztof Bobrowski, który wcześniej w Instytucie Badań Jądrowych w Warszawie zajmował się mechanizmem reakcji rodnikowych związków organicznych. Aby

wykorzystać jego metodyczne doświadczenie z tego zakresu, podjęliśmy badania reakcji rodnikowych w modelowych peptydach i białkach z punktu widzenia strukturalnych uwarunkowań dalekozasięgowego przeniesienia elektronów.

Rozwojowi problematyki badawczej towarzyszyły zmiany organizacyjne, w rezultacie których w II połowie lat 80. funkcjonowały w Zakładzie 4 zespoły badawcze: Magdaleny Fikus, Andrzeja Bierzyńskiego, Andrzeja Rabczenki i Kazimierza L. Wierzchowskiego. Po rezygnacji Andrzeja Rabczenki z kierowania zespołem informatycznym funkcje tę przejął jego wychowanek, dr Piotr Zielenkiewicz, przekształcając zespół w niezależną Pracownię Informatyczną, która niebawem otrzymała status Zakładu Informatyki. W związku



Zmiana warty. Andrzej Bierzyński (pierwszy od lewej) obejmuje kierownictwo Zakładu Biofizyki, w grudniu 1999 r. Obok: Andrzej Ejchart (Laboratorium NMR), Agnieszka Jabłonowska i Piotr Zielenkiewicz.

z przejściem prof. Wierzchowskiego na emeryturę kierownikiem Zakładu w 2000 roku został prof. Andrzej Bierzyński. Z kierowanego przez niego zespołu wyłoniła się grupa badawcza doc. Michała Dadleza, do której dołączyła dr Aleksandra Wysłouch-Cieszyńska. W ostatnim okresie do Zakładu przeniósł się z Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego dr hab. Wojciech Bal zajmujący się molekularnym mechanizmem wiązania jonów metali przez białka.

Przedstawiona w tym rozdziale historia badań Zakładu została opracowana przez kierowników działających w nim obecnie grup badawczych. Natomiast badania zespołów A. Rabczenki i P. Zielenkiewicza są omówione w rozdziale „Zakład Bioinformatyki”.

Fotochemia kwasów nukleinowych

David Shugar już wcześniej (w latach 1948-1952, w czasie swojego pobytu we Francji i Belgii) zajmował się fotochemią i fotoreaktywacją enzymów (dehydrogenaza fosfotriozy, aldolaza, lizozym, rybonukleaza), badając ich inaktywację i denaturację pod wpływem promieniowania UV. W Zakładzie Biochemii PZH prace nad fotochemiczną inaktywacją lizozymu kontynuowała wraz z nim Ewa Syruczek-Gajewska, a nad rybonukleazą Franciszka Rzędowska. Jego zainteresowanie się fotochemią kwasów nukleinowych spowodował szybki rozwój w tym czasie badań nad inaktywacją drobnoustrojów przez promieniowanie ultrafioletowe i jonizujące oraz ich fotoreaktywację przez bardziej długofalowe promieniowanie. W połowie lat 50., po zaproponowaniu przez Cricka i Watsona (1953) modelu struktury DNA i wykazaniu najpierw przez Avery'ego a potem przez Hersheya, że DNA jest nośnikiem infekcyjnych właściwości bakterii i wirusów, powszechnie akceptowana była idea, że DNA jest nośnikiem informacji genetycznej. W tym kontekście rozwijały się prace nad inaktywacją *in vitro* transformujących DNA bakterii i infekcyjnych RNA wirusów. Nie ulegało więc wątpliwości, że wyjaśnienia złożonych reakcji fotochemicznych w DNA, odpowiedzialnych za mutacyjne uszkodzenia genów i inaktywację ich funkcji biologicznych, należy szukać poprzez poznanie fotochemicznego zachowania się elementów jego budowy, przede wszystkim absorbujących promieniowanie UV zasad pirymidynowych i purynowych. Na początku 1955 roku Shugar poszukiwał fotochemika do podjęcia wraz z nim prac w tej dziedzinie. Ofertę przyjął piszący te słowa Kazimierz Lech Wierzchowski, który miał za sobą kilka lat badań nad fotochemią i spektroskopią molekularną tlenocyjanku karbonylu i pokrewnych nityryli w Katedrze Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu Warszawskiego².

² Praca magisterska (1952 rok) pod kierunkiem jednego z pionierów badań fotochemicznych w Polsce prof. Wiktora Kemuli. Publi-

Fotohydratacja pirymidyn

Punktem wyjścia do podjętych przez nas wówczas badań było doniesienie R.L. Sinsheimera (Science, 1954) o odwracalnej termicznie fotochemicznej reakcji uracylu, urydyny i kwasu cytydylowego. Przeprowadziliśmy szczegółową charakterystykę kinetyki reakcji fotochemicznej przemiany cytozyny i jej N1-podstawionych pochodnych. Dzięki wykorzystaniu efektu izotopowego H/D wykazaliśmy, że reakcja ta, podobnie jak w przypadku uracylu (co udowodnili niezależnie A. M. Moore i S. Y. Wang w latach 1956/57), polega na odwracalnym przyłączeniu cząsteczki wody do podwójnego wiązania 5,6 w pierścieniu pirymidynowym, a reakcja odłączenia cząsteczki wody od nietrwałej termicznie 5,6-dihydro-5-hydroksy fotopochodnej jest katalizowana kwaso-zasadowo [92a, 92, 96, 119, 164, 193, 239, 269-270, 319]. Określiliśmy trwałość fotohydratów cytozyny oraz analogicznych fotohydratów uracylu, ustalając w oparciu o pomiary szybkości reakcji dehydratacji w zależności od warunków jej przebiegu (temperatura, pH, rozpuszczalnik H₂O lub D₂O), że jej kwaso-zasadowa kataliza ma specyficzny charakter w przypadku fotohydratów cytozyny, a ogólny w przypadku fotohydratów uracylu [92, 164, 239]. Reakcję fotohydratacji zaobserwowaliśmy w obu naturalnie występujących kwasach nukleinowych RNA i DNA [92a, 119]. Ze względu na złożoność budowy cząsteczek obu związków i wielorakość ich fotochemicznych uszkodzeń, wpływ struktury kwasu nukleinowego na przebieg reakcji fotohydratacji cytozyny i uracylu badaliśmy w modelowych, syntetycznych homo- i hetero-oligonukleotydach i polinukleotydach oraz ich dwuniciowych kompleksach [164, 193, 269-270]. Wykazaliśmy, że zarówno wydajność kwantowa reakcji fotohydratacji, jak i trwałość tych hydratów zależy od drugorzędowej struktury polinukleotydu. W dwuniciowych kompleksach poli-(rA:rU) i poli-(rI:rC) drugorzędowa struktura wydatnie obniżała fotochemiczną wydajność powstawiania fotohydratów U i C, których nagromadzenie się powodowało stopniową dysocjację kompleksu [270]. Natomiast struktura pierwszorzędowa poli-U nie wpływała na wydajność kwantową reakcji fotohydratacji reszt uracylu, podobnie jak kilka lat później opisana warstwowa asocjacja 1,3-dimetylouracylu [1142]. W polinukleotydach zawierających reszty uracylu zaobserwowaliśmy oprócz fotohydratu pojawianie się innego produktu, powstającego z wyższą wydajnością kwan-

kacje: W. Kemula i K.L. Wierzchowski: Electronic absorption spectrum of carbonyl cyanide, *Roczniki Chemii* **27**, 524-526, 1953; Photochemical transformation of carbonyl cyanide, *ibid.* **27**, 527-528; A. Tramer i K. L. Wierzchowski: Vibrational spectra and force constants of nitriles, *Bull. Acad. Polon. Sci., Cl. III*, **5**, 335-341, 1957; Vibrational spectrum of carbonyl cyanide, *ibid.* **5**, 411-415, 1957. J. Prochorow, A. Tramer i K.L. Wierzchowski, Electronic absorption and emission spectra of carbonyl cyanide. *J. Mol. Spectroscopy* **19**, 45-62, 1966.

ową i nieulegającego przekształceniu w związek wyjściowy pod wpływem podwyższonej temperatury lub kwaso-zasadowej katalizy [164, 269-270]. Natomiast w polinukleotydach tyminy, w których fotohydratacja nie zachodziła, był to główny produkt naświetlania. Wysłaliśmy hipotezę, że może to być cyklobutanowy dimer powstający w wyniku addycji wiązań 5,6 sąsiadujących reszt tyminy [270]. W 1960 roku K.L. Wierzchowski doktoryzował się na podstawie badań nad fotohydratacją cytozyny i uracylu.

Badania wpływu podstawników przy węglach C5 i C6 pierścienia pirymidynowego na fotochemiczne przemiany naturalnych dwuketopirymidyn [184] doprowadziły do odkrycia dwustopniowej fotochemicznej reakcji 5-fluorouracylu i jego pochodnych [404, 449]: początkowo powstający fotohydrat pod wpływem działania kolejnego kwantu promieniowania UV tracił cząsteczkę fluorowodoru i powstawała odpowiednia pochodna kwasu barbiturowego. Prace te wydawały się wówczas interesujące z fotobiologicznego punktu widzenia, ponieważ wykazano, że w RNA wirusów roślinnych zastąpienie uracylu 5-fluorouracylem (nawet w 50%) nie powoduje zmian w ich wirulentności. Główną wykonawczynią tych badań była Magdalena Fikus, która na ich podstawie doktoryzowała się w 1966 roku.

Badania przebiegu dehydratacji fotohydratów nukleozydów uracylu w środowisku alkalicznym przez Magdalenę Fikus i Davida Shugara [460] doprowadziły do wykrycia nowego mechanizmu odszczepienia cząsteczki wody polegającego na otwarciu pierścienia uracylu między atomami N1 i C6, eliminacji cząsteczki wody i ponownym zamknięciu pierścienia. Dalsze badania dr Ireny Pietrzykowskiej wykazały, że fotohydratacja nukleozydów uracylu prowadzi do powstania 2 stereoisomerów różniących się mechanizmem reakcji dehydratacji zarówno w środowisku kwaśnym, jak i alkalicznym [746].

Fotochemiczne przemiany 5-metylo- i 5-hydroksymetylocytozyn oraz 4-aminopirymidyn

Stwierdziliśmy, że obie 5-podstawione pochodne cytozyny występujące w DNA T-parzystych bakteriofagów nie ulegają reakcji fotohydratacji [184], lecz reakcji otwarcia pierścienia pirymidynowego w wyniku solwizacji wiązania N1-C6, prowadzącej do powstania nietrwałych chemicznie pochodnych zawierających ugrupowania kwasu karbamylowego i hydroksyakrylaminy [193a]. Dopiero w latach 90. udało się ustalić mechanizm tej reakcji innym badaczom (B. Skalski i R. Shetlar). W tej sytuacji przeprowadziliśmy systematyczne badania nad fotochemicznym zachowaniem się 4-aminopirymidyn, które doprowadziły do wykrycia wewnątrzcząsteczkowej reakcji izomeryzacji 4-amino-2,6-dimetylopirymidyny do odpowiedniej α -cyano- β -diiminy [345, 346]. Związek ten ulegał kolejno hydrolyzie do aminoketonu cyanoacetyloacetonu i cyano-

acetyloacetonu. Ze względu na interesujące właściwości nieznanych dotychczas obu pochodnych cyanoacetyloacetonu scharakteryzowaliśmy szczegółowo ich właściwości spektralne [451, 452, 496]. Prace te stały się podstawą rozprawy habilitacyjnej dr K.L. Wierzchowskiego w 1965 roku. W tych badaniach, jak i we wcześniejszych nad fotohydratacją pirymidyn, bardzo pomocna była chemiczka Maja Sumińska-Żylonis.

Fotodimeryzacja pirymidyn

Wysunięta przez Wierzchowskiego i Shugara hipoteza, że w polinukleotydach uracylu i tyminy w roztworze wodnym zachodzi fotochemiczna reakcja prowadząca do powstania fotoadduktów z zanikiem podwójnego wiązania 5,6 w pierścieniu pirymidynowym [270], znalazła potwierdzenie w doświadczeniach z naturalnymi i syntetycznymi polinukleotydami naświetlanymi w formie wysuszonych filmów [Baranowska i Shugar, ABPol. 7 (1960) 505-520]. Zostały one przedstawione na III Międzynarodowym Kongresie Fotobiologicznym w Kopenhadze w 1960 roku (D. Shugar, 3rd International Congress of Photobiology, Copenhagen, 1960, Elsevier, Amsterdam, 1961). Budowa tego fotoproduktu jako cyklobutanowego dimeru tyminy, wyodrębnionego z zamrożonego roztworu wodnego, została równolegle udowodniona przez R. Beukersa i W. Berendsa w latach 1960/61. Reakcja ta wkrótce po odkryciu została uznana za główne, premutagenne uszkodzenie DNA, co spowodowało, że badania nad mechanizmem fotodimeryzacji pirymidyn i korelacją między wywołanymi przez tę reakcję uszkodzeniami DNA i jego funkcją stały się przedmiotem zainteresowania coraz większej liczby laboratoriów. Prace Zakładu Biofizyki wniosły w nie swój znaczący wkład. Po raz pierwszy otrzymane zostały przez Aleksandrę Śmietanowską dimery uracylu oraz jego N1, N3 i C5, C6 mono- i di-metylowanych pochodnych, określona ich stabilność chemiczna i fotochemiczna [260]. Ewa Sztumpf szczegółowo opisała fotodimeryzację i fotodysocjację dimerów reszt tyminy w modelowych dinukleotydach TpT, pTpT i TppT [314] oraz kwasu orotowego [513]. Modelowe badania Zofii Tramer (obecnie Zarębskiej) nad przebiegiem fotodimeryzacji reszt T w kompleksach poli-rT i poli-dT z poli-rA [681] wykazały ścisłą zależność pomiędzy typem struktury drugorzędowej polinukleotydu i wydajnością kwantową reakcji fotodimeryzacji oraz postępowaniem reakcji i termodynamiczną trwałością polimerów.

Dalszy postęp w poznaniu mechanizmu fotodimeryzacji przyniosły prace Romana Lisewskiego, który zbadał przebieg reakcji fotodimeryzacji tyminy, jej N-metylowych pochodnych i kwasu orotowego w kryształach [799] oraz w roztworze wodnym 1,3-dimetylotyminy i 1,3-dimetylouracylu (DMU) w funkcji stężenia związków [683, 908, 1142]. Okazało się, że zarówno w warstwowo upakowanych kryształach, jak i w ich warstwowych kompleksach asocjacyjnych w roztworze

wodnym wydajność kwantowa fotodimeryzacji jest bliska jedności, co sugerowało jej zachodzenie w singletowym, ekscimerowym stanie wzbudzonym cząsteczek. Wraz z Elżbietą Stępień i R. Lisewskim scharakteryzowaliśmy również budowę i właściwości izomerów cyklobutanowego dimeru 1-metylotyminy [1141] oraz pokazaliśmy, że dystrybucja izomerów między 4 możliwe formy przestrzenne odzwierciedla dystrybucję wzajemnych orientacji cząsteczek monomeru w warstwowych asocjatach w roztworze wodnym [1470]. Badania fotochemii DMU pokazały ponadto, że reakcje fotohydratacji i fotodimeryzacji nie są wzajemnie konkurencyjne, ponieważ pierwsza przebiega z niską wydajnością kwantową zarówno w monomerze, jak i w asocjacie, natomiast fotodimeryzacja zachodzi wyłącznie w asocjacie z znacznie wyższą wydajnością kwantową. Wyniki tych badań zostały przedstawione przez Romana Lisewskiego³ w pracy doktorskiej [1971].

W związku z udanymi doświadczeniami nad włączeniem 5-etylouracydu do DNA bakteriofagów oraz pracami nad syntezą i badaniem właściwości polinukleotydów zawierających tę zasadę (omówione w historii badań Zakładu Biologii Molekularnej) Irena Pietrzykowska opisała fotodimeryzację 5-etylouracylu i jego glikozydów [623, 835, 1221]. Okazało się, że cyklobutanowe dimery powstają pod działaniem promieniowania UV ≥ 265 nm, natomiast ich fotodysocjacja prowadzi nie do odtworzenia wyjściowego związku, jak w przypadku pochodnych tyminy, lecz do nieznaney dotychczas reakcji polegającej na eliminacji etylenu z odtworzeniem pierścienia uracylu. W związku z tym Estera Krajewska zbadała również fotochemiczne właściwości 5-podstawionych uracyli grupą propylową lub izopropylową oraz ich nukleozydów [907, 1044] i wykazała, że promieniowanie długofalowe nie powoduje fotodimeryzacji, natomiast pod działaniem promieniowania λ 253,7 nm następuje eliminacja odpowiedniego nienasyconego węglowodoru i odtwarza się pierścień uracylu.

Dzięki tym wszystkim osiągnięciom Zakład Biofizyki stał się w latach 50., 60. i 70. jednym z kilku uznanych w skali międzynarodowej ośrodków badań nad fotochemią kwasów nukleinowych, konkurującym z powodzeniem z wiodącymi laboratoriami R.L. Sinsheimera, A.M. Moora, S.Y. Wanga i H.E. Johnsa. Potrzebne do badań modelowe kwasy nukleinowe otrzymywaliśmy od znanych badaczy, takich jak: Severo Ochoa, A.M. Michelson, M. Grunberg-Manago i M. Errera. Jedne z pierwszych podsumowań stanu badań w tym zakresie przedstawili w 1958 roku Shugar

i Wierzchowski [118, suplement w jęz. angielskim do Postępów Biochemii], oraz D. Shugar z A.D. McLarenem w monografii *Photochemistry of Proteins and Nucleic Acids* (Academic Press, 1960). Wyrazem tego były liczne zaproszenia do przedstawiania referatów na Międzynarodowych Kongresach Fotobiologii, przyznanie D. Shugarowi przez International Committee on Photobiology złotego Medalu im. Finsena (1976 rok), a także wybór K.L. Wierzchowskiego na wiceprezydenta tego Komitetu w kadencji 1983-1986. David Shugar znalazł się w gronie założycieli nowego, międzynarodowego czasopisma *Photochemistry and Photobiology* (Pergamon Press), którego pierwszy zeszyt ukazał się w 1962 roku.

Stany wzbudzone zasad nukleinowych

Rozwój badań nad fotochemią kwasów nukleinowych wymagał poznania procesu absorpcji UV poprzez stany wzbudzone naturalnych puryn i pirymidyn. Podjęcie prac z tego zakresu wymagało budowy unikatowej aparatury do pomiarów widm fluorescencji i fosforescencji o lepszych parametrach niż dostępne wówczas handlowo przyrządy. Krzysztof Berens zbudował wówczas wraz z inż. Ryszardem Szubińskim (druga połowa lat 60.) spektrofluorofosforymetr, a później Andrzej Bierzyński wraz z dr. inż. Janem Oswaldem Jasnym z ICHF PAN, fluorymetr – umożliwiający pomiary wydajności kwantowej fluorescencji w szerokim zakresie stężeń fluorofora, z wysoką dokładnością [1312].

Zajęliśmy się charakterystyką stanów wzbudzonych aminopirymidyn i aminopuryn, w celu poznania wpływu obecności w ich pierścieniach atomów azotu na dość dobrze znaną wówczas strukturę elektronową aromatycznych analogów tych zasad. Krzysztof Berens określił podstawowe parametry fluorescencji i fosforescencji izomerycznych monoamino-pirymidyn i zaproponował schemat struktury ich stanów wzbudzonych. Wykazał ponadto, że zarówno elektrony wolnej pary grupy egzaminowej, jak i niewiążące elektrony atomów azotu pierścienia pirymidynowego, odgrywają istotną rolę w procesach promienistej i bezpromienistej relaksacji energii wzbudzenia z najniższych stanów singletowych i trypletowych [praca doktorska K.B. 1971, 896]. Ze względu na znaną zależność wielkości sprzężenia elektronów wolnej pary grupy aminowej od jej położenia w aromatycznych aminach, Zbigniew Proba syntetyzował szereg 5-metylo podstawionych 4-aminopirymidyn i określił wpływ zawady przestrzennej orto-podstawnika na widma elektronowej absorpcji i protolityczne równowagi w stanie podstawowym [1343], a następnie, metodami ¹³C NMR, na konformację grupy aminowej [1687]. Wyniki tych badań wykorzystał w swojej pracy doktorskiej (1978 rok). Badanie własności emisyjnych tej grupy aminopirymidyn kontynuował Jerzy Smago-

³ Po odejściu z Zakładu: Biuro Projektów Gospodarki Wodnej, kierownik Laboratorium Analityczno-Technologicznego Biologicznego Oczyszczania Wód Przemysłowych (1975-1990); kierownik działu Orzecznictwa Kontroli Jakości i Czystości Wód Technologicznych (1990-1992); kierownik Laboratorium Kontroli Jakości, Czystości i Stanu Sanitarnego Wody (Kuwejt, 1992-2001).



Zbigniew Proba przy wyparce próżniowej, 1979 r.

wicz w ramach swojej pracy magisterskiej, a następnie doktorskiej (1974 rok). Określił podstawowe parametry ich widm fluorescencji i fosforescencji (czasy życia, polaryzację) i na tej podstawie wyznaczył elementy macierzowe sprzężenia spinowo-orbitalnego fosforyzującego stanu trypletowego ze stanami singletowymi elektronów wolnych pary grupy $-NR_2$ ($R = H, CH_3$) i azotów pierścienia. Okazało się, że te ostatnie sprzęgają się znacznie silniej niż stany singletowe elektronów wolnej grupy aminowej [1474]. Zaobserwowane przez nas unikatowe właściwości emisyjne (dwa pasma fluorescencji) 4-aminopirymidyn [1376] stały się przedmiotem dalszych badań w laboratorium prof. Zbigniewa R. Grabowskiego (IChF PAN). Doprowadziły one do zaproponowania tzw. wzbudzonego stanu TICT, powstającego w aromatycznych i heteroaromatycznych aminach wraz ze zmianą konformacji grupy aminowej w stanie wzbudzonym.

Wśród aminopuryn szczególnie zainteresowanie budziła 2-aminopuryna, której silna fluorescencja stwarzała perspektywę wykorzystania związku jako sondy fluorescencyjnej w badaniach struktury kwasów nukleinowych i ich oddziaływań z białkami. W związku z tym Jerzy Smagowicz szczegółowo scharakteryzował jej właściwości emisyjne i zaproponował schemat najniższych stanów elektronowych oraz mechanizm ich relaksacji [1181]. Praca ta wykazała bliskie podobieństwo sprzężeń



W pracowni spektroskopii emisyjnej – Kazimierz L. Wierzchowski i Jerzy Smagowicz, około 1975 r.

wzbudzonych stanów elektronowych i mechanizmów ich dezaktywacji w aminopurynach i aminopirymidynach. W trakcie swojego stażu podoktorskiego w laboratorium Arthura G. Szabo (National Research Council, Ottawa, Kanada) Krzysztof Berens opisał przejścia między stanami tripletowymi 2-aminopuryny [*J. Luminescence* **10**, 331-343, 1975]. Właściwości emisyjne 2-aminopuryny wykorzystaliśmy w badaniach warstwowej asocjacji tej zasady [1473, 1528, 1529] i asocjacji z tymidyną [1530, 1924a]. Obecnie 2-aminopuryna wbudowana do kwasu nukleinowego stosowana jest z powodzeniem w wielu laboratoriach jako sonda fluorescencyjna w badaniach międzycząsteczkowych oddziaływań.

Istotnym teoretycznym wsparciem dla naszych fotochemicznych i fotofizycznych badań były seminaria molekularnej spektroskopii organizowane wspólnie z laboratoriami Andrzeja Tramera i Jerzego Prochorowa (Instytut Fizyki Doświadczalnej UW) oraz Zbigniewa R. Grabowskiego i Anny Grabowskiej (Instytut Chemii Fizycznej PAN).

Struktura i oddziaływania międzycząsteczkowe zasad nukleinowych

Równoległe ze studiami nad fotochemią i stanami wzbudzonymi elementów budowy kwasów nukleinowych prowadzone były prace zmierzające do lepszego poznania struktury i fizykochemicznych właściwości cząsteczek naturalnych 2,4-diketopirymidyn i cytozyny oraz ich pochodnych.

Tautomeria 2,4-diketopirymidyn

W związku z hipotezą, że punktowe mutacje mogą być spowodowane przesunięciem równowagi tautomerycznej zasad pirymidynowych i purynowych ku rzadkim formom o zmienionych zdolnościach parowania z komplementarną zasadą w DNA, David Shugar zainicjował program systematycznych badań nad właściwościami tautomerycznymi naturalnych zasad. W ramach tego programu Wierzchowski wraz z Ewą Litońską opisali metodami spektroskopii UV i IR równowagę tautomeryczną keton-enol monoanionów uracylu i innych 2,4-diketopirymidyn oraz jej zależność od obecności podstawników w pozycji C5 i C6 pierścienia [450]. Ewa Litońska⁴, nasza specjalistka spektrofotometrii w podczerwieni, przeprowadziła systematyczne pomiary i zinterpretowała widma oscylacyjne diketopirymidyn w ich podstawowym stanie tautomerycznym, a następnie Krzysztof Berens scharakteryzował właści-

⁴ Po odejściu z Zakładu pracowała jako nauczycielka fizyki w Szkole Podstawowej nr 159 przy ul. Elbląskiej w Warszawie (1982-1994, ze względów zdrowotnych na wcześniejszej emeryturze). Opiekunka Koła Zainteresowań Fizyki, którego uczestnicy w każdym roku z sukcesem startowali w ogólnokrajowych Konkursach i Olimpiadach Fizycznych.

wości luminescencyjne tautomerów [679]. Prace nad tautomerią N-podstawionych cytozyn w powiązaniu z ich premutagennym działaniem prowadziła Celina Janion, jednakże większość prac z tego zakresu powstała w Katedrze Biofizyki UW (zob. Zakład Biologii Molekularnej).

Momenty dipolowe tyminy, uracylu, cytozyny i ich pochodnych

Moment dipolowy cząsteczki jako wektorowa miara rozkładu w niej gęstości elektronowej charakteryzuje jej budowę elektronową i potencjalną zdolność do ukierunkowanych oddziaływań międzycząsteczkowych. Ze względu na niską rozpuszczalność naturalnych zasad nukleinowych w wodzie pomiary ich momentów dipolowych w tych warunkach były praktycznie niemożliwe. Na przełomie lat 60. i 70. znane były tylko z teoretycznych, kwantowo-mechanicznych obliczeń. W tej sytuacji zorganizowaliśmy pracownię pomiaru momentów dipolowych, korzystając z doświadczenia Izabeli Kułakowskiej, nabytego w trakcie pracy dyplomowej na Politechnice Warszawskiej pod kierunkiem prof. Józefa Hurwica. Stosując lepiej rozpuszczalne N-metylowane pochodne oraz dioksan jako rozpuszczalnik, Iza Kułakowska (wspomagana przez Teresę Rak) zmierzyła momenty dipolowe ponad 40 związków z grupy tyminy i uracylu [1080, 1277] oraz cytozyny [1379, 1745, praca doktorska 1975 rok], a także ich nukleozydów [994, 1278], oraz zinterpretowała je z punktu widzenia struktury elektronowej zasad we współpracy z teoretykami: Bogdanem Lesyngiem i Maciejem Gellerem (Katedra Biofizyki UW). Miara poznawczej wartości i wiarygodności wyznaczonych momentów dipolowych zasad było ich umieszczenie w znanej encyklopedii Landolta-Börnsteina, w dziale biofizyka kwasów nukleinowych [2773]. Wobec niejednoznacznej teoretycznej interpretacji doświadczalnego momentu dipolowego 4-N-dimetylo-5-metylocytozyny z punktu widzenia zahamowanej rotacji grupy 4-N(CH₃) [1379, 1745], oznaczono strukturę tego związku w kryształach (I. Kułakowska i W. Saenger). Okazało się, wbrew oczekiwaniom opartym na strukturze aromatycznych amin, że grupa ta jest płaska i koplanarna z pierścieniem pirymidyny.

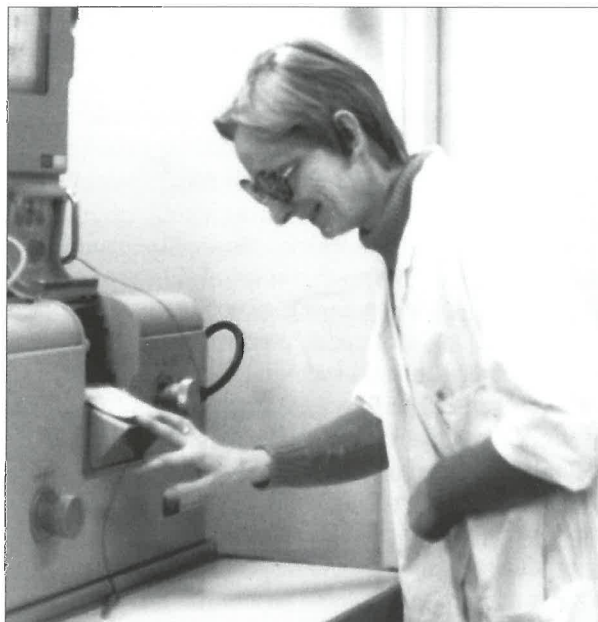
Warstwowa asocjacja zasad nukleinowych

Ze względu na duże znaczenie warstwowych oddziaływań zasad w stabilizacji struktury kwasów nukleinowych, zwłaszcza puryn, te ostatnie były już dość dobrze opisane. Brak było jednak danych dla autoasocjacji zasad pirymidynowych i ich asocjacji z purynami. Badania fotodimeryzacji 2,4-diketopirymidyn w roztworach wodnych ujawniły także potrzebę niezależnego opisu ich asocjacyjnych równowag. Podjęliśmy więc kilkuletni program badań z tego zakresu w oparciu o metody osmometrii (Ewa Plesiewicz⁵, doktorat 1977 rok) i gąszenia fluorescencji (Andrzej Bierzyński, doktorat 1977

rok). Ewa Plesiewicz, we współpracy z Krysztyną Bolewską (synteza związków) i Elżbietą Stępień⁶, wyznaczyła metodą termoelektrycznej osmometrii stałe równowagi oraz termodynamiczne parametry izodesmicznej autoasocjacji dużej grupy dwuketopirymidyn zawierających podstawniki elektronodonorowe i elektronoakceptorowe oraz alkilowe [1404], tiourydyn [1307], a także nukleozydów uracylu i cytozyny [1422]. Analiza otrzymanych wyników pokazała, że warstwowe kompleksy związków



Izabela Kułakowska, po obronie pracy doktorskiej, 1975.



Ewa Litońska mierzy widmo UV na spektrofotometrze, 1979.

⁵ Po odejściu z Zakładu w 1986 roku pracowała do 2003 roku jako nauczycielka fizyki w wielu publicznych szkołach warszawskich: Szkole Podstawowej nr 53, Liceach Ogólnokształcących: im. J. Zamojskiego, B. Limanowskiego, J. Lelewela, W. Górskiego, K. Pułaskiego, także w liceach społecznych im. W. Gombrowicza i Lotników Amerykańskich przy Towarzystwie Oświatowym w Łomiankach. Doprowadziła wielu swoich uczniów do finału Olimpiad i Konkursów Fizycznych (Politechnika Warszawska). Do 2003 roku prowadziła zajęcia z fizyki dla studentów SGGW.

⁶ W związku z decyzją lekarską zalecającą całkowitą zmianę charakteru pracy, z końcem 1978 roku przeszła do pionu informacji naukowej Instytutu Ekonomiki Przemysłu Chemicznego (IEPCH). Ukończyła na SGH studium podyplomowe z zakresu ekonomiki przemysłu, zarządzania i informatyki. Prace kierowanego przez nią Zakładu Eksploatacji Systemów Informacyjnych doprowadziły do



Kazimierz Lech Wierzchowski i Ewa Plesiewicz (w pierwszym rzędzie od lewej, na IV Międzynarodowym Kongresie Biofizyki, w gmachu MGU w Moskwie w lecie 1972 r.

zawierających podstawniki polarne są głównie stabilizowane przez oddziaływania dipol-dipol indukowany, natomiast w kompleksach związków alkiłowanych dominują oddziaływania hydrofobowe. Otrzymano w ten sposób po raz pierwszy doświadczone przesłanki świadczące o udziale hydrofobowych oddziaływań w stabilizacji helikalnych konformacji polinukleotydów zawierających tyminę i 5-metylocytozynę.

Andrzej Bierzyński, wykorzystując dużą czułość pomiarów fluorescencyjnych, opracował nową metodę ilościowego opisu równowag swobodnej autoasocjacji i heteroasocjacji cząsteczek oraz wewnątrzcząsteczkowej asocjacji w modelowych dinukleotydach, opartą na wykorzystaniu zjawisk statycznego i dynamicznego gaszenia fluorescencji 2-aminopuryny [1528-1530, 1473, 1924a]. W pracach tych uczestniczyła Hanna Kozłowska. Analiza pomiarów umożliwiła wykazanie, że asocjacja warstwowa ma charakter kooperatywny, przy czym dimery stabilizowane są przez oddziaływania polarne, natomiast w stabilizacji wyższych agregatów uwidacznia się wpływ oddziaływań hydrofobowych. Opracowana metoda pozwala również na wgląd w kinetykę

zmiany charakteru systemu z dokumentacyjnego na faktograficzny, a opracowany projekt tego systemu (INFORCHIM) został przyjęty przez kraje RWPG uczestniczące w jego budowie. W 1989 roku została dyrektorem Centrum Informacji Naukowej i Przemysłowej (CINP), które powstało w strukturze Instytutu. Autorka i współautorka wielu prac projektowo-programistycznych i analitycznych z zakresu informacji technicznej i ekonomicznej. Uczestniczyła w pracach zespołu, który opracował projekt systemu informacyjno-informatycznego dla powstającej Agencji Techniki i Technologii. Była członkiem Rady Naukowej IEPCH, a także Ośrodka Informacji Naukowej PAN. Wykładała w studium podyplomowym na Politechnice Warszawskiej, jak wykorzystywać informację naukową i techniczną w procesach innowacyjnych. Jest członkiem-założycielem i była wieloletnim sekretarzem Polskiego Towarzystwa Informacji Naukowej, które powstało w 1992 roku. Obecnie na emeryturze.

procesów wewnątrzcząsteczkowej asocjacji w dinukleotydach poprzez interpretacje temperaturowej jej zależności w oparciu o teorię szybkich reakcji Noyesa. Wyznaczona dla kilku układów energia aktywacji tego procesu rzędu 2 kcal/mol została zinterpretowana jako energia niezbędna dla usunięcia wody z warstwy hydratacyjnej na powierzchni styku asocjujących warstwowo cząsteczek. Metoda ta znalazła później zastosowanie w badaniach Joanny Gajewskiej nad wpływem obecności w pierścieniu 2-aminopuryny N-9 podstawionej reszty rybozy i jej 5'-fosforanów na warstwową asocjację tej zasady [2100]. Praca ta powstała we współpracy z laboratorium dr. Borisa I. Sukhorukova z Instytutu Biofizyki Akademii Nauk ZSRR w Puszczyńcu.

Wyjazdy na staże doktorskie Jerzego Smagowicza (w 1975 roku) a potem Andrzeja Bierzyńskiego (w 1979 roku) oraz niepowo-

dzenia przy próbach chemicznej syntezy metodą trójstronową w roztworze di- i polidezoksyrybonukleotydów 2-aminopuryny nie pozwoliły nam na realizację planowanych prac nad zastosowaniem tej zasady jako sondy fluorescencyjnej w bardziej złożonych układach.

Termochemiczne i masowo – spektrometryczne badania hydratacji zasad

W celu poznania zmian w hydratacji zasad pirymidynowych i purynowych powodowanych przez podstawniki alkiłowe, determinujące udział hydrofobowych oddziaływań w warstwowej ich asocjacji, z naszej inicjatywy przeprowadzone zostały w laboratorium prof. Wojciecha Zielenkiewicza (Zakład Kalorymetrii, Instytut Chemii Fizycznej PAN w Warszawie), we współpracy z kolegami z Instytutu Fizyki Ukraińskiej Akademii Nauk w Charkowie (I. K. Yanson, A. B. Teplitsky, L.F. Sukhodub), kalorymetryczne pomiary entalpii hydratacji i pojemności cieplnej roztworów [1806, 1807, 1827, 2092, 2289, 2477, 2964, 2963, 2976, 3005, 3015] dla kilku grup N- i C- alkiłowanych ich pochodnych. Powstała w ten sposób unikatowa w skali międzynarodowej baza termochemicznych właściwości zasad nukleinowych w roztworze wodnym. Dane te pozwoliły na sformułowanie wniosków dotyczących zależności hydrofobowej hydratacji zasad od miejsca podstawienia i wielkości podstawnika. Uczestniczyliśmy również w masowo-spektrometrycznych badaniach równowag hydratacji N-alkiłowanych zasad w fazie gazowej [2093, 2265]. Ujawniły one mechanizm i stechiometrię hydrofilnej hydratacji zasad. Dalsze badania termochemicznych właściwości elementów budowy kwasów nukleinowych i białek w laboratorium prof. W. Zielenkiewicza, z udziałem dr. Jarosława Poznańskiego z naszego zespołu doprowadziły do sformułowania ogólniejszej teorii hydrofobowej hydratacji związków [3349].

Przeprowadziliśmy również kalorymetryczne badania termodynamicznej trwałości trójniciowych kompleksów poli U z diastereoizomerami metylofosfonianów ApA i z ApA [2290], które pokazały, w jakim stopniu struktura i ładunek wiązania międzynukleotydu wpływają na warstwowe oddziaływania reszt adeniny. Diastereoizomery metylosulfonianów otrzymaliśmy od dr. P.S. Millera (Johns Hopkins University, Baltimore, USA).

Przeniesienie elektronu między stanami rodnikowymi aminokwasów w peptydach i białkach

Na przełomie lat 70. i 80. duże zainteresowanie budził proces dalekozasięgowego przeniesienia elektronu w białkach (LRET) między centrami rodnikowymi powstającymi w wyniku reakcji utlenienia/redukcji, zwłaszcza między tyrozyną i rodnikiem tryptylowym. Otwartą sprawą pozostawała odległość, na jaką elektron może być efektywnie przenoszony między obu centrami reakcji oraz zależność efektywności tego procesu od struktury rozdzielających je fragmentów białkowych. Podjęliśmy próbę odpowiedzi na te pytania poprzez pomiary kinetyki przemiany rodnikowej $\text{Trp}^{\bullet} \rightarrow \text{TyrO}^{\bullet}$ w serii modelowych peptydów, w których centra te rozdzielone są ustrukturovanym mostkiem oligoprolinowym (*trans* 3_1 -heliks) o różnej długości. Doświadczenia te wymagały dostępu do liniowego, impulsowego akceleratora elektronów, wyposażonego w układ spektrofotometryczny pozwalający na pomiar kinetyki powstawania i zaniku rodników w realnym czasie rzędu ns-ms. Nie było wówczas w Polsce akceleratora spełniającego takie wymagania. Przeprowadziliśmy je więc we współpracy z dr. Jerzym Holcmanem w Narodowym Centrum Badań Jądrowych w Risø (Dania), posiadającym odpowiednio wyposażony akcelerator. Natomiast modelowe peptydy $\text{Trp}(\text{Pro})_n\text{-Tyr}$ ($n = 1-5$) zostały syntetyzowane przez dr. Marka Ciuraka w laboratorium prof. G. Kupryszewskiego na Wydziale Chemii Politechniki Gdańskiej. W celu interpretacji danych kinetycznych LRET Jarosław Poznański metodami ^1H i ^{13}C NMR określił

konformację mostka oligoprolinowego i równowagę *cis-trans* wokół wiązania Trp-Pro w modelowych peptydach [2872]; właściwości konformacyjne tych peptydów opisałismy wraz z Krystyną Majcher także metodą spektroskopii CD [3038].

Wykazaliśmy, że obserwowany quasi-eksponencjalny spadek szybkości reakcji wraz ze wzrostem odległości między jej centrami, Trp^{\bullet} i Tyr , można wyjaśnić przeniesieniem elektronu na dwóch drogach: (i) bezpośrednio między obu centrami dominującym w krótszych peptydach oraz (ii) poprzez mostek oligopeptydowy [2543, 2683, 2851-2852, 3253-3254]. Podobną zależność szybkości przeniesienia elektronu od odległości między centrami reakcji rozdzielonymi mostkiem oligoprolinowym zaobserwowaliśmy również dla innych par redoks: $\text{TrpH}^{\bullet+}/\text{Tyr}$ i $\text{Met}(\text{S}\cdot\text{Br})/\text{Tyr}$ [2683, 2761, 2851], różniących się wielkością sprzężenia elektronowego donor/akceptor. W ten sposób dowiedliśmy, że elektronowa struktura mostka peptydowego, a nie wielkość sprzężenia elektronowego między parą redoks, determinuje spadek amplitudy elektronowej funkcji falowej wzdłuż drogi przeniesienia elektronu. Prace dotyczące konformacji oligoprolinowych peptydów oraz interpretacji mechanizmu przeniesienia elektronu były podstawą pracy doktorskiej Jarosława Poznańskiego [1995 rok].

Równolegle zbadaliśmy kinetykę LRET między centrami redoks $\text{Trp}^{\bullet}/\text{Tyr}$ i $\text{TrpH}^{\bullet+}/\text{Tyr}$ w lizozymie białka jaja kurzego [2615, 3207, 3254], o znanej 3D strukturze w stanie krystalicznym, traktowanym jako białko modelowe. Na podstawie porównawczych pomiarów kinetyki i amplitudy LRET w natywnym lizozymie, lizozymie z selektywnie utlenionymi resztami Trp62 i Trp63 (znajdującymi się na powierzchni białka) oraz w kompleksie z oligosacharydowym substratem wykazaliśmy, że obie te reszty pełnią funkcję centrum akceptorowego. Analiza struktury lizozymu w połączeniu ze statycznym i dynamicznym modelowaniem prawdopodobnych dróg przeniesienia elektronu wewnątrz białka między Trp62/63 i obecnymi w białku trzema resztami Tyr pozwoliła na zaproponowanie Tyr53 jako donora elektronu w obserwowanym procesie LRET. Okazało się ponadto, że



Krystyna Majcher, w sekretariacie Zakładu Biofizyki, 1999.



Jarosław Poznański, (1999).

doświadczalnie wyznaczone energie aktywacji LRET są porównywalne z energiami aktywacji wolnej wymiany H/D. Dowodzi to, że przeniesienia elektronu w białkach może być kontrolowane przez termiczne ruchy poszczególnych domen.

Krzysztof Bobrowski zajmował się równolegle badaniem mechanizmu wewnątrzcząsteczkowych procesów redoks z udziałem rodnika metioniny w modelowych peptydach [2620, 2753, 2759, 2760, 2863, 2916-2917, 2951-2952, 2965-2969, 2981, 3012, 3073, 3105, 3156]: (i) generacją i stabilizacją utlenionego centrum siarkowego, (ii) następczymi procesami połączonymi z powstawaniem rodników zawierających wiązania trójelektronowe S.:S, S.:N i S.:O, prowadzącymi do (iii) degradacji peptydów na drodze dekarboksylacji. Badania te były prowadzone we współpracy z kilkoma kolegami z zagranicznych laboratoriów, dysponującymi aparaturą do pulsowej radiolizy i fotolizy, m.in. z Jerzym Holcmanem, Christianem Schoeneichem i Karlem-D. Asmusem na Freie Universität w Berlinie oraz Bronisławem Marciniakiem na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu). Prace z tego ostatniego zakresu wraz z pracami dotyczącymi przeniesienia elektronu między stanami rodnikowymi tryptofanu i tyrozyny w modelowych peptydach i białkach stanowiły podstawę jego rozprawy habilitacyjnej [1990 rok, Politechnika Łódzka].

Po habilitacji Krzysztof Bobrowski wrócił (w 1992 roku) do Instytutu Badań Jądrowych, gdzie objął stanowisko kierownika Zakładu Chemii Radiacyjnej i wkrótce otrzymał tytuł profesora. W oparciu o zbudowany tam przez siebie nanosekundowy akcelerator elektronów kontynuuje badania nad reakcjami rodnikowymi w modelowych układach peptydowych.

Molekularne oddziaływania w procesie inicjacji transkrypcji *in vitro*

Selekcja substratów przez polimerazę RNA

Początkowo problematyka badań dotyczyła mechanizmu selekcji substratów przez polimerazę RNA (*Escherichia coli*) na etapie syntezy pierwszego wiązania międzynukleotydowego, według metodyki opracowanej przez dr. K.-H. Scheita. Jerzy Smagowicz po powrocie ze stażu u Scheita kontynuował kinetyczne badania abortywnej transkrypcji *in vitro* mające na celu określenie udziału funkcjonalnych grup fosfocukrowego fragmentu NTP w wiązaniu substratów w centrum katalitycznym enzymu. Dołączył do niego Przemysław Szafranski II⁷, lecz niebawem samodzielnie kontynuował prace, ponieważ po wprowadzeniu stanu wojennego w 1981 roku Jerzy Smagowicz pozostał we Francji w laboratorium A. Sentenaca, gdzie zapoznawał się z prowadzonymi

⁷ II, by nie mylić z prof. Przemysławem Szafranskim z Zakładu Biosyntezy Białka.

mi tam badaniami nad polimerazą RNA drożdży. Badania Przemysława Szafranskiego wymagały okresowego otrzymywania i charakterystyki polimerazy RNA z komórek *E. coli*. Wyspecjalizowała się w tym wówczas Krystyna Bolewska, która wraz z Teresą Rak z wielkim powodzeniem do dziś otrzymuje wysoce aktywny enzym dla potrzeb Zakładu. Użyte w tych pracach podejście badawcze polegało na wyznaczaniu kinetycznych parametrów abortywnej transkrypcji charakteryzujących powinowactwo ATP i UTP oraz ich analogów zmodyfikowanych w części 5'-trójfosfocukrowej, o funkcji substratów lub inhibitorów reakcji, do miejsc inicjacyjnego i elongacyjnego kompleksu enzym-promotor. Modyfikacja grupy trójfosforanowej obejmowała jej wydłużenie o jedną resztę lub skrócenie do di- i monofosforanu, a także wstawienie grupy -CH₂- między kolejne reszty fosforanowe. Natomiast reszta rybozy była zastępowana 2'- lub 2',3'- dezoksyntozą. Porównawcza analiza wielkości powinowactwa do każdego z miejsc wiążących dla każdego analogu pozwoliła na ustalenie, które ugrupowania uczestniczą w wiązaniu ATP i UTP do białka oraz w ich oddziaływaniu między sobą. Wykazaliśmy ponadto, że wiązanie substratów ma charakter synergiczny. Na podstawie tych danych zaproponowany został molekularny model wiązania substratów w centrum katalitycznym kompleksu transkrypcyjnego [2396, P. Szafranski, doktorat 1983 rok]. Wprawdzie obecnie struktura kompleksu transkrypcyjnego została już dość dobrze poznana, jednakże jej rozdzielczość jest nadal niewystarczająca, aby można było zweryfikować słuszność naszych propozycji.

Wpływ struktury DNA promotora na inicjację transkrypcji przez polimerazę RNA

Innym zagadnieniem będącym przedmiotem zainteresowania wielu laboratoriów w pierwszej połowie lat 80. była korelacja między sekwencją bakteryjnego promotora, a jego aktywnością w procesie transkrypcji, uwieńczona zaproponowaniem przez W. McClure'a w 1985 roku uzgodnionej sekwencji promotora. W tym kontekście zainteresowanie wielu badaczy skupiało się na poznaniu właściwości konformacyjnych i termodynamicznej trwałości uzgodnionych -10 i -35 heksamerycznych sekwencji DNA promotora. Włączyliśmy się w ten nurt badań. Krystyna Bolewska na drodze chemicznej syntezy (metodą trójestrową w roztworze) otrzymała dwuniciowy dodekamer z uzgodnioną sekwencją TATAAT rejonu -10 promotora w centralnej części i opisała jego właściwości konformacyjne i termodynamiczne metodami pomiaru profilu topnienia UV, różnicowej kalorymetrii oraz rozkładu szybkości hydrolizy wiązań fosfodwuestrowych przez DNazę I [2249, doktorat 1985 rok]. Okazało się, że sekwencję tę cechuje wysoka dynamika konformacyjna, co znalazło potwierdzenie w niezależnych badaniach grupy D. J. Patela (1983 rok) metodą wysokorozdzielczej spektro-

skopii NMR. Z tego względu, próby krystalizacji duplexu podjęte przez dr Olgę Kennard (Oxford University, Anglia), nie zostały, niestety, uwieńczone powodzeniem.

Wysoka dynamika konformacyjna fragmentów dwuniciowego DNA zawierającego sekwencje TATAAT oraz odkrycie przez grupę D. Crothersa (1987 rok) zaginania osi helisy DNA przez powtórzenia A_n ($n = 5,6$) stały się punktem wyjścia do podjęcia długofalowego projektu badawczego, którego celem była synteza serii promotorów zawierających takie sekwencje w różnych rejonach promotora z uzgodnionymi heksamerami -10 i -35 , a następnie określenie ich wpływu na budowę otwartego kompleksu transkrypcyjnego oraz moc promotora *in vivo* i *in vitro*. Wykonanie tych zamierzeń w ówczesnych warunkach było możliwe tylko dzięki współpracy z laboratorium dr. Wojciecha Markiewicza (Instytut Chemii Bioorganicznej PAN), gdzie zostały syntetyzowane oligonukleotydowe fragmenty promotorów. Promotorowe DNA otrzymano, łącząc te fragmenty ze sobą ligazą faga T4. Tomasz Łoziński w trakcie stażu przeddoktorskiego w laboratorium prof. H. Bujarda (Uniwersytet w Heidelbergu, RFN) opanował metody klonowania promotorów oraz kwantyfikacji transkryptów RNA powstających pod ich kontrolą *in vivo*. Okazało się, że sekwencje $A_n \cdot T_n$ zaginające oś helisy DNA obniżają znacząco moc promotora *in vivo* tylko wówczas, gdy mają one dwie pary zasad (-35 i -34) wspólne z heksamerem -35 . Także ruchliwość elektroforetyczna otwartych kompleksów transkrypcyjnych, proporcjonalna do kwadratu średniej odległości końców cząsteczki DNA, była obniżona tylko dla kompleksów utworzonych na promotorze z tak ułożoną sekwencją $A_n \cdot T_n$ [2616, 2751⁸; Tomasz Łoziński, praca doktorska 1991 rok]. Ponieważ ruchliwość elektroforetyczna wszystkich promotorów zawierających te sekwencje (także powyżej regionu -35 i między tym regionem a regionem -10) wskazywała na zagięcie promotora, zgodne z teoretyczną analizą superstruktury DNA, było oczywiste, że tylko w rozważanym przypadku zaburzenie specyficznych oddziaływań między polimerazą RNA a rejonem -35 promotora powoduje zmniejszenie odległości między końcami DNA w otwartym kompleksie transkrypcyjnym [3111]. Dopiero jednak późniejsze badania kinetyki abortywnej reakcji transkrypcji *in vitro* [Iwona Kolasa, praca doktorska 2001 rok; 3613, 3663, 3808] pokazały, że zaginające DNA sekwencje w zależności od swojego położenia w promotorze w różny sposób wpływają na kinetykę wieloetapowego procesu inicjacji transkrypcji, mimo podobnej mocy promotorów *in vivo*. Niezgodność oceny mocy promotorów *in vitro* i *in vivo* okazała się pozorna



Iwona Kolasa, 1999 r.

i spowodowana kontrolą użycia silnych promotorów *in vivo* na etapie elongacji transkrypcji, nieobecnych w układzie doświadczeń *in vitro*.

Pomiary kinetyki abortywnej reakcji transkrypcji, polegające na szybkiej jej inicjacji (martwy czas rzędu 15 s) a następnie pomiarze czasu dojścia do stanu równowagowego w funkcji stężenia polimerazy RNA, wymagały dużej precyzji. W tym celu reakcje były monitorowane w sposób ciągły metodą pomiaru natężenia emisji fluorofora (pyrofosforan ANS) uwalnianego z substratu (γ -ANS-UTP). Spektrofluorymetryczny układ do tych pomiarów, sprzężony z komputerem wyposażonym w oprogramowanie pozwalające na ciągłą rejestrację zmian w natężeniu fluorescencji, zestawił i oprogramował Jakub Góral.

Badania objęły 12 promotorów zawierających sekwencje A_n ($n = 5,6$) ulokowane w trzech rejonach promotora: (i) proksymalnej części elementu UP, (ii) heksameru -35 oraz (iii) w obszarze łącznika rozdzielającego regiony -35 i -10 . Przeprowadziła je Iwona Kolasa [praca doktorska; 2001 rok] w oparciu o opracowaną przez siebie metodykę doświadczeń, we współpracy z Tomaszem Łozińskim. Analiza danych kinetycznych, pokazała, że sekwencje A_n w zależności od ich położenia powodują: (i) wzrost stałej szybkości powstawania RPo (kompleks otwarty), gdy są ulokowane powyżej heksameru -35 promotora, w tzw. proksymalnej części elementu UP, zarówno w nici transkrybowanej, jak i nietranskrybowanej DNA, (ii) kilkakrotny jej spadek, gdy znajdują się w nici nietranskrybowanej w rejonie heksameru -35 [3663], (iii) a jeszcze większy, jeżeli występują w rejonie „rozszerzonego heksameru -10 ” w nici transkrybowanej [3808]. Interpretacja tych obserwacji doprowadziła nas do wniosku, że są one najprawdopodobniej spowodowane nie tyle zagięciem osi helisy DNA, lecz szczególną geometrią DNA (zwężenie małej bruzdy w kierunku 5'-3') w rejonie sekwencji A_n ($n = 5,6$). Powoduje ona silniejsze wiązanie domeny CTD podjednostki α polimerazy RNA z proksymalną częścią elementu UP promotora (i), osłabia specyficzne oddziaływanie heksameru -35 z α CTD i z domeną 4 podjednostki σ^{70} (ii) oraz z dome-

⁸ Obie te prace zostały wyróżnione przez Polskie Towarzystwo Biochemiczne Nagrodą im. Jakuba Parnasa jako najlepsze polskie prace opublikowane w zagranicznym czasopiśmie.



Kazimierz L. Wierchowski, po formalnym przejściu na emeryturę, nadal prowadzi badania ze swoim zespołem – Tomasz Łoziński, Teresa Rak, Krystyna Bolewska i Jarosław Poznański, 2003.

ny 3 podjednostki σ^{70} z rejonem promotora powyżej heksameru -10 (iii).

W związku z postulowaną przez kilka laboratoriów kontrolą przez jony Mg^{2+} wielkości bąbla transkrypcyjnego w RPo na promotorze λP_R i indukcją dalszej izomeryzacji tego kompleksu (grupa T. Recorda, Jr.),



Spotkanie po latach, z okazji obchodów 50. działalności Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN (26 listopada 2004 roku). Siedzą: Krzysztof Berens, Ewa Litońska i Hanna Kozłowska, stoją (od lewej): Bożenna Rempola, Roman Lisewski, Krzysztof Bobrowski, Krystyna Zakrzewska, Elżbieta Stępień, Maria Żyloń, Krystyna Bolewska, Tomasz Łoziński, Magdalena Fikus, Kazimierz Lech Wierchowski.

przeprowadziliśmy pomiary szybkości dysocjacji RPo utworzonego na modelowym promotorze Pa w funkcji stężenia Mg^{2+} i temperatury [3613] oraz szybkości utleniania przez $KMnO_4$ reszt tyminy w bąblu transkrypcyjnym w nieobecności i w obecności jonów Mg^{2+} [3570-3571]. Doświadczenia te wykazały niesłuszność obu poglądów. Wykazaliśmy, że były one w dużej mierze oparte na interpretacji footprintów $KMnO_4$ bąbla transkrypcyjnego otrzymanych przy użyciu zbyt dużych dawek utleniacza, prowadzących do uszkodzenia polimerazy RNA i destrukcji kompleksu transkrypcyjnego. Opracowaliśmy więc bardziej wiarygodną procedurę otrzymywania i kinetycznej interpretacji footprintów $KMnO_4$ kompleksów białek z DNA

[3761]. Wykonane ostatnio przez Tomasza Łozińskiego analogiczne doświadczenia dla kompleksu RPo/ λP_R wykazały, że nasza krytyka prac z laboratorium T. Recorda była w pełni uzasadniona. Doświadczenia te wykazały ponadto, że obserwowane przyśpieszenie reakcji utleniania reszt tyminy w nukleotydach i w RPo przez jony Mg^{2+} polega na obniżeniu elektrostatycznej bariery dla dyfuzji anionów nadmanganianu do centrum reakcji, może więc być traktowane jako miara modulacji elektrostatycznego potencjału grup fosforanowych wzdłuż rozdzielonych nici DNA w kompleksie przez dodatnio naładowane grupy zasadowych aminokwasów stabilizujących bąbel transkrypcyjny.

Struktura domeny 4 podjednostki σ^{70} polimerazy RNA z *E. coli*

Równolegle włączyliśmy się w nurt badań prowadzących do poznania struktury domeny 4 podjednostki σ^{70} polimerazy RNA z *E. coli*, uczestniczącej w specyficznym rozpoznaniu rejonu -35 promotorów. W tym celu Krystyna Bolewska otrzymała rekombinacyjny fragment tej podjednostki (z N-His₆-tagiem) do badań strukturalnych metodami CD, NMR i krystalografii. Okazało się, że białko to rozpuszcza się w wodzie tylko w formie uprotonowanej i nie przyjmuje w tych warunkach zdefiniowanej struktury. Jarosławowi Poznańskiemu udało się jednak zinterpretować w widmie NMR chemiczne przesunięcia atomów głównego szkieletu i łańcuchów bocznych tego białka [3569]. Na tej podstawie oraz na podstawie wyników pomiarów parametrów relaksacji stanów spinowych wykazaliśmy [3770], że w populacji częściowo rozfałdowanych cząsteczek białka zachowana jest w dużym stopniu tendencja do przyjmowania struktury zbliżonej do obserwowanej w kryształach analogicznych domen polimeraz RNA bakterii *Thermus aquaticus* i *T. thermophilus*. W celu otrzymania zdefiniowanej struktury tej domeny, otrzymaliśmy jej kompleks z monomerem białka AsIA

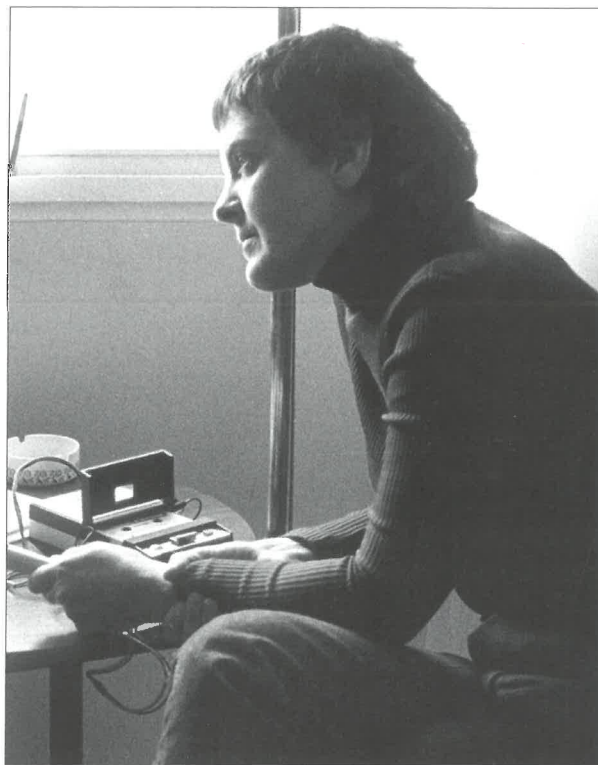
faga T4, specyficznie wiążącego σ^{70} w procesie transkrypcji DNA faga *in vivo*. Dalsze badania są w toku.

Zespół Magdaleny Fikus (1975-1997)

Magdalena Fikus

Do IBB przyszedłam z Zakładu Biofizyki UW w sierpniu 1975 roku po zakończeniu przez Radę Naukową IBB PAN przewodu habilitacyjnego z zakresu pochodnych kwasów nukleinowych, ich struktury i cech jako substratów enzymów. Moja wiedza w dziedzinie cech fizycznych, chemicznych i biologicznych całego wachlarza pochodnych, od zasad, nukleozydów, nukleotydów po polinukleotydy, pozwalała mi na przyjęcie propozycji organizacji zespołu zajmującego się enzymami restrykcyjnymi, złożonej przez Dyrektora IBB i Kierownika Zakładu Biofizyki. Pozytywną stroną tej sytuacji była również ta okoliczność, że wielu kolegów z IBB i Zakładu znałam z wcześniejszego bytowania razem w PZH, gdzie wykonywałam pracę doktorską nad fotochemicznymi przemianami pochodnych pirymidynowych, pod kierunkiem prof. Davida Shugara, w ścisłej współpracy z dr K.L. Wierzchowskim. Badania w zakresie inżynierii genetycznej należały do nowych na świecie – pierwszy enzym restrykcyjny typu II, *Eco* RI, opisano zaledwie dwa lata wcześniej. Wielu technik laboratoryjnych nauczyłam się u Michała Bagdasarian, z wielką satysfakcją pamiętam ten okres długich dyskusji merytorycznych i wspólnych doświadczeń. Z Elżbietą Stępień i Teresą Rak oczyściłyśmy restryktazę *Eco* RI od innych nukleaz i zajęłyśmy się badaniem specyficzności i roli inhibitorów w działaniu na kolisty substrat, plazmid Col E1 niosący jedno miejsce *Eco* RI, pod kątem znaczenia struktury trzeciorzędowej (superheliks, CCC, v. forma otwarta kołowa, OC) [1591, 1744]. Ten sam problem podjął w ramach pracy doktorskiej Piotr Naimski (obrona w 1980 roku), który charakteryzował enzym *Hpa* II i jego kolisty substrat, genom bakteriofaga PM2. [2054, 2054a]. Ważny cykl doświadczeń z tego zakresu wykonał Piotr Naimski, współpracując z Andrzejem Bierzyńskim [2054a]. Genom PM2 sklonowała i badała w *E. coli* dr Elżbieta Grzesiuk wraz z Bożenną Rempołą [1917, 2101].

Koniec lat 70. rozpoczął w środowisku naukowym dyskusję nad przyszłością biotechnologii w świecie i w Polsce (współredagowałam Raport kilku Komitetów PAN w o tych zagadnieniach, w 1984 roku), stąd też nasze dalsze zainteresowania skierowaliśmy ku klonowaniu w mikroorganizmach genów wybranych białek eukariotycznych. Bożenna Rempoła zajęła się chemicznie syntetyzowanymi przez Wojciecha Markiewicza z IChB PAN w Poznaniu oraz Włodzimierza Mandeckiego z USA odcinkami DNA kodującymi inhibitor proteaz serynowych z roślin dyniowatych, wklonowanymi do *E. coli* i *S. cerevisiae* (potrzebne były różne „geny” do komórek eukariotycznych i prokariotycznych). Gru-



Magdalena Fikus przeprowadza wywiad z kimś „ważnym”, 1979 r.

pą inhibitorów proteaz zajmuje się do dziś wiele pracowni na świecie, należą do głównych modeli badawczych w Zakładzie, mają duże znaczenie w badaniach przestrzennych struktur białek utrzymywanych wiązaniami S-S [3029, 3117, 3145]. Jolanta Kulik-Topczewska sklonowała w drożdżach syntetyzowany w IBB „gen” kodujący ludzki tkankowy czynnik epidermalny (HuEFG). EGF był uznawany jako potencjalny lek i tak też został w laboratoriach biotechnologicznych na świecie przygotowany, a w klinikach zastosowany [3110]. W obu cyklach klonowania zastosowano wiele wektorów, w tym po raz pierwszy w IBB wektory sekrecyjne, bakteryjne i własnej konstrukcji drożdżowy (JKT), i tylko te umożliwiły uzyskanie obu białek w ilościach analitycznych. Tematu, niestety, nie kontynuowano ze względów finansowo-technicznych. Obrony prac doktorskich Bożenny Rempoły i Jolanty Kulik-Topczewskiej odbyły się w 1996 roku.

Poszukując ważnych tematów z punktu widzenia biotechnologii, podjęłam współpracę z zespołami prof. Anny Ingot (Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN) i prof. Jacka Młochowskiego (Politechnika Wrocławska) nad mechanizmami działania niskocząsteczkowych inhibitorów interferonu, w tych badaniach uczestniczyły Hanna Kozłowska i Bożenna Rempoła z naszego Zakładu i Teresa Gołaś z Zakładu Biofizyki UW [2416, 2457, 2467, 2541].

W 1985 roku rozpoczęłam współpracę z zespołem doc. Jerzego Zielińskiego z Instytutu Elektrotechniki (Stefan Różycki, Piotr Marszałek) w zakresie badania



Klonowanie się udało! Bożenna Rempola i Hanna Kozłowska, 1999 r.

wpływu różnorodnych pól elektrycznych na żywe komórki. W pierwszym okresie w pracach tych uczestniczyła Elżbieta Grzesiuk [2327]. Wybrany obiektem, głównie ze względów technicznych, była komórka *Neurospora crassa slime*, jednokomórkowy, pozbawiony ściany komórkowej mutant. Prace te należą do pionierskich w tej dziedzinie, zastosowano w nich aparaturę własnej konstrukcji wytwarzającą w skali mikroskopowej obserwacji zmienne pola o wysokiej częstotliwości w szerokim zakresie zmienności oraz impulsowe pola wysokonapięciowe. Analizując wyniki, opracowano modele takich zjawisk jak: dielektroforeza, elektroporacja i elektrofuzja [2468, 2595, 2669, 2675]. Zjawiska te wykorzystywane są dziś na skalę masową w laboratoriach biologii molekularnej, a w IBB znajduje się kilka aparatów do elektroporacji, użytecznych na co dzień w transformacji genetycznej komórek (niestety, niepolskiej konstrukcji).

W 1986 roku do zespołu w IBB dołączył absolwent Wydziału Fizyki UW, Piotr Pawłowski, który skoncentrował się na problematyce elektroeologii, czyli skutków działania mechanicznych naprężeń generowanych w błonie komórkowej przez zmienne pole elektryczne wysokiej częstotliwości. Unikatowa aparatura do tych prac, wymagająca niezwykle pracochłonnych doświadczeń, została skonstruowana na Politechnice Warszawskiej. Piotr łączył w swojej pracy umiejętność wykonywania takich subtelnych doświadczeń z pasją do opisu teoretycznego obserwowanych zjawisk. Badał zakresy naprężeń sił mechanicznych dających deformację odwracalną, nieodwracalną i prowadzącą do destrukcji komórek [2613, 2614, 2749, 2829, 2893]. Pod jego czujnym okiem bardzo dobre prace magisterskie wykonały w naszym laboratorium Irena Szutowicz [2894, 3109] i Anna

Poznańska [3240], natomiast dyskusji z Jarosławem Poznańskim zawdzięczamy wiele pomysłów eksperymentalnych i teoretycznych. Wyniki podsumowane w pracy doktorskiej Piotra Pawłowskiego (1995 rok) stanowią spójny cykl pionierskich prac nad reologią błony komórkowej, trwały podstawę dla reologii cząsteczek, którą już niezależnie od nas podjął w USA nasz były współpracownik, wspomniany już Piotr Marszałek.

W 1997 roku podjęłam trudną dla siebie decyzję rezygnacji z pracy badawczej na rzecz działalności dydaktycznej i upowszechnienia nauki. Za namową Davida Shugara, Marka Niezgódki i Bogdana Lesynga (dwaj ostatni z ICM UW) oraz dzięki poparciu i akceptacji Dyrektora IBB Włodzimierza Zagórskiego, zostałam wicedyrektorem War-

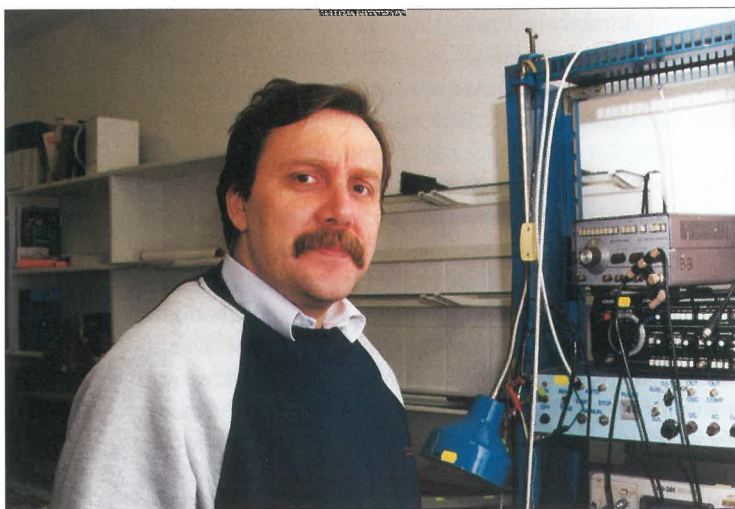
szawskiego Festiwalu Nauki, dorocznej imprezy upowszechniającej naukę. W 2004 roku odbył się już VIII Festiwal i nadal przyciąga do udziału coraz nowe placówki badawcze⁹. Ponadto prowadzę wykłady z inżynierii genetycznej i biotechnologii na licznych uczelniach Polski (UW, UMCS, SGGW, Politechnika Warszawska, Akademia Medyczna w Warszawie, Akademia Podlaska). Zajmuję się też upowszechnianiem wiedzy w prasie, radiu i telewizji.

Funkcjonalna analiza genów *Saccharomyces cerevisiae*

Bożenna Rempola

W 1997 roku wróciłam do IBB z rocznego stażu podyktorskiego w Centre de Genetique Moleculaire CNRS w Gif-sur-Yvette pod kierunkiem prof. Piotra

⁹ Zobacz rozdział: Festiwal Nauki.



Piotr Pawłowski przy aparacie swojej konstrukcji do elektroporacji komórek, 1999 r.

Słonimskiego. Zajmowałam się funkcjonalną analizą nowo odkrytych genów *Saccharomyces cerevisiae*, a więc tematyką, która w tym czasie rozwijała się bardzo intensywnie. Po powrocie do Instytutu, we współpracy z prof. Słonimskim i z prof. Joanną Rytką z Zakładu Genetyki IBB, kontynuowałam rozpoczęte jeszcze we Francji badania funkcji dwóch niezwykle interesujących homologicznych genów nazwanych przez nas *RRD1* i *RRD2*. Geny te mają swoje ortologi u wyższych eukariontów z człowiekiem włącznie. Ludzki ortolog białek Rrd – PTPA jest białkiem o nieznanym funkcji *in vivo*, natomiast *in vitro* wykazuje aktywność aktywatora fosfataz fosfotyrozynowych. Nasze badania wykazały, że oba badane geny pełnią w komórce istotną funkcję i są zaangażowane w różnorodne procesy, wchodząc w interakcje z kaskadami kinaz HOG1 i SLT2. Sugeruje to udział genów *RRD* w przekazywaniu sygnałów komórkowych [3463, 3615]. We współpracy z prof. J. Rytką i jej zespołem (doktorantką Iwoną Karkusiewicz) zajęłam się także analizą funkcji genu *YIL019w/FAF1*. Wykazaliśmy, że gen ten, niezbędny do życia komórki, zaangażowany jest w proces biogenezy rybosomów oraz bierze udział w syntezie małej podjednostki rybosomu 40S [3829, 3838].

Struktura i zwijanie się białek

Andrzej Bierzyński

Konformacja helikalna oligopeptydów

W ramach stażu podoktorskiego w latach 1979-1981 pracowałam w laboratorium prof. R.L. Baldwina na Uniwersytecie Stanforda w USA. Głównym tematem były badania konformacji peptydu C (fragment RNazy A) metodą spektroskopii NMR. Wykazano, że peptyd przyjmuje w dużym stopniu konformację helisy alfa, co przeczyło ówczesnym teoriom powstawania helisy i zapoczątkowało badania nad specyficznymi oddziaływaniami stabilizującymi konformację helikalną łańcuchów polipeptydowych [2098, 2156]. Badania te są do dziś prowadzone w różnych laboratoriach na świecie, także przez zespół powstały w 1982 roku w Zakładzie Biofizyki IBB, po moim powrocie do kraju.

Prace mego zespołu doprowadziły do identyfikacji pewnych oddziaływań pomiędzy grupami bocznymi aminokwasów stabilizujących [2429] i destabilizujących [2713] helisę alfa. Stanowiły podstawę mojej habilitacji w 1988 roku i rozprawy doktorskiej Michała Dadleza w 1991 roku. Prowadzone równolegle badania białek wiążących jony wapnia (patrz niżej) doprowadziły do zastosowania izolowanej pętli wapniowej kalmoduliny w badaniach konformacji helikalnej krótkich peptydów.



Grażyna Goch – jej domeną są pomiary widm fluorescencyjnych, 1999 r.

Początkowo celem prac było wyznaczenie energii oddziaływania pomiędzy dipolem helisy i dodatnim ładunkiem usytuowanym na jej końcu C (jon Ln^{3+}). Zarówno badania doświadczalne oparte na pomiarach stałych wiązania lantanowców do peptydów modelowych, jak i obliczenia teoretyczne (praca doktorska Krzysztofa Pawłowskiego, 1997 rok) wykazały, że oddziaływanie to jest słabe i jego energia wynosi ok. -0,4 kcal/mol.

Następnie okazało się, że pętla wapniowa związana z jonom lantanowca stanowi unikatowy system strukturalny inicjujący powstanie helisy [3368]. Użycie tego systemu pozwoliło wyznaczyć parametry termodynamiczne bardzo krótkich helis, zbudowanych z kilku zaledwie reszt amino-kwasowych [3742]. Uzyskane wyniki mają podstawowe znaczenie dla wyjaśnienia mechanizmu powstawania struktury helikalnej podczas zwijania się białek w postać natywną. Sukces został osiągnięty dzięki mistrzowskiemu opanowaniu przez Grażynę Goch techniki pomiarów fluorescencyjnych i CD, a także dzięki mojemu doktorantowi Maciejowi Maciejczykowi, który przeprowadził skrupulatną analizę teoretyczną wyników doświadczalnych.

Badania białek wiążących jony wapnia

Białkami wiążącymi wapń zwanymi „EF-hand proteins” zająłem się w 1987 roku z inspiracji Grzegorza Boguty, który wówczas wykonywał prace zlecone w Katedrze Biofizyki UW a także już od 10 lat pracował, choć nieoficjalnie i z licznymi przerwami, w zespole utworzonym przez prof. Witolda Drabikowskiego w Instytucie Biologii Doświadczalnej. Przedwcześnie zmarły w 1983 roku prof. Drabikowski był wybitnym uczonym i jednym z pionierów badań białek wiążących jony wapnia. Do tej pory w literaturze światowej są cytowane jego prace dotyczące kalmoduliny i troponiny C – najważniejszych reprezentantów białek EF-hand.

Wraz z Dariuszem Stępkowskim, uczniem prof. Drabikowskiego, Grzegorz zajął się porównawczą analizą

sekwencji białek z rodziny EF-hand, co doprowadziło do opracowania algorytmu pozwalającego oszacować stałe wiązania wapnia tych białek na podstawie ich struktury pierwszorzędowej. Następnie zwrócił się do mnie o pomoc w opracowaniu uzyskanych wyników i przygotowanie tekstu publikacji [2568, 2586a, 2586b] i w ten sposób „zaraził” mnie swoim entuzjazmem dla badań w tej dziedzinie. Problematyką tą zainteresował także dwóch wybitnie uzdolnionych teoretyków – Tomasza Wesołowskiego i Adama Godzika – którzy byli wówczas doktorantami Bogdana Lesynga, kierownika Zakładu Biofizyki UW. Tomasz zaproponował niezwykle interesujący sposób analizy oddziaływań elektrostatycznych odpowiedzialnych za kooperatywność wiązania jonów wapnia przez białka EF-hand. Praca z Tomkiem przy analizie jego wyników i przygotowaniu tekstu publikacji [2740] była dla mnie niezwykle owocna. Nauczyła mnie, jak porozumiewać się z teoretykami, czego można oczekiwać od metod teoretycznych i jak interpretować ich wyniki.

Współpraca z Adamem Godzikiem zaowocowała później, kiedy Adam, będąc pracownikiem Scripps Institute w La Jolla w USA, jako wybijający się specjalista w przewidywaniu struktury białek kierował pracami mojego doktoranta Krzysztofa Pawłowskiego, w zakresie teoretycznego modelowania struktury białka S100A1 [3124, 3214].

Białkami S100, które stanowią jedną z rodzin białek EF-hand, zainteresowałem się dlatego, że algorytm opracowany Bogutę i Stępkowskiego [2586b] przewidujący stałe wiązania wapnia wyraźnie zawodził w ich przypadku, co sugerowało, że struktura tych białek jest szczególna.

Eksperymentalne badania mechanizmu wiązania wapnia przez białka S100, rozpoczęte w 1991 roku okazały się bardzo trudne i wymagały zastosowania szeregu nowych, wówczas niedostępnych dla nas technik badawczych: przede wszystkim spektroskopii NMR i spektrometrii masowej (patrz: rozdział poświęcony aparaturze i metodom badawczym). Konieczne było opanowanie metody produkcji i oczyszczania rekombinowanego białka i jego mutantów ekspresjonowanych w *E. coli*. oraz znakowania białek izotopami ^{15}N i ^{13}C [3215]. Dopiero teraz wysyłamy do publikacji pracę przedstawiającą wyniki badań (G. Goch, S. Vdovenko, H. Kozłowska i A. Bierzyński, *Calcium-dependent biological activity of S100A1 protein can be regulated by glutathionylation of its unique Cys 85 residue*, w przygotowaniu). Udało się ją wykonać dzięki mistrzostwu Grażyny Goch w prowadzeniu pomiarów fluorescencyjnych i interpretacji ich wyników oraz dzięki mrówczej, niezwykle starannej pracy dr. Sergiusza Wdovenki z Kijowa, który jako stypendysta pracował pod kierunkiem Grażyny Goch w sumie przez dwa lata pomiędzy końcem 1997 a połową 2002 roku.

Praca jest pierwszym opublikowanym dotychczas

starannym studium mechanizmu wiązania wapnia do typowego białka S100, a mianowicie do białka S100A1, a ponadto dowodzi, że koordynacja wapnia przez to białko jest regulowana poprzez glutationylację jego jedynej reszty cysteinowej Cys 85. Tak więc białko S100A1, a także kilka innych białek homologicznych do niego, najprawdopodobniej pełni funkcję „zwozników” sprzęgających dwa główne szlaki sygnalizacyjne: wapniowy i oksydacyjny.

To ważne odkrycie ma ciekawą historię, którą, jak sądzę, warto tu przedstawić.

Cząsteczki typowych białek S100 są zbudowane z dwu podjednostek bardzo silnie związanych ze sobą niekowalencyjnie. Jednakże badania *in vitro* białka S100B wykazały, że utworzenie mostków dwusiarczkowych pomiędzy podjednostkami białka determinuje jego aktywność jako stymulatora procesu wydłużania neurytów. Toteż jednym z głównych celów naszych badań miało być porównanie właściwości koordynacyjnych i strukturalnych białka S100A1 zbudowanego z podjednostek związanych kowalencyjnie i niekowalencyjnie. Dostępne dla nas metody analityczne wskazywały, że z bakterii *E. coli* izolujemy obie te formy białka i że wykonana została ogromna praca, by je zbadać. Kiedy jednak uzyskaliśmy dostęp do spektrometru masowego Q-ToF (patrz niżej), okazało się, że białko zidentyfikowane jako dimer kowalencyjny jest w istocie dimerem niekowalencyjnym, w którym grupy $-\text{SH}$ cysteiny utworzyły wiązanie dwusiarczkowe z β -merkaptotoetanolem używanym w procesie izolacji białka.

Gdybyśmy wiedzieli o tym wcześniej, nie badalibyśmy „śmiecia” przypadkowo powstającego w procesie preparatyki białka. Dzięki popełnionej omyłce mieliśmy w ręku wyniki wykazujące, że modyfikacja grupy $-\text{SH}$ reszty Cys 85 w dramatyczny sposób zwiększa zdolność białka S100A1 do wiązania jonów wapnia. Doprowadziło to do odkrycia, że najpewniej to glutationylacja determinuje biologiczną aktywność białka S100A1 zależną od wapnia.

Strukturę białka zmodyfikowanego β -merkaptotoetanolem ustalił Igor Żukow (praca doktorska z 1991 roku) za pomocą NMR (I. Zhukov, A. Ejchart, i A. Bierzyński, *NMR structure of S100A1 protein in calcium-free form with disulphide group of its Cys85 residue blocked with β -mercaptoethano*, w przygotowaniu). Wszystko wskazuje na to, że białko glutationylowane ma bardzo podobną strukturę, co zostanie niebawem sprawdzone przez porównanie odpowiednich widm NMR. Badania strukturalne pozwolą wyjaśnić, dlaczego modyfikacja Cys 85 białka S100A1 ma tak wielki wpływ na zdolność wiązania wapnia przez to białko.

Bardzo owocne były badania fragmentów białek EF-hand, a mianowicie peptydów o sekwencji analogicznej do III pętli wiążącej wapń w kalmodulinie. Wykazaliśmy, że takie peptydy, wysycane jonami lantanowców tworzą dimery o tej samej konformacji co odpowiednie

fragmenty struktury pełnego białka [3184]. Praca stanowi unikatowy przykład zastosowania analizy poszerzenia linii sygnałów NMR w badaniach kinetyki i równowagi oddziaływań międzycząsteczkowych, choć wykorzystuje klasyczną metodę badania przejść konformacyjnych w białkach.

Uprzednio powiedziano o wykorzystaniu pętli wapniowych w badaniach struktury heliakalnej peptydów.

Badania białka CMTI – I

Badania tego roślinnego inhibitora proteinaz, odkrytego i wyizolowanego przez zespół profesorów Wilusza i Polanowskiego z Uniwersytetu Wrocławskiego, rozpoczęły się w 1990 roku. Zdawało się, że CMTI – I będzie znakomitym modelem do badań procesu zwijania białek przy użyciu metody opartej na pomiarze kinetyki powstawania mostków dwusiarczkowych, która została opracowana przez Thomasa Creightona i bardzo owocnie zastosowana przez niego, a następnie przez Petera Kima w badaniach zwijania BPTI. Poważny udział w tych badaniach miał Michał Dadlez, który jako „postdoc” pracował w zespole Kima w latach 1991-1993.

CMTI – I, podobnie jak BPTI, jest stabilizowany przez trzy mostki dwusiarczkowe, lecz jego cząsteczka jest znacznie mniejsza. Wydawało się zatem, że cząsteczka CMTI – I stanowi znacznie prostszy, lecz równie ciekawy obiekt badań co BPTI. Te rachuby okazały się błędne. Dzisiaj, z perspektywy kilkunastu lat, można powiedzieć, że metoda Creightona w zastosowaniu do BPTI odniosła wielkie sukcesy, ale też niemal wyczerpała swoje możliwości. Została zarzucona, ponieważ podobne badania kilku innych białek, w tym i nasze prace, nie doprowadziły do odkryć w istotny sposób rozszerzających wiedzę o procesie zwijania się białek.

Niemniej udało się nam uzyskać ciekawe wyniki pokazujące, że z pozoru nieistotna mutacja w sekwencji CMTI – I dramatycznie wpływa na stabilność strukturalną i proces zwijania się białka. Pomiary NMR wyjaśniły mechanizm tego zjawiska [3096, 3470].

Obok celów poznawczych badania struktury mutantu CMTI – I miały inny, może nawet ważniejszy cel – a mianowicie opanowanie technik badawczych niezbędnych dla określenia struktury białka metodą NMR, począwszy od produkcji rekombinowanego białka, w szczególności znakowanego ^{15}N i ^{13}C , a skończywszy na umiejętności stosowania programów analizujących wyniki pomiarów NMR, symulujących strukturę białkową i oceniających jej wiarygodność. Cząsteczka CMTI – I idealnie nadawała się do tego celu, ponieważ jest mała, sztywna, bardzo dobrze rozpuszczalna w wodzie, a struktura białka natywnego była znana zarówno z krystalografii, jak i z pomiarów NMR. Ten cel został w pełni osiągnięty. Po raz pierwszy w polskim laboratorium została określona struktura białka metodą NMR (mutant CMTI – I) dzięki pracy Krystyny Bolewskiej i Hanny Kozłowskiej (produkcja białka w układzie ekspresyjnym *E. coli*), a przede wszystkim dzięki talentowi i pracowitości Igora Żukowa, który opanował NMR-owskie techniki pomiarowe i metody analizy ich wyników.

Zwijanie BPTI, peptydy alzheimerowskie

Michał Dadlez

W kilka dni po obronie doktoratu w styczniu 1992 roku znalazłem się w Bostonie jako nowy „postdoc” w laboratorium prof. Petera S. Kima w Instytucie White-



Michał Dadlez i Konrad Zdanowski, 1999 r.

heada, MIT. Ten skok na bardzo głęboką wodę przeżyłem chyba tylko dzięki zupełnej nieświadomości znaczenia uczynionego kroku – naukowy kaliber zarówno mojego przyszłego szefa, jak i przyjmującej mnie Instytucji powinien sparaliżować moje władze umysłowe. Nieświadomość pomogła – po pewnym czasie znalazłem swoje miejsce w zespole, zaproponowałem temat pracy i owocnie pracowałem przez ponad dwa lata. W rezultacie mogłem wrócić do kraju z bagażem dwu solidnych publikacji, własną metodą badania struktur białkowych i ambitnymi planami na przyszłość. Badania prowadzone w USA dotyczyły pierwszego kroku na drodze związania modelowego białka – inhibitora trypsyny z trzustki bydłowej (BPTI). Udało się określić, co jest zarodkiem związania w tym białku, niemniej temat nie był wyczerpany i uważałem jego kontynuację w kraju za najciekawszą. Miałem wątpliwość, czy nie jest to zadanie zbyt ambitne, wymagało bowiem przeniesienia wszystkich używanych w USA technik do IBB. Główną trudność w tym czasie (1994 rok) stanowiło wprowadzenie nowoczesnych technik nadekspresji białek w układzie heterologicznym na potrzeby badań strukturalnych w Zakładzie Biofizyki. Dzięki życzliwości Andrzeja Bierzyńskiego i doświadczeniu Krystyny Bolewskiej w tej dziedzinie udało się to w pełni. Umiejętności te pozwoliły sprawnie wykonywać dowolne serie mutantów naszego obiektu badań w wymaganych miligramowych ilościach, pozwoliły na pełną charakterystykę zarodka związania w BPTI [3190, 3237, 3413, 3380, 3652]. Jedną z tych prac [3380] stanowiła podstawę pracy doktorskiej Konrada Zdanowskiego. Nasza sprawność biotechnologiczna pozwoliła również nawiązać owocną współpracę z zespołem prof. Jacka Otlewskiego z Uniwersytetu Wrocławskiego, który również interesował się BPTI, lecz w aspekcie jego oddziaływania z trypsyną i innymi enzymami proteolitycznymi. Wspólnie wykonane prace [3383, 3505, 3535] przyczyniły się do lepszego poznania czynników decydujących o stabilności kompleksów enzym-inhibitor. Przyłączenie się do mojego zespołu dr Aleksandry Wysłouch-Cieszyńskiej (w 1998 roku) znacznie wzbogaciło zakres naszych możliwości o badania konsekwencji strukturalnych i funkcjonalnych modyfikacji potranslacyjnych w białkach. Pierwsze prace w tym obszarze zainteresowań, wykonane we współpracy z Edwardem Darżynkiewiczem i Ryszardem Stolarskim (Zakład Biofizyki, Wydział Fizyki UW), doprowadziły do ustalenia wpływu fosforylacji czynnika inicjacji translacji eIF4E na jego powinowactwo do struktury cap-mRNA [3382, 3645, 3704]. Obecnie Aleksandra Wysłouch-Cieszyńska ma też własny temat dotyczący wpływu modyfikacji potranslacyjnych białka S100 (szczególnie nitrozytacji) na jego funkcje, a zwłaszcza wiązania do cząsteczki receptorowej RAGE.

Prowadzone przeze mnie badania inicjacji tworzenia

struktury białkowej obecnie koncentrują się na identyfikowaniu czynników odpowiedzialnych za oligomeryzację peptydu Ab. Jest to niezwykle ciekawy obszar badań ze względu na odkrytą w ostatnich latach powszechną obecność w biologii zjawiska agregacji białek i związane z nim procesy chorobowe, takie jak: choroby Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona czy gąbczaste zwyrodnienie mózgu. To właśnie oligomery badanego przez nas peptydu Ab są ostatnio uważane za główny czynnik chorobotwórczy w chorobie Alzheimera. Dzięki uporczywej pracy Agnieszki Jabłonowskiej, doktorantki w Zakładzie Biofizyki, konsekwentnie wspomaganą przez Magdalенę Bakun i innych członków zespołu, udało się po długim czasie uzyskać ciekawe rezultaty, a mianowicie pokazać, że wymiana jednostek monomerycznych w oligomerach następuje szybko i że łańcuchy monomerowe układają się w oligomerach równoległe a nie antyrównoległe (praca wysłana do druku).

W trakcie tych zmaganiń badawczych dokonaliśmy, nieomal *en passant* skoku technologicznego, który rewolucyjnie zmienił nasze życie naukowe. Krok ten stanowiło utworzenie Środowiskowego Laboratorium Spektrometrii Mas, dzięki hojnej dotacji aparaturowej KBN. Opanowanie technologii spektrometrii mas w zastosowaniu do biomolekuł przyszło szybko i szybko przyniosło ciekawe rezultaty. Mogliśmy zaproponować grupie najsilniejszych ośrodków badań biomedycznych w Polsce (grupy Jerzego Ostrowskiego, Czesława Ciernewskiego, Aleksandra Koja, Krzysztofa Staronia, Andrzeja Jerzmanowskiego) dostęp do technologii proteomicznej, czyli identyfikacji białek i ich modyfikacji z czułością na poziomie femtomolowym. Technologia ta znajduje powszechne zastosowanie w biomedycynie, pozwalając mapować proteom, a przynajmniej jego wycinek, w każdym procesie biologicznym. Zważywszy, że białka są właściwym motorem napędowym biologii, trudno przecenić wpływ tej technologii na biomedycynę. Świadomi tego wkładamy duży wysiłek w rozwijanie Laboratorium i stosowanie spektrometrii mas do proteomiki i badań strukturalnych białek. Proteomika stwarza również nadzieję na wdrożenie diagnostyki proteomicznej poprzez mapowanie na przykład proteomu płynów ustrojowych. Prowadzimy w tym zakresie prace, mapując proteom niskocząsteczkowej frakcji osocza, z nadzieją identyfikacji biomarkerów prognostycznych dla mukowiscydozy i diagnostycznych dla raka przewodu pokarmowego. Dostęp do nowoczesnej technologii proteomicznej umożliwia nam owocny udział w międzynarodowych grupach badawczych (Z. Domiński, Univ. of Carolina, USA; A. Edelman, Institut Necker, Paryż; A. Elskaya, Kijów), już udokumentowany wspólnymi publikacjami [3745, 3794]. Jest to także swego rodzaju klucz otwierający drzwi do integracji ze strukturami europejskimi, stwarzający poważne wyzwanie, z którym musimy się zmierzyć w najbliższym czasie.

Homeostaza i toksyczność metali przejściowych

Wojciech Bał

Początki przygody z Zakładem Biofizyki wiążą się ściśle z prof. Andrzejem Bierzyńskim, który był recenzentem mojej pracy doktorskiej (w 1991 roku) i rozprawy habilitacyjnej (w 1999 roku) na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Za jego poradą w 1997 roku nawiązałem współpracę z Jackiem Wójcikiem z Laboratorium NMR, której pierwszym efektem było wyznaczenie struktury kompleksu Ni(II) z 15-peptydem ludzkiej protaminy HP2, którego model trafił na okładkę *Chemical Research in Toxicology* [3511]. W związku z tymi badaniami zacząłem dość regularnie przyjeżdżać do Laboratorium NMR w IBB. Po objęciu kierownictwa Zakładu w 2000 roku Andrzej Bierzyński zatrudnił mnie na części etatu, a po moim przeniesieniu się z Wrocławia do Warszawy, na początku 2002 roku na pełnym etacie docenta. W ciągu trzech lat udało mi się zorganizować małą grupę badawczą skupioną wokół szeroko pojętych modeli molekularnych w homeostazie i toksyczności metali przejściowych, koncentrującą się na zagadnieniach związanych z rolą małych cząsteczek biologicznych w homeostazie metali [3707] i z oddziaływaniami metali karcinogennych z cząsteczkami białek i z ich palcami cynkowymi [3702, 3739].

Staraliśmy się jednocześnie wykorzystać naszą wiedzę do celów praktycznych.

Aparatura i techniki pomiarowe

Andrzej Bierzyński

Pierwszym moim zadaniem po powrocie do pracy w IBB w 1982 roku było przebudowanie i unowocześnienie posiadanego przez nas spektrometru fluorescencji.



Jacek Wójcik – główna pomoc w ustalaniu struktury nowoodkrytych związków bioorganicznych metodą widm NMR, 1999 r.

cyjnego. Dzięki pomocy doc. Oswalda Jasnego z Instytutu Chemii Fizycznej PAN, inż. Zbigniewa Witkowskiego – kierownika pracowni elektronicznej IBB – i współpracy z zespołem dr. B. Kozankiewicza z Instytutu Fizyki PAN udało się uzyskać zadowalające rezultaty. Modułowa konstrukcja aparatu umożliwiła także jego późniejsze, systematyczne unowocześnianie poprzez wymianę podzespołów optycznych i elektronicznych, w miarę jak nowe rozwiązania pojawiały się na rynku. W wersji z końca lat 90. aparat stanowi nadal bardzo cenne narzędzie pracy.

W 1990 roku udało się zakupić pierwszy w IBB przyrząd HPLC. Niestety, przez ponad rok nie można było korzystać z niego we właściwy sposób, ponieważ okazało się, że nie dysponujemy wystarczająco czystą wodą i żadne wielokrotne destylacje czy też inne, czasem desperackie metody czyszczenia dostępne w laboratorium nie są skuteczne. Problem został rozwiązany poprzez zakup – także pierwszego w IBB – aparatu dializacyjnego firmy Milipore.

Pierwszym dużym aparatem zakupionym przez Zakład Biofizyki był spektropolarometr firmy Aviv (1990 rok). Ponieważ w starym gmachu przy ul. Rakowieckiej nie było odpowiedniego pomieszczenia, instrument został uruchomiony w Instytucie Chemii Fizycznej PAN. Do nowego gmachu IBB został sprowadzony w 1994 roku. Niedługo potem serwis producenta dokonał gruntownej renowacji przyrządu, która znacznie podniosła jego standard.

W latach 80. poważnym problemem był brak dostępu do spektroskopii NMR, która stała się jednym z najważniejszych narzędzi badań struktury białek i peptydów. W 1990 roku z inicjatywy prof. Wierzchowskiego zostało zawarte porozumienie z Instytutem Chemii Organicznej PAN, zgodnie z którym IBB wyłożył środki na zakup małego, 200 MHz-owego przyrządu NMR, a w zamian uzyskał dostęp do 500 MHz-owego



Igor Żukow zastanawia się głęboko nad wyborem sekwencji pulsów na spektrometrze NMR, 1999 r.



Marta Oleszczuk, doktorantka w Laboratorium Biologicznego NMR.

przyszyty kupione niedawno przez IChO. Był to pierwszy tej klasy przyrząd w Polsce, bardzo wówczas nowoczesny. Niestety, zawarta umowa nie przyniosła nam spodziewanych korzyści, ponieważ przyrząd nie był przystosowany do badań struktury makrocząsteczek biologicznych, a kierownictwo laboratorium NMR w IChO nie było zainteresowane rozwijaniem tego rodzaju badań.

Zorganizowanie własnej pracowni stało się możliwe w 1994 roku dzięki uzyskaniu dotacji KBN na zakup aparatury oraz kilkuletniemu grantowi SPUB na finansowanie działalności Środowiskowego Laboratorium NMR. W tym czasie kończyła się budowa nowego gmachu IBB, w którym można było przygotować pomieszczenia odpowiednio dostosowane do potrzeb Laboratorium. Organizacja Laboratorium NMR, pertraktacje z firmami a następnie uruchomienie zakupionego przyrządu Unity Plus 500 MHz firmy Varian i jego właściwe wykorzystanie stanowiły zadanie bardzo odpowiedzialne i trudne. Zostało ono zrealizowane dzięki wiedzy, zaangażowaniu i ogromnej pracy dr. Jacka Wójcika, do którego w 1995 roku dołączył Igor Żukow.

Dalszy rozwój Laboratorium związany jest z zatrudnieniem dr. hab. Andrzeja Ejcharta, wybitnego specjalisty w dziedzinie NMR, który po wieloletniej pracy w licznych europejskich i amerykańskich laboratoriach, wrócił w 1997 roku do Instytutu (pracował przedtem

w Zakładzie Biofizyki w latach 1985-1988) i stopniowo przejął ode mnie kierownictwo Laboratorium, najpierw faktyczne, a od 2000 roku także i formalne.

W 2002 roku wyposażenie Laboratorium powiększyło się o przyrząd Varian 400 MHz zakupiony dzięki dotacji z Fundacji Polsko-Niemieckiej, uzupełnionej przez Dyрекcję IBB.

Na przełomie lat 80. i 90. stało się oczywiste, że prowadzenie badań strukturalnych wymaga opanowania wysoko wydajnych systemów ekspresji białek, w szczególności w układach bakteryjnych pozwalających na uzyskanie materiału znakowanego ^{15}N i ^{13}C do badań NMR. Systemy używane wówczas w IBB pozwalały na uzyskanie kilku lub co najwyżej kilkudziesięciu mikrogramów białka z litra hodowli i dla naszych celów były zupełnie nieprzydatne.

W 1993 roku mój przyjaciel Peter Kim z Instytutu Whiteheada w Cambridge przekazał mi rewelacyjny na owe czasy układ ekspresyjny w *E. coli* funkcjonujący pod promotorem polimerazy RNA faga T7. Co więcej, na parę miesięcy zaprosił do swego laboratorium dr Krystynę Bolewską, która dzięki temu mogła bezpośrednio zapoznać się z techniką pracy z tym układem, do tej pory stosowanym przez nas do produkcji szeregu białek i peptydów. Historia dalszego rozwoju technik ekspresyjnych w Zakładzie Biofizyki opisał Michał Dadlez.

W 2002 roku dzięki staraniom dr. hab. Wojciecha Bala aparatura Zakładu Biofizyki powiększyła się o przyrząd do elektroforezy kapilarnej przekazany nam przez Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Dla rozwoju tematyki badań prowadzonych w Zakładzie zasadnicze znaczenie miało wprowadzenie metod spektrometrii masowej. Dzięki dotacji KBN został zakupiony w 2000 roku bardzo nowoczesny przyrząd ESI-ToF sprzężony bezpośrednio z aparatem nano-HPLC. Dzięki talentom i ogromnej pracy Michała Dadleza wkrótce zostały opanowane metody pomiaru i analizy danych, a kierowane przez niego Środowiskowe Laboratorium Spektrometrii Mas zdobyło znakomitą opinię wśród licznych badaczy korzystających z jego usług. Dzięki temu od 2001 roku, po zakupieniu następnego spektrometru, a mianowicie MALDI-ToF, Laboratorium mogło podjąć się wykonywania analiz niezbędnych do realizacji programów proteomicznych.

ZAKŁAD BIOINFORMATYKI

Andrzej Rabczenko, Piotr Zielenkiewicz

Początki biologii teoretycznej w IBB wiązały się z pobytem dr. Andrzeja Rabczenki w Max-Planck-Institut w Getyndze, gdzie rozpoczął prace wymagające obliczeń komputerowych. Po jego powrocie w 1975 roku wraz z magistrami Krystyną Zakrzewską i Jarosławem Kosińskim rozpoczęli teoretyczne badania oddziaływań zasad azotowych z cząsteczkami wody, stosując między innymi statystyczne metody Monte Carlo. Obliczenia prowadzono głównie na komputerach Uniwersytetu Warszawskiego, a w 1980 roku zakupiono pierwszy w IBB komputer (SM3 – odpowiednik PDP11) i uformowano pracownię komputerową będącą zarodkiem obecnego Zakładu Bioinformatyki. W maju 1981 roku podjęto decyzję o otwarciu własnego tematu w IBB (C1/81): Modelowanie Struktury i Funkcji Białek i Kwasów Nukleinowych, kierowanego przez dr. hab. Andrzeja Rabczenkę. W ramach tego tematu prowadzono pionierskie wówczas w skali światowej prace z zakresu biologii teoretycznej.

Jedną z pierwszych prac bioinformatycznych – były badania dr Danuty Płochockiej; na podstawie bazy danych, Protein Data Bank, przeprowadzono analizę sekwencji białek globularnych o poznanej strukturze przestrzennej i porównano z sekwencjami takich samych białek występujących w innych organizmach. Te wyniki doprowadziły do wniosku, że dominującą rolą w kształtowaniu przestrzennej struktury białek odgrywa bezpośrednie otoczenie i kompozycja roztworu, w którym znajduje się białko, a nie lokalna sekwencja aminokwasów. Drugi wniosek był efektem wykrycia hydrofobowych reszt aminokwasowych, których położenie w danym białku było niezmiennie bez względu na organizm, z którego pochodziło białko. Stwierdzono, że reszty te tworzą w białku

domeny hydrofobowe. Na tej podstawie zaproponowano model zwijania się białek – najpierw skupiają się hydrofobowe reszty, tworząc zarodek tworzenia struktury, a dopiero potem odcinki łańcucha białkowego układają się, formując helisy czy struktury beta, tak by utworzyło się najwięcej wiązań wodorowych.

Praca doktorska Piotra Zielenkiewicza (1986) – to jedna z niewielu w owym czasie dotyczących mechanizmu tworzenia stereospecyficznych agregatów białkowych. Na drodze komputerowej analizy, bez żadnych specjalnych założeń, związanych z oddziaływaniami międzycząsteczkowymi, odtworzono sposób tworzenia dimerów i heksamerów insuliny. Te pierwsze *in silico* eksperymenty odpowiadały precyzyjnie danym krystalograficznym.

Trzeci kierunek działania był prowadzony w pracach doktorskich Joanny Wiórkiewicz i Pawła Herzyka (1987). Ich prace odnosiły się do początków badań przewidujących oddziaływanie małych ligandów z białkami. Znaczną przeszkodą w rozwoju tych badań były wtedy niesprecyzowane wymiary cząsteczek oraz brak



Początki bioinformatyki w IBB – układanie modeli czaszowych i drucikowych, 1979 r.: Pani Maria Dutkowska, Andrzej Rabczenko i Danuta Płochocka.

prostych, a jednocześnie dokładnych algorytmów, pozwalających na szybkie symulowanie zmian konformacyjnych pierścienia rybozowego – kluczowego dla badań konformacyjnych oligomerów DNA i RNA. W efekcie analizy danych z Crystallographic Data Bank ustalono bardziej dokładne długości wiązań międzyatomowych w nukleozydach. Opracowany algorytm, wiążący kąty między wiązaniami z uzyskaniem współrzędnych położenia atomów pierścienia furanozowego, pozwolił na ścisłe symulowanie przestrzennych kształtów pochodnych nukleozydów.

W 1990 roku, po powrocie ze stażu podoktorskiego P. Zielenkiewicza, kontynuowane były prace nad analizą sekwencji białek o znanych strukturach. Pojawienie się pierwszej stacji graficznej (dar Fundacji Humboldta) umożliwiło podjęcie nowych tematów, takich jak:

- rola silnie związanych cząsteczek wody, tzw. wody strukturalnej, dla konformacji biopolimerów
- wpływ efektu hydrofobowego na konformację biomolekuł
- modelowanie struktur białek.

Zbudowanie w IBB nowoczesnej struktury informacyjnej stało się możliwe wraz z przeprowadzką Instytutu do nowej siedziby (1992-1993). Umożliwiło to również stworzenie pracowni wyposażonej w sprzęt komputerowy odpowiedniej mocy do prowadzenia badań teoretycznych.

Jednocześnie rozpoczęły się prace nad realizacją nowych projektów. Pierwszy z nich to symulacje procesu krystalizacji białek. Pomimo znacznego rozwoju technik NMR, krystalografia pozostaje najważniejszym narzędziem strukturalnej biologii molekularnej, a uzyskanie dobrej jakości kryształów białek często jest najtrudniejszym momentem pracy krystalografów. Początkowe, prawdopodobnie najważniejsze dla późniejszego przebiegu procesu, etapy krystalizacji nie mogą być

obserwowane żadną z dostępnych obecnie technik eksperymentalnych. Opracowany model teoretyczny, używający parametrów mikroskopowych do opisu oddziaływań białko-białko pozwala na symulację procesu krystalizacji białek w całym zakresie jego przebiegu – od roztworu monomerów do makroskopowego kryształu (praca doktorska Andrzeja Kierzka, 1999). Drugi z rozpoczętych wówczas projektów to analiza oddziaływań elektrostatycznych biopolimerów z roztworami elektrolitów. Najczęściej stosowany dotychczas sposób opisu takich układów polegał na rozwiązaniu równania Poissona-Boltzmanna, pomimo istnienia bardziej zaawansowanych teorii. Wynikało to przede wszystkim z braku algorytmów ich numerycznej implementacji. Opracowanie przez nas takich algorytmów pozwoliło na zastosowanie teorii BBGY (Bogolyubov-Born-Green-Yvon) do opisu oddziaływań DNA i białek z roztworami jedno- i dwuwartościowych elektrolitów. Pokazano, że zastosowanie teorii BBGY pozwala na rozszerzenie zakresu stosowalności modelu ciągłego do wyższych stężeń elektrolitów i przypadków, w których równanie Poissona-Boltzmanna zawodzi (praca doktorska Sergeja Gavryushova, 1998).

W 1994 roku grupa przyjęła obowiązek koordynowania prac polskiego węzła Europejskiej Sieci Biologii Molekularnej (EMBNet) i uzyskała status samodzielnej Pracowni Bioinformatyki kierowanej przez P. Zielenkiewicza. Rozpoczęły się teoretyczne badania zmierzające do projektowania sekwencji kodujących określone struktury białek. Opracowany szybki algorytm pozwolił na uzyskiwanie bardzo wielu takich sekwencji dla dowolnych znanych struktur białek i ich analizę statystyczną (praca doktorska Szymona Kaczanowskiego, 2002). Rozpoczęto ponadto projekty zmierzające do uzyskania teoretycznego opisu szlaków metabolicznych w komórce (Piotr Pawłowski) i modelowania ekspresji genów (Andrzej Kierzek). Kontynuowana jest współpraca z wieloma grupami eksperymentalnymi w projektach wymagających modelowania struktury białek (D. Płochocka).

W 2000 roku Pracownia Bioinformatyki przekształciła się w Zakład Bioinformatyki, w tym samym okresie uzyskując nową powierzchnię na terenie Instytutu. Tematyka badawcza rozszerzyła się o: analizę genomów (Szymon Kaczanowski, praca doktorska Jerzego Dyczkowskiego, 2004) wpływ tło molekularnego na kinetykę oddziaływań białko-białko (Grzegorz Wieczorek) oraz projektowanie leków (Paweł Siedlecki).



Zakład Bioinformatyki, 2004 r.: Mikołaj Radomski, Krzysztof Pakleza, Paweł Szczęsny, Piotr Pawłowski, Paweł Siedlecki, Piotr Zielenkiewicz (kierownik), Danuta Płochocka, Marian Siwiak, Szymon Kaczanowski, Grzegorz Wieczorek.

ZAKŁAD BIOCHEMII ROŚLIN

Grażyna Muszyńska

Korzenie

Ośrodkiem krystalizacyjnym przyszłego Zakładu Biochemii Roślin IBB PAN była Katedra Biochemii SGGW w Warszawie przy ul. Rakowieckiej 28, w gmachu SGGW (1954-1963). Była to Katedra niezwykła. Powstała 10 lat wcześniej niż jej imienniczka na Uniwersytecie Warszawskim i 15 lat wcześniej niż Katedra Biochemii i Biofizyki UJ. Katedrę tę utworzył prof. Ignacy Reifer już w 1948 roku, bezpośrednio po powrocie z wojennej tułaczki, i kierował nią do 1969 roku. Był jednym z tych, którzy dźwigali naukę z otaczającego chaosu i ruin wojennych. W pierwszych latach po zakończeniu wojny zorganizował w Warszawie nowoczesny warsztat pracy dla entuzjastów dynamicznie rozwijającej się biochemii. W staraniach o fundusze na płace i wyposażenie nie pomijał żadnej z agend rządowych. W 1952 roku uzyskał kilka pozauczelnianych (z Ministerstwa Rolnictwa) etatów dla kadrowego wzmocnienia Katedry. Niewielka grupa ludzi tymczasowo afiliowanego Zakładu Biochemii IUNG (Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa) była prekursorem utworzonego dwa lata później i w oparciu o etaty PAN Zakładu Biochemii Roślin (ZBR). Kadre ZBR stanowili głównie absolwenci SGGW. ZBR wraz z powstającymi równoległe w innych miejscach Warszawy „załążkami” Zakładu Biochemii Ewolucyjnej, Zakładu Biofizyki i Zakładu Biochemii Drobnoustrojów pozwolił na powołanie do życia (w 1954 roku) Zakładu Biochemii PAN, przekształconego następnie w 1957 roku w Instytut Biochemii i Biofizyki PAN. W 1960 roku integralną częścią naszego Instytutu stała się Pracownia Biochemii i Struktury Alkaloidów (1960-1969), zorganizowana w 1955 roku przez prof. Macieja Wiewiórowskiego w Poznaniu.

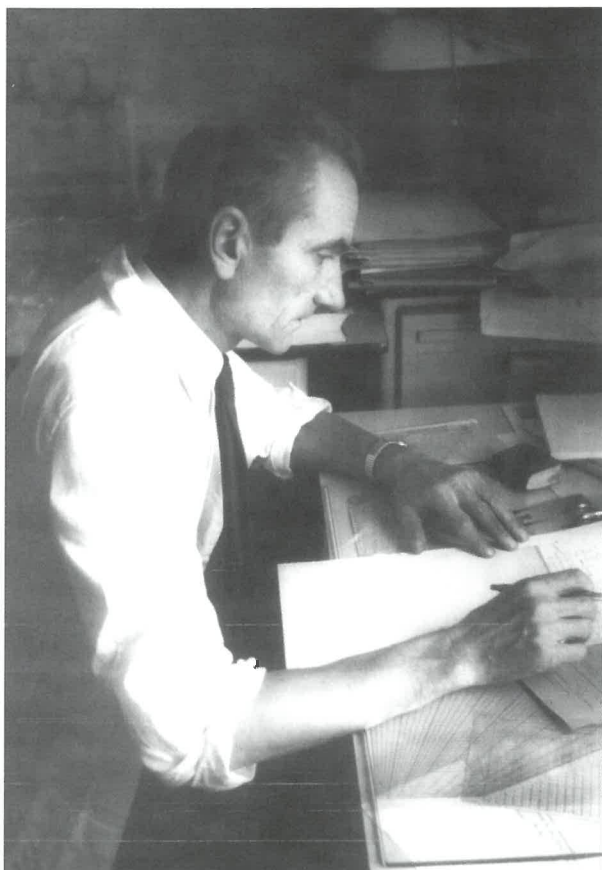
Działalność naukowa

Początkowo badania prowadzone przez kadre ZBR koncentrowały się głównie wokół metabolizmu związków azotowych w roślinach wyższych. Z tego okresu cennymi były badania nad biogenezą alkaloidów, enzymami katalizującymi przemiany aminokwasów w cyklu ornitynowym i biosyntezą nukleotydów.

Do rozpoczętych wraz z powstaniem ZBR badań biosyntezy i biogenezy alkaloidów z łubinu na początku lat 60. dołączyła grupa z Poznania (Maciej Wiewiórowski, Maria Bratek-Wiewiórowska oraz Halina i Jacek Augustyniakowie), która przez kilka lat (do 1969 roku) prowadziła wspólne badania. Potem badania nad alkaloidami były kontynuowane w Katedrze Biochemii Roślin SGGW w Warszawie oraz na Uniwersytecie



Pracownia w latach 60.: Barbara Mazuś nakładająca substraty na płytke; obok koleżdy – Bernard Wielgat i Jerzy Buchowicz.



Kazimierz Kleczkowski, wieloletni kierownik ZBR (1969-1990) w swoim gabinecie, 1985.

im. Adama Mickiewicza i w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu.

Zaproponowany przez Krebsa i Henseleita (1932) cykl mocznikowy prowadzący u zwierząt ureotelicznych do wytworzenia mocznika z argininy, u roślin wyższych stał się przedmiotem badań dopiero w końcu lat 50. Inicjatorami tych badań byli Ignacy Reifer i Kazimierz Kleczkowski, którzy wykazali powszechne występowanie enzymów cyklu ornitynowego u roślin. W latach 60. podjęto badania powiązane z cyklem ornitynowym, dotyczące wyjaśnienia procesów karbamoilacji putrescyny i innych poliamin (Kazimierz Kleczkowski, Bernard Wielgat). Wykazano, że putrescyna, która jest syntetyzowana z trzech podstawowych aminokwasów cyklu ornitynowego (ornityny, cytruliny i argininy), może być karbamoilowana przez karbamoilotransferazę ornitynową. Proces karbamoilacji toksycznej putrescyny i in-

nych poliamin jest swoistym mechanizmem detoksykacji organizmu. Ponadto badania roślinnej arginazy (Grażyna Muszyńska), kluczowego enzymu cyklu ornitynowego i jej inhibitora z nasion słonecznika, zapoczątkowały serię badań nad identyfikacją i mechanizmem działania enzymów oraz ich naturalnych inhibitorów. Prace te rzuciły nowe światło na procesy regulacji w komórce roślinnej i obecnie, aż po czterdzieści lat, otrzymujemy prośby o odbitki publikacji z tamtych lat.

W ścisłym związku z badaniami nad enzymami cyklu ornitynowego również w latach 60. zapoczątkowano badania zmierzające do poznania dróg i mechanizmów biosyntezy nukleotydów pirymidynowych w roślinach (Jerzy Buchowicz i Lidia D. Wasilewska). Opublikowana w latach 1961-1968 seria autorskich prac (Jerzy Buchowicz, Barbara Mazuś, Hanna Rybicka) dowiodła, że wszystkie etapy biosyntezy nukleotydów pirymidynowych i wszystkie enzymy uczestniczące w tej biosyntezie w roślinach tak na drodze głównej (*de novo*), jak i alternatywnej (*salvage path*) są w istocie takie same u zwierząt i bakterii. Niektóre z publikacji z tego okresu pozostają aktualne do dziś. Na przykład Giermann i in. (2002), kompletując wyniki swych badań nad biosyntezą pirymidyn *de novo*, powołuje się na publikację o izolacji dwuhydroorotazy sprzed ponad 30 lat (B. Mazuś i J. Buchowicz).

Nowe wątki badawcze zaznaczyły się od 1963 roku po przeprowadzce Zakładu do wynajętych pomieszczeń gmachu IPF (Instytut Przemysłu Fermentacyjnego) przy Rakowieckiej 36. Uwaga zespołu J. Buchowicza skupiła się przejściowo na procesie kiełkowania nasion. Biochemiczne aspekty tego specyficznego dla roślin stadium rozwojowego były przedmiotem badań w wielu



„Dobrze nam razem!”: Jerzy Buchowicz, Grażyna Muszyńska, Elżbieta Ber, Marek Tomaszewski, Jacek Jankowski, Krystyna Żuk, Andrzej Zbroch, Ewa Rejman, Kazimierz Kleczkowski, lato 1966.

pracowniach biologicznych od bardzo dawna, jeszcze w czasach, kiedy biochemia nazywana była chemią fizjologiczną. Nowe perspektywy poznania wydarzeń stanowiących o przejściu od uśpionej do czynnej formy życia otworzyły się pod koniec lat 60., kiedy narodziła się biologia molekularna. W ZBR przedmiotem szczególnego zainteresowania stała się, nigdy wcześniej niebadana kolejność wznowienia syntezy DNA, RNA i białka po przerwaniu stanu spoczynkowego nasion. Seria przeprowadzonych doświadczeń i obserwacji w latach 1971-1977 (Jerzy Buchowicz, Ewa Rejman, Barbara Mazuś, Marta Dobrzańska, Zbigniew Grzelczak) pozwoliła wykazać, że synteza RNA i białka uruchamiana jest praktycznie bezpośrednio po umieszczeniu ziarna pszenicy w optymalnych warunkach kiełkowania. Natomiast synteza DNA, w tych samych warunkach, wznowiona jest nieco później i jej intensywność jest początkowo, przez okres kilku pierwszych godzin kiełkowania, znikoma. Z tych doniesień najżywszym echem odbiło się stwierdzenie, że w czasie kiełkowania synteza RNA, a szczególnie mRNA, wznowiona jest niemal natychmiast po przerwaniu spoczynku. Prace te są cytowane przez wielu badaczy usiłujących wyjaśnić molekularne aspekty procesu kiełkowania nasion.

Badania zainicjowane na początku lat 70. przez Kazimierza Kleczkowskiego, Lidię D. Wasilewską, Bernarda Wielgata i Jolantę Bralczyk dotyczyły poznania wpływu fitohormonów na syntezę RNA i aktywność transkrypcyjną chromatyny z roślin w różnych stadiach rozwoju. Wykazano, że zarówno giberelina (GA_3), jak i cytokinina uczestniczyły w zróżnicowany sposób w regulacji syntezy różnych rodzajów RNA (mRNA i rRNA) we wczesnych etapach kiełkowania nasion. Wyniki prowadzonych badań wykazały, że GA_3 wpływa stymulująco na wznowienie transkrypcji, co powoduje zwiększenie stabilności przechowywanego RNA. Hormonalna indukcja transkrypcji po przerwaniu spoczynku związana jest również z aktywacją polimeraz RNA. Zwiększenie syntezy RNA uruchamia transkrypcję nowych RNA, formowane są polisomy i wzrasta synteza białek. Wynikiem tych procesów jest lawina zdarzeń metabolicznych prowadzących do podziałów komórkowych i dalszego różnicowania. Prowadzone badania udowodniły, że jednym z pierwszych efektów działania GA_3 są modyfikacje białek chromatyny. Scharakteryzowano składniki chromatyny biorące udział w transkrypcji, takie jak

np. DNA zależna polimeraza RNA II, białka wiążące hormony i związane z chromatyną kinazy białkowe. Szczególnie stymulowana była fosforylacja białek o c.c.z. około 25 kD, należących do grupy HMG (High Mobility Group), którym przypisuje się zasadniczą rolę w utrzymaniu rozluźnionej struktury aktywnej transkrypcyjnie chromatyny (euchromatyna). Uzyskane w tym czasie wyniki wskazywały, że fosforylacja histonów może uczestniczyć w przemianie heterochromatyny do euchromatyny. Wyniki tych badań przyczyniły się znacząco do poznania mechanizmów molekularnych roli fitohormonów w regulacji transkrypcji. Synteza RNA może być regulowana na wielu poziomach poprzez białka powodujące zmiany w strukturze chromatyny. Obecnie, po 30 latach zadziwia aktualność prowadzonych w owych czasach badań. Zmieniły się metody, przybyło wiele informacji, ale zaproponowane wtedy podstawowe mechanizmy pozostały niezmienione.

Nieco na uboczu wartkiego nurtu badań metabolizmu u roślin były prace (w tzw. temacie własnym Instytutu) dotyczące struktury i funkcji enzymów i inhibitorów (Grażyna Muszyńska, Elżbieta Ber, Maria Wojtczak). Oczyszczono i scharakteryzowano zarówno arginazę pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego. Wykazano istotne różnice w mechanizmie działania tych enzymów, sugerując, że mogą podlegać innej regulacji w warunkach *in vivo*. Ponadto współpraca z zagranicą dotycząca chemicznych modyfikacji karboksypetydazy A (James F. Riordan – Harvard Medical School, Boston, USA) i inhibitora trypsyny z siary krów (Dana



Zakład Biochemii Roślin na schodach budynku przy ul. Rakowieckiej 36 (lato 1970):
siedzą: Kazimierz Kleczkowski (kierownik), Ewa Rejman, Bernard Wielgat, Elżbieta Ber, Jacek Jankowski, Ludmiła Sewerina, Jadwiga Szyszko, Zbigniew Grzelczak; stoją: Andrzej Zbroch, Grażyna Muszyńska, Jolanta Bralczyk, Elżbieta Tarantowicz, Krystyna Żuk, Jerzy Buchowicz, Elżbieta Białek.



Lidia Danuta Wasilewska w Sofii w 1971 roku.

Čechová – Instytut Chemii Organicznej i Biochemii, Praga, Czechy) zaowocowała serią interesujących prac. Niestety, te ciekawie zapowiadające się badania zostały przerwane z powodów organizacyjnych (likwidacja tematów własnych).

Natomiast rozpoczęte w końcu lat 70. badania roli fosforylacji białek w roślinach i charakterystyki roślinnych kinaz i fosfataz białkowych są prowadzone do dziś (Grażyna Muszyńska i Grażyna Dobrowolska). Wykazano, że w roślinach obecne są kinazy białkowe zarówno silnie zakonserwowane u wszystkich Eukaryota (np. CK1, CK2 i kinazy MAP), jak i kinazy białkowe specyficzne dla roślin. Badane są typowe dla roślin kinazy zależne od wapnia zwane CDPK (Calcium Dependent Protein Kinases) i kinazy podobne do SNF1-SnRK (SNF1 – Related Kinases). Kinazy te uczestniczą w przekazywaniu sygnałów. Jedną z kinaz (SnRK2b) uczestniczącą w stresie osmotycznym nazwaną OSAK (Osmotic Stress Activated Kinase) jest już aktywowana po 1 minucie od zadziałania stresu. Badania molekularne, biochemiczne i immunologiczne wskazują, że za aktywację OSAK odpowiedzialna jest fosforylacja dwóch reszt serynowych w pętli aktywacyjnej enzymu (Grażyna Dobrowolska). Natomiast zranienie powoduje wzrost syntezy CDPK z kukurydzy, nazwanej ZmCPK11, aktywowanej przez fosfolipidy (Grażyna

Muszyńska, Jadwiga Szczegielniak). Oba enzymy zostały sklonowane, co umożliwia badanie szlaków przekazywania sygnału stresu w roślinach i perspektywnie może być wykorzystane w biotechnologii do hodowli odmian roślin odpornych na stresy.

Rolę fitohormonów w wyjaśnieniu molekularnych zależności RNA-DNA w roślinach badała Lidia D. Wasilewska. Jednym z ważniejszych jej osiągnięć było wykazanie, że populacja poli(A)-RNA pochodząca z roślin poddanych działaniu fitohormonu jest wzbogacona w jakościowo nowe kopie RNA nieobecne w roślinach kontrolnych. Ponadto L.D. Wasilewska uzyskała oryginalne dane stwierdzające, że w następstwie działania fitohormonu pojawia się dodatkowe pasmo satelitarnego DNA o znacznie wyższej zawartości par GC, co świadczy o nierównocennej replikacji DNA. Na początku lat 80. L.D. Wasilewska rozpoczęła badania indukcji organogenezy i strukturalnej organizacji i regulacji ekspresji genomu plastydowego. Wyniki mapowania genów i analizy restrykcyjnej DNA plastydowego wskazywały na ich polimorfizm. Niestety, te interesujące badania nie zostały ukończone.

Na początku lat 90. nowe impulsy badawcze zbiegły się w czasie z przeprowadzką, tym razem już na stałe, do własnego budynku IBB przy ul. Pawińskiego 5a. Zdecydowanie lepsze warunki lokalowe i aparaturowe pozwoliły na podjęcie tematyki z zakresu inżynierii genetycznej i biotechnologii roślin. Osiągnięciem Zakładu Biochemii Roślin, a szczególnie Bernarda Wielgata, było zorganizowanie w latach 90. pracowni kultur *in vitro* niezbędnej do prac szybko rozwijającej się inżynierii genetycznej roślin. Obecnie kultury *in vitro* są rutynowym narzędziem pracy około 50 pracowników IBB PAN. Pracownia ta była niezbędna do badań odporności ziemniaka na zarzę ziemniaczaną wywołaną przez patogen grzybopodobny *Phytophthora infestans*. Badania dotyczyły poznania niektórych wczesnych reakcji indukowanych przez patogen i otrzymania roślin ziemniaka odpornych na *P. infestans* na drodze hybrydyzacji somatycznej. Technika hybrydyzacji somatycznej wydaje się być szczególnie przydatna w przypadku roślin ziemniaka z powodu olbrzymiego bogactwa zasobów genowych zawartych w ponad 900 dzikich gatunkach rodzaju *Solanum*, z których wiele ma cechy odporności na *P. infestans*. Zastosowanie fuzji protoplastów form dzikich i użytkowych ziemniaka, hodowla kalusa i regeneracja roślin umożliwiają uzyskanie roślin o podwyższonej odporności na patogen grzybowy (B. Wielgat, A. Szerbakowa, U. Maciejewska).

Poznanie mechanizmów kontrolujących proces patogenezę komórek roślinnych (rzodkiewnik, tytoń, ziemniak) jest celem pracy grupy Jacka Henniga. Identyfikowane i następnie charakteryzowane są cząsteczki sygnałowe, zaangażowane w apoptotyczną reakcję obronną komórek roślinnych. Stwierdzono, że w odpowiedzi uczestniczą kolejno: nadtlenek wodoru, tlenek azotu,

etylen i kwas salicylowy. Zidentyfikowano kilka białek, które uczestniczą w metabolizmie cząstek sygnalnych i są ważne dla procesu odporności. Ponadto wyizolowano kilka genów, kodujących hydrolazy z grupy β -1,3-glukanaz należących do białek PR (Pathogenesis Related) z roślin ziemniaka i tytoniu. Zbadano sekwencje odpowiedzialne za proces regulacji tych genów. Podjęte prace dostarczyły dowodów, że metylacja adeniny w sekwencji GATC jest istotnym elementem dla aktywacji genów PR. Jest to o tyle interesujące, że do tej pory wydawało się, że ten typ modyfikacji DNA występują jedynie u organizmów prokariotycznych. Wyrazem uznania badań tej grupy były nagrody i wyróżnienia pracowników: M. Krzymowska otrzymała w 1999 roku Nagrodę Prezesa Rady Ministrów, natomiast J. Hennig w 2000 roku dostał nominację do nagrody Fundacji Nauki Polskiej i w 2004 roku nagrodę zespołową Polskiego Towarzystwa Genetycznego.

Prace grupy Agnieszki Sirko koncentrują się wokół dwóch głównych zagadnień: metabolizmu związków siarki w roślinach oraz użycia roślin jako bioreaktorów. Metabolizm siarki u bakterii i grzybów to temat obecny w pracach IBB od wielu lat. Od 1997 roku badania te zostały rozszerzone na rośliny wyższe. Zespół interesuje zarówno badanie regulacji genów przez głodzenie siarkowe (ograniczoną dostępność nieorganicznego źródła siarki), jak i określenie tzw. wąskich gardeł metabolizmu siarki ograniczających zdolność roślin do asymilacji siarki nieorganicznej. Dalekosiężnym celem tych badań jest uzyskanie roślin o zwiększonej zdolności do akumulacji siarki w różnych związkach organicznych. Drugie zagadnienie badawcze dotyczy możliwości wykorzystania roślin do ekonomicznej produkcji białek, które mogłyby znaleźć zastosowanie jako terapeutyki lub szczepionki przeciwko *Helicobacter pylori*.

Od szeregu lat zespół Jerzego Buchowicza prowadzi badania procesów związanych z metabolizmem i naprawą DNA w komórkach roślinnych. Zaobserwowano, że w chromosomowym DNA zarodków spoczynkowych pszenicy długość telomerów była zredukowana. Jednocześnie we frakcji pozachromosomowej zidentyfikowano heterogenną populację DNA zawierającą powtórzenia telomerowe identyczne z powtórzeniami telomerowymi u rzodkiewnika (Maria Bucholc). W ostatnim okresie Elżbieta Kraszewska, Marta Dobrzańska, Maria Bucholc i Blanka Szurmak skoncentrowały się na badaniu mechanizmów naprawy DNA. Jako model badawczy wybrały rzodkiewnik, ponieważ genom tej rośliny został całkowicie zsekwencjonowany. Spośród słabo dotychczas poznanych mechanizmów naprawy DNA w komórkach roślinnych zainteresowano się badaniami nad naprawą uszkodzeń oksydacyjnych, w których między innymi bierze udział antymutatorowe białko MutT oraz reperacja dwuniciowych pęknięć, naprawianych przy udziale białka Ku70. Identyfikacja i wstępna charakterystyka roślinnych homologów tych białek dały

nieoczekiwane wyniki, wskazujące na udział białek MutT oraz białka Ku70 w innych niż naprawa DNA procesach metabolicznych.

Należy podkreślić, że ważnym elementem prac ZBR o możliwościach aplikacyjnych było opracowanie techniki wydajnej transformacji prowadzonej z zastosowaniem *Agrobacterium tumefaciens*, a następnie regeneracji roślin ziemniaka, ze specjalnym uwzględnieniem polskich odmian o znaczeniu gospodarczo-przemysłowym. Dzięki współpracy z Instytutem Hodowli i Aklimatyzacji Roślin opracowano test oceny odporności roślin na infekcje wirusowe, oparty o techniki RAPD i ALFP. Badania te doprowadziły do zmapowania w genomie ziemniaka genów odporności na infekcję ziemniaczanych wirusów S, Y oraz wirusa liściozwoju (PVS, PVY, PLRV). Obok transformacji ziemniaka, tytoniu i rzodkiewnika, w ZBR uzyskano także pierwsze w kraju egzemplarze transgenicznej pszenicy. W tym przypadku posłużono się metodą biolistyczną i nowoczesną strzelbą genową.

Współpraca naukowa

W pierwszych latach działalności Zakładu Biochemii Roślin nie było współpracy naukowej w formie dziś istniejącej. Jednakże osoby zatrudniane zarówno na etatach PAN, jak i na uczelni prowadziły wspólną problematykę badawczą. Należy wspomnieć, że z grupy tej wiele osób po uzyskaniu stopnia doktora tworzyło kadry biochemików na Wydziale Biologii UW (Kazimierz Toczko, Zbigniew Kaniuga), w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Jabłonie (Lucyna i Stanisław Buraczewscy), w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębiu (Danuta Kleczkowska) i Katedrze Biochemii Roślin SGGW (Witold Brzeski, Jerzy Kączkowski). Pracownikiem i współpracownikiem Zakładu był prof. Maciej Wiewiórowski, współzałożyciel Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, a także Halina i Jacek Augustyniakowie z Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Wiele osiągnięć Zakład zawdzięcza trafnie ukierunkowanej współpracy naukowej z zagranicą. Kontakty zagraniczne z USA zapoczątkowane zostały przez profesorów K. Kleczkowskiego i J. Buchowicza. Profesor Kleczkowski przebywał przez rok (1962/1963) jako stypendysta fundacji Rockefellera, w pracowni prof. P.P. Cohena (University of Wisconsin, Madison, USA). W tym czasie prof. P.P. Cohen był pionierem badań enzymów cyklu ornitynowego w roślinach. Praca w tym znanym laboratorium zaowocowała rozwojem w ZBR badań nad enzymami cyklu ornitynowego i powiązaniem przemian azotowych i związków wysokoenergetycznych (pochodne karbamoilfosforanu) w roślinach.

Korzystając ze stypendium Polskiej Akademii Nauk, prof. J. Buchowicz wyjechał na roczny staż naukowy

(1963/1964) do prof. Erwina Chargaffa (Cell Chemistry Laboratory, Columbia University, New York, USA), odkrywcy specyficzności gatunkowej i regularności składu nukleotydowego DNA znanych jako „reguły Chargaffa”. Bezpośrednim wynikiem stażu było udowodnienie antyrównoległości komplementarnych nici natywnego DNA. Wyniki pracy ukazały się w *Nature* i niewątpliwie prof. Buchowicz był wówczas jednym z nielicznych polskich uczonych, który opublikował pracę w tak prestiżowym czasopiśmie. Zdobyta wiedza i doświadczenie pozwoliły następnie na zainicjowanie nowego kierunku badań w Zakładzie, tj. ustalania kolejności wznawiania syntezy DNA, RNA i białka po przerwananiu stanu spoczynkowego nasion.

W 1970 roku Lidia D. Wasilewska wyjechała do pracowni J.H. Cherry (Molecular Horticulture, Purdue University, Lafayette, USA) gdzie opanowała metody umożliwiające śledzenie metabolizmu RNA na poziomie molekularnym.

Grażyna Muszyńska w 1972 roku wyjechała na staż podoktorski do Pracowni prof. Berta L. Vallee (Harvard Medical School, Boston, USA). Nawiązane przez nią kontakty umożliwiły w tej świetnej placówce realizację badań w ramach staży podoktorskich dla innych osób z ZBR (Barbary Mazuś i Elżbiety Ber). Zapoczątkowane w USA prace nad strukturą i funkcją enzymów przyczyniły się do rozwoju tego typu badań w ZBR. W liście skierowanym do PAN prof. B.L. Vallee nazwał dr G. Muszyńską „ambasadorem nauki polskiej”.

W 1974 roku Bernard Wielgat wyjechał, jako stypendysta Humboldta, do pracowni prof. G. Kahla (Wydział Biologii Uniwersytetu we Frankfurcie nad Menem, RFN), gdzie rozpoczął badania nad chromatyną roślinną, które były prowadzone w ZBR do 1990 roku. W pracowni G. Kahla staże odbyli też L.D. Wasilewska i K. Kleczkowski. Profesor Kahl prowadził wspólne badania z prof. J. Schelem (Instytut Maxa Plancka w Kolonii), twórcą badań nad transgenezą roślin za pomocą *Agrobacterium tumefaciens*. W wyniku współpracy K. Kleczkowskiego i B. Wielgata z tymi ośrodkami rozpoczęto w naszym Zakładzie w końcu lat 80. prace nad kulturami *in vitro* i transgenezą roślin.

Doktor Marta Dobrzańska w latach 1975-1976 była na stażu podoktorskim w Cambridge University (Wielka Brytania), natomiast Lidia Danuta Wasilewska w latach 1978-1979 przebywała w Instytucie Biologii Komórkowej Maxa-Plancka w Ladenburgu (RFN) w pracowni prof. Hansa-Georga Schweigera, pracując nad ekspresją genów u *Acetabularia*.

Rozpoczęta przez Grażynę Muszyńską w połowie lat 80. współpraca z Uniwersytetem w Uppsali (Szwecja) trwała ponad 10 lat. Współpraca z prof. Jerkērem Porathem (Centrum Rozdziału Białek), twórcą wielu technik powinowactwa chromatograficznego, dotyczyła badania oddziaływań białek i peptydów z jonami metali. Badania te zaowocowały opracowaniem metod powinowactwa chromatograficznego do oczyszczania białek na unieruchomionych jonach metali IMAC (Immobilized Metal Ion Affinity Chromatography). Prace te były podstawą do opracowania powszechnie stosowanej obecnie metody do oczyszczania białek rekombinowanych z „ogonem histydynowym” na kolumnie z unieruchomionymi jonami niklu, jak i metody rozdziału fosfobiałek na unieruchomionych jonach żelaza. Wynikiem współpracy było zorganizowanie jednego z pierwszych Sympozjów Biotechnologicznych w Polsce.



Spotkania pracowników ZBR po latach: Maria Borkowska, Elżbieta Ber (gościnnie z USA), Anna Szczerbakowa, 1992 rok.



Teresa Proba, Marta Dobrzańska, Jerzy Barankiewicz (gościnnie z USA), Elżbieta Kraszevska, podczas Sympozjum IBB w 1994 roku.

W 1988 roku pracownicy Zakładu (G. Muszyńska i G. Dobrowolska) przy współudziale Międzynarodowego Towarzystwa Rozpoznawań Biologicznych (I. Chaiken, Bethesda, USA) zorganizowali w Mogilanach k.Krakowa pionierskie Sympozjum Biotechnologiczne dotyczące oddziaływań makrocząsteczek, powinowactwa chromatograficznego i biotechnologii. W Sympozjum uczestniczyło wielu wybitnych naukowców, między innymi profesorowie E. Katzir-Katchalski i J. Porath. Po odejściu na emeryturę prof. J. Poratha współpraca z Uniwersytetem w Uppsali była kontynuowana w latach 90. z prof. Lorentzem Engströmem (z Zakładu Chemii Medycznej). Nawiązana w latach 80. współpraca z prof. Lorenzo Pinna (Zakład Chemii Biologicznej Uniwersytetu w Padwie) znacznie zintensyfikowała badania kinazy białkowej CK2 i fosfatazy białkowej typu 2A z kukurydzy. Współpraca ta trwa do dziś. W realizacji badań dotyczących fosoforylacji białek roślinnych uczestniczyły G. Muszyńska, G. Dobrowolska, J. Szczegieliński, J. Trojanek i I. Jagiełło.

Elżbieta Kraszevska odbywała w latach 1984-1986 staż podoktorski w Brookhaven National Laboratory (USA), a Jacek Hennig w latach 1989-1993 w laboratorium prof. Daniela F. Klessiga (Waksman Institute, Rutgers, New Jersey, USA) badał mechanizmy odpowiedzi roślin na infekcję. W 1996 roku J. Hennig otrzymał prestiżowe, półroczne, Stypendium Królowej Holenderskiej. Odbył je w pracowni prof. Johna Bola



Sympozjum biotechnologiczne w Mogilanach k.Krakowa zorganizowane przez ZBR i International Society for Biorecognition Technology, Bethesda, USA w 1988 roku.

I rząd: Robert Sleight, Danuta Dębczyńska, Emilia Chiancone, Grażyna Muszyńska, Violetta Lubińska, Grażyna Dobrowolska, Izabella Jagiełło, NN, NN, NN; II rząd: Danuta Wasilewska, Grażyna Tokarczyk, Irwin Chaiken, NN, NN, NN; III rząd: Lars Ryden, NN, NN, NN, Ephraim Katzir-Katchalski, Zdzisław Żak, Indu Parikh, Andrzej Morawiecki; IV rząd: Jeker Porath, NN, Teresa Jakubowicz, Lorenzo Pinna, T. Wiliam Hutchens, Ewa Wasylewska, Jordanka Kourteva i inni.



Podczas Sympozjum w Mogilanach: Grażyna Tokarczyk i Robert Sleigh w Jamie Michalikowej w Krakowie, 1988.

(Leiden University), prowadząc badania roli percepcji etylenu na proces odporności roślin na infekcje. W latach 1999-2002 Magdalena Krzymowska była dwukrotnie stypendystką Fundacji Alexandra von Humboldta.

Agnieszka Sirko w latach 1991-1994 odbywała staż naukowy w State University of New York (Stony Brook, USA), gdzie pracowała nad regulacją ekspresji genów prokariotycznych. Zdobyte doświadczenie wykorzystuje teraz w badaniach ekspresji genów roślinnych prowadzonych w ZBR.

W latach 1991-1995 Grażyna Dobrowolska odbywała staż podoktorski w laboratorium prof. Erwina Krebsa (Washington State University, Seattle, USA). Prof. E. Krebs, laureat Nagrody Nobla w 1992 r., jest pionierem badań odwracalnej fosforylacji białek. Uzyskane w laboratorium prof. Krebsa doświadczenie w pracy nad kinazami białkowymi G. Dobrowolska z powodzeniem wykorzystuje obecnie w pracy z własnym zespołem.

Maria Bucholc w latach 1997-1999 odbywała staż naukowy w laboratorium prof. Arthura J. Lustiga (Department of Biochemistry, Tulane University, Medical Center, USA).

Robert Brodzik od 1998 roku realizuje badania pod kierunkiem prof. Hilarego Koprowskiego w Biotechnology Foundation Laboratories at Thomas Jefferson University (Philadelphia, USA)

Blanka Szurmak po doktoracie (1999-2000) realizowała badania w laboratorium prof. Jana Miernyka w University of Missouri (USA).

Joanna Trojanek od 2001 roku efektywnie pracuje w pracowni prof. Krzysztofa Reiss w Centrum Neurowirusologii i Biologii Raka, Temple University, Filadelfia, USA. W przyszłym roku zamierza do nas powrócić.

ZBR współpracuje również z wieloma ośrodkami krajowymi, takimi jak: UW, SGGW, IHAR-Radzików, ART-Olsztyn, Uniwersytet Wrocławski, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, Uniwersytet Gdański.

Działalność organizacyjna

Wielu pracowników Zakładu jednocześnie z działalnością statutową łączyło pracę w Dyrekcji Instytutu. Profesor Reifer był w latach 1963-1966 wicedyrektorem i dokładał wszelkich starań, aby doszło do przeprowadzki wszystkich Zakładów Instytutu pod wspólny dach. Przeprowadzka zaowocowała integracją dotychczas rozproszonych po całej Warszawie zespołów. Profesorowie Buchowicz i Kleczkowski byli dyrektorami Instytutu kolejno w latach 1984-1987 i 1987-1990.

Pod koniec kadencji prof. Buchowicza rozpoczęta została budowa pierwszego pawilonu obecnej siedziby Instytutu przy ul. Pawińskiego 5a. Przyspieszenie tej budowy w następnych latach zawdzięcza Instytut doc. Bernardowi Wielgatowi, kierownikowi zespołu naukowego w ZBR i wieloletniemu (1984-2000) wicedyrektorowi IBB ds. ogólnych. Profesor Muszyńska, obecny kierownik ZBR, była w latach 1990-1996 wicedyrektorem Instytutu ds. naukowych. Dzięki konsekwentnym działaniom ożywiona została wydatnie współpraca z Wydziałem Biologii UW i wieloma innymi placówkami naukowymi krajowymi i zagranicznymi. Od 1998 roku G. Muszyńska i G. Dobrowolska uczestniczą w organizowanych przez prof. Dawida Shugara cyklicznych sympozjach dotyczących inhibitorów kinaz białkowych. Ze względu na znaczenie poznawcze i potencjalnie aplikacyjne sympozja te zyskały dużą rangę w międzynarodowym środowisku naukowym.



Z wizytą u Ambasadora Pakistanu 23 marca 1996 – Bernard Wielgat i Kazimierz Kleczkowski po obronie pracy doktorskiej w IBB Malika Awana.

Ci, którzy odeszli i Ci, którzy się rozeszli

Znaną prawdą jest, że historię tworzą ludzie. Wielu z nich na trwale pozostało w pamięci Zakładu. Od 1952 roku wiele osób pracowało dłużej lub krócej w ZBR, a niektórzy całe swe dorosłe życie związali z tym Zakładem. Niektórzy, mimo że odeszli, na zawsze pozostaną w naszych wspomnieniach.

Ignacy Reifer (1909-1971), pasjonat i oryginał, codziennie z nowym zapałem przystępował do nowych doświadczeń. Pamiętamy z uczuciem i radością śpiewaną „Ramonę” po każdym udanym doświadczeniu. Wszyscy czuliśmy respekt do Profesora, dlatego byliśmy zdyscyplinowani. Ale to On zaraził nas na stałe entuzjazmem do pracy i ciekawością.

Kazimierz Kleczkowski, Kazik (1924-1998) opiekował się Zakładem przez wiele lat. W dużej mierze Jemu ZBR zawdzięcza dynamiczny rozwój. Kazik był osobą bardzo wrażliwą na niesprawiedliwość i krzywdy ludzkie. Dzięki Niemu w ZBR była rodzinna atmosfera.

Lidia Danuta Wasilewska, Danka (1937-2002), osoba niezwykle dynamiczna i zaangażowana, obdarzona niezwykłą pamięcią. Dzielnie walczyła przez dziesiątki lat z nieuleczalną chorobą.

Danusię i Kazika pamiętamy z pobytu w Łodzi na I Ogólnopolskim Kongresie Biochemii (1963 rok). Podczas wieczornego spaceru Kazik grał na liściu lipy i grzebieniu, a zapobiegliwa Danusia (wyglądająca jak Greta Garbo) usiłowała przekonać jadących furgonetką milicjantów, ażeby rozbawioną grupę ludzi zabrali nie na komisariat, lecz do akademika znajdującego się na peryferiach Łodzi (prawdopodobnie była to ul. Lumumby), gdzie byliśmy zakwaterowani.

Maria Borkowska, Marysia (1948-1999), delikatna blondynka z kręconymi włosami, po raz pierwszy przyszła do Zakładu po maturze. Wiele lat później powróciła i do końca z miłością i profesjonalną perfekcją „wyprawiała roślinki ziemniaka z kalusa”.

Marianna Dąbrowska (1940-2002) pracowała z nami kilka lat. Pamiętamy ją jako miłą i uczynną koleżankę.

Grażyna Tokarczyk, Grażynka (1952-2002), pamiętamy ją pełną energii i zapału. Była nieoceniona ze swoim urokiem osobistym i perfekcyjnym angielskim, w trudnej i pionierskiej w tamtych czasach (1988 rok) organizacji międzynarodowego sympozjum biotechnologicznego w Mogilanach k.Krakowa.

Szczególną cechą ZBR była atmosfera w pracy. W tym materialnie ubogim okresie nieśliśmy sobie wzajemną pomoc, znaliśmy nasze rodziny i dzieci, spotykaliśmy się poza Instytutem. Profesor Reifer organizował spotkania integracyjne w restauracji Olimp (w Grand Hotelu). Był zapalonym brydżystą, a niezapomniane były seanse brydżowe organizowane przez Grażynę Muszyńską w Piasecznie. W końcu lat 60. Benek Wielgat zorganizował klub rekreacyjno-sportowy Kaprys, aby

ulżyć płucom pracowników IBB „przeżartym” odczynnikami chemicznymi i papierosami. Od wiosny wychodziliśmy na stadiony Skry i Gwardii. Najstojniejszy był zespół siatkarzy docentów (filary to Włodek Szer i Kazik Kleczkowski). Jednak najlepszymi siatkarzami byli Piotr Węgleński i Andrzej Paszewski (Zakład Genetyki). Puchary i dyplomy uzyskiwane z tych spartakiad dekorowały gabinet dyrektora. Pewnego dnia prof. J. Heller z charakterystycznym dobrotliwym uśmiechem rzekł do Benka: „Ja już nie wiem, czy jestem w klubie sportowym, czy instytucie naukowym”.

Zimą toczyły się boje w ping-ponga z profesorami I. Reiferem i D. Shugarem na czele. Profesor Shugar przychodził do Benka z nieodłączną fajką w ustach i mówił: „Panie Benku, mam wolną godzinę, może byśmy popykali w ping-ponga?”. Natomiast prof. Reifer wykrzykiwał: „Benek, jak i dziś wygrasz ze mną, to od jutra nie pracujesz!”. Niezapomniane były wyjazdy na jesienne pieczenie ziemniaków, na których Kazik na grzebieniu grał „Polesia czar”.

Szczególnie utkwiły też w pamięci wycieczki samochodem Jurka Buchowicza, który dopingowany okrzykami Danki Wasilewskiej, prowadził ostro swego nowego moskwicza. Podejrzewaliśmy, że to raczej moskwicze ich prowadzi...

Cieszyliśmy się z każdego sukcesu, każdej obrony doktoratu. A Kazik ciągle na grzebieniu grał „Polesia czar”...

Wzajemna życzliwość, radość z najdrobniejszych sukcesów i umiejętność ciężkiej pracy (pracowało się od rana do 21-22) i pogodnej zabawy zyskała Zakładowi dużo sympatii, szczególnie Koleżanek i Kolegów z Zakładu Biochemii Drobnoustrojów, z którymi łączył nas ten sam korytarz na II piętrze budynku IPF (Danusia Hulanicka, Alina Wiater, Tadeusz Kłopotowski, Włodek Walczak, Krysia Krajewska, Jadzia Wild).

W latach 60. i 70. ubiegłego stulecia struktura Zakładu Biochemii Roślin nie różniła się od innych jednostek badawczych. W laboratoriach znaczną liczebność przewagę miały (i mają) kobiety. Może w tym należy doszukiwać się jednej z przyczyn powstania w ZBR ekskluzywnej męskiej organizacji zwanej „Podkurkiem”. Skupiała większość Panów pracujących w Zakładzie (Benek Wielgat, Zbyszek Grzelczak, Marek Tomaszewski, Andrzej Zbroch, Jacek Jankowski, Jurek Paszkowski, Jurek Mazurkiewicz, Antek Maśka). Na podkulkach (wspólne śniadania) rozważane były wyłącznie sprawy światowe i „elementom” obcym, tj. „Babom” wstęp był wzbroniony! W tym okresie istniała w Zakładzie inna organizacja, tzw. Wewnętrzna Kasa Zapomogowo-Pożyczkowa. Jej akcjonariusze po każdej tzw. wypłacie, tj. pierwszego dnia każdego miesiąca uzupełniali wkład i już około połowy miesiąca zasoby „kasy” topniały na bieżące potrzeby, tj. na tzw. życie. Organizacja ta w późniejszym okresie równie sumiennie i sprawiedliwie przeprowadzała dystrybucję przydzielonych

dla Zakładu niewielkich ilości produktów żywnościowych.

Miniony okres (do początku lat 90.) był trudny do prowadzenia badań. Brakowało wszystkiego, nawet do przeprowadzenia najprostszych doświadczeń. Z pracy w laboratoriach zagranicznych przywoziliśmy niezbędne akcesoria, np. odczynniki, mikropipety, wężyki, gumowe rękawiczki i nawet wodę wolną od zanieczyszczeń. Byliśmy, podobnie jak większość, ubogim Zakładem. Na przykład jesienią 1963 roku podczas przeprowadzki z gmachu SGGW (Rakowiecka 28) do budynku IPF (Rakowiecka 36) cały swój majątek zmieściliśmy w wiklinowych koszach (co prawda nie było daleko). Natomiast 30 lat później przeprowadzka do pierwszego własnego budynku IBB przy ul. Pawińskiego 5a była zaplanowanym w szczegółach wieloetapowym działaniem logistycznym, w którym uczestniczyły wyspecjalizowane firmy. Obecnie kolejna przeprowadzka byłaby trudna do wyobrażenia – praktycznie niemożliwa.

W latach 60. jedną z niewielu precyzyjnych narzędzi otoczonych dbałością była mikropipeta na 200 μ l do miareczkowania amoniaku w naczynkach Convey'a. Przed każdym użyciem z naczynek tych należało usunąć smar, a potem je starannie umyć. Grażyna (Muszyńska) opracowała przepis mycia: „kilkanaście razy ruch okrężny szczotką w kierunku wskazówek zegara i tyle samo w kierunku przeciwnym”. Przepis ten był egzekwowany, ale nie był akceptowany. Nadarzyła się sposobność rewanżu. Jola (Bralczyk) odpowiedzialna za sprawy gospodarcze przekazała Grażynie „polecenie” z pralni, ażeby własne fartuchy laboratoryjne oznakować. Jako że nie było wtedy dobrej jakości flamastrów, Jola poleciła wyhaftować imię i nazwisko, pełną nazwę i adres Zakładu. Nie pomogły protesty koślawo haftującej Grażyny. Po wielu godzinach mozolnej pracy Grażyny, błysk w oku Joli świadczył, że zemsta jest nie tylko rozkoszą bogów!

Inna zabawna historia jest związana z Jurkiem Buchowiczem. Jurek, mimo że był po doktoracie, wyglądał na nastolatka. W autobusie zaczęła go dziewczyna, dumnie pytając: „Ja już jestem po maturze i dostałam się na studia, a czy ty też jesteś już studentem?”!

W Zakładzie pracowało wielu ciekawych ludzi, których zainteresowania były znacznie szersze aniżeli praca badawcza. Jednym z nich był Jurek Mazurkiewicz, który zrezygnował z pracy w Zakładzie i wstąpił do seminarium duchownego. Nie zapomniał jednak o Zakładzie. Kilka lat później (w 1985 roku) odwiedził nas i przywiózł w darze dla Zakładu pięknie ilustrowane błogosławieństwo Papieża. Dar ten jest dla nas szczególnie cenny i mamy nadzieję, że pomaga nam w życiu i w pracy.

Niektórzy z naszych pracowników, najczęściej byli doktoranci (tj. Ci, „co się rozeszli”) pozostali na stałe za granicą. Jednak nie straciliśmy z nimi kontaktu. W miarę możliwości odwiedzają starych przyjaciół w „nowym

gnieździe”. Oto niektórzy z nich: Jurek Paszkowski, po ukończeniu doktoratu w IBB pracował w Friedrich Miescher-Institute (Bazylea, Szwajcaria), a następnie na Politechnice w Zurichu. Obecnie od 2003 roku jest profesorem na Uniwersytecie w Genewie. Regularnie przyjeżdża na nasze Sesje Sprawozdawcze. Basia Mazuś, świetny organizator, wiele lat pracowała w Harvard Medical School (Boston, USA), gdzie opiekowała się polskimi stypendystami, a szczególnie pracownikami IBB przebywającymi na wschodnim wybrzeżu USA. Obecnie jest na emeryturze i regularnie nas odwiedza. Elżbieta Ber, od 1986 roku przez 17 lat pracowała naukowo w największej amerykańskiej firmie farmaceutycznej MERCK (Merck Research Laboratories, Rahway, New Jersey). Obecnie jest na emeryturze, mieszka z rodziną w USA i utrzymuje z nami kontakty. Zbyszek Grzelczak od 1980 roku wraz z rodziną mieszka w Kanadzie. Pracował w Children's Hospital w Toronto. Obecnie jest na emeryturze. Teresa Brodniewicz-Proba, przez wiele lat pracowała naukowo w Kanadzie. Powróciła z rodziną kilka lat temu do kraju i jest businesswoman.

Lista naszych kolegów, którzy się z nami „rozeszli”, jest długa. Nie sposób wszystkich wymienić, za co przepraszamy! Mamy nadzieję, że wielu z nich zobaczymy na naszych jesiennych uroczystościach.

Obecnie (tj. w 2004 roku) w skład ZBR wchodzi 6 niezależnych zespołów badawczych. Zespoły te w większości są kierowane przez młodych, energicznych i doskonale wykształconych badaczy.

Oto imienna lista pracowników zatrudnionych w poszczególnych zespołach:

– zespół prof. dr hab. Grażyny Muszyńskiej, dr Jadwiga Szczegieliński, dr Joanna Trojanek, mgr Maria Klimecka, mgr Maja Łebska;

– zespół prof. dr hab. Jacka Henniga, dr Dorota Konopka-Postupolska, dr Magdalena Krzymowska, mgr Robert Kuthan, mgr Anna Maassen, mgr Agnieszka Mac, mgr Kamil Witek;

– zespół doc. dr hab. Bernarda Wielgata, dr Urszula Maciejewska, dr Anna Szczerbakowa, mgr Danuta Bołtowiec, mgr Lidia Polkowska-Kowalczyk, tech. Irena Dzikowska, mgr Kinga Furga;

– zespół doc. dr hab. Agnieszki Sirko, dr Robert Brodzik, mgr Anna Błaszczuk, mgr Frantz Liszewska, mgr Kacper Kazimierzczuk, mgr Adam Wawrzyński;

– zespół doc. dr hab. Grażyny Dobrowolskiej, mgr Anna Kelner, mgr Izabela Pękała;

– zespół dr Elżbiety Kraszewskiej, prof. dr hab. Jerzy Buchowicz (emeryt), dr Marta Dobrzańska, dr Blanka Szurmak, dr Maria Bucholc, mgr Arkadiusz Ciesielski, mgr Kamil Olejnik.

Osobą, która doskonale kontroluje aktywność Zakładu, a szczególnie skomplikowaną działalność finansową, jest niezastąpiona Katarzyna Róg.

Pracownicy, którzy uzyskali w ZBR stopień doktora (chronologicznie): Kazimierz Kleczkowski, Jerzy Buchowicz, Kazimierz Toczko, Maria Toczko, Maria Bratek-Wiewiórska, Mariusz Fotyma, Lidia D. Wasilewska, Grażyna Muszyńska, Barbara Mazuś, Jolanta Bralczyk, Bernard Wielgat, Ewa Zawidzka-Rejman,

Marek Tomaszewski, Marta Dobrzańska-Wiernikowska, Elżbieta Tarantowicz-Marek, Elżbieta Ber, Zbigniew Grzelczak, Teresa Brodniewicz-Proba, Jacek Janowski, Jerzy Paszkowski, Elżbieta Kraszewska, Grażyna Dobrowolska, Barbara Kroczyńska, Bogumił Kwiatkowski, Maria Bucholc, Blanka Szurmak, Malik Fateh



1. ZBR świętuje obronę Izabeli Kern z Zakładu Biochemii Drobnoustrojów w marcu 1996; Marek Koter, Andrzej Talarczyk, Magdalena Krzymowska, Iza Kern.
2. Dr Magdalena Krzymowska przy doświadczeniu pod laminarem z kulturami roślinnymi w bloku F IBB, jesienią 1995 roku.
3. Przyjaciele, 1997 rok, Robert Brodzik i Bunmi Awotunde (Nigeria).
4. Pracownicy ZBR w czasie Sympozjum IBB w 2000 roku: Bunmi Awotunde, Anna Kelner, Kacper Kazimierczuk, Grażyna Dobrowolska, Maja Klimecka, Grażyna Muszyńska (kierowniczka Zakładu), Agnieszka Sirko, Frantz Liszewska, Joanna Trojanek, Anna Błaszczuk.
5. ZBR świętuje obronę Joanny Trojanek w 2001 roku: Grażyna Muszyńska, Jadwiga Szczegieliński, Bunmi Awotunde, Maja Klimecka, Anna Błaszczuk, Anna Kelner, Grażyna Dobrowolska, Izabela Pękala, Monika Pacocha, Blanka Szurmak.

Muhammad Awan, Magdalena Krzymowska, Jadwiga Szczegieliński, Olubunmi S. Awotunde, Andrzej Talarczyk, Joanna Trojanek, Monika Mikołajczyk, Robert Brodzik, Marek Koter, Aneta Liwosz, Cezary Krysiak.

Pracownicy, którzy uzyskali w ZBR stopień doktora habilitowanego (chronologicznie): Kazimierz Kleczkowski, Jerzy Buchowicz, Lidia D. Wasilewska, Grażyna Muszyńska, Barbara Mazuś, Bernard Wiegat, Jacek Hennig, Agnieszka Sirko, Grażyna Dobrowolska.

Pracownicy, którzy uzyskali w ZBR tytuł naukowy profesora (chronologicznie): Kazimierz Kleczkowski, Jerzy Buchowicz, Lidia D. Wasilewska, Grażyna Muszyńska, Jacek Hennig, Bernard Wielgat.

Lista byłych pracowników ZBR:

Halina Augustyniak, Jacek Augustyniak, Olubunmi S. Awotunde, Elżbieta Ber, Ewa Białek, Maria Borkowska, Jolanta Bralczyk, Maria Bratek-Wiewiórowska, Teresa Brodniewicz-Proba, Lucyna Buraczewska, Marianna Dąbrowska, Mariusz Fotyma, Zbigniew Grzelczak, Iwona Hirschler-Łaszkiwicz, Izabela Jagiełło, Jacek Jankowski, Barbara Jasiorska, Ireneusz Jurkowski, Marta Kabzińska, Anna Kijewska, Kazimierz Kleczkowski, Danuta Kleczkowska, Krzysztof Kleczkowski, Bogusław Kłos, Marek Koter, Waldemar Krajewski, Jadwiga Król, Barbara Kroczyńska, Cezary Krysiak, Bogusław Kwiatkowski, Anna Leśniewska, Aneta Liwosz, Wioletta Lubińska, Bożena Marciniak, Fateh Muhammad Awan Malik,



Grupa Patogenezy Roślin w sierpniu 2004 roku przed szklarnią IBB: Robert Kuthan, Magdalena Krzymowska, Anna Barabasz, Dorota Konopka, Anna Maassen, Agnieszka Mac, Jacek Hennig (kierownik); niżej – Kamil Witek, Grzegorz Bednarczyk.

Antoni Maśka, Jerzy Mazurkiewicz, Barbara Mazuś, Monika Mikołajczyk, Małgorzata Musielak, Barbara Ostrowska, Monika Pacocha, Jerzy Paszkowski, Maria Piechocka, Joanna Pomorska, Elżbieta Rachwał, Ignacy Reifer, Wiesława Rogala, Hanna Rybicka, Helena Sierzycka, Nina Smolar, Maria Solecka, Alicja Stasiak, Adelajda Suckewer, Barbara Surowiec, Jadwiga Szyszko, Andrzej Talarczyk, Elżbieta Tarantowicz-Marek, Maria Toczko, Kazimierz Toczko, Zygmunt Tomaszewski, Marek Tomaszewski-Chyczewski, Cezary Urbański, Lidia D. Wasilewska, Maciej Wiewiórowski, Maria Wojtczak, Ewa Zawidzka-Rejman, Anna Zielińska, Krystyna Żuk.



Letnia szkoła – „Sygnały w oddziaływaniach roślina-bakterie” w Goniądzu k. Białegostoku, maj 2002. Pierwszy z lewej – doc. Piotr Cegłowski, wicedyrektor IBB.

ZAKŁAD BIOCHEMII DROBNOUSTROJÓW

Danuta Hulanicka

Historia Zakładu Biochemii Drobnoustrojów

Zanim powstał Zakład Biochemii Drobnoustrojów, działała Pracownia Immunochemii Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN, kierowana przez doc. Andrzeja Kozińskiego wyodrębniona z Pracowni Wirusologii Akademii Medycznej w Warszawie. W skład zespołu doc. Kozińskiego wchodziły następujące osoby: Zofia Opara, Irena Pietrzykowska, Barbara Kędzierska, Krystyna Baczyńska, dr Wiesław Gall. Główny nurt badań dotyczył wirusów bakteryjnych. Zofia Opara zajmowała się zagadnieniem roli powierzchniowego antygenu Vi *Salmonella typhimurium* w procesie adsorpcji fagów Vi do komórek gospodarza. Irena Pietrzykowska zajmowała się mechanizmem fotochemicznej indukcji fagów



lizogennych *E. coli* jako modelu uwalniania utajonych wirusów w procesie nowotworzenia. Otrzymane wyniki stały się podstawą pracy doktorskiej Ireny Pietrzykowskiej, obronionej w 1963 roku.

Po wyjeździe doc. Andrzeja Kozińskiego do USA w 1957 roku opiekę nad Pracownią przejął prof. Ed-



Kierownik i organizator Pracowni Immunochemii Zakładu Biochemii PAN, docent Andrzej Koziński na zjeździe wirusologów w Smolenicach (Czechosłowacja) w 1955 roku.

Pierwsza doktorantka Pracowni Immunochemii Zofia Opara, 1958 rok.



Pracownicy Immunochemii w gmachu przy ul. Oczerki 6: Wiesław Gal, NN, Zofia Opara, Barbara Kędzierska na balkonie pracowni, 1958.

mund Mikulaszek. W niedługim czasie zespół uległ uszczupleniu w związku z odejściem niektórych pracowników do innych placówek naukowych i wyjazdem Zofii Oparę do USA na stypendium doktorskie. W następnym roku do Pracowni dołączyła prof. Janina Dżułyńska, która wraz ze swoim zespołem (Helena Kozdrój i Krystyna Krajewska) zajęła się białkami surowic zwierzęcych. Celem prac było stwierdzenie, czy istnieją gatunkowe i międzygatunkowe podobieństwa w ruchliwości elektroforetycznej i dystrybucji frakcji glikoprote-



Rozcieńczanie faga – Irena Pietrzykowska, lata 60.

inowych, a także w zawartości hexoz i pochodnych kwasu neuraminowego w surowicach zwierzęcych.

Drugi zespół należący do Zakładu Biochemii Drobnoustrojów, mieszczący się na terenie PZH i kierowany przez doc. Romana Pakułę zajmował się paciorkowcami. W skład zespołu wchodził Edmund Bańkowska i Włodzimierz Walczak.

Cztery lata po powołaniu przez Prezydium PAN i Radę Ministrów Instytutu Biochemii Biofizyki, w 1960 roku Pracownia Immunochemii wraz z Pracownią Paciorkowców została przekształcona w Zakład Biochemii Drobnoustrojów, którego kierownictwo objął prof. Edmund Mikulaszek.

W 1963 roku doc. Roman Pakuła emigrował do Kanady a opiekę nad grupą zajmującą się paciorkowcami objął dr Tadeusz Kłopotowski.

Przyznanie Instytutowi na przełomie lat 1963/1964 tymczasowej siedziby w gmachu przy ul. Rakowieckiej 36 umożliwiło dalszy rozwój Zakładu Biochemii Drobnoustrojów. Stopniowo powstawały nowe zespoły, przyjmowano młodych pracowników, z których większość doktoryzowała się właśnie w ZBD. Na przełomie lat 60. i 70. powstały kolejno zespoły: doc. Tadeusza Kłopotowskiego, doc. Zygmunta Cieśli i doc. Danuty Hulanickiej.

Każdy z tych zespołów stopniowo rozwijał się i często stawał się „kolebką” nowych grup, których kierownikami zostawali członkowie zespołów po zrobieniu habilitacji. Powstające zespoły należały nadal do Zakładu Biochemii Drobnoustrojów bądź pracowały w innych zakładach Instytutu.

W 1963 roku z Instytutu Matki i Dziecka do IBB przeniesiony został zespół prof. Grzegorza Bagdasariana, zajmujący się metabolizmem drobnoustrojów. Wraz z prof. Bagdasarianem przeszedł dr Tadeusz Kłopotowski, a rok później dr Alina Wiater i dr Danuta Hulanicka. Utworzenie nowej pracowni pod kierownictwem prof. Bagdasariana znacznie rozszerzyło tematykę badań zakładu. Profesor Bagdasarian, członek Rady Naukowej IBB od chwili jej powstania i doradca Ministra Zdrowia, był wybitnym specjalistą z dziedziny biochemii drobnoustrojów. Kontakty naukowe prof. Bagdasariana z wiodącymi pracownikami biochemicznymi w kraju i za granicą umożliwiły prowadzenie szeroko zakrojonych badań nad biochemią drobnoustrojów.

W latach 60. genetyka mikroorganizmów była słabo poznana. Badania przemian metabolicznych prowadzono, stosując głównie inhibitory wzrostu mikroorganizmów, szukając związków znoszących efekt inhibitora oraz izolując mutanty odporne na dany związek. Toteż dr Kłopotowski, początkowo sam, a następnie wraz ze

współpracownikami (dr Aliną Wiater, dr Włodzimierzem Walczakiem, dr Danutą Hulanicką) badali wpływ 3-amino-1,2,4-triazolu, inhibitora wzrostu szeregu organizmów, stosowanego również jako herbicyd. Badania prowadzono na drożdżach oraz na *Enterobacteriaceae*. Wyniki prowadzonych badań wykazały, że związek ten interferuje z biosyntezą histydyny i puryn, i stały się podstawą pracy habilitacyjnej dr Kłopotowskiego, ukończonej w 1965 roku. Docent Tadeusz Kłopotowski po przejściu prof. Bagdasarian na emeryturę w 1972 roku przejął kierownictwo Zakładu.

W latach 70. i 80. zespół doc. Kłopotowskiego stopniowo się rozwijał. Przyjęto szereg nowych pracowników (J. Rytka, M. Filutowicz, J. Wild, J. Hennig), a z pracowni prof. Dżułyńskiej przeszła K. Krajewska. Początkowo główny nurt badań dotyczył systemu transportu histydyny do komórek bakteryjnych. W latach 80. zainteresowania grupy prof. Kłopotowskiego rozszerzyły się na zagadnienia związane z metabolizmem D-aminokwasów u *E. coli*. Ze względu na udział niektórych D-aminokwasów (m.in. D-alaniny) w budowie ściany komórkowej bakterii, wybór tego tematu miał oprócz racji czysto naukowych aspekt praktyczny. Prace nad metabolizmem D-aminokwasów doprowadziły do identyfikacji genu *dadA* kodującego dehydrogenazę D-aminokwasową, kluczowy enzym katabolizmu D-alaniny i szeregu innych D-aminokwasów. Wyizolowano również szereg mutantów zaburzających funkcje tego genu lub jego regulację.

Ze względu na udział prof. Kłopotowskiego w strukturach NSZZ „Solidarność” i związanym z tym jego urlopem z Instytutu, prace nad dehydrogenazą D-aminokwasową prowadzone były pod kierownictwem dr Jadwigi Wild. W 1981 roku do zespołu dołączyli Jacek Hennig i Małgorzata Łobocka. Badania nad efektem polarnych mutacji w genie *dadA* na racemizację L-alaniny doprowadziły do identyfikacji drugiego genu operonu *dad*, *dadX*, kodującego kataboliczną racemazę alaninową.

Zainteresowania zespołu koncentrowały się na wyjaśnieniu fenotypu szczególnej klasy mutantów *dad*, charakteryzujących się zdolnością do wykorzystywania D-tryptofanu jako źródła L-tryptofanu.

W 1986 roku zespół uległ uszczupleniu, ponieważ dr Marcin Filutowicz i dr hab. Jadwiga Wild wyjechali na stypendia naukowe do USA, gdzie nadal pracują, utrzymując ścisły kontakt z Instytutem.

Dalsze prace nad strukturą i regulacją ekspresji genów *dad* prowadzone były przez J. Henniga i M. Łobocką, z udziałem dr W. Walczaka, pod kierunkiem prof. Tadeusza Kłopotowskiego. Z uwagi na dynamiczny rozwój technik genetyki molekularnej w tym czasie, w pracach zespołów Zakładu nastąpił zwrot w kierunku opanowania i stosowania tych technik. Między innymi opanowano technikę sekwencjonowania DNA i wykorzystano ją do ustalenia sekwencji nukleo-

tydowej operonu *dad*. Dokonano również identyfikacji produktów białkowych genów *dad* w systemie tzw. maxi-cells. Zainteresowania mechanizmami globalnej regulacji ekspresji genów przyczyniły się do rozpoczęcia badań nad mechanizmami represji operonu *dad* (kodowana przez ten gen dehydrogenaza D-aminokwasowa wymaga dla swej funkcji udziału łańcucha oddychowego) w warunkach beztlenowych. Doprowadziło to do identyfikacji genu *fnr* jako jednego z nadrzędnych regulatorów ekspresji tego operonu. Równoległe badania nad genem *fnr* w innych laboratoriach stały się podstawą zaliczenia białka Fnr do grupy globalnych regulatorów wpływających na ekspresję szeregu genów w odpowiedzi na brak tlenu w środowisku. Wyjazdy na stypendia podoktorskie J. Henniga i M. Łobockiej oraz odejście na emeryturę dr. W. Walczaka spowodowały zaniechanie prac nad strukturą i regulacją genów katabolizmu D-aminokwasów.

Roczny pobyt prof. T. Kłopotowskiego na stypendium naukowym w laboratorium Susan Gottesmann, w Narodowym Instytucie Zdrowia USA w Bethesda (1987 rok), zaowocował rozpoczęciem w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów nowego tematu – badania regulacji syntezy kwasu kolaninowego u *Escherichia coli*. Prace prowadzono pod kierunkiem prof. T. Kłopotowskiego do 1997 roku, gdy zostały przerwane z powodu ciężkiej choroby profesora.

W końcu 1996 roku, po powrocie dr M. Łobockej ze stażu podoktorskiego w USA, w laboratorium rozpoczęto pod jej kierunkiem prace nad zupełnie nowym tematem – aktywną segregacją (partycją) niskokopiiowych plazmidów bakteryjnych do komórek potomnych podczas podziału komórkowego. Jako układy modelowe w tych badaniach posłużyły dwa duże plazmidy-profagi: kolisty plazmid P1 (94 kb) i liniowy plazmid N15 (47 kb) o kowalencyjnie złączonych końcach dwuniciowego DNA.

W latach 1997/1998 w ramach studiów doktoranckich dołączyły do zespołu nowe osoby: Aneta Dobruk (obecnie Dobruk-Serkowska) i Olga Bugajska (obecnie Juszcuk). Skoncentrowano się na konstrukcji systemów badawczych umożliwiających obserwacje ruchu plazmidów w żywych komórkach podczas partycji z użyciem najnowszych technik mikroskopii fluorescencyjnej oraz na badaniu reakcji partycyjnych zachodzących *in vivo*. Scharakteryzowano system partycyjny plazmidu-profaga N15 i opracowano prostą metodę identyfikacji rejonów centromerowych w cząsteczkach dużych plazmidów. Przy pomocy technik sprzęgania białek z DNA *in vivo* z użyciem formaldehydu stwierdzono, że białko partycyjne ParB P1, po związaniu z centromerem plazmidowym, może oddziaływać z pozacentromerowym DNA i wyciszać transkrypcje genów w sąsiedztwie centromeru. Pokazano zdolność białka partycyjnego ParA P1 do oscylacji w komórce. Badania nad partycją plazmidów są kontynuowane.



Spotkanie za granicą – profesor Tadeusz Kłopotowski ze swoim wychowankiem (po lewej), Włodzimierzem Mandeckim (Co. Molecular Biology, Illinois, USA), w czerwcu 2000 r.

W 1998 roku do tematyki prac zespołu włączono dodatkowe badania nad genomiką dużych bakteriofagów. Temat ten „wypączkował” z badań nad partycją i był dyktowany potrzebą ustalenia sekwencji DNA P1, jednego z plazmidów-profagów, którego system partycji był w centrum uwagi zespołu. W wyniku tych prac ustalono kompletne sekwencje genomowe dwóch dużych bakteriofagów enterobakterii: P1 (94 kb) i P7 (102 kb), we współpracy z Zakładem Biologii Molekularnej Centrum Onkologii w Gliwicach. Były to pierwsze kompletne projekty genomowe zrealizowane w IBB. Ich wyniki przyczyniły się do ukierunkowania części prac zespołu na tematy związane z biotechnologią bakteriofagów oraz genomiką dużych bakteriofagów wirulentnych infekujących groźne bakterie patogenne. Obecnie, w ramach tej tematyki, prowadzone są badania nad charakterystyką funkcjonalną wybranych kaset genowych bakteriofagów P1 i P7 i możliwościami ich wykorzystania biotechnologicznego. Dodatkowo, rozpoczęto prace nad ustaleniem kompletnej sekwencji genomowej poliwalentnego bakteriofaga gronkowcowego infekującego spektrum szczepów *Staphylococcus aureus* i *S. carnosum*.

Tematyka badań prowadzonych w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów rozszerzyła się, gdy w roku 1968 dołączył do zespołu dr Zygmunt Cieśla. Podjęto wówczas prace nad regulacją podziału komórek bakteryjnych. Ich owocem była izolacja pierwszych mutantów *Salmonella typhimurium*, *divA* i *divC*, wrażliwych na temperaturę, które wykazywały defekt podziału. Badania te, prowadzone przy czynnym udziale prof. Tadeusza Kłopotowskiego, prof. Michała Bagdasariana i mgr Władysława Szczurkiewicza, pozwoliły na stworzenie modelu regulacji procesu podziału komórek bakteryjnych. Jednocześnie poszukiwano związków

chemicznych interferujących z procesem podziału komórek bakteryjnych. Prace te, prowadzone m. in. przy udziale dr Krystyny Mardarowicz (zw. Agata), doprowadziły do identyfikacji azydku sodu jako inhibitora replikacji DNA, a pośrednio również inhibitora podziału. W toku badań nad interferencją azydku z procesem replikacji DNA okazało się, że związek ten jest bardzo silnym mutagenem. Kilkuletnie prace, przy bardzo czynnym udziale Marcina Filutowicza oraz Marii Szwackiej, pozwoliły wyjaśnić mechanizm mutagennej aktywacji azydku; okazało się, że aktywność sulfhydrolazy A O-acetyloseryny, enzymu szlaku biosyntezy cysteiny, jest niezbędnym warunkiem mutageny indukowanej przez azydek sodu. Innym aspektem badań nad replikacją DNA

w komórkach bakteryjnych były prace nad regulacją inicjacji replikacji chromosomu. Do badań tych włączył się aktywnie mgr Piotr Jonczyk, pierwszy doktorant doc. Zygmunta Cieśli. Stwierdzono wówczas, że komórki *Escherichia coli* naświetlone UV są zdolne do inicjacji replikacji nawet w warunkach inaktywacji produktu genu *dnaA*. Doprowadziło to do odkrycia alternatywnego mechanizmu inicjacji replikacji DNA. Badania te, kontynuowane również w innych laboratoriach, przyczyniły się do wyjaśnienia rekombinacyjnego mechanizmu inicjacji DNA w komórkach uszkodzonych działaniem mutagenów. Innym ważnym wynikiem prac, prowadzonych przez Piotra Jonczyka i Marcina Filutowicza, było wyjaśnienie roli podjednostki B gyrazy DNA w procesie inicjacji replikacji chromosomu bakteryjnego. W pracach nad inicjacją replikacji brał również udział Piotr Polaczek, badając rolę białka DnaA w replikacji plazmidów Col E1.

Na początku lat osiemdziesiątych ciężar badań prowadzonych przez grupę doc. Zygmunta Cieśły przeniósł



Pracownia Mutagenyzy i Reperacji DNA, 1995: Piotr Mieczkowski, Ewa Śledziwska-Gójska, Marta Fikus, Zygmunt Cieśla (kierownik) oraz Piotr Jonczyk.

się na prace zmierzające do wyjaśnienia funkcjonowania tzw. systemu SOS w replacji DNA. Istotnym osiągnięciem było stwierdzenie, że produkt genu *umuC* jest nie tylko konieczny do mutageny indukowanej promieniami UV, ale także do spontanicznej mutageny w szczepie z konstytutywną ekspresją systemu SOS, *recA441*, a więc kontroluje on wierność replikacji DNA. Do prac nad mutageną SOS włączyła się wówczas mgr Iwona Fijałkowska. Istotnym wynikiem tych badań było stwierdzenie, że nadprodukcja podjednostki epsilon polimerazy III DNA, przeciwdziała powstawaniu mutacji w szczepie z zaindukowanym systemem SOS. Zaproponowano wówczas model mutageny SOS, w którym o powstawaniu błędów replikacyjnych naprzeciw uszkodzeń w DNA decyduje wynik kompetycji między podjednostką epsilon polimerazy III DNA a produktem genu *UmuC*, który jak obecnie wiadomo jest alternatywną polimerazą V DNA. Prace te opublikowane w prestiżowym czasopiśmie, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, odbiły się szerokim echem w środowisku badaczy zajmujących się mutageną w systemie SOS i były również podstawą rozprawy doktorskiej Iwony Fijałkowskiej. Innym cennym wynikiem była obserwacja, że do przeżywalności mutantów *E. coli* z konstytutywną ekspresją systemu SOS jest niezbędna aktywność polimerazy I DNA.

Prace nad mechanizmami mutageny w komórkach bakteryjnych w naturalny sposób doprowadziły do nawiązania współpracy z laboratoriami zagranicznymi, z których najbardziej owocną i trwającą do dzisiaj okazała się współpraca z dr Roelem Schaaperem z Instytutu NIH z Research Triangle Park, w Północnej Karolinie, w którego laboratorium przebywała przez okres pięciu lat dr Iwona Fijałkowska.

W 1992 roku, po przenosinach Instytutu do nowej siedziby, do zespołu prof. Z. Cieśli dołączyły dr Ewa Śledziwska-Gójska i mgr Magda Kanabus, biorąc udział w badaniach mechanizmu odpowiedzi SOS, a szczególnie zajmując się analizą specyficzności mutacji indukowanych MMS i promieniami UV. Dr E. Śledziwska-Gójska kontynuowała również prowadzone uprzednio badania nad istotą genotoksycznego efektu prostych środków alkilujących typu SN2 i wykazała, że mutageny indukowane przez te związki jest zwielokrotniona w wyniku ich reakcji z aktywną cysteiną metylotransferazy O⁶metyloguaniny.

W połowie lat dziewięćdziesiątych, część zespołu kierowana przez prof. Zygmunta Cieślę, zajmująca się badaniami nad mutageną i odpowiedzią komórek na uszkodzenia DNA, postanowiła zmienić model badawczy, i zamiast komórek bakteryjnych *E. coli* posłużyć się eukariotycznymi komórkami drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. W badaniach tych kluczową rolę odegrał magistrant, a później doktorant, Piotr Mieczkowski, który podjął próbę izolacji nowych genów *S. cerevisiae*, których ekspresja jest specyficznie indukowana przez

uszkodzenia DNA. Zbiegło się to w czasie z przekształceniem zespołu prof. Cieśli w niezależną Pracownię Mutageny i Reperacji DNA.

Doktor Danuta Hulanicka w końcu lat 60. równolegle do badań nad mechanizmem wpływu aminotriazolu na metabolizm prokariotów rozpoczęła pracę nad działaniem związku wyjściowego – 1,2,4-triazolu. Prowadzone doświadczenia wykazały, że triazol interferuje u *Enterobacteriaceae* z procesem indukcji enzymów biosyntezy cysteiny, wchodząc w reakcje z induktorem tej drogi. Ta obserwacja zainicjowała nowy kierunek badań prowadzonych przez dr Danutę Hulanicką i spowodowała zainteresowanie zagadnieniem regulacji ekspresji genów, a w szczególności kontrolą ekspresji regulonu cysteinowego, a otrzymane wyniki stały się podstawą pracy habilitacyjnej dr Hulanickiej, przedstawionej Radzie Naukowej w 1973 roku.

Prace nad biosyntezą cysteiny doprowadziły do nawiązania współpracy z laboratorium prof. N. Kredicha z Duke University Medical Center, Durham N.C. Współpraca ta, trwająca przez wiele lat, okazała się bardzo owocna, czego dowodem są liczne wspólne publikacje. Ponadto w laboratorium prof. Kredicha szereg doktorantów doc. Hulanickiej odbyło podoktorskie staże.

Prowadzone przez doc. Hulanicką badania dotyczyły identyfikacji nieznanych jeszcze genów regulonu cysteinowego. Pierwsze prace dotyczyły funkcji i lokalizacji nowych genów biosyntezy cysteiny – *cysK* i *cysM*, a następnie zidentyfikowano nowy operon *cys PTWA*.

W wyżej wymienionych pracach, które wniosły szereg nowych danych w wyjaśnieniu mechanizmu regulacji biosyntezy cysteiny, stosowano klasyczne metody genetyczne i biochemiczne jak analiza merodiploidów, mutagenizacja *in vivo* czy izolacja mutantów regulatorowych jako opornych na inhibitor wzrostu bakterii.

W połowie lat 70. do zespołu doc. Hulanickiej przyjęto nowych doktorantów (Grażynę Jagurę-Burdzy, Jacka Ostrowskiego, Annę Bielińską) a w latach 80. do zespołu dołączyły Agnieszka Sirko, Małgorzata Zatyka i dr Monika Hryniewicz.



Pracownia bakterii siarkowych – Magdalena Możejko, Monika Hryniewicz (kierownik Pracowni), Roksana Iwanicka-Nowicka, Agata Zielak; siedzą – Małgorzata Witkowska-Zimny oraz Anna Łochowska.

Opanowanie metod inżynierii genetycznej przez zespół dr Hulanickiej umożliwiło dalszy postęp w pracy. Szczególnie pożyteczna okazała się metoda fuzji genowych. Skonstruowanie fuzji reportera *lacZ* z promotorem genu *cysB* umożliwiło wykazanie, że gen *cysB*, podobnie jak większość genów regulatorowych, ulega represji przez własny produkt, czyli jest autoregulowany. Otrzymane zostały również fuzje w genach kodujących enzymy biosyntezy cysteiny. Skonstruowane w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów fuzje transkrypcyjne i translacyjne używane były niejednokrotnie przez inne laboratoria w badaniach nad wpływem czynników zewnętrznych na ekspresję genów oraz w pracach nad interakcją białek regulatorowych z podjednostkami RNA polimerazy.

W celu badania mechanizmów regulatorowych na poziomie molekularnym niezbędne jest sklonowanie odpowiednich genów, a następnie ich sekwencjonowanie. Poza klasyczną metodą tzw. shot-gun, owocną w badaniach prof. Hulanickiej, okazała się metoda „replikonu mini-Mu”, po raz pierwszy wprowadzona w kraju przez jej zespół. Prowadzone prace doprowadziły do sklonowania genu regulatorowego *cysB*, jak również szeregu innych genów strukturalnych biosyntezy cysteiny, ustalenia ich sekwencji nukleotydowych oraz uzyskania ekspresji ich produktów w systemie bakte-

ryjnym, co umożliwiło przejście do doświadczeń na poziomie molekularnym.

Trzeba przyznać, że tak duży postęp w badaniach był możliwy dzięki współpracy z laboratorium prof. N.M. Kredicha, w którym opanowywano nowe techniki i wykonywano doświadczenia niemożliwe w latach 80. do przeprowadzenia w warunkach krajowych.

Otrzymane wyniki stanowiły duży postęp w badaniach metabolizmu siarkowego u *Enterobacteriaceae*, czego dowodem jest m.in. wyróżnienie prac zespołu nagrodami Sekretarza PAN, parokrotnie Sekretarza II Wydziału PAN oraz Towarzystwa Genetycznego.

Prace dr Moniki Hryniewicz wykonane w pracowni N.M. Kredicha przyczyniły się do dokładniejszego poznania molekularnego mechanizmu działania białka regulacyjnego CysB. Zidentyfikowano sekwencje rozpoznawane przez CysB w różnych promotorach genów *cys*, ustalono stechiometrię wiązania CysB do tych promotorów, wyjaśniono *in vitro* efekty drobnocząsteczkowych ligandów pełniących rolę „induktorów” lub „anty-induktorów” w transkrypcji genów regulowanych przez CysB. Mechanizm transkrypcji regulowanej przez CysB stał się podstawą pracy habilitacyjnej dr M. Hryniewicz, obronionej w 1997 roku. Po habilitacji doc. Monika Hryniewicz przejęła od prof. Danuty Hulanickiej kierownictwo tematu „Regulacja metabolizmu siarkowego u *Enterobacteriaceae*” (grupa: Roksana Iwanicka-Nowicka, Tomasz Bykowski, Anna Łochowska). W ostatnich latach prace tej grupy (prowadzone we współpracy z zespołem prof. Tomasa Leisingera z ETH-Centrum z Zurychu) koncentrowały się na badaniu regulacji genów związanych z asymilacją siarki ze źródeł organicznych (dostępnych np. w glebie). W grupie doc. Hryniewicz ustalono, że geny te ulegają ekspresji w warunkach ścisłego „głodu siarczanowego”, a w ich kontroli transkrypcyjnej uczestniczy specyficzny regulator transkrypcyjny,



Pani Profesor Danuta Hulanicka ze swoimi trzynastoma (!) wychowankami w grudniu 1999; Anna Łochowska, Roksana Iwanicka-Nowicka, Marek Juszcuk, Pani Profesor, Andrzej Pałucha, Grażyna Jagura-Burdzy, Monika Hryniewicz z resztą gromadki w tle, którzy się podpisali pod słowami: „pani Profesor Hulanickiej, kochanej Dance, naszej Szefowej gorąco dziękujemy za wieloletnie dowodzenie naszym Zakładem Biochemii Drobnoustrojów w sposób niezwykle miły acz stanowczy.”

Danuta Hulanicka ze swoimi następczyniami: Grażyną Jagurą-Burdzy i Moniką Hryniewicz (2004).



białko Cbl, kodowany przez gen *cbl* wchodzący w skład regulonu cysteinowego. Gen *cbl*, jego identyfikacja i mechanizm działania stały się przedmiotem badań zespołu doc. Hryniewicz. Jednym z istotnych osiągnięć badań było wykazanie, że adenozylo-5'-fosfosiarczan (APS) jest negatywnym konfaktorem białka Cbl. Oba białka, CysB i Cbl służą jako modele badań relacji struktura-funkcja dla licznej rodziny „Lys R” – bakteryjnych regulatorów transkrypcyjnych. Identyfikacja domen CysB, odpowiedzialnych za wiązanie z DNA, wiązanie ligandu oraz oligomeryzację białka była przedmiotem pracy doktorskiej Anny Łochowskiej.

W 1990 roku prof. Danuta Hulanicka zainteresowała się biologią molekularną wirusów roślinnych i rozpoczęła prace z nowopowstałym zespołem (Andrzej Pałucha, Alicja Kujawa, Ewa Sadowy, Marek Juszczyk), nad wirusami liściozwoju ziemniaka (PLRV). Badania te prowadzono, współpracując z prof. Włodzimierzem Zagórskim.

W 1994 roku zespół prof. Hulanickiej opublikował pełną sekwencję PLRV polskiego izolatu. Zadania te wymagały dużego nakładu pracy ze względu na brak zdolności korekcyjnych polimerazy, genomy wirusów roślin charakteryzują się dużą zmiennością RNA polimerazy zależnej od RNA. Była to pierwsza pełna sekwencja wirusa roślinnego wykonana w Polsce.

Dalsze badania prowadzone przez zespół prof. Hulanickiej nad PLRV dotyczyły głównie dwóch zagadnień. Jeden kierunek, to otrzymanie transgenicznego ziemniaka odpornego na infekcję PLRV, drugi to badanie mechanizmu ekspresji genomu wirusa i identyfikacja nieznanych funkcji produktów ramek odczytu ORF0 i ORF1. Prace nad obu zagadnieniami zakończyły się sukcesem. Otrzymano szereg linii transgenicznych odpornych na infekcję tym wirusem, jedna z linii zawierająca fragment genu białka płaszczka w orientacji antysens wykazuje bardzo wysoką odporność. Wprowadzony konstrukt, dający tak wysoką odporność, został opatentowany.

Badanie ekspresji genomu PLRV doprowadziły również do otrzymania szeregu istotnych wyników, jak np. wykazanie, że ORF2 kodujący replikazę ulega ekspresji zgodnie z mechanizmem zmiany ramki odczytu (frame shift), następnie wyjaśnienie wpływu sekwencji liderowych na ekspresję genomowego i subgenomowego RNA, a także na poznanie funkcji produktu ORF0. Stwierdzenie aktywności proteazowej produktu ORF1 i jej niezbędności dla procesu replikacji PLRV jest bardzo ciekawym wynikiem, ponieważ jest to pierwsza obserwacja takiej aktywności w grupie luteowirusów. Warto podkreślić, że otrzymanie tych tak ważnych wyników byłoby niemożliwe bez konstrukcji infekcyjnego klonu. PLRV, jak dotąd, jest jedynym infekcyjnym klonem wirusa roślinnego otrzymanym w polskich laboratoriach.

Doktor Grażyna Jagura-Burdzy przez wiele lat zajmująca się ekspresją regulonu cysteinowego u *Entero-*

bacteriaceae (będąc członkiem zespołów prof. D. Hulanickiej i prof. N.M. Kredicha) dostała ofertę pracy na Uniwersytecie w Birmingham, w Wielkiej Brytanii i w 1988 roku przyłączyła się do grupy prof. C.M. Thomasa. Obiektem badań tej grupy są duże plazmidy koniugacyjne z grupy IncP-1. Plazmidy te występują powszechnie w środowisku naturalnym i uważa się, że są głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za horyzontalny transfer genów między różnymi gatunkami. Niezwykła stabilność tych plazmidów i zdolności przystosowawcze do różnych organizmów wynikają m.in. ze złożonej kaskady systemów regulacyjnych. To zagadnienie a także mechanizmy stabilnego dziedziczenia plazmidów niskokopiiowych były tematem badań dr G. Jagury-Burdzy w Birmingham i są kontynuowane po jej powrocie do kraju w 1997 roku. Po obronie pracy habilitacyjnej w IBB doc. G. Jagura-Burdzy zaczęła tworzyć swój zespół, który w krótkim czasie powiększył się do sześciu doktorantów pracujących w trzech różnych tematach (Małgorzata Adamczyk, Aneta Bartosik, Krzysztof Lasocki, Anna Kulińska i Patrycja Dołowy). Duży wkład w rozwój tematyki mają też studenci robiący prace magisterskie (M. Łukaszewicz, M. Jonczyk, J. Mierzejewska, M. Andres, A. Pisarska, M. Maciosek, M. Ochocka).

Badania nad precyzyjnością rozdziału kopii plazmidów w czasie podziału komórek gospodarza (aktywny rozdział) są prowadzone nadal w ścisłej współpracy z prof. C.M. Thomasem i prof. F. Hayesem z Uniwersytetu w Manchesterze w Wielkiej Brytanii, przy użyciu najnowszych technik biologii molekularnej m.in. immunofluorescencji. Zidentyfikowano białka pomocnicze biorące udział w partycji i przeprowadzono szczegółową analizę kasety stabilizacyjnej z plazmidu RA3 z grupy IncU.

Badania nad procesem aktywnego rozdziału plazmidów i biorącymi w tym udział białkami plazmidowymi doprowadziły do identyfikacji homologów genów *par* w większości genomów bakteryjnych. Wspólny projekt doc. G. Jagury-Burdzy i prof. C.M. Thomasa dotyczący roli tych homologów, białek ParA i ParB w segregacji chromosomu u *Pseudomonas aeruginosa* jest finansowany od 6 lat przez Wellcome Trust. *P. aeruginosa*, pałeczka ropy błękitnej, jest jednym z najgroźniejszych oportunistycznych patogenów wywołujących infekcje w polskich szpitalach. Genetyczne i biochemiczne badania nad rolą ParA i ParB prowadzone przez ten zespół wykazały plejotropowość funkcji tych białek i ich udział w kondensacji i właściwym pozycjonowaniu nukleoidów *P. aeruginosa* przed podziałem komórkowym. Zmapowanie funkcjonalnych domen w obu białkach Par (dimeryzacja, oddziaływanie wzajemne oraz oddziaływanie z innymi białkami komórkowymi) było wstępem do zastosowania ukierunkowanej mutagenезy i ustalenia, czy fragmenty tych białek mogą być wykorzystane jako czynniki antybakteryjne.



Bez nich żadna bakteria by nie przeżyła: Andrzej Radziwonka, Grażyna Jwdoszuk, Janina Gwóźdź – w pracowni z pożywkami, wrzesień 2004 r.

Trzeci kierunek badań zespołu doc. G. Jagury-Burdzy to włączenie się do projektu Plasmid Genomics, realizowanego od 2000 roku w ramach Centrum Doskonałości. Przygotowano genomową bibliotekę plazmidu CTXM-3 wyizolowanego z klinicznych szczepów *Citrobacter freundii*, a następnie przeprowadzono analizę funkcjonalną systemów replikacyjnych i stabilizujących plazmid. W ramach projektu Plasmid Genomics przeprowadzono charakterystykę puli plazmidów wys-



Janina Gwóźdź i Andrzej Zbroch szykują pożywki dla hodowli bakterii dla całego Instytutu, w lutym 1994.

tępujących w klinicznej kolekcji 700 szczepów *P. aeruginosa* (izolowanych z 30 polskich szpitali; projekt realizowany we współpracy z prof. W. Hryniewicz z Centralnego Laboratorium Surowic i Szczepionek w Warszawie). Najciekawsze plazmidy z kolekcji będą materiałem do dalszej analizy genomicznej.

W 1992 roku już do nowej siedziby IBB przy ulicy Pawińskiego 5a przeniósł się z Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej Akademii Medycznej dr Piotr Cegłowski z zespołem w składzie: Renata Wolinowska, Krysztyna Leszczyńska i Izabela Kern. Jeden nurt zainteresowań badawczych tej grupy dotyczył streptokinazy i streptodornazy – wydzielanych przez *Streptococcus equisimilis* – białek o znaczeniu praktycznym w terapiach przeciwzakrzepowych oraz takich, którym towarzyszą procesy ropne. Geny kodujące oba białka zostały sklonowane, co umożliwiło uzyskanie białek hybrydowych mających podwójną aktywność streptokinazy i streptodornazy, dając potencjalny lek nowej generacji. Doprowadzono również do ponad dwukrotnego podwyższenia poziomu wytwarzania streptokinazy w produkcyjnym szczepie *S. equisimilis*. Skonstruowano też szczep *E. coli* wydzielający poza komórkę streptokinazę.

Rozwój biologii molekularnej oraz pojawianie się nowoczesnych technik sekwencjonowania DNA i bioinformatyki sprawiły, że doc. Cegłowski koncentruje badania swojego zespołu na genomice bakteryjnej, a w szczególności porównawczej i funkcjonalnej genomice plazmidowej. Współpracował z wieloma ośrodkami naukowymi w Hiszpanii, Niemczech, Francji i Holandii, ale najściślejszą współpracę przez wiele lat utrzymywał z Max-Planck Institut für Molekulare Genetik w Berlinie, gdzie wysyłał również swoich młodszych kolegów na staże naukowe. W wyniku tej współpracy doc. Cegłowski rozpoczął analizę funkcjonalną plazmidu pSM19035 pochodzącego ze *S. pyogenes*. Plazmid pSM19035, mimo niskiej liczby kopii, jest stabilnie utrzymywany w populacji bakterii Gram dodatnich (o niskiej zawartości w DNA par G+C). Przeprowadzono analizę promotorów i jednostek transkrypcyjnych genów regionu SegB. Tym tematem zajęła się początkowo Renata Pankiewicz, a następnie rozwinęła go Izabela Sitkiewicz. Wyniki badań prowadzonych przez Urszulę Zielenkiewicz wykazały, że w plazmidzie istnieje system stabilizacyjny oparty na działaniu mechanizmu trucizny i odtrutki, jak również system partycji. Udowodniono również, że białko Omega w plazmidzie pSM19035 gra rolę nadrzędnego regulatora: bierze udział w kontroli liczby kopii plazmidu, jest jednym z elementów systemu partycyjnego, stanowi jeden operon wspólnie z genami

odtrutki i trucizny, i jest represorem jego transkrypcji.

Obecne badania prowadzone przez Michała Dmowskiego mają na celu scharakteryzowanie elementów systemu partycyjnego plazmidu pSM19035. Trwają również prace nad określeniem zakresu gospodarzy, w których działa system trucizna-odtrutka.

Kolejnym zainteresowaniem tej grupy są plazmidy pochodzące ze szczepów szpitalnych. Naturalnie występujące plazmidy stanowią jedno z głównych źródeł zmienności bakterii i ich zdolności do adaptacji do zmieniającego się środowiska. W 1999 roku z inicjatywy doc. dr. hab. Piotra Cegłowskiego została powołana Pracownia Genomiki Plazmidowej (Marcin Gołębiewski, Izabela Kern-Zdanowicz, Maksymilian Zienkiewicz), której zadaniem jest sekwencjonowanie i analiza plazmidów wyizolowanych z bakterii będących przyczyną zakażeń szpitalnych.

Warto zaznaczyć, że doc. Cegłowski mimo pełnienia czasochłonnej funkcji zastępcy dyrektora ds. naukowych znajdował czas na opiekę nad swoim zespołem, wprowadzając nowe nurty w badaniach. Był promotorem rozwoju tematyki badawczej dotyczącej genomiki plazmidowej, proteomiki i globalnej analizy ekspresji genów, również w ujęciu ewolucyjnym. Uczestniczył aktywnie w naukowych programach krajowych i międzynarodowych, kształcił studentów i młodych pracowników naukowych, pomagał „usamodzielniać się” dojrzałym naukowo badaczom.

W 1994 roku do zespołu doc. Cegłowskiego dołączył dr Jacek Bardowski, który szereg lat pracował we Francji, w pracowni prof. S.D. Ehrlicha (INRA), zajmując się biosyntezą aminokwasów oraz katabolizmu β -glukozydów u bakterii fermentacji mlekowej. W zespole doc. Cegłowskiego dr Bardowski kontynuował tematykę związaną z tymi bakteriami i stworzył osobną grupę badawczą. W 2000 roku habilitował się na podstawie pracy habilitacyjnej dotyczącej organizacji i regulacji genów biosyntezy tryptofanu oraz genu regulatorowego *bglR*, istotnego w kontroli katabolizmu β -glukozydów.

Bakterie mlekowe są grupą mikroorganizmów o dużym znaczeniu biotechnologicznym, szczególnie dla przemysłu rolno-spożywczego, a jednocześnie modelem i obiektem intensywnych badań na całym świecie. W pracach grupy doc. J. Bardowskiego nad bakteriami mlekowymi z rodzaju *Lactococcus* można wyróżnić kilka kierunków badawczych, które dotyczą: sprzężonego katabolizmu laktozy i β -glukozydów (doktoraty T. Aleksandrak-Piekarzyk i M. Kowalczyk), wytwarzania zewnątrzkomórkowych amylaz (doktorat M. Domań-Pytka), charakterystyki biologicznej wirulentnych bakteriofagów (doktoraty A. Szczepańska, M. Hejno-



Pracownia Bakterii Mlekowych: Joanna Lampkowska, Joanna Życka, Anna Koryszewska, Monika Hejnowicz, Joanna Żylińska, Agnieszka Szczepańska, Tamara Aleksandrak, Magdalena Kowalczyk, Jacek Bardowski, (kierownik), Krzysztof Górecki, październik 2004 r.

wicz), analizy molekularnej oporności na antybiotyki (J. Życka i J. Lampkowska), roli adaptacyjnej plazmidowej puli genów (R.K. Górecki i Anna Koryszewska) oraz tworzenia kolekcji dzikich szczepów i określenia stopnia ich różnorodności biologicznej. Badania te prowadzone są w ramach prac doktorskich i magisterskich.



Danuta Hulanička na przyjęciu z kolegami z Zakładu, z Jackiem Bardowskim oraz Piotrem Cegłowskim w dniu jej formalnego przejścia na emeryturę w grudniu 1999 r.

Udało się wykazać, że w sprzęganiu katabolizmu laktozy i celobiozy (β -glukozyd) istotną rolę odgrywają dwa białka: CelB – transporter celobiozy należący do rodziny fosfotransferaz oraz CcpA – globalny regulator katabolizmu cukrów. Odkrycie roli tych białek było nowatorskim osiągnięciem grupy doc. J. Bardowskiego. Hipotetyczny model funkcjonowania genów zaangażowanych w ten katabolizm jest przedmiotem dalszych pogłębianych badań.

Innym interesującym odkryciem zespołu było wykazanie, że niektóre szczepy *Lactococcus*, wbrew utartej opinii, są zdolne do wytwarzania zewnątrzkomórkowych amylaz. Stwierdzono, że enzym ten jest homologiem bakteryjnych pullulanaz i kodowany jest przez gen zlokalizowany w plazmidowym DNA. Poznanie sekwencji nukleotydowych otaczających ten gen sugeruje, że ten region plazmidu ma charakter kasety adaptacyjnej. Kontynuowane są badania nad pullulanazą, w tym stworzenie wektora sekrecyjnego oraz opracowanie technologii z wykorzystaniem tego enzymu. Adaptacyjna rola plazmidowej puli genowej jest przedmiotem niedawno rozpoczętego, odrębnego projektu. Projekt ten obejmuje zarówno podejście genomiczne, jak i funkcjonalne. W dotychczasowych badaniach zsekwencjonowano 7 DNA z 9 plazmidów występujących w komórkach modelowego szczepu *Lactococcus lactis*. Łącznie poznano sekwencję o długości prawie 200 tys. p.z. z około 250 tys. p.z. spodziewanej, sumarycznej długości wszystkich 9 plazmidów. Na podstawie uzyskanych informacji dokonano szeregu ciekawych obserwacji związanych z zagadnieniami zgodności i stabilności plazmidów w komórce, obecności genów adaptacyjnych oraz horyzontalnym transferem genów. Bakteriofagi wirulentne wobec *Lactococcus* stanowią poważny problem przemysłowy. Charakterystyka biologiczna fagów występujących w Polsce stanowi temat kolejnych prac zespołu. Ich celem jest stwierdzenie stopnia różnorodności biologicznej tych fagów, ustalenie dominujących typów fagowych, stopnia zjadliwości wobec bakterii i wejście w zagadnienia genomiki fagowej.

Realizacja tych badań była i jest możliwa dzięki finansowemu wsparciu zarówno ze strony Ministerstwa Nauki i Informatyzacji (KBN), jak i Unii Europejskiej (granty w 5 FP i 6 FP). Badaniom tym towarzyszy także wieloletnia współpraca naukowa zarówno z ośrodkami krajowymi (Politechnika Łódzka oraz Akademia Rolnicza w Lublinie), jak i zagranicznymi – prof. S.D. Ehrlich, prof. M.C. Chopin, prof. P. Renault (INRA w Jouy-en-Josas we Francji) i prof. P. Loubiere (CNRS w Tuluzie we Francji) oraz prof. J. Kok (Uniwersytet Groningen w Holandii). Nie bez znaczenia jest też współpraca naukowa z partnerem przemysłowym Danisco Biolacta (dawniej Rhodia Food Biolacta).

Grupa doc. J. Bardowskiego jest ekspertem w Polsce w zakresie biologii molekularnej bakterii mlekowych i stanowi nieformalny ośrodek referencyjny diagnostyki

bakterii mlekowych metodami biologii molekularnej. Dzięki temu realizuje zlecenia otrzymywane z jednostek przemysłowych, a dotyczące identyfikacji genetycznej szczepów bakteryjnych.

W 2000 roku w związku z przejściem na emeryturę prof. Danuty Hulanickiej, kierownictwo Zakładu objął doc. Piotr Cegłowski. Po przedwczesnej śmierci doc. Cegłowskiego w czerwcu 2004 roku, kierownictwo Zakładu przejęła doc. Monika Hryniewicz.

Opisując historię Zakładu, należy również podkreślić udział pracowników Zakładu w pracach dydaktycznych w szeregu uczelni w kraju.

W latach 70. i 80. doc. Danuta Hulanicka prowadziła wykłady z biochemii i genetyki bakterii na Uniwersytecie w Łodzi, a jej doktoranci prowadzili zajęcia z biochemii na Akademii Medycznej w Warszawie.

W ostatnich latach członkowie zespołów doc. P. Cegłowskiego i doc. J. Bardowskiego prowadzą wykłady i ćwiczenia z genetyki bakteryjnej dla studentów Wydziału Biofizyki UW oraz wykłady dla studentów Międzywydziałowego Studium Biotechnologii SGGW. Docent G. Jagura-Burdzy od czterech lat prowadzi cykl wykładów z Genetyki Bakterii i Podstaw Biotechnologii na Wydziale Technologii Żywności SGGW.

Działalność dydaktyczna ZBD nie ograniczała się tylko do wykładów i ćwiczeń. Pracownicy tego Zakładu zawsze były otwarte zarówno dla pracowników innych placówek naukowych i przemysłowych, chcących szkolić się w nowych technikach biologii molekularnej, jak też dla studentów piszących prace magisterskie.

Warto również podkreślić działalność popularyzatorską prowadzoną głównie przez zespół doc. J. Bardowskiego. Działalność popularyzatorska związana jest z publikacjami prac przeglądowych w polskich czasopismach branżowych („Przemysł Spożywczy”, „Przeгляд Mleczarski”, „Bioskop”), corocznym uczestnictwem w Festiwalu Nauki (począwszy od I jego edycji) oraz współorganizacją i prowadzeniem wykładów na cyklicznych, co 2-3 lata, spotkaniach nauki z przemysłem, w ramach konferencji: „Bakterie Fermentacji Mlekowej – klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie”.

W Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów od szeregu lat prowadzone są cotygodniowe seminaria naukowe, na których członkowie zespołów referują swoje wyniki i omawiają prace z literatury. Może właśnie dzięki tym systematycznie prowadzonym seminariom, mimo różnorodnych kierunków tematycznych zespołów, pracownicy znajdują „wspólny język” w dyskusjach naukowych.

Doktoraty wykonane w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów:

Zofia Bańkowska (1963), Irena Pietrzykowska (1963), Barbara Kędzierska (1968), Lidia Brydak (1968), Krystyna Krajewska-Gryniewicz (1969), Jadwiga Wild (1974), Tobiasz Mojica-Araqua (1974), Włodzimierz

Walczak (1974), Krystyna Mardarowicz (1976), Joanna Rytka (1978), Włodzimierz Mandrecki (1979), Grażyna Jagura-Burdzy (1980), Marcin Filutowicz (1980), Jacek Ostrowski (1981), Piotr Jonczyk (1982), Piotr Polaczek (1985), Anna Bielińska (1985), Jacek Hennig (1988), Iwona Fijałkowska (1989), Małgorzata Łobocka (1990), Agnieszka Sirko (1990), Małgorzata Zatyka (1992), Alicja Kujawa (1994), Renata Wolinowska (1994), Krystyna Leszczyńska (1995), Izabela Kern-Zdanowicz (1996), Andrzej Pałucha (1996), Roksana Iwanicka-Nowicka (1997), Ewa Sadowy (1999), Marek Juszczyk (2000), Anna Łochowska (2001), Urszula Zielenkiewicz (2001), Izabela Sitkiewicz (2002), Tomasz Bykowski (2002), Małgorzata Adamczyk (2003), Aneta Bartosik (2004), Krzysztof Lasocki (2004).

Habilitacje: Tadeusz Kłopotowski (1965), Danuta Hulanicka (1973), Zygmunt Cieśla (1980), Jadwiga Wild (1986), Piotr Cegłowski (1996), Monika Hryniewicz (1998), Grażyna Jagura-Burdzy (1998), Agnieszka Sirko (1998), Jacek Bardowski (2000), Alicja Węgrzyn (2000).

Tytuł Profesora: Tadeusz Kłopotowski (1972), Danuta Hulanicka (1983), Zygmunt Cieśla (1991).

Pracownia Mutagenезy i Reperacji DNA

Zygmunt Cieśla

W 1995 roku zespół prof. Zygmunta Cieśli wyodrębnił się z Zakładu Biochemii Drobnoustrojów, przekształcając się w samodzielną Pracownię Mutagenезy i Reperacji DNA. W owym czasie zaznaczyły się dwa główne nurty w Pracowni. Część Pracowni posługiwała się nadal modelem bakteryjnym, część natomiast zmieniła model na proste komórki eukariotyczne – drożdże (*Saccharomyces cerevisiae*). W pierwszej grupie ważną rolę odegrał Piotr Jonczyk, który po powrocie ze stażu w University of North Carolina (USA) wraz z Adrianną Nowicką rozpoczął prace nad zastosowaniem drożdżowego systemu dwuhybrydowego do badania interakcji białek bakteryjnych. Badania te doprowadziły do wykazania, że białko UmuC wchodzi w interakcję jedynie z UmuD' a nie z UmuD [*J. Bacteriol.* (1998), 178: 258]. Później Ada i Piotr wraz z Iwoną Fijałkowską, Roelem Schaaperem i Zygmuntem

Cieślą ustalili relację między interakcjami w obrębie rdzenia kompleksu polimerazy III DNA a wiernością replikacji [*J. Bacteriol.* (1998), 180: 1563]. Powrót do laboratorium w 1994 roku Iwony Fijałkowskiej, po pięcioletnim pobycie w National Institute of Environmental Health Sciences (USA) był jednym z przełomowych momentów w historii Pracowni. Wkrótce po powrocie Iwona rozpoczęła prace nad opracowaniem pierwszego chromosomalnego systemu do badania wierności replikacji DNA zachodzącej na nici opóźnionej i prowadzącej w bakterii *E. coli*. Do tych badań włączył się Piotr Jonczyk, doktorantka Magda Maliszewska-Tkaczyk i Małgorzata Białoskórska. Wspólnym wysiłkiem stworzono taki system i wykazano, że replikacja DNA zachodzi z różną wiernością na obu replikowanych niciach DNA [*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998), 95: 10020]. Okazało się, że nicią replikowaną z większą wiernością jest nić opóźniona. Ta pierwsza praca została między innymi wyróżniona komentarzem redakcyjnym *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* oraz Nagrodą Polskiego Towarzystwa Genetycznego. W tym samym czasie do zespołu dołączył doktorant Damian Gawel, który prowadził prace nad stworzeniem podobnego systemu dla określenia częstości powstawania mutacji typu zmiany ramki odczytu i dużych delecji [*Mutat. Res.* (2002), 501: 129]. Równocześnie kontynuowano badania nad powstawaniem mutacji typu podstawienia zasad. Wykazano, że Pol V DNA w warunkach indukcji SOS i w nieobecności uszkodzeń DNA działa preferencyjnie na nici opóźnionej [*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2000), 97: 12678], natomiast w obecności uszkodzeń DNA w chromosomie nie wykazuje preferencji wobec nici prowadzącej czy opóźnionej [*J. Bacteriol.* (2002), 184: 4449]. Prace te



Doktoranci Pracowni Mutagenезy i Reperacji DNA (zygzakiem): Damian Gawel, Agnieszka Podlaska, Magda Banach-Orłowska, Marta Fikus, Magda Maliszewska-Tkaczyk, Piotr Koprowski, Piotr Mieczkowski, 1999.

zapoczątkowały badania nad udziałem innych polimeraz DNA w replikacji DNA. Magda Banach-Orłowska (doktorantka) prowadziła prace nad wyjaśnieniem roli polimerazy II DNA, a następnie Wojtek Kuban (doktorant) nad polimerazą IV DNA [*J. Bacteriol.* (2004), 186: 4802]. Zaproponowano wówczas model, w którym polimeraza II DNA pełni funkcję nie tylko polimerazy pomocniczej w trakcie replikacji chromosomu *E. coli* ale stanowi istotny element kontrolujący wierność tego procesu. Polimeraza II nie tylko usuwa niewłaściwe pary zasad wstawione przez polimerazę III DNA, ale również ochrania widełki replikacyjne przed działaniem „mutagennej” polimerazy IV DNA. Badania nad wiernością replikacji DNA w komórkach *E. coli* prowadzono we współpracy z Roelem M. Schaaperem (NIEHS, USA).

Do wyjaśnienia pozostała jeszcze rola polimerazy I DNA w kształtowaniu wierności replikacji DNA. Ale to najbliższa przyszłość, bo prace nad tym projektem rozpoczęła w 2004 roku Małgorzata Jaszczur.

Drugim ważnym nurtem badań były prace nad odpowiedzią komórek eukariotycznych – drożdży – na uszkodzenia DNA. Pierwotnym celem tych badań była izolacja nieznanych do tej pory genów, których ekspresja ulega indukcji po działaniu czynników uszkadzających DNA. Decydującą rolę w realizacji tego celu odegrał Piotr Mieczkowski, w pierw magistant a później doktorant prof. Zygmunta Cieśla. Dzięki nakładowi wielkiej pracy i determinacji Piotrowi Mieczkowskiemu udało się wyizolować kilka nieznanych genów *DIN* (ang. **D**amage **I**nducible). Badanie funkcji dwóch z nich, nazwanych *DIN7* i *DIN8*, wyznaczyło kierunek prac w następnych latach; zatem można bez przesady nazwać Piotra Mieczkowskiego „ojcem chrzestnym” badań nad reperacją DNA drożdży prowadzonych w naszym labo-

ratorium. W połowie lat 90. główny wysiłek skupił się na wyjaśnieniu funkcji genu *DIN7*. Okazało się, że produkt tego genu należy do rodziny nukleaz, takich jak Egzonukleaza I i „flap” endonukleaza RAD27, które odgrywają ważną rolę w procesach replikacji i rekombinacji DNA [*Mol. Gen. Genet.* (1997), 253: 655]. Przełomowe znaczenie dla zrozumienia funkcji *DIN7* miały jednak prace Marty Fikus (wówczas doktorantki), która wykazała, że nukleaza Din7 specyficznie działa w mitochondriach i jest regulatorem stabilności mitochondrialnego DNA [*Genetics* (2000), 154: 73]. Praca ta została wyróżniona I Nagrodą Polskiego Towarzystwa Genetycznego. Następny doktorant, Piotr Koprowski, wykazał ponadto, że Din7p ma aktywność „flap endonukleazy”, a Marta Fikus, że zwiększonej ekspresji *DIN7* towarzyszy wzmoczenie rekombinacji mtDNA [*Mol. Gen. Genomics* (2003) 269: 632]. Niewątpliwą zasługą Piotra Koprowskiego było rozszerzenie badań nad mechanizmami kontrolującymi stabilność mtDNA o prace nad funkcją Msh1p, homologa bakteryjnego białka MutS, i wykazanie, że w funkcji Msh1p odpowiedzialnej za stabilność mtDNA kluczową rolę odgrywa domena wiążąca ATP [*Mol. Gen. Genomics* (2002), 266: 988].

Prace prowadzone obecnie przez grupę „mitochondrialną”, pod moim kierunkiem, koncentrują się nad zrozumieniem funkcjonowania mitochondrialnego systemu naprawy błędnie sparowanych zasad (ang. mtMMR). Niewątpliwym osiągnięciem w tych badaniach było wykazanie przez Piotra Dzierzbickiego (doktoranta) i Jego kolegów, że zależny od Msh1p system mtMMR wspomaga w mitochondriach system wycinania zasad (mtBER) w naprawie uszkodzeń oksydacyjnych w mtDNA [*DNA Repair* (2004), 3: 403]. Inny temat prac, prowadzonych przez doktorantkę Ewę Malc ma na celu zrozumienie przyczynowego związku między naprawą mtDNA a długowiecznością komórek drożdży. W prowadzonych ostatnio badaniach ważną rolę spełnia dr Aneta Kaniak, która po kilkuletniej pracy w laboratorium prof. Piotra Słonimskiego we Francji i w pracowni Marka Johnsona w USA, zasiłała grupę „mitochondrialną”.

Niezaprzeczalną rolę w wyjaśnieniu funkcji innego wyizolowanego przez Piotra Mieczkowskiego genu indukowanego przez uszkodzenia DNA, *DIN8*, odegrał magistant Wojtek Dajewski. Wspólnie ze starszymi kolegami wykazał on, że *DIN8* jest tożsamy z genem *UMPI*, który koduje białko kluczowe dla formowania 20S proteasomu [*Curr Genet* (2000), 38: 53]. W ba-



Grupa „mitochondrialna”: Aneta Kaniak, Piotr Dzierzbicki, Piotr Koprowski, Ewa Malc, Marta Fikus, Zygmunt Cieśla (kierownik grupy), 2004.

daniach funkcji genu *DIN8/UMPI* wiodącą rolę odegrała Ewa Śledziewska-Gójska, co po kilku latach doprowadziło do powstania grupy „proteosomalnej”. Ta nieformalna grupa, w skład której oprócz Ewy Śledziewskiej-Gójskiej weszły Agnieszka Podlaska, Justyna McIntyre i po powrocie ze stażu postdoktorskiego u prof. Chris Lawrenca, Ada Nowicka-Skoneczna, stanowiła trzon utworzonego w 2000 roku przez Doc. Śledziewską-Gójską zespołu zajmującego się komórkowymi systemami koordynującymi procesy reperacji DNA w komórkach eukariotycznych. Prowadzone w zespole badania obejmują szereg wątków w tym: analizę mechanizmów zaangażowanych w transkrypcyjną indukcję genów w odpowiedzi na uszkodzenia DNA i mechanizmy powstawania mutacji w nie dzielących się komórkach drożdży. Ten drugi temat jest realizowany głównie przez członków byłego zespołu prof. Witolda Jachymczyka, który po przejściu na emeryturę dołączył do grupy „proteosomalnej” Doc. Śledziewskiej-Gójskiej. Główny nurt badawczy tej grupy dotyczy aktywności proteasomu, a generalnie drogi ubikwityno-zależnej proteolizy. Ten kierunek badań rozwija się obecnie na świecie lawinowo, co wiąże się z jednej strony ze znaczeniem tej drogi w regulacji szeregu witalnych procesów komórkowych, z drugiej zaś strony z licznymi doniesieniami o zaburzeniach tego ściśle regulowanego systemu degradacji białek w etiologii różnych chorób, w szczególności chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy Parkinsona. Wzrost zainteresowania fizjologicznymi skutkami



Grupa „proteosomalna”: Agnieszka Podlaska, Ewa Śledziewska-Gójska (kierowniczka grupy), Ada Skoneczna, Justyna McIntyre, na tle logo IBB, 2000.

regu witalnych procesów komórkowych, z drugiej zaś strony z licznymi doniesieniami o zaburzeniach tego ściśle regulowanego systemu degradacji białek w etiologii różnych chorób, w szczególności chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy Parkinsona. Wzrost zainteresowania fizjologicznymi skutkami



Grupa „polimerazowa”: Małgorzata Jaszczur, Joanna Kraszewska, Piotr Jonczyk, Wojciech Kuban, Magdalena Banach-Orłowska, Iwona Fijałkowska (kierowniczka grupy), Krzysztof Flis, Justyna Rudzka, 2004.

zaburzenia aktywności proteasomu łączy się także z wprowadzeniem inhibitorów proteasomu do praktyki klinicznej w leczeniu chorób nowotworowych. Prace opublikowane przez zespół Ewy Śledziewskiej-Gójskiej są jednymi z pierwszych opublikowanych doniesień o roli proteolizy w regulacji procesów reperacji DNA. Prace te wykazują funkcjonowanie tego procesu w kontroli mechanizmów tolerancji uszkodzeń DNA angażujących alternatywne polimerazy DNA [*Mol Microbiol* (2003), 49: 1321].

W roku 2004 w obrębie zespołu kierowanego przez Iwonę Fijałkowską i Piotra Jonczyka powstała grupa, która rozpoczęła prace nad wyjaśnieniem fizjologicznej roli w komórkach drożdży *S. cerevisiae* podjednostki Dpb2p, wchodzącej w skład holoenzymu polimerazy

DNA epsilon. Rozpoczęto współpracę z Judy Campbell i Piotrem Polaczkiem (California Institute of Technology, USA). Grupa ta powiększyła się ostatnio o dwie doktorantki (Małgorzata Jaszczur i Justyna Rudzka) oraz o specjalistę od genetyki molekularnej drożdży, Krzysztofa Flisa. Prace rozpoczęto od izolacji banku temperaturo-wrażliwych mutantów w genie *DPB2*. To dopiero początek projektu, który będzie kontynuowany przez następne lata.

W okresie blisko dziesięcioletniego istnienia Pracowni, trzy osoby: Ewa Śledziewska-Gójska, Iwona Fijałkowska i Piotr Jonczyk uzyskały stopień doktora habilitowanego, a sześć osób stopień doktora: Ada Nowicka, Piotr Mieczkowski, Marta Fikus, Magda Maliszewska-Tkaczyk, Damian Gawel i Piotr Koprowski.

Historia ludzi i badań

Historia Zakładu Genetyki wiąże się ściśle z prof. Wacławem Gajewskim i sięga 1953 roku, w którym umożliwiono mu, jeszcze jako docentowi, utworzenie Pracowni Systematyki Eksperymentalnej w ramach kierowanego przez prof. Edmunda Malinowskiego Zakładu Genetyki i Hodowli Roślin PAN w Skierniewicach.

Prof. W. Gajewski był w tym czasie odsunięty od zajęć dydaktycznych na Uniwersytecie Warszawskim za bezkompromisowe przeciwstawianie się pseudonaukowej teorii sowieckiego szarlatana Trofima Łysenki, dotyczącej głównie genetyki, a narzucanej biologom przez władze ze względów politycznych. Kierując wspomnianą pracownią, prof. Gajewski pozostawał również pracownikiem Uniwersytetu, prowadząc w Ogrodzie Botanicznym rozpoczęte jeszcze przed wojną badania cytogenetyczne nad rodzajem *Geum* (kuklik). W 1957 roku opublikował obszerną monografię tego rodzaju, która przyniosła mu międzynarodową pozycję. Owocowało to później jego licznymi kontaktami zagranicznymi, z których korzystał cały zespół. O pracy tej pisał prof. B. Pawłowski, jeden z najwybitniejszych polskich botaników: „Na podstawie danych morfologicznych, ekologicznych, geograficzno-roślinnych, cytologicznych i genetycznych podejmuje autor szeroko zakreśloną próbę odtworzenia filogenezy rodzaju *Geum*, dróg rozwoju centrów, czasu powstania i kierunków rozprzestrzeniania się jego podrodzajów [...] jest to praca wspaniała, o ogólnym znaczeniu, praca, którą nauka polska może się chlubić”.

Nie jest więc rzeczą dziwną, że cytogenetyka roślin stała się wiodącą problematyką nowo utworzonej pracowni. Podjęto badania nad kilkoma rodzajami: Halina Bielawska zajęła się rodzajem *Campanula* (dzwonek), Wiesława Prażmo rodzajem *Aquilegia* (orlik), Danuta Miller rodzajem *Petunia*, a Zofia Świetlińska i Jerzy Żuk rodzajem *Rumex* (szczaw).

W 1961 roku Pracownia Systematyki Eksperymentalnej została przemianowana na Zakład Genetyki Ogólnej PAN, który jako samodzielna jednostka badawcza podlegał bezpośrednio II Wydziałowi Akademii. W tym samym czasie został utworzony Zakład Genetyki Uniwersytetu Warszawskiego, również kierowany przez



Twórca Zakładu Genetyki, Profesor Wacław Gajewski, czyta z rozprawieniem „laurkę” w dniu odejścia na emeryturę, 1982 r.

prof. W. Gajewskiego. Pod jego kierownictwem oba Zakłady funkcjonowały we wspólnym pomieszczeniu w gmachu Obserwatorium Astronomicznego UW jako jeden organizm. Ich pracownicy mieli jednakowe obowiązki, to znaczy zajęcia dydaktyczne ze studentami UW, udział w seminariach oraz prowadzenie własnych badań. Stan ten jest wart odnotowania, ponieważ stanowi okres wspólnej historii obu jednostek i może służyć jako dobry model do tak często postulowanego dziś łączenia placówek Akademii z placówkami szkół wyższych.

Ważnym czynnikiem integrującym oba Zakłady były wspólne śniadania. Omawiano wtedy sprawy naukowe, kulturalne, polityczne i oczywiście towarzyskie. Animatorzem towarzysko-rodzinnej atmosfery była niewątpliwie pani Marta Iwanicka. Jako osoba samotna, traktowała Zakład jak swój drugi dom i na wszystkie oficjalne i nieoficjalne okazje piekła wspaniałe szarlotki. Najważniejsze jednak, że, będąc pracownikiem fizycznym, wykazywała niezwykły talent załatwiania wszelkich spraw zaopatrzeniowych metodą „dojść”, co w owych czasach czyniła ją osobą opatrnościową.

Bardzo istotną rolę odgrywały cotygodniowe seminaria naukowe, które były przedłużeniem cieszących się dużą popularnością wykładów z genetyki prowadzonych przez prof. W. Gajewskiego na Uniwersytecie Warszawskim. Celem tych seminariów było przede wszystkim poznawanie aktualnych problemów genetyki na świecie, co – do 1956 roku – było praktycznie niemożliwe. Na seminaria te uczyli także przedstawiciele innych dyscyplin z różnych placówek – mikrobiologowie, lekarze, rolnicy i hodowcy. Pilnym zadaniem stało się nauczanie genetyki w całej Polsce, stąd niezwykle ważnym wydarzeniem było wydanie w 1959 roku przetłumaczonego przez pracowników Zakładu nowoczesnego podręcznika *Genetyka Ogólna* A.M. Srba i E.D. Owena (1955, California, USA). Wraz z pojawiającymi się możliwościami rozwoju genetyki w kraju, gabinet prof. W. Gajewskiego był stale odwiedzany przez różne osoby z całej Polski, które podejmowały badania genetyczne i poszukiwały porady i pomocy. Profesor był niekwestionowanym autorytetem w sprawach genetyki i miał silną pozycję międzynarodową. Przez wiele lat był członkiem zespołu redakcyjnego *Molecular and General Genetics*. Został wybrany pierwszym Prezesem powstałego w 1966 roku Polskiego Towarzystwa Genetycznego.

Problematyka cytogenetyczna zapoczątkowana jeszcze w Pracowni Systematyki Eksperymentalnej była kontynuowana w latach 60. jako jeden z kierunków badawczych w Zakładzie Genetyki Ogólnej, niejednokrotnie z dużym powodzeniem. Tak np. wyniki uzyskane przez W. Prażmo nad orlikiem trafiły do podręcznika Strasburgera *Lehrbuch der Botanik* (wyd. 1983). Szczególnie wdzięcznym obiektem okazał się *Rumex* ze względu na małą liczbę dużych chromosomów oraz jego

dwupienność z łatwo wyróżnialnymi chromosomami płci, a także ze względu na wieloletniość. Jerzy Żuk, indukując kolchicyną poliploidy o różnym stosunku chromosomów płci X i Y do autosomów, stwierdził, że mechanizm determinacji płci u gatunku *Rumex thyrsoflorus* jest tego samego typu co u *Drosophila*. Z kolei Zofia Świetlińska wykryła zjawisko naturalnej polidiploizacji u mieszańców szczawiu, polegające na powstawaniu gamet o diploidalnej liczbie chromosomów, co prowadziło do zwielokrotnienia liczby chromosomów w następnych pokoleniach. W badaniach prowadzonych wspólnie z Ewą Bartkowiak wykazano rolę chromosomów Y w determinowaniu męskiej płodności. Jako chromosomy całkowicie heterochromatynowe były one uważane za pozbawione informacji genetycznej. Tymczasem, stosując metodę autoradiografii, stwierdzono po raz pierwszy, że w chromosomach tych zachodzi synteza RNA w czasie profazy, podobnie jak to ma miejsce w autosomach.

Większość prac cytogenetycznych powstałych w Zakładzie publikowano w *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, których redaktorem naczelnym był prof. W. Gajewski. Później trafiały one do czasopism międzynarodowych: *Chromosoma*, *Theoretical and Applied Genetics*, *Genetics* i *Heredity*. Cytogenetyczne badania prowadzone na szczawiu były przedmiotem prac doktorskich Zofii Świetlińskiej i Jerzego Żuka – pierwszych wykonanych w Zakładzie pod kierunkiem prof. W. Gajewskiego i obronionych w 1962 roku na Uniwersytecie Warszawskim.

Na początku lat 60. wprowadzono do Zakładu grzyby nitkowate. Były one w tym czasie dosyć szeroko stosowane w badaniach jako proste, modelowe organizmy eukariotyczne. Profesor stał na stanowisku, że będzie można na nich owocnie pracować nawet w skromnych warunkach laboratoryjnych, jakimi dysponował Zakład. Pierwszym badanym grzybem stał się *Ascobolus immersus* otrzymany z Francji od prof. G. Rizeta. Charakteryzuje się on dużą ilością genów, których mutacje prowadzą do braku syntezy pigmentu w askosporach oraz łatwością prowadzenia analizy tetrad (oktad) na dużą skalę. Dzięki temu można było badać za pomocą tetrad rzadkie rekombinanty powstające w krzyżówkach pomiędzy allelami tego samego genu (rekombinacja wewnątrzgenowa). W badaniach tych zaangażowani byli prof. Aniela Makarewiczowa, która przeszła do Zakładu z SGGW, oraz nowo przyjęci młodzi pracownicy: Stefan Surzycki, Anna Kowalewska-Kruszewska, Andrzej Paszewski i później Hanna Baranowska. W pracach nad rekombinacją wewnątrzgenową badano związek konwersji genów z *crossing-over*, polaryzacją rekombinacji, a także tworzenie niezreperowanych heterodupleksów DNA, prowadzących do nieparzystej segregacji koloru spor w oktadach. Wykazano m.in. że w obrębie genu mogą zachodzić wielokrotne, ale skorelowane wydarzenia rekombinacyjne oraz że w po-

czątkowych stadiach mają one charakter asymetryczny tzn. że relacja między rekombinującymi chromatydami to typ dawca-biorca, a nie wzajemna wymiana odcinków DNA. Wyniki prac na *Ascobolus* publikowano prawie wyłącznie w *Genetical Research*, wtedy drugim po *Genetics* wiodącym periodyku genetycznym.

Omawiając prace na *Ascobolus* należy wspomnieć o laborantce Alicji Oleksiej, która cierpliwie przygotowywała i sterylizowała wielkie liczby szalek z nawozem końskim, na którym ten grzyb rósł. Poza

tym była świetną maszynistką, która, nie znając angielskiego, znakomicie przepisywała z rękopisów teksty angielskie i nie tylko nie robiła błędów, ale czasem poprawiała błędy zrobione przez autorów. Pod koniec lat 60. do Zakładu przybył kolejny grzyb nitkowaty: *Aspergillus nidulans*, otrzymany od G. Pontecorvo z Uniwersytetu w Glasgow. Szerokie badania nad wewnątrz- i międzygenową rekombinacją u tego grzyba podjęła Aleksandra Putrament (która po habilitacji w 1968 roku przeszła z Uniwersytetu Warszawskiego do PAN). Małgorzata Piotrowska wraz z uniwersyteckimi kolegami Piotrem Węgleńskim i Janem Cybisem (też przeszedł później do Zakładu PAN) rozpoczęli prace nad genami katabolizmu argininy, a W. Gajewski z Jadwigą Litwińską nad genami odpowiedzialnym za syntezę metioniny. Otrzymywali mutacje w tych genach, jak również ich supresory, które później posłużyły do badania genetycznej regulacji metabolizmu aminokwasów siarkowych. Badania te wymagały dużych ilości pożywek, które w bardzo trudnych warunkach przygotowywały starannie Maria Wojtulanis i Teresa Łaska.

1 stycznia 1967 roku prof. W. Gajewski został dyrektorem Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN, do którego został jednocześnie wcielony Zakład Genetyki Ogólnej (od tego momentu przemianowany na Zakład Genetyki). To formalne przeniesienie nie zmieniło jednak warunków pracy, gdyż cały zespół po dawnemu pozostawał w Alejach Ujazdowskich. Fizyczne przeniesienie Zakładu do siedziby IBB przy ul. Rakowieckiej nastąpiło dopiero w marcu 1970 roku, gdy uzyskano potrzebne do tego pomieszczenia. Były to pokoje laboratoryjne, wprawdzie przerobione z pokojów biurowych, ale jednak nadające się, w przeciwieństwie do zabytkowych lokali Obserwatorium Astronomicznego, do szerszego stosowania metod biochemicznych. Zakład



Anna Kruszevska i Aleksandra Putrament, niestrudzone badaczki, realizatorki pomysłów Profesora, 1982 r.

otrzymał też pokoje na pożywkarnię, którą prowadziła Maria Wojtulanis wspomagana przez Janinę Szyszkę (obecnie Gwóźdź). Ułatwiło to znacznie prowadzenie prac mikrobiologicznych. Później pożywkarnię objęła nowo przybyła do Zakładu Zofia Policińska.

Zmiana warunków miała wpływ na ewolucję problematyki badawczej. Z. Świetlińska i J. Żuk rozpoczęli badanie aberracji chromosomowych indukowanych przez czynniki chemiczne (głównie dwuepoksybutan), używając jako obiektu doświadczalnego bobik (*Vicia faba var. minor*) – rośliny o małej liczbie dużych chromosomów. Do badań tych włączyła się Regina Osiecka, oddelegowana z Uniwersytetu Łódzkiego w celu przygotowania pracy doktorskiej i pogłębienia wiedzy genetycznej. Do ważnych odkryć w tych badaniach należało stwierdzenie, że liczbę aberracji chromosomowych można wielokrotnie zwiększyć, stosując wraz z mutagenem kofeinę, inhibitor naprawy DNA, która sama aberracji nie wywołuje. Wyniki te wzbudziły duże zainteresowanie, a zespół został zaproszony do udziału w Międzynarodowym Programie Badań Mutagenety Środowiskowej. Samo zjawisko zostało później potwierdzone na komórkach zwierzęcych.

Największą jednak innowacją było wprowadzenie do Zakładu jako obiektu badań drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Szczepy pochodziły z kierowanego przez prof. Piotra Słonimskiego Centrum Genetyki Molekularnej CNRS w Gif-sur-Yvette pod Paryżem. Z pracownią tą nawiązała się długa, trwająca do tej pory współpraca. Prace nad drożdżami szły w kilku kierunkach: prowadzono badania nad uszkodzeniami DNA z użyciem mutagenów chemicznych i UV, a także wykorzystując dostępne mutanty termowrażliwe, zaburzone w naprawie DNA lub w cyklu podziałowym. Po przyjeździe do Zakładu w 1971 roku Witolda Jachym-

czyka dużo uwagi poświęcono powstawaniu i reperacji jedno- i dwuniciowych pęknięć w DNA, posługując się w badaniach wirowaniem w gradiencie sacharozy oraz adaptując do drożdży metodę alkalicznej elucji DNA. Zajęto się też badaniem naprawy uszkodzeń w DNA w warunkach niewzrostowych (liquid holding), gdy nie zachodzi normalna jego synteza. Otrzymane wyniki wskazywały, że w tych warunkach nie odbywa się naprawa przez wycinanie i resyntezę ani przez rekombinację, natomiast komórki ulegają jakiemuś przygotowaniu do naprawy DNA, która następuje natychmiast po przywróceniu warunków wzrostowych. Mechanizm tego przygotowania nie jest dotychczas wyjaśniony.

W tych badaniach uczestniczyli oprócz J. Żuka, Z. Świetlińskiej i D. Zaborowskiej, H. Baranowska i doktoranci: Beata Łęcka-Czernik i Ewa Haładus. Do Witolda Jachymczyka dołączyli później Ewa Chlebowicz i Zbigniew Domiński. W dalszych latach skupiono się na badaniu naprawy uszkodzeń w DNA pod działaniem związków alkilujących, stwierdzając m.in. że siarczan metano-metylowy (MMS) może powodować nie tylko uszkodzenia w jednej nici, ale także pęknięcia dwuniciowe. Wykazano też u drożdży, po raz pierwszy w organizmie eukariotycznym, występowanie endonukleazy specyficznie przecinającej nici DNA w miejscach apurynowych i apirymidowych jako wstępny etap naprawy DNA. Stwierdzono, że pęknięcia dwuniciowe wymagają do naprawy dwóch kompletów nici DNA, ponieważ naprawa ta zachodzi przy udziale rekombinacji genetycznej (obserwacje te znalazły się w podręczniku A. Kornberga *DNA replication*, 1980). Jak wykazano później we współpracy z J. Von Borstem z Uniwersytetu w Edmonton, również naprawa połączeń krzyżowych w cząsteczkach DNA zachodzi przy udziale rekombinacji. Uzyskane wyniki były publikowane głównie w *Molecular and General Genetics*, *Mutation Research* i *Biochimica Biophysica Research Communications*.

Współpraca okresowa tej grupy z T. Bilińskim i J. Litwińską zaowocowała ważnym dokonaniem, jakim było opracowanie wydajnej metody synchronizacji tworzenia zygot (opisanej w *Methods in Cell Biology* vol. 11, 1975), która pozwoliła badać syntezę DNA, RNA i białek w czasie koniugacji (pomysłodawcą był T. Biliński). Za pomocą tej metody wykazano m.in. że synteza DNA ulega zahamowaniu w koniugujących komórkach, a rusza *de novo* dopiero po połączeniu się haploidalnych jąder.

Kolejnym nurtem badań nad drożdżami stała się mutageniza mitochondrialna. Liderem grupy zajmującej się tą problematyką była prof. A. Putrament, a współpracowały z nią w różnych okresach H. Baranowska, Anna Ejchart, W. Prażmo, Renata Polakowska i Ewa Morzycka. W niektórych pracach uczestniczyły też A. Kruszewska i Barbara Szcześniak. Do najważniejszych dokonań w tych badaniach należy odkrycie specyfi-

cznego indukowania punktowych mutacji *mit* w DNA mitochondrialnym w obecności jonów manganu – (dotychczas mutacje w mitochondriach identyfikowano jako prowadzące do kolonii *petite* z tym, że wszystkie one były wynikiem mniejszych lub większych delecji). Opracowano metodę otrzymywania mutacji z użyciem jonów manganu (opisaną w *Methods of Cell Biology* vol. 20, 1978), która została zastosowana w wielu laboratoriach na świecie i w znacznej mierze przyspieszyła badania nad strukturą mitochondrialnego genomu drożdży. Zespół, do którego weszły nieco później Teresa Żołądek, Urszula Smolińska i Magdalena Rakowska-Boguta, wyizolował i scharakteryzował wiele mutacji *mit* oraz ich mitochondrialnych i jądrowych supresorów. Część z nich polegała na zmianach w mitochondrialnych rybosomach. Wyizolowano m.in. mutację w genie *NAM9* jako suprymującą mitochondrialny kodon *ochre*. Gen ten koduje białko homologiczne do białka S4 rybosomów chloroplastowych i bakteryjnych. Wyizolowanie tego mutantu zapoczątkowało cały cykl prac prowadzonych później przez zespół M. Rakowskiej-Boguty. W latach 70. i 80. opublikowano 14 prac poświęconych mutagenizie mitochondrialnej, głównie w *Mutation Research* i *Molecular and General Genetics*.

Inny temat „mitochondrialny” dotyczył udziału genów jądrowych w biogenezie i funkcjonowaniu tych organelii. Podjęła go A. Kruszewska z B. Szcześniak, współpracując ściśle z A. Putrament i grupą prof. Piotra Słonimskiego z Centrum Genetyki Molekularnej CNRS w Gif-sur-Yvette pod Paryżem. W badaniach izolowano jądrowe supresory określonych mutacji mitochondrialnych, identyfikując w ten sposób geny jądrowe, których produkty są potrzebne do biogenezy i funkcjonowania mitochondriów. Supresory te oraz wyizolowane w zespole A. Putrament są do dziś badane przez zespół M. Rakowskiej-Boguty.

Z funkcjonowaniem mitochondriów wiąże się kolejny nurt badań na drożdżach prowadzonych w Zakładzie, związany z syntezą hemu i enzymów mających hem jako grupę prostetyczną. Nurt ten zapoczątkował po powrocie z pracowni prof. P. Słonimskiego T. Biliński we współpracy z Janem Pachecka z Wydziału Farmacji AM w Warszawie. Wkrótce dołączyła do nich Joanna Rytka. T. Biliński opracował bardzo skuteczną, a zarazem prostą metodę otrzymywania mutantów bezkatalazowych opartą na zalewaniu szalki z koloniami drożdży roztworem nadtlenu wodoru i wybieraniu kolonii niewydzielających pęcherzyków tlenu. Nad mutantami pozbawionymi aktywności katalazy pracował także Andrzej Śledziwski. T. Biliński opracował m.in. metodę otrzymywania mutantów zaburzonych w biosyntezie hemu, opartą na poszukiwaniu kolonii świecących w świetle UV (340 nm) na skutek gromadzenia porfiryńowych prekursorów hemu. Następnie wraz z Jackiem Łukaszkiewiczem zajęli się oznaczaniem poziomu hemu w komórkach.

Otrzymanie tych dwóch typów mutantów pozwoliło na zidentyfikowanie wszystkich genów kodujących enzymy szlaku biosyntezy hemu i genów kodujących katalazy oraz genów regulatorowych. Mutanty te są do dziś wykorzystywane także w wielu innych laboratoriach. Równolegle prowadzono badania enzymologiczne i oznaczano poziomy poszczególne metabolitów w szlaku syntezy hemu. Brali w nich udział Marek Skoneczny, Anna Kurlandzka, Anna Chełstowska, Aleksandra Traczyk i Teresa Żołądek, a także doktorantka z Wietnamu – Nguyen Bich Nhi. Były to nowatorskie badania u drożdży prowadzone we współpracy z laboratoriami kierowanymi przez Helmuta Ruisa w Wiedniu oraz Rosine i Pierra Labbe w Instytucie Jacques'a Monoda w Paryżu. Labbe'owie w najtrudniejszych czasach wspomagali też laboratorium odczynnikami, co umożliwiało normalną pracę. Otrzymywane w tych badaniach wyniki publikowano głównie w *Molecular and General Genetics*, *Photochemistry and Photobiology*, ale także w *Current Genetics*, *Biochemical Journal*, *Journal of General Microbiology* i *Acta Biochimica Polonica*.

Jak wspomniano wyżej, pod koniec lat 60. W. Gajewski i J. Litwińska zaczęli izolować u *Aspergillus nidulans* mutanty wymagające do wzrostu metioniny oraz ich supresory. Prowadzili też ich genetyczną analizę zmierzającą do ustalenia mutacji allelicznych, a przez to genów, w których mutacje otrzymano. Analizą biochemiczną tych mutantów zajął się A. Paszewski we współpracy z pracownikami uniwersyteckimi, Normanem Pieniążkiem i Piotrem Stępiem. Współpraca ta trwała jeszcze przez pewien czas po przeniesieniu Zakładu PAN na Rakowiecką, ale wkrótce Pieniążek i Stępień zajęli się inną problematyką. Natomiast grupa „siarkowa” Paszewskiego znacznie się rozbudowała. Dołączali do niej w kolejnych latach i na różne okresy: Jerzy Grabski, W. Prażmo, Zofia Łukaszewicz, Ewa Morzycka, Jan Cybis, Irmina Lewandowska, M. Piotrowska, Janina Nadolska-Lutyk, Marlena Lewandowska (pracownik Instytutu Antybiotyków), Renata Natorff, Jerzy Brzywczy, Marzena Sieńko i Jacek Topczewski. W badaniach tych określano geny kodujące poszczególne enzymy szlaków metabolicznych i ich regulację. Stwierdzono, że metabolizm siarki u *A. nidulans* ma właściwości zarówno metabolizmu bakteryjnego, jak też zwierzęcego: bakterie są zdolne do wykorzystywania nieorganicznego źródła siarki np. w postaci siarczanu, a zwierzęta mogą wykorzystywać jako źródło siarki metioninę, dzięki metabolizowaniu jej do cysteiny. Wykryto po raz pierwszy, że niektóre grzyby, w tym właśnie *A. nidulans*, mają alternatywne szlaki syntezy *de novo* cysteiny i metioniny i określono ich rolę fizjologiczną. Ważnym etapem było zidenty-

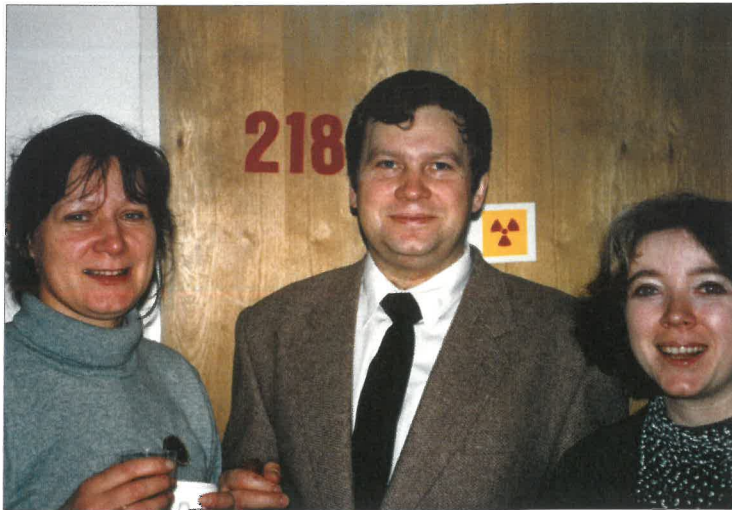


Profesor Joanna Rytko przy swoim ulubionym przyrządzie, mikromanipulatorze rozdzielającym tetrady drożdży, 2003 r.

fikowanie genów odpowiedzialnych za tzw. metaboliczną represję siarkową, systemu analogicznego do katabolicznej represji węglowej i metabolicznej represji azotowej, polegającego na tym, że w warunkach dostępności preferencyjnego źródła zredukowanej siarki, np. metioniny, represji ulega energochłonny szlak asymilacji siarczanu. Wyniki badań publikowano głównie w *Molecular and General Genetics*.



Niedługo przed wyprowadzką z gmachu IPF, genetycy: Jerzy Brzywczy, Renata Natorff, Andrzej Paszewski (kierownik Zakładu), Małgorzata Piotrowska, Jacek Topczewski oraz Marzena Sieńko, 1992 r.



Jerzy Brzywczy, pierwszy doktorat obroniony w nowym gmachu IBB, przy ul. Pawińskiego 5a w marcu 1993 r., w towarzystwie koleżanek: Renaty Natorff i Marzeny Sieńko.

We wspomnieniach tych docieramy teraz do przełomu lat 80. i 90., traktując cały poprzedni okres dziejów Zakładu jako „historyczny”, by okres późniejszy traktować jako „nowożytny” – nieco rozciągniętą w czasie teraźniejszość. Dotąd wymieniłem osoby, które przez dłuższy czas uczestniczyły w badaniach, robiły doktoraty i habilitacje, publikowały prace. Nie sposób wymienić tych wszystkich, którzy przebywali w Zakładzie w okresach krótszych, np. odbywając staże lub robiąc prace magisterskie.

Różnie potoczyły się też ludzkie losy. S. Surzycki wyjechał do Stanów Zjednoczonych w 1961 roku, zaraz po doktoracie i tam pozostał. Jest profesorem na Uniwersytecie w Bloomington. W 1980 roku osiedlili się w Stanach Andrzej i Ewa (dawniej Chlebowicz) Śledziewscy. Andrzej został dyrektorem naukowym

amerykańskiej firmy Epigenomics w Seattle. W tym samym roku wyjechała na staż do Rochester w USA Renata Polakowska i przez kilkanaście lat pracowała w na tamtejszym uniwersytecie; teraz jest profesorem Wydziału Medycyny INSERM w Lille (Francja). Ewa Morzycka (teraz Wróblewska) pracowała najpierw na uniwersytecie w Madison, potem w Uniwersytecie John Hopkins Baltimore, by ostatecznie przenieść się na Uniwersytet San Diego w Kalifornii, a Ewa Todorska (dawniej Haładus) wykłada na uniwersytecie w Bathurst (Australia). Beata Łęcka-Czernik jest obecnie profesorem w Little Rock (Arkansas, USA), Zbyszek Domiński pracuje w Chapel Hill (Północna Karolina, USA). W 1981 roku odszedł z Zakładu Tomasz Biliński, przenosząc się do nowo utworzonej filii lubelskiej Akademii Rolniczej w Zamościu, w której zorganizował

Zakład Biochemii i bardzo owocnie rozwinął badania nad mechanizmami toksyczności tlenu i obroną komórki przed stresem oksydacyjnym, w powiązaniu z procesami starzenia się komórek. Po kilku latach przeniósł się do Wyższej Szkoły Pedagogicznej (dziś Uniwersytetu) w Rzeszowie i kontynuuje tę samą problematykę.

Osobą niezmiernie oddaną zespołowi Zakładu była Z. Świetlińska, która obok pracy badawczej, miała pieczę nad sprawami organizacyjnymi w Zakładzie. Prof. W. Gajewski, znany z niechęci do administrowania, powierzał jej załatwianie wielu spraw formalnych i pilnowanie, aby ludzie w porę awansowali, a także by występowało dla nich o nagrody. Co więcej, Zosia świetnie wpływała na ogólną atmosferę i przyjazne stosunki w społeczności zakładowej. Niestety, ze stratą dla nas wszystkich, zdecydowała się przejść na emeryturę w 1985 roku.

Odciążenie od funkcji administracyjnych ułatwiło prof. W. Gajewskiemu kontynuowanie wykładów na Uniwersytecie, opracowanie obszernego podręcznika genetyki dla studentów, pełnienie funkcji redakcyjnych w *Molecular and General Genetics* i *Genetica Polonica* oraz uczestniczenie w różnych akcjach broniących niezależności badań naukowych. Profesor zawsze z wielkim zainteresowaniem śledził badania zespołu, dyskutował wyniki i doradzał przy planowaniu doświadczeń. Pomocą służyła mu D. Zaborowska, która mimo bardzo czynnego uczestnictwa w pracach eksperymentalnych zawsze znaj-

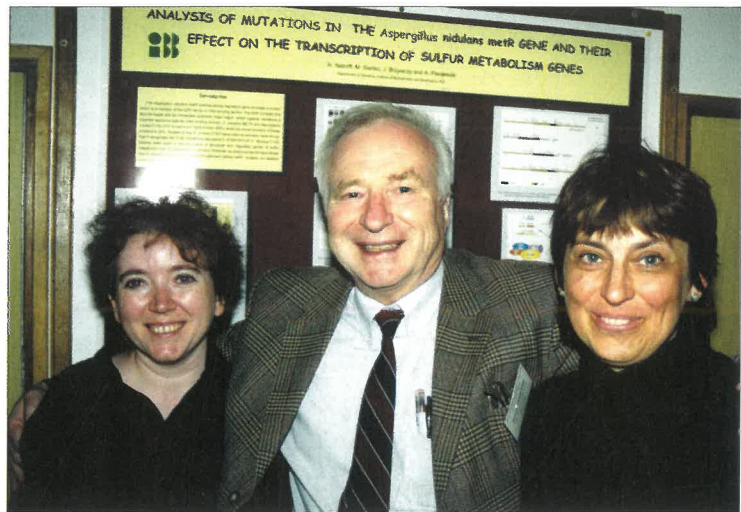


W gościnie u Tomasza Bilińskiego – profesora filii AR w Zamościu, w maju 1984 r.: Beata Łęcka-Czernik, Zbigniew Domiński, Danuta Zaborowska, Jerzy Żuk, Witold Jachymczyk, Gospodarz (doktorat w IBB w 1971 r.), Wacław Gajewski (kierownik Zakładu).

dowała czas na rozszyfrowywanie i przepisywanie jego nieczytelnych rękopisów, a w okresie stanu wojennego również na kolportowanie nielegalnej literatury i pomoc prześladowanym. W 1981 roku W. Gajewski przeszedł na emeryturę, a po nim kierownictwo Zakładu objął A. Paszewski. Na emeryturę odeszli też A. Putrament (1986) i W. Prażmo (1988), a nieco później M. Wojtulanis (1989).

Mieliśmy też smutne rozstania. W 1975 roku odeszła po ciężkiej chorobie H. Bielawska, pracując do ostatnich dni życia. W 1976 roku zmarł Jerzy Grabski. Nie sposób nie wspomnieć o Joannie Szyszcze, która, jeszcze w Al. Ujazdowskich, w ciasnym pomieszczeniu, myła dla wszystkich olbrzymie ilości szkła laboratoryjnego. Zmarła w 1983 roku.

Koniec lat 80., który określiłem jako początek czasów „nowożytnych”, oznaczał schyłek komunizmu w Polsce, większe otwarcie na świat, a także perspektywę wybudowania dla Instytutu nowego, nowoczesnego gmachu. W tym czasie szereg nurtów badawczych prowadzonych w Zakładzie wkracza na poziom molekularny. Zespół J. Rytki klonuje i charakteryzuje większość genów szlaku biosyntezy hemu u drożdży oraz geny regulatorowe i współpracuje nadal z R. Labbe. Jednocześnie podejmuje nowe badania nad biogenezą peroksysomów, wykazując po raz pierwszy



Profesor Andrzej Paszewski (kierownik Zakładu) ze swoimi współpracowniczkami – Marzeną Sieńko i Anną Chelstowską, 2001 r.

indukcję syntezy enzymów peroksysomalnych przez kwasy tłuszczowe i regulację ich syntezy przez hem i tlen. Problematyka peroksysomalna jest obecnie kontynuowana przez M. Skonecznego. Od 1994 roku ten zespół współpracuje z Pracownią Sekwencjonowania DNA (patrz zdjęcie na str. 106) i Syntezy Oligonukleotydów w analizie funkcjonalnej nowoodkrytych genów drożdżowych. Stałym konsultantem w pracach jest P. Słonimski. Z analizy funkcjonalnej genomu wyłoniły się kolejne tematy prowadzonych obecnie badań nad wewnątrzkomórkowym transportem białek i metabolitów oraz nad regulacją mejozy u drożdży. W skład zespołu prof. Joanny Rytki w tym okresie weszły: Monika Góra, Ewa Grzybowska i Monika Wysocka, a ostatnio dołączyła Róża Kucharczyk. Po stażu w USA powróciła A. Chelstowska. Prace z ostatnich lat publikowano m.in. w Journal of Biological Chemistry, Biochemical Journal, Molecular and General Genetics, Journal



Spotkanie Zakładu Genetyki w mieszkaniu Renaty Natorff w styczniu 1994 r.; Profesor Waclaw Gajewski, Danuta Zaborowska (odchodząca na emeryturę), Gospodyni, Maria Wojtulanis, Anna Kurlandzka, Janina Gwóźdz (pracownia pożywek), Magda Boguta, Irmina Lewandowska, Małgorzata Piotrowska.

W mieszkaniu Renaty Natorff, 14 stycznia 1994 r., seniorzy Zakładu Genetyki: Witold Jachymczyk, Wiesława Prażmo, Zofia Świetlińska, Waclaw Gajewski, Aleksandra Putrament.



of Cell Science, Experimental Cell Research i Molecular Microbiology.

Zespół kierowany przez J. Żuka i W. Jachymczyka pogłębia badania nad mechanizmami mutacji i naprawy uszkodzeń w DNA. Dołączają do niego Agnieszka Hałas i Z. Policińska. Wykorzystując mutanty pozbawione różnych polimeraz DNA, wykazano, że w naprawie uszkodzeń powodowanych przez związki alkilujące współdziałają polimeraza replikacyjna *delta* i współdziałająca z nią polimeraza Rev3, natomiast w naprawie dimerów pirymidynowych zaangażowane są polimerazy *delta* i *epsilon*. Wykazano również, że w mutantach *cdc8*, mających uszkodzoną kinazę tymidylanową, w temperaturze restrykcyjnej następuje spadek częstości konwersji. Ważne wyniki uzyskano również w badaniach nad powstawaniem tzw. mutacji adaptacyjnych w komórkach będących w stanie spoczynku: wykazano, że w mutageniezie tej uczestniczą polimerazy DNA *delta* i *epsilon* oraz systemy zabezpieczające postreplikacyjną wierność replikacji. Wyniki tych badań publikowane są w *Current Genetics* i *Acta Biochimica Polonica*.

W 1990 roku powróciła ze stażu podoktorskiego w pracowni Anity Hopper (Uniwersytet Stanu Pensylwania w Hershey, USA) Magdalena Rakowska-Boguta. Kontynuując trwającą do dziś współpracę z A. Hopper, podjęła szeroko zakrojone badania nad wiernością translacji, tworząc stopniowo własną grupę, do której wchodzi B. Szcześniak, Marein Murawski, później Agata Konopińska, Agnieszka Chacińska, Krzysztof Pluta i Joanna Towpik. Zespół skupia badania nad genem *MOD5*, który koduje dwie izoformy izopentenylo-transferazy; jedna izoforma modyfikuje tRNA w cytoplazmie i jądrze komórkowym, druga zaś w mitochondriach. Zidentyfikowano domeny genu odpowiedzialne za lokalizację białka w mitochondriach, a nas-

ępnie inne białka biorące udział w sortowaniu tego enzymu pomiędzy mitochondria i cytoplazmę. Kolejnym ważnym krokiem było zidentyfikowanie nowego genu, nazwanego *MAF1*, w którym mutacje prowadzą do nadprodukcji tRNA. Po jego sklonowaniu okazało się, że gen ten koduje konserwowany ewolucyjnie represor RNA polimerazy III. We współpracy z laboratorium A. Sentenaca (CEA, Saclay, Francja) udało się pokazać działanie tego represora w doświadczeniach *in vitro*. Obecnie trwają prace nad analizą funkcjonalną mutacji w tym genie oraz nad identyfikacją białek współdziałających z Maf1. Kontynuowane są badania nad wspomnianymi wcześniej supresorami pewnych mutacji mitochondrialnych. Zwłaszcza badany jest gen *MRF1*, kodujący czynnik terminacji translacji mitochondrialnej. Trwają prace nad krystalizacją białka Mrf1 w celu poznania jego struktury. Jednocześnie prowadzono badania nad drożdżowym prionem [PSI], mającym wpływ na terminację translacji. Wykazano, że obecność tego prionu jest odpowiedzialna za defekt oddechowy szczepu mającego mutacje w genie kodującym białko S4 rybosomu mitochondrialnego. Zespół opublikował szereg prac w *Molecular and Cellular Biology*, *Gene*, *Current Genetics* i *Current Biology*.

Samodzielną grupę utworzyła Teresa Żołądek, która po stażu podoktorskim w laboratorium A. Hopper, w czasie którego zajmowała się białkiem Mod5p, podjęła badania nad mechanizmami wewnątrzkomórkowego transportu białek. Kontynuując współpracę z partnerem amerykańskim, zajęła się mutantami mającymi zmienioną aktywność ligazy ubikwitynowo-białkowej Rsp5. Wraz z kierowanym przez siebie zespołem, w którym w różnym czasie uczestniczyli Beata Gajewska, Joanna Kamińska i Marta Kwapisz, wykazała, że ligaza ta wpływa na ubikwytynację i endocytozę wielu transporterów i receptorów błony komórkowej, a także na polimeryzację szkieletu aktynowego będącego elementem aparatu endocytarnego. Ten aparat stanowi przedmiot obecnych badań zespołu. Wyniki tego kierunku badań opublikowano w *Molecular and Cellular Biology*, *Genetics* i *Current Genetics*.

Na poziomie molekularnym przeszły badania metabolizmu siarkowego u grzybów. Sklonowano szereg genów kodujących enzymy szlaków biosyntezy cysteiny i metioniny i zbadano ich regulację na poziomie transkrypcji. Scharakteryzowano geny regulacyjne *scn* odpowiedzialne za metaboliczną represję. Kodują one białka uczestniczące w kompleksie odpowiedzialnym za ubikwytynację czynnika transkrypcyjnego METR, co prowadzi do jego degradacji w warunkach nadmiaru cysteiny. Gen kodujący ten czynnik scharakteryzowano; obecnie trwają prace nad przygotowaniem białka METR do krys-



Starsze pokolenie genetyków wspierają młodzi; Teresa Żołądek, Magda Boguta, Joanna Towpik, Małgorzata Cieśla, Joanna Kamińska, Beata Gajewska, Marta Kwapisz, 2002 r.

talizacji. Wykryto, że niektóre geny struktury podlegają innym systemom regulacyjnym, w których efektorami niskocząsteczkowymi są metionina bądź homocysteina i cholina. Poza tym badania porównawcze wykazały, że grzyby różnią się między sobą organizacją metabolizmu siarkowego, a głównie tym, że spośród alternatywnych dróg biosyntezy cysteiny obserwowanych u *A. nidulans*, mogą posiadać tylko jedną z nich. Zespół, do którego dołączyło dwoje doktorantów – Marcin Grynberg i Magdalena Kacprzak – opublikował szereg prac z tego zakresu m.in. w *Molecular and General Genetics*, *Yeast*, *Current Genetics*, *Microbiology*, ostatnio w *Biochemical Journal* i *Molecular Microbiology*.

W 1996 roku przysłała do Zakładu Beata Burzyńska z własnym, zupełnie nowym tematem: analiza molekularna genów związanych z niektórymi chorobami zębów, by później przenieść się na badania genów ludzkich, w których mutacje powodują choroby krwi. Te ostatnie prowadzi we współpracy z placówkami medycznymi, analizując mutacje u leczonych w nich pacjentów, a także z naszymi „drożdźcami”, z którymi wykorzystuje te grzyby jako modele do badania skutków mutacji obserwowanych u ludzi. Na pierwszy ogień poszły badania nad defektami w genach kodujących dehydrogenazę glukozo-6-fosforanu i reduktazę cytochromu b5, a ostatnio rozpoczęto nowy cykl badań nad sferocytozą. W ten sposób wśród „grzybiarzy” powstał nowy, prężny zespół zajmujący się genetyką medyczną. Wyniki tych badań publikowano w *European Journal of Haematology*, *Human Mutation*, *Blood Cells, Molecules and Diseases*.

W latach 90. mieliśmy kilka smutnych wydarzeń: w 1990 roku zmarła prof. Aniela Makarewicz, a rok później Anna Kruszewska mająca zaledwie 53 lata i będąca w pełni sił twórczych. W 1992 roku zmarła wspomniana wcześniej Marta Iwanicka, będąca od 1977 roku na emeryturze. Wcześniej rozdała wszystko, co miała wartościowego przyjaciółom z Zakładu, jako pa-



Monika Góra, doktorantka wykonująca doświadczenia w laboratorium francuskim, 2003 r.



Hanna Baranowska-Wyszomirska odchodzi z Zakładu Genetyki na emeryturę. Wierszowaną laudację czyta Wiesława Prażmo, w lutym 2002 r.

miątki po sobie. W 1994 roku zginął tragicznie Marcin Murawski i w tymże roku zmarła Danuta Zaborowska. W 1997 roku zmarł założyciel Zakładu prof. Waław Gajewski. Pamięć o nim jest żywa wśród ogromnej rzeszy pracowników naukowych uważających się za jego uczniów. Wielu z nich pracuje za granicą. W rocznicę śmierci imieniem Profesora nazwano główne audytorium naszego Instytutu. Niedawno, w roku 2002, zmarła prof. Aleksandra Putrament.

W 2001 roku odeszli na emeryturę J. Żuk i B. Szcześniak, a w 2003 roku W. Jachymczyk i H. Baranowska. W ostatnich latach przybyło wiele nowych osób, które podjęły studia doktoranckie: Joanna Towpik, Monika Wysocka, Krzysztof Flis, Marta Hoffman, Paweł Kaliszewski, Jan Kutner, Sebastian Piłsyk.

To nowe pokolenie będzie tworzyć dalszą historię Zakładu.

OSOBY, KTÓRE UZYSKAŁY STOPIEŃ DOKTORA (chronologicznie)

Zofia Świetlińska, Jerzy Żuk, Wiesława Prażmo, Stefan Surzycki, Halina Bielawska, Andrzej Paszewski, Anna Kowalewska-Kruszewska, Hanna Baranowska, Ewa Bartkowiak,



Zofia Policińska, Beata Burzyńska, Irmina Lewandowska, Monika Maciąg, 2004 r.

Małgorzata Piotrowska, Tomasz Biliński, Zofia Łukasziewicz, Maria Przygońska-Ombach, Renata Polakowska, Ewa Morzycka, Ewa Chlebowicz, Regina Osiecka, Andrzej Śledziewski, Ewa Haładus, Jacek Łukasziewicz, Anna Kurlandzka, Marek Skoneczny, Teresa Żołądek, Aleksandra Traczyk, Urszula Smolińska, Zbigniew Domiński, Beata Łęcka-Czernik, Marlena



Arkadiusz Miciałkiewicz, Monika Wysocka, Róża Kucharczyk, Marek „Kicia”-Skoneczny, 2004 r.

Lewandowska, Janina Nadolska-Lutyk, Nguyen Bich Nhi, Anna Chełstowska, Renata Natorff, Jerzy Brzywczy, Jacek Topczewski, Marzena Sieńko, Monika Góra, Ewa Grzybowska, Agata Konopińska, Irmina Lewandowska, Agnieszka Chacińska, Agnieszka Hałas, Krzysztof Pluta, Marcin Grynberg, Joanna Kamińska, Beata Gajewska, Magdalena Kacprzak, Agnieszka Białkowska, Dorota Grabowska.

OSOBY, KTÓRE UZYSKAŁY STOPIEŃ DOKTORA HABILITOWANEGO (chronologicznie)

Jerzy Żuk, Andrzej Paszewski, Witold Jachymczyk, Joanna Rytka, Tomasz Biliński, Anna Kowalewska-Kruszewska, Magdalena Rakowska-Boguta, Teresa Żołądek.

OSOBY, KTÓRE UZYSKAŁY TYTUŁ PROFESORA (chronologicznie)

Aleksandra Putrament, Andrzej Paszewski, Jerzy Żuk, Joanna Rytka, Witold Jachymczyk, Magdalena Rakowska-Boguta.



Pracownia Sekwencjonowania DNA, 2004 r.: Jacek Nowak, Julita Koper-Nawrocka, Marek Zagulski (kierownik), Beata Bobińska, Ewa Kalińska, Małgorzata Ostrowska, Andrzej Migdalski.

„Nauka jest ważna dla przyszłości Polski. Pokażemy jej możliwości i ograniczenia. Odpowiemy na Państwa pytania. Postaramy się to zrobić ciekawie i zrozumiale”.

To hasło przyświeca Festiwalom Nauki, które zorganizowało środowisko naukowe Warszawy z inicjatywy prof. dr. hab. **Davidy Shugara** oraz dwu profesorów ICM UW, **Marka Niezgódki** i **Bogdana Lesynga**. Dyrektorem Festiwalu jest dr hab. **Maciej Geller** (ICM UW), a wicedyrektorem prof. dr hab. **Magdalena Fikus** (IBB PAN). Festiwal formalnie powołali Sygnatariusze, Rektorzy Uniwersytetu Warszawskiego i Politechniki Warszawskiej oraz Prezes PAN.

Pierwszy Festiwal odbył się we wrześniu 1997 roku, trwał 3 dni, a mieszkańcom Warszawy zaproponowano ok. 100 różnego typu imprez, z różnych dziedzin nauki (warsztaty i laboratoria, wystawy, wycieczki, filmy, dyskusje i wykłady). Od 1998 roku odbywający się co roku Festiwal trwa 10 dni, a bogatą ofertę przedstawia ponad 100 różnych instytucji, w tym wszystkie publiczne i niektóre prywatne wyższe uczelnie, ponadto większość instytutów PAN, wiele instytutów resortowych, muzea i organizacje użyteczności publicznej. Nasi widzowie i uczestnicy są ze wszystkich grup wiekowych, około połowa to młodzież szkolna i studencka. Ocenia się, że uczestniczy w nich ponad 50 tysięcy osób.

Od 1999 roku Festiwal proponuje około 300 „lekcji Festiwalu”, imprez dla zorganizowanych grup szkolnych z nauczycielami, a obejmują one ponad 10 tys. warszawskich (i nie tylko) uczniów.

Patronami medialnymi Festiwalu Nauki są od początku: Gazeta Stołeczna z Gazety Wyborczej, „Wiedza i Życie”, „Świat Nauki”, TVP i Polskie Radio (BIS). Sponsorem głównym imprezy jest Komitet Badań Naukowych (30% budżetu), sponsorem generalnym w latach 2001-2003 był „Discovery Channel” (10%). Budżet Festiwalu opiera się głównie o wkłady rzeczowe

poszczególnych instytucji a także, co cenimy sobie ponad wszystko, o bezinteresowny udział organizatorów i animatorów różnych imprez. Niskie koszty Festiwalu wiążą się z jego strukturą organizacyjną – w sekretariacie pracują tylko 3 osoby, reszta odpowiedzialności spoczywa na tzw. koordynatorach lokalnych, czyli około 100 osobach pracujących w zasadzie jako wolontariusze.

Ważną i centralną funkcję wspomagającą pełnią dwie instytucje zatrudniające dyrektorów Festiwalu, udzielające daleko idącego wsparcia materialnego, merytorycznego i... psychologicznego, a są to: ICM UW oraz IBB PAN, w szczególności ich Dyrektorzy, profesorowie **Marek Niezgódka** i **Włodzimierz Zagórski-Ostoja**.

IBB PAN przedstawia co roku imprezy laboratoryjne z zakresu genetyki bakterii mlekowych (dr hab. **Jacek Bardowski** z zespołem), genetyki drożdży (dr hab. **Teresa Żołądek** z zespołem), a okazjonalnie imprezy z Zakładu Biofizyki (**P. Pawłowski**), Zakładu Biosyntezy Białka (**K. Grzelak**). Pracownicy IBB wygłaszają także wykłady, często połączone z demonstracjami



Magdalena Fikus podczas planowania kolejnego Festiwalu Nauki w 1999 r.

laboratoryjnymi (Z. Zarębska, A. Bierzyński, T. Kłopotowski, M. Dadlez, A. Rabczenko, M. Siwecka).

Najbardziej popularne imprezy Festiwalu to m.in. „Zbadaj swoje geny”, „Zabawki i fizyka” wraz z całym bogatym programem weekendowym Wydziału Fizyki UW; spotkania z zakresu psychologii, prawa (w tym studenckie inscenizacje słynnych procesów), socjologii; niedziela w Centrum Astronomicznym PAN, wycieczka do Instytutu Badawczego Leśnictwa w Sękocinie; pokazy robotów, holografii, techniki laserowej na Politechnice Warszawskiej, programy o historii i tradycjach Żydów w Polsce, wizyta w sali operacyjnej, zagłębienie do ciała ludzkiego metodą USG, leśne wycieczki, podczas których podgląda się ptaki, wystawy i wykłady o dinozaurach, wreszcie dyskusje klubowe i plenarne o najważniejszych wydarzeniach naukowych roku.

Na wzór warszawskiego Festiwalu odbywają się Festiwale Nauki we Wrocławiu, Poznaniu, na Górnym Śląsku, w Siedlcach, Białymstoku, Toruniu, Kielcach, Lublinie, Łodzi, Krakowie, Trójmieście, Szczecinie i Opolu. Oceniamy, że obejmują swoim zasięgiem ponad 30 % miejskiej ludności Polski.

Od 2000 roku jesteśmy członkami Europejskiego

Stowarzyszenia Spotkań z Nauką (EUSCEA), założonego również z naszym udziałem. EUSCEA skupia przedstawicieli 22 krajów europejskich, reprezentujących ponad 30 różnych imprez popularyzujących naukę. W latach 2003-2005 realizujemy Projekt Oceny takich imprez, w ramach V Programu Ramowego Unii Europejskiej.

Festiwal Nauki jest współorganizatorem Kawiarni Naukowej działającej w Warszawie od 2001 roku pod patronatem tygodnika „Polityka” – pierwszej w Europie Środkowej. Festiwal Nauki zainicjował powołanie jesienią 2002 roku, bardzo dynamicznie i z sukcesem rozwijającą się Szkołę Biologii Molekularnej w Międzynarodowym Instytucie Biologii Komórkowej i Molekularnej; a ponadto zorganizowano m.in. warsztaty laboratoryjne dla uczniów liceów. W latach 2003/2004 odbyły się warsztaty i wykłady w dwu Festiwalowych Szkołach Humanistów: w Wyższej Szkole Psychologii Społecznej i w Collegium Civitas. Ponadto, F. N. przygotował od strony merytorycznej, a zorganizował wspólnie z Instytutem im. Adama Mickiewicza pokazy doświadczeń i wykładów polskich naukowców w Austrii (Tydzień Nauki, 2002) i we Francji (Święto Nauki, 2004).

ZWIĄZEK ZAWODOWY NSZZ „SOLIDARNOŚĆ” W INSTYTUCIE BIOCHEMII I BIOFIZYKI PAN

Maria Agnieszka Siwecka

Związek zawodowy NSZZ „Solidarność” w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN powstał jako jeden z pierwszych w Instytutach Polskiej Akademii Nauk. W pamiętnym sierpniu 1980 roku napisaliśmy list popierający strajkujących stoczniowców i zasililiśmy fundusz Międzyzakładowego Komitetu Strajkowego Stoczniowców w Gdańsku. Walne Zebranie Pracowników z Dyrektorem Instytutu (wówczas prof. dr hab. Kazimierz Wierchowski) odbyło się już 29 sierpnia 1980 roku. Wystosowaliśmy postulaty wobec Dyrekcji i wybraliśmy naszych delegatów do strajkujących stoczniowców. Koledzy Michał Herbut i Wojtek Rychlik pojechali do Gdańskiej Stoczni i byli tam obecni w tych najważniejszych dniach, czyli 30 i 31 sierpnia 1980 roku. Instytut Biochemii i Biofizyki PAN został obok innych zakładów i fabryk włączony w skład Międzyzakładowego Komitetu Strajkowego. List z podziękowaniem dla pracowników IBB od MKS Stoczni Gdańskiej podpisany przez Annę Walentynowicz oraz zdjęcia strajkujących pracowników Stoczni i Lecha Wałęsy pertraktującego z przedstawicielami rządu PRL przechowujemy w naszych zbiorach.

Komitet założycielski Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Pracowników Nauki, Techniki i Oświaty (NSZZPNTiO) utworzono na Walnym Zebraniu IBB PAN 7 października 1980 roku. Zebraniu przewodniczył prof. Tadeusz Kłopotowski. Burzliwe było to zebranie. Przyjęliśmy sprawozdania Rady Zakładowej Związku Nauczycielstwa Polskiego i rezygnację z dotychczasowych funkcji. Powołaliśmy do Komitetu Założycielskiego koleżanki i kolegów: Tadeusza Kłopotowskiego, Bernarda Wielgata, Marcina Filutowicza, Romana Tomasika, Janusza Bartmańskiego, Jadwigę Chroboczek, Joannę Rytkę, Jerzego Smagowicza, Wojciecha Rychlika, Michała Herburta oraz Włodzimierza Zagórskiego. Społecznym inspektorem pracy został Krzysztof Berens, kasę zapomogowo-pożyczkową podjęła się prowadzić Wiesława Prażmo, a wypożyczeniem i konserwacją sprzętu sportowego zajęli się

Antoni Księżopolski. Marcin Filutowicz przedstawił postulaty, które wpłynęły od pracowników naszego Instytutu. Jednogłośnie przyjęto wówczas wniosek: żądamy zrównania płac na równorzędnych stanowiskach w całej Akademii Nauk. Dyrektor powołał specjalne komisje do



Czas Solidarności w IBB – koledzy Michał Herbut i Wojciech Rychlik w Stoczni Gdańskiej, 30 sierpnia 1980 r.

opracowania odpowiedzi na postulaty, które wpłynęły jeszcze 29 sierpnia do Dyrekcji, a uczestnicy zebrania dali termin na ich rozstrzygnięcie – do 20 października 1980 roku.

W drugiej części zebrania, już Koła Zakładowego NSZZPNTiO, zastanawialiśmy się, czy przystąpimy do „Solidarności” Regionu Mazowsze czy nie. Upoważniliśmy naszych delegatów do głosowania na II Walnym Zebraniu NSZZPNTiO za przystąpieniem do Regionu Mazowsze, nawet gdyby Walne Zebranie takiego przyłączenia nie uchwaliło.

Nowe wybory do Zarządu NSZZ „Solidarność” w IBB PAN odbyły się 4 listopada 1980 roku. Głosowało 85 członków. W skład Zarządu Koła weszli: Janusz Bartmański i Roman Tomasik – pracownicy warsztatów, Danuta Dębczyńska, Alicja Szyłberg, Gizela Chojecka – przedstawicielki administracji, Grażyna Muszyńska, Jadwiga Chroboczek, Joanna Rytka, Jan Cybis, Danuta Hulanicka, Leszek Nowak – pracownicy naukowcy i przedstawiciel doktorantów – Andrzej Biderman. Przewodniczącą została Grażyna Muszyńska, a wiceprzewodniczącym Roman Tomasik.

I zaczęliśmy działać jako Koło NZSS „Solidarność” przy IBB PAN Regionu Mazowsze. Wystaliśmy 14 naszych postulatów do Sekretarza Naukowego PAN dotyczących taryfikatorów płac, podziałów premii, dodatków za warunki szkodliwe dla zdrowia. Wzięliśmy udział w akcji strajkowej Instytutów PAN 12 listopada 1980 roku. Z uwagą śledziliśmy działania „Solidarności” w kraju. Z Regionu dostawaliśmy gazetki, które do Zakładów trafiały rozprowadzane przez Romana Tomasika. Agnieszka Siwecka wywieszała te wiadomości i wycinki z gazet na tablicy umieszczonej w holu na I piętrze. W Instytucie pojawiły się plastikowe i metalowe znaczki z napisem „NSZZ Solidarność”. Do władz NSZZ „Solidarność” Regionu Mazowsze wszedł prof. Tadeusz Kłopotowski, który założył Komisję Interwencyjną. Braliśmy udział w akcjach organizowanych przez Region Mazowsze, podpisaliśmy listy protestacyjne. Podpisy na liście z protestem przeciw uwięzieniu naszego kolegi Piotra Naimskiego, współzałożyciela i członka KOR, zbierał Zbigniew Zawadzki. Tak było do pamiętnego 13 grudnia 1981 roku. Po ogłoszeniu stanu wojennego Komisja zawiesiła oficjalnie swoją działalność i zaczęła działać nielegalnie, w podziemiu. Głównym naszym działaczem i łącznikiem z Regionem był wiceprzewodniczący Komisji Zakładowej Roman Tomasik. Staliśmy się opozycją, nasiliły się represje. Włączaliśmy się w wiele akcji, w tym w pomoc bezrobotnym wydalonym przez WRON i dla rodzin internowanych, czym kierowała Wiesława Prażmo. Z paczkami dla rodzin internowanych jeździli na Śląsk, do Czańca i Andrychowa: Zofia Świetlińska, Danuta Zaborowska, Wiesława Prażmo i Janusz Bartmański. Pomoc bezrobotnym i represjonowanym działaczom „Solidarności” udzielana była i w latach następnych: 1985-1987. Za-

chowały się wzruszające listy od pana Wiesława Pyzio z Andrychowa i jego Rodziców z podziękowaniem za okazaną pomoc materialną i wsparcie w tych trudnych latach, gdy był więziony i pozostawał bez pracy.

Uczestniczyliśmy w podziemnych imprezach kulturalnych, spotkaniach z dawnymi działaczami KOR, w Mszach za Ojczyznę w kościele św. Stanisława Kostki na Żoliborzu. W okresie stanu wojennego na apel Regionu Mazowsze działacze związkowi z innych miast byli goszczeni w domach prywatnych (m.in. u Marty Ryteł), gdy przyjeżdżali na spotkania organizowane w Warszawie. Pomagaliśmy również sobie, bo były to ciężkie czasy kartek na żywność. Organizowaliśmy np. dostawę ryb na święta oraz paczki z odzieżą dla pracowników i ich dzieci.

Burzliwe były to czasy. Zachowały się niektóre gazetki z lat 1980-1982. Kolportował je do Instytutu Roman Tomasik. Oto niektóre tytuły prasy podziemnej z lat 1980-1981: „Wiadomości Dnia”, „»Tygodnik «Solidarność» Mazowsze”, „Kwadrat”, „Afisz”, miesięcznik „NTO”; i z 1982 roku: „Biuletyn Wojenny”, „Tygodnik Wojenny”, „Biuletyn Oporu”, „Karta”, „Fakty”, „Myśl niezależna”, „Słowo Podziemne”, „Głos Mazowsza”, „Opornik”, „Informacja Solidarności”, „Tygodnik Akademicki”. W zespole redakcyjnym „NTO” w latach 1980-1981 byli nasi koledzy: Jerzy Smagowicz i Zbigniew Zawadzki. Niezależna Oficyna Wydawnicza Nowa, której współzałożycielem był nasz kolega Grzegorz Boguta, wydawała zakazane książki i broszury z historii Polski. Kilka z nich zachowało się w kolekcji Romana Tomasika. Niektóre biuletyny a także wiersze i teksty piosenek były przepisywane na maszynie do dalszego kolportażu. Krążyły odbite na bibule przebitkowej i do dziś mamy je w naszym archiwum. Kupowaliśmy znaczki pocztowe o skromnej grafice, a także piękne, zaprojektowane przez artystów plastików i odbite na dobrych maszynach drukarskich. W naszych zbiorach są zdjęcia znaczków z kolekcji Janusza Bartmańskiego. W latach 1983-1989 czytaliśmy takie pisma, jak: „Tygodnik «Solidarność»”, „Wiadomości”, „Wola”, „Kos”, „Przegląd Wiadomości Agencji”, a także dwutygodnik „Gazeta Podlaska”. Z biblioteczki związkowej (w Zakładzie Genetyki prowadziła ją Danuta Zaborowska) wypożyczaliśmy sobie nawzajem książki i broszury drukowane „pod ziemią” wydawnictwa Nowa, wydawnictwa W (seria: Dokumenty), wydawnictwa Głos, oficyny wydawniczej Signum, a także „Zeszyty Historyczne”. Trudno było je czytać, miały małe litery, wyblakły druk i były odbijane na powielaczu. Wartością było wtedy buntować się poprzez czytanie i dyskusowanie. Ruch solidarnościowy był wówczas ruchem politycznym i intelektualnym, w którym staraliśmy się czynnie uczestniczyć.

Mimo odwołania stanu wojennego represje trwały. Jerzy Smagowicz po mszy papieskiej w Warszawie 14 czerwca 1987 roku został zatrzymany na 48 godzin



1. Pracownicy IBB z transparentem „Na naukę, nie na ZOMO”. Solidarność IBB PAN w pochodzie pierwszomajowym 1989 r.

2. 1 maja 1989 r. Komisja Zakładowa NSZZ „Solidarność” i pracownicy IBB biorą udział w pochodzie pierwszomajowym. Transparent niesie Roman Tomasiak.

3. Pożegnanie 29 kwietnia 1988 r. odchodzącego na emeryturę, Romana Tomasiaka, wieloletniego wiceprzewodniczącego Komisji Zakładowej NSZZ „Solidarność” w latach 1980-1989: Małgorzata Piotrowska, Hanna Kozłowska, Barbara Szcześniak.

4. Przed tablicą „Solidarności” w holu stoją członkowie „starej” i nowej Komisji Zakładowej: Hania Kozłowska, Małgosia Piotrowska, Wiesia Prażmo, Romek Tomasiak, Basia Szcześniak, Jurek Smagowicz i Michał Herburt, 25 listopada 1998 r.

5. Spotkanie członków i sympatyków „Solidarności” w IBB z okazji 20. rocznicy powstania NSZZ „Solidarność”, 25 września 2000 r. Michał Herburt pokazuje transparent znaleziony 3 maja 1982 r. w czasie obławy na manifestujących na Placu Zamkowym.

6. 25 września 2000 r. Spotkanie członków i sympatyków „Solidarności” w IBB z okazji 20. rocznicy powstania NSZZ „Solidarność”. Przemawia Przewodniczący – Jerzy Smagowicz.



25 września 2000 r. 20-lecie NSZZ „Solidarność” w IBB. Prof. Tadeusz Kłopotowski, członek władz NSZZ „Solidarność” Regionu Mazowsze w latach 1980-1981, senator RP w latach 1989-1991.

i skazany na grzywnę za samo tylko noszenie emblematów „Solidarność”, a jego mieszkanie zostało poddane wielogodzinnej rewizji, by skonfiskować wydawnictwa „bezdebitowe”.

Rok 1989 okazał się przełomowy, „Solidarność” wyszła z podziemia. W kwietniu 1989 roku Przewodni-

czącym Komisji został Jerzy Smagowicz, Wiceprzewodniczącym Andrzej Bierzyński, Sekretarzem Iwona Fijałkowska, a Skarbnikiem Barbara Szcześniak. Zacieśniliśmy wówczas więzy zarówno z Komisjami z innych placówek PAN, jak i z Regionem Mazowsze. Wzięliśmy udział w pochodzie 1-majowym Solidarnościowców z transparentem: „Na Naukę nie na ZOMO. Solidarność IBB PAN”.

Doczekaliśmy się zmian ustrojowych, nowych wyborów, nowego, solidarnościowego rządu w czerwcu 1989 roku. Włączyliśmy się do pracy w komisjach wyborczych. 4 czerwca 1989 roku wzięliśmy udział w wyborach do Sejmu i Senatu. Powołany został pierwszy solidarnościowy rząd z Tadeuszem Mazowieckim na czele.

Nasz kolega, prof. Tadeusz Kłopotowski, został senatorem w kadencji Senatu 1989-1991. W kolejnym pięcioleciu, w latach 1990-1995 wiele osób z naszej „Solidarność” odeszło do tworzących się partii politycznych i ugrupowań. My pozostaliśmy związkiem zawodowym. Najwierniejsi zostali. Potrafili pogodzić przynależność do organizacji politycznych z przynależnością do związku.

Nowe czasy przyniosły nowe problemy. Rolą związku stało się działanie w obronie słabszych, pokrzywdzonych, zagrożonych utratą pracy. Trzeba było się włączyć w organizowanie pomocy biedniejszym od nas – niewidomym dzieciom z Lasek, dzieciom z Litwy, niepełnosprawnym, powodzianom. W naszym Instytucie ułożony został regulamin funduszu socjalnego, a jest to zasługą Komisji Zakładowej z lat 1994-1997, gdy jej przewodniczącą była Małgorzata Piotrowska. Do dziś organizujemy akcje: letnią z funduszu socjalnego dla pracowników niżej uposażonych i ich dzieci, i akcję – upominek świąteczny (gwiazdkową) dla naszych emerytów. Szczególnie dużo uwagi poświęcamy temu, aby pomoc finansowa była dzielona według potrzeb. Troszczymy się o sprawiedliwy podział funduszy, w tym pożyczek i zapomóg. Sprawami socjalnymi przez dwie kadencje Komisji zajmował się Krzysztof Felczak, a obecnie po raz kolejny przejęła je Maria Bretner. Informujemy o tym przez e-maile, na tablicy związkowej, a naszych emerytów powiadamy listownie (w tym pomaga nam Michał Herburt). Nasze finanse prowadzi członek wszystkich Komisji Zakładowych NSZZ „Solidarność” od 22 lat, Janusz Bartmański. To do niego przychodzimy po zapomogi losowe i terminowe pożyczki, to on chodzi do banku, gdy przekazujemy pieniądze na jakieś ogólne akcje pomocy.



28 lutego 2002 r. Komisja Zakładowa NSZZ „Solidarność” kadencji 1997-2002: Janusz Bartmański (Skarbnik), Teresa Rak, Maria Bretner (sprawy socjalne), Jarzy Smagowicz (Przewodniczący) i Agnieszka Siwecka (Sekretarz).

W trudnych latach przeorganizowywania naszego Instytutu i mimo redukcji pracowników w kilku przypadkach udało się nam obronić miejsca pracy np. dla pracowników warsztatów.

W 2000 roku bardzo uroczysto obchodzono w Polsce 20-lecie istnienia związku zawodowego „Solidarność”. Włączyliśmy się w te obchody i 25 września 2000 roku zorganizowaliśmy spotkanie dawnych i obecnych członków „Solidarności” w Instytucie. Przyszli też członkowie już będący na emeryturze lub rencie. Szczególnie wzruszająca jest przynależność do naszego związku tych osób. Kolega Aleksander Bącik mimo choroby od lat opłaca składkę członkowską i uczestniczy w walnych zebraniach. Przewodniczący Jerzy Smagowicz powitał wszystkich bardzo serdecznie, a w swoim wspomnieniowym wystąpieniu powiedział: „»Solidarność« to, przynajmniej dla mnie, coś więcej niż związek zawodowy i więcej niż ruch społeczny, to wspólnota większa niż związki polityczne czy zawodowe. »Solidarność« to wspólnota szersza nie w sensie liczebności, lecz głębi duchowej, jakiej sięga, ważniejsza niż wspólnota jakichkolwiek interesów; wspólnota osób wolnych, którzy z własnej woli rezygnują z części swej wolności prywatnej, swego czasu, uwagi i pieniędzy, w imię paru wartości uniwersalnych, takich jak »prawda« i »bezinteresowna pomoc drugiemu«,

wartości niemodnych w dzisiejszych drapieżnych czasach... Partie powstają i rozpadają się, organizacje zakładane dla najszczytniejszych celów – znikają lub degenerują się. Interesy prywatne lub grupowe okazują się często ważniejsze. Solidarność wobec ludzkiej biedy, niekoniecznie materialnej, wobec tych brzemion, które człowiek musi nieść, wobec samotności, lęku i cierpienia drugiego człowieka – taka Solidarność – pozostanie, bo jest potrzebą serca, naturalną ludzką potrzebą przekraczania horyzontu swoich spraw, potrzeb i bolączek, potrzebą wyjścia ku drugiemu. Taka solidarność przetrwa i pozostanie”.

Przetrwaliśmy. Minęły 22 lata, niektórzy z naszych działaczy odeszli na emeryturę. Jesteśmy im wdzięczni za ich trud i czas, jaki poświęcili pracy dla innych. Staramy się kontynuować ich dzieło, ale jesteśmy coraz starsi. Dlatego zachęcamy do wstępowania do naszego związku instytutową młodzież. Chcielibyśmy, aby „Solidarność” w IBB znów stała się miejscem spotkań ludzi wrażliwych i gotowych do bezinteresownego wysiłku na rzecz innych.

Nie jesteśmy dużą reprezentacją. Obecnie do naszego związku należy 44 członków. Nie jesteśmy wielką siłą, a jednocześnie nią jesteśmy, bo naszymi członkami są ludzie oddani pracy społecznej, wierni, lojalni i zdeterminowani od ponad 20 lat.

BIBLIOTEKA

im. Profesora Józefa Hellera

Teresa Żyłka

Biblioteka Instytutu od 1954 roku gromadzi książki i czasopisma biochemiczne i biofizyczne o bardzo różnorodnej tematyce, będącej odbiciem interdyscyplinarnych badań prowadzonych w Instytucie. Przez pierwsze dziesięć lat, do 1964 roku, zbiory nasze były rozproszone. Podstawowe książki i czasopisma znajdowały się w bibliotece ulokowanej przy Zakładzie Biochemii Porównawczej, na terenie Zakładu Chemii Fizjologicznej AM przy Krakowskim Przedmieściu, a specjalistyczne przy poszczególnych Zakładach rozrzuconych po mieście.

Po raz pierwszy zostały one złączone i umieszczone w zaadoptowanych dla celów bibliotecznych pomieszczeniach w wydzierzawionym gmachu Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego przy ul. Rakowieckiej 36, który był siedzibą Instytutu do 1993 roku.

W nowej własnej siedzibie przy ul. Pawińskiego 5a, Biblioteka otrzymała po raz pierwszy normalne warunki do efektywnej działalności.

Zbiory zgromadzone w ciągu 50 lat, zajmują obecnie 205 m² w magazynie w suterynie i 100 m² na parterze

w czytelni. Aktualny zbiór liczy ok. 8000 książek i 368 tytułów czasopism, w tym 114 bieżących zagranicznych. Posiadane przez nas książki i czasopisma są katalogowane sukcesywnie w systemie bibliotecznym HORIZON, dzięki czemu nasze zbiory są dostępne w bazie Warszawskiego Porozumienia Bibliotek Naukowych PAN.

Od 1982 roku Biblioteka stopniowo nabywa prawa dostępu w Internecie do najważniejszych wydawnictw światowych, co w połączeniu z siecią komputerową w Instytucie znacznie ułatwia śledzenie bieżącej literatury. Łącznie z wykupionymi prawami do tytułów bieżących Biblioteka ma dostęp on-line do 2000 tytułów, głównie takich wydawnictw jak Elsevier, Academic Press, Springer i Kluwer. Zbiory CD-ROM obejmują bibliograficzną bazę abstraktów z przeszłości – Life Science Collection z lat 1982-2000 oraz na bieżąco Current Protocols w trzech seriach: CP in Cell Biology, CP in Molecular Biology, CP in Protein Science; począwszy od roku 2000, prenumerata jest kontynuowana. Ponadto Biblioteka ma na dyskietkach bazę danych z abstraktami z Current Contents 1995-2002, w prenumeracie ciągłej.

Dużą pomoc dla naukowców stanowią serie wydawnicze (29 tytułów), jak na przykład: *Methods in Enzymology*, *Methods in Cell Biology*, *Methods in Microbiology*, *Cells*, *Merck Index*, encyklopedie polskie i obce, słowniki w ośmiu językach, podręczniki i poradniki. Dział czasopism zawierający 368 tytułów, gromadzi najważniejsze publikacje międzynarodowe z zakresu biochemii, biofizyki, biologii molekularnej, genetyki, genomiki, biotechnologii, wirusologii oraz bioinformatyki. Zbiory nasze stanowią jedną z najlepszych bibliotek w kraju, o czym świadczy stale wzrastająca liczba czytelników z zewnątrz.

W 1998 roku Biblioteka IBB uzyskała status Biblioteki Środowiskowej. Zespół pra-



Odświeżenie tablicy pamiątkowej ku czci prof. Józefa Hellera w Bibliotece IBB (odsłania Maria Monika Jeżewska). Najbliżsi współpracownicy Profesora i Rodzina, 24 lutego 1998 r.

owników Biblioteki przygotowuje co roku listę publikacji, co ułatwia zapoznanie się z dorobkiem Instytutu zarówno w przeszłości, jak i na bieżąco. Obecnie cała bibliografia prac opublikowanych przez pracowników Instytutu, licząca bez mała 4000 pozycji, jest udostępniona w Internecie na stronie IBB.

Stopniowo zapełnia się 4-poziomowy regał o łącznej długości 4 m, przeznaczony na prace dyplomowe (por. wykres), obronione w Instytucie od 1957 roku. Łącznie obroniono w IBB 284 prac doktorskich, 87 habilitacyjnych oraz, począwszy od lat 90., 161 prac magisterskich. Należy wspomnieć, że najwcześniejsze doktoraty i habilitacje były broniące w Akademii Medycznej bądź w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN w Warszawie, zanim Instytut uzyskał prawo nadawania stopni naukowych.

24 listopada 1998 roku patronem Biblioteki został Profesor Józef Heller – założyciel i pierwszy dyrektor Instytutu (1954-1967).

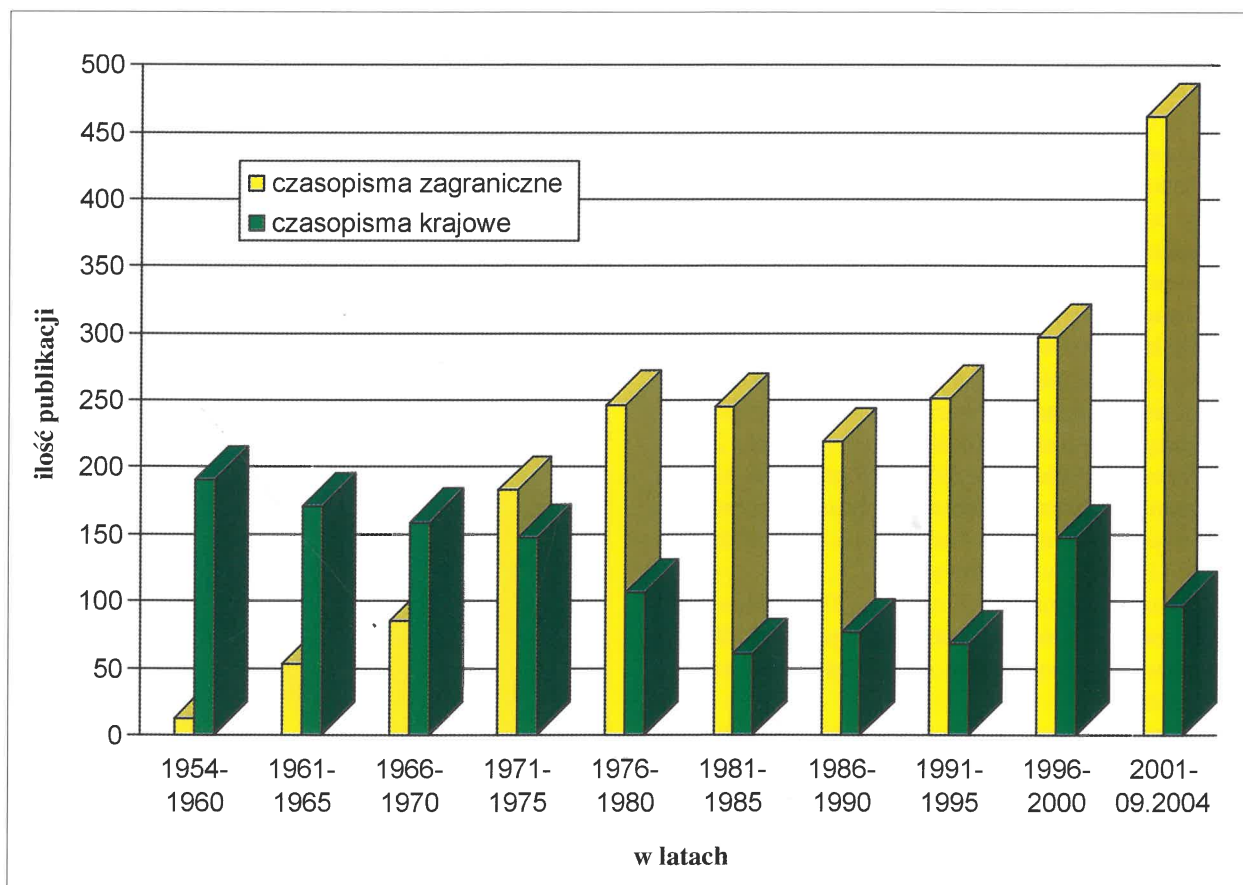
W latach minionych funkcję kierowniczą Biblioteki pełniły: pani Maria Świtalska (1965-1977), panie Maria Drewniak (1978-1980) i Teresa Petryna (1980-1985). Ponadto wieloletnimi pracownikami Biblioteki byli:



Zespół Biblioteki (2005): Mariusz Włodarski, Teresa Żyłka (kierownicza), Małgorzata Pacuła, Antonina Wiesława Skrętowska.

Anna Monkiewicz (1980-1985), Witold Jaźwiński (1985-1990), Michał Herburt (1977-1995) oraz dr Alina Wiater (1982-1999).

Obecny zespół Biblioteki stanowią – mgr Teresa Żyłka (kierownicza), mgr Wiesława Skrętowska, mgr Małgorzata Pacuła, mgr Mariusz Włodarski.



Publikacje IBB w odstępach 5-letnich

OGÓLNOKRAJOWE PROGRAMY BADAWCZE I LABORATORIA ŚRODOWISKOWE INSTYTUTU

Kazimierz Lech Wierzchowski

Wprowadzenie na początku lat 70. przedmiotowego systemu finansowania badań i systemu 5-letnich programów badawczych, zwanych „problemami węzłowymi”, stworzyło warunki do konsolidacji współpracy naukowej zespołów badawczych niezależnie od ich organizacyjnego przyporządkowania. Szybki rozwój biologii i genetyki molekularnej na świecie w tym okresie dyktował potrzebę lepszego finansowania i koordynacji prac badawczych w tej dziedzinie w Polsce. Zadanie to zostało powierzone Instytutowi, którego profil badawczy i potencjał kadrowy, po połączeniu się w 1967 r. z Zakładem Genetyki PAN (prof. Wacław Gajewski), umożliwił podjęcie się organizacji i koordynatora badań z tego zakresu. W rezultacie utworzony został problem węzłowy „Badania nad informacją genetyczną u drobnoustrojów, roślin i zwierząt” (1971-1975), przy współpracy Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN i Zakładu Genetyki Roślin PAN, kierowany przez prof. W. Gajewskiego. Program tych badań był kontynuowany w latach 1976-1980 pod nieco zmienionym tytułem „Molekularne podstawy procesów życiowych u drobnoustrojów i w organizmach wyższych”, przy współpracy w zakresie koordynacji prac z Instytutem Mikrobiologii UW, Instytutem Biologii Molekularnej UŚL oraz Zakładem Genetyki Człowieka PAN. Programy te skupiły praktycznie znakomitą większość liczących się w kraju w tej dziedzinie zespołów badawczych PAN, wyższych uczelni i instytutów resortowych.

Ogółem uczestniczyło w nich ok. 80 zespołów z ok. 40 placówek naukowych zatrudniających ok. 350 pracowników naukowych oraz drugie tyle pracowników pomocniczych.

Organizacji problemów węzłowych towarzyszyły istotne zmiany w prawnym statusie placówek PAN – z placówek budżetowych zostały przekształcone w samodzielne zakłady budżetowe. Pozwalało to koordynującej placówce na gospodarowanie środkami finansowymi przyznawanymi na Problem, na cały 5-letni okres. Środki te były dzielone i dysponowane wyłącznie

w oparciu o opinie Zespołów Koordynacyjnych, powoływanych spośród cieszących się autorytetem badaczy i kierowników placówek uczestniczących w Problemie.

W Instytucie utworzony został wówczas Dział Planowania i Koordynacji Badań, który pod kierunkiem dr Danuty Dębczyńskiej zapewniał sprawne logistyczne i administracyjne wsparcie w prowadzeniu i finansowaniu prac badawczych w tak dużej skali.



Dr Danuta Dębczyńska (1979) – kierowniczka Działu Planowania i Koordynacji Badań w IBB PAN, organizatorka sympozjów sprawozdawczych Problemów Węzłowych w latach 1971-1980 oraz wielu innych konferencji naukowych

Projekty badawcze zespołów zgłaszających się do Problemu były recenzowane, podobnie jak doroczne sprawozdania z wykonanych prac prezentowane potem na konferencjach grup tematycznych lub zespołów problemów z udziałem wykonawców i recenzentów. Kształtowała się w ten sposób szeroka sieć wzajemnych powiązań i kontaktów naukowych sprzyjająca podnoszeniu poziomu metodycznego i wartości poznawczej prac badawczych.

Doświadczenie wyniesione z okresu prowadzenia problemów węzłowych oraz pozytywna ocena przez środowisko naukowe osiągnięć badawczych i organizacyjnych umożliwiły Instytutowi organizację i prowadzenie na podobnych zasadach w latach 1981-1986 Centralnego Programu Badawczo-Rozwojowego „Molekularne podstawy biotechnologii”, pod kierunkiem prof. Kazimierza L. Wierzchowskiego we współpracy z profesorami Przemysławem Szafrąnskim i Andrzejem Paszewskim. Współkoordynatorami tego Programu były Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN (prof. Wojciech J. Stec), Instytut Genetyki Człowieka PAN (prof. Antoni Horst), Centralne Laboratorium Surowic i Szczepionek w Warszawie (prof. Michał Korbecki) oraz Instytut Chemii Fizycznej i Organicznej Politechniki Wrocławskiej (prof. Andrzej Zabża). W programie tym uczestniczyła większość zespołów badawczych biologii i genetyki molekularnej, z którymi Instytut współpracował wcześniej ramach problemów węzłowych, oraz wiele zespołów chemii bioorganicznej zajmujących się: chemią i syntezą kwasów nukleinowych; inżynierią genetyczną białek; chemią, syntezą i biochemią czynnych biologicznie i terapeutycznie peptydów; otrzymywaniem enzymów o przemysłowych zastosowaniach oraz doskonaleniem szczepionek. Współdziałanie w tym Programie uczonych, reprezentujących tak różne kultury i podejścia badawcze stworzyło niewątpliwie lepsze warunki do rozwoju nowoczesnej biotechnologii w Polsce w kolejnych latach.

Instytut był również koordynatorem współpracy kilkunastu krajowych laboratoriów biofizycznych z ich odpowiednikami w krajach Rady Wzajemnej Pomocy Gospodarczej (RWPG) i Jugosławii; w latach 1970-1990, prof. K. L. Wierzchowski był przedstawicielem Polski w Radzie Koordynacyjnej programu. Uczestnicy tego programu spotykali się niemal co roku na specjalistycznych sympozjach z udziałem gości z innych krajów europejskich. Jedną z takich imprez była Międzynarodowa Szkoła Biofizyki Transportu przez Błony Komórkowe (łącznie 12 szkół), organizowana w Polsce co dwa lata przez prof. Stanisława Przestalskiego (Katedra Biofizyki AR we Wrocławiu) i IBB PAN. Wykładowcami w szkole byli znani specjaliści w tej dziedzinie z całego świata.

Wprowadzenie nowych zasad finansowania badań na początku lat 90. oraz poparcie udzielone Instytutowi przez środowisko naukowe i Komitet Badań Nauko-

wych umożliwiło zorganizowanie i wyposażenie w unikalną aparaturę badawczą kolejno dwóch Środowiskowych Laboratoriów: prof. Andrzeja Bierzyńskiego w 1994 r. Laboratorium Jądrowego Rezonansu Magnetycznego, dla badań nad strukturą peptydów i białek (obecny kierownik prof. Andrzej Ejchart), a doc. Michałowi Dadlezowi w 2001 r. Laboratorium Spektrometrii Mas, dla badań proteomicznych. Oba Laboratoria służą także wielu zespołom badawczymi spoza Instytutu kontynuując tradycję obopólnie owocnej współpracy naukowej.

Od 1991 roku działa Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleo-tydów (kierownik: prof. Joanna Rytka). Świadczy ona usługi zarówno pracownikom Instytutu jak i innych laboratoriów. Od 2000 r. skorzystało z usług Pracowni ponad 100 zespołów badawczych ramach komercyjnego Serwisu „Oligo.pl”.

W ciągu 13 lat działalności zsekwencjonowano ponad 20 mln par zasad i syntetyzowano 20 tys. różnych oligonukleotydów. Pracownia uczestniczyła w Projekcie Sekwencjonowania Genomu Drożdżowego (we współpracy z Centre de Genetique Moleculaire, Gif-sur-Yvette, Francja) ustalając ponad 70 tys. par zasad konsensusu sekwencji genomu [The yeast genome directory. Nature. 1997; 387(6632 Suppl):5], projekcie analizy funkcjonalnej tego genomu EUROFUN, a następnie w międzynarodowym pilotażowym projekcie sekwencjonowania genomu pantofelka (*Paramecium tetraurelia*) ustalając sekwencję jego największego chromosomu (984 000 bp) [Curr Biol. 2004 Aug 10;14(15):1397-404] oraz identyfikując 480 genów.

Na początku lat 90-tych, staraniem prof. prof. Włodzimierza Zagórskiego i Piotra Słonimskiego (Centre de Genetique Moleculaire du CNRS) utworzone zostało przy Instytucie Polsko-Francuskie Centrum Biotechnologii Roślin, którego działalność miała również zakres środowiskowy. W badaniach koordynowanych przez Centrum uczestniczył, poza Instytutem, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, Instytut Chemii Bioorganicznej w Poznaniu oraz szereg innych polskich jednostek badawczych, a także kilkanaście francuskich centrów naukowych. Tematyka wspólnie podejmowanych długoterminowych projektów badawczych dotyczyła głównie biologii molekularnej i biotechnologii roślin wyższych, a także w pewnym zakresie – grzybów, bakterii i wirusów. Istotnym elementem działalności Centrum były coroczne spotkania Komitetu Naukowego, organizowanie szeregu polsko-francuskich sympozjów naukowych oraz wspólne prowadzenie prac doktorskich. Polskim koordynatorem Centrum był początkowo prof. Andrzej Legocki, zastąpiony następnie przez prof. Stanisława Lewaka, natomiast funkcję koordynatora francuskiego pełniła prof. Jaga Łazowska. Centrum zakończyło swoją działalność w 2004 roku.

KSZTAŁCENIE – SZKOŁA BIOLOGII MOLEKULARNEJ

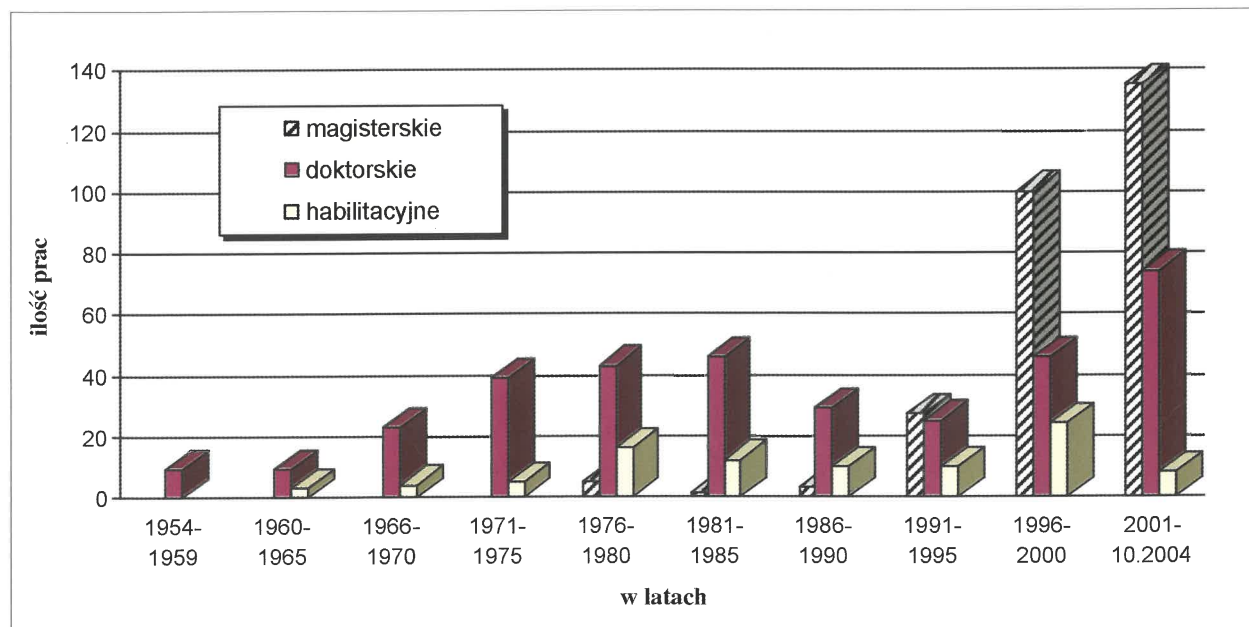
Grażyna Palmarczyk

Instytut jest poważnym ośrodkiem prowadzącym kształcenie na różnych poziomach.

W okresie tworzenia zrębu kadrowego IBB, 1954 – 62, doktoraty uzyskało 20 pracowników naukowych, przy czym ich przewody prowadzone były przez Rady Naukowe innych instytucji – szczególnie Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN, co zachowujemy we wdzięcznej pamięci. W latach 1968 – 75 Instytut prowadził wraz z IBD PAN wspólne studium doktoranckie oraz studium przeznaczone dla pracowników instytutów przemysłowych.

W 1962 roku Instytut uzyskał uprawnienia do nadawania stopnia doktora i doktora habilitowanego. Do dnia 50. Jubileuszu doktoraty uzyskały 292 osoby, a habilitowało się 93 naukowców. Wielu naszych doktorów i doktorów habilitowanych zasiliło zespoły poza instytutowe, około 120 spośród nich pracowało i pracuje w czołowych placówkach zagranicznych. Jesteśmy dumni z tego, że znajdują oni swoje miejsce w nauce światowej, jeszcze bardziej z tego, że większość z nich utrzymuje z IBB stały kontakt. Ta sieć naszych absolwentów rozrzucona po świecie tworzy wraz z nami nieformalny zespół, o swojej sile środowiskowej i związany wzajemnym zaufaniem.

Jedną z form kształcenia, obecną od początku w działaniach Instytutu było umożliwienie młodym naukowcom odbywania w naszych pracowniach różnorodnych staży, w tym też studenckich staży specjalizacyjnych. Ten ostatni typ aktywności, po stowarzyszeniu z Wydziałem Biologii UW, uzyskał nowy wyraz – wielu studentów Uniwersytetów: Warszawskiego, Lubelskiego, Kieleckiego i SGGW uzyskało możliwość wykonania części doświadczalnych swoich prac magisterskich w laboratoriach IBB. Jak dotąd – zaowocowało to 221 pracami magisterskimi prowadzonymi przez Nauczycieli Akademickich z wykorzystaniem naszego doświadczenia metodycznego i wiedzy kadry Instytutu. W naszych kursach specjalistycznych: bioinformatyki, tech-



Prace dyplomowe w IBB w odstępach 5-letnich

nik NMR, sekwencjonowania DNA uczestniczą młodzi naukowcy z wielu rejonów świata, a konferencje międzynarodowe gromadzą specjalistów o renomie światowej. Konferencje te dziś stanowią jeden z elementów kształcenia młodej kadry naszego rozwijającego się studium doktoranckiego.

Zmiany w metodach finansowania nauki po roku 1990 (system grantowy), a także znaczne poszerzenie powierzchni Instytutu po jego przeprowadzeniu w roku 1994 do nowych budynków przy ul. Pawińskiego, umożliwiły wprowadzenie na szeroką skalę możliwości wykonywania prac magisterskich i związanych z tym rozwój Studium Doktoranckiego.

Studia doktoranckie przy Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN, powołane formalnie w roku 1996, obejmowały początkowo 66 uczestników, obecnie 78 (lista w załączeniu). W ramach studium, w latach 1996-2004 stopień doktora otrzymało 87 osób. Od chwili powstania miały one charakter międzynarodowy i w rzeczywistości rozpoczęły swoją działalność już w roku 1993, to jest z chwilą powołania Centrum Polsko-Francuskiego Biotechnologii Roślin. W tym samym roku został zakończony obroną pracy doktorskiej pierwszy międzynarodowy doktorat, kierowany przez Prof. W. Zagórskiego. Wykonano go częściowo w IBB PAN oraz w placówce CNRS w Paryżu, a finansowano z funduszy CNRS oraz ze środków własnych IBB PAN. Na tych samych zasadach finansowania, do roku 2005, przedstawiono 47 kolejnych prac doktorskich wykonanych w różnych placówkach naukowych krajów UE oraz w IBB PAN. Doktoratami kierowali samodzielni pracownicy nauki IBB oraz placówek zagranicznych.

Po uzyskaniu przez Instytut statusu Center of Excellence in Molecular Biotechnology kształcenie doktorantów wspierały fundusze Unii Europejskiej. Następnie, po uzyskaniu przez IBB statusu Maria Curie Training Site – Education and Research in Molecular Biology

w grudniu 2001, powstały warunki do przyjmowania studentów z zagranicy pragnących wykonywać prace doktorskie w naszym Instytucie. W ciągu ostatnich dwóch lat, siedmiu doktorantów z krajów Unii Europejskiej pracowało w IBB PAN.

Pierwsze Francusko-Polskie spotkanie z udziałem doktorantów IBB, na temat: *Structure-function relationship in plant genome*, połączone z prezentacją prac doktorantów odbyło się w 1994 roku w Poznaniu w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN pod patronatem KBN, PAN i CNRS. Wszystkie sympozja szkoleniowo-badawcze organizowane przez Instytut, gromadziły wykładowców z wiodących centrów międzynarodowych. Szczególna rola przypadła tu badaczom francuskim, ich udział w sympozjach finansowany był częściowo przez CNRS i Ambasadę Republiki Francuskiej w Polsce.

Tematyki owych sympozjów przedstawiały się następująco:

- 1995 – *Molecular Mechanisms of Gene Expression*,
- 1996 – *Gene structure and expression in plant pathogens*,
- 1996 – *Bioinformatics*,
- 1996 – *Molecular Mechanisms of Genome Expression in Prokaryotes*,
- 1997 – *Mechanisms of DNA Repair and Mutagenesis*,
- 1997 – *Molecular basis of signal transduction*,
- 1998 – *Plant transport systems and pathogens*,
- 2000 – *Yeast post-genomic era*,
- 2001 – *Plant responses to stress on cellular and molecular level*,
- 2002 – *Selected plant secondary metabolites and their application*,
- 2002 – *Signals involved in plant-microbe interaction*,
- 2002 – *Protein Secretion and glycosylation in yeast and filamentous fungi*.



Spotkanie przedstawicieli FEBS z doktorantami IBB PAN, 24 września 2003 roku



Wszystkie te sympozja, poza wykładami zawierały część plakatową, w której doktoranci prezentowali wyniki swoich prac. Fundusze Center of Excellence i własne IBB PAN pozwoliły również na sfinansowanie w latach 2001–03 dwóch serii wykładów dla doktorantów na temat: *Expression of eukaryotic genes* oraz *Plant molecular biotechnology*. Wykłady te, prowadzone przez zapraszanych wykładowców europejskich, były

połączone z dyskusją wyników prac własnych poszczególnych doktorantów.

Zdaniem naszych zagranicznych kolegów byli doktoranci IBB PAN doskonale odnajdują się w międzynarodowej społeczności naukowej. Sądzymy, że w dużej mierze przyczynia się do tego charakter naszego studium i rodzaj kształcenia jaki staramy się im zaproponować.

KIEROWNICTWO, PRACOWNICY, DOKTORANCI

KIEROWNICTWO INSTYTUTU BIOCHEMII I BIOFIZYKI PAN (1954-2004)

Dyrektorzy:

Prof. Józef Heller (1954-1966)
Prof. Waław Gajewski (1967-1972)
Prof. Kazimierz Lech Wierzchowski (1972-1981)
Prof. Andrzej Paszewski (1981-1984)
Prof. Jerzy Buchowicz (1984-1987)
Prof. Kazimierz Kleczkowski (1987-1990)
Prof. Włodzimierz Zagórski-Ostoja 1990-

Zastępcy Dyrektora:

Prof. Ignacy Reifer (1963-1966)
Prof. Zofia Lassotowa (1970 –1975)
Prof. Przemysław Szafrński-Szeliga (1967-1974)
Prof. Władysław Kunicki-Goldfinger (1967-1968)
Prof. Kazimierz Lech Wierzchowski (1969-1972)
Prof. Tadeusz Chojnacki (1975-1977)
Prof. Michał Bagdasarian (1977-1978)
Prof. Andrzej Paszewski (1979-1981)
Doc. Bernard Wielgat (1984-2000)
Prof. Maria Monika Jeżewska (1981-1984)
Prof. Celina Janion (1984-1990)
Prof. Grażyna Muszyńska (1990-1996)
Doc. Włodzimierz Zagórski-Ostoja (1981-1984)
Doc. Piotr Cegłowski (1996-2004)
Prof. Piotr Zielenkiewicz 2000-
Doc. Piotr Jonczyk 2004-

Przewodniczący Rady Naukowej:

Prof. Janusz Supniewski (1954-1964)
Prof. Józef Heller (1964-1981)
Prof. Waław Gajewski (1981-1992)
Prof. Zofia Lassotowa (1993-1997)
Prof. Andrzej Paszewski 1997-

Zastępcy Dyrektora ds. Administracyjnych:

Michał Klisiak (1956-1967)
Stanisław Ciszewski (1967-1973)
Andrzej Lipiński (1973-1979)
Janusz Staniusz (1979- 1981)
Gustaw Lang (1981-1982)
Kazimierz Moes (1983-1985)
Jerzy Podolak (1985-1986)
Kazimierz Hawrot (1987)
Ignacy Kosior 1987-

Główni księgowi:

Czesław Filipowicz (1954-1963)
Jadwiga Kapaon-Kacprzak (1964-1969)
Ewa Kańska (1970-1987)
Lucyna Andruszczenko (1987- 1993)
Grażyna Deba 1993-

Kierownicy Działu Planowania i Koordynacji Badań:

Dr Danuta Dębczyńska (1971-1995)
Ała Bulanda 1995-

AKTUALNI PRACOWNICY IBB PAN

Skrótami oznaczono zakłady-pracownie:

ZB = Zakład Biofizyki,

ZBB = Z. Biosyntezy Białka,

ZBD = Z. Biochemii Drobnoustrojów (MUT = Pracownia Mutagenyzy i Reperacji DNA),

ZG = Z. Genetyki,

ZBL = Z. Biochemii Lipidów (PGG = Prac. Glikobiologii Grzybów),

ZBM = Z. Biologii Molekularnej (GMO = Prac. Genetycznie Modyfikowanych Organizmów; PA = Prac. Antymetabolitów),

ZBR = Z. Biochemii Roślin (PPR = Prac. Patogenezy Roślin),

BIN = Zakład Bioinformatyki (NMR = Laboratorium Magnetycznego Rezonansu Jądrowego, PBS = Prac. Biologii Systemów),

ADM = Administracja, BIB = Biblioteka, WAR = Warsztaty,

P = Pożywkarnia,

PI = Prac. Izotopów;

UGd. = Uniwersytet Gdański;

UW = Uniw. Warszawski.

Nazwisko imię, data zatrudnienia, Zakład/Pracownia

ADAMCZYK MAŁGORZATA 2002-12-01 ZB

ALEKSANDRZAK-PIEKARCZYK TAMARA 2003-04-01
ZBD

BABIŃSKA BEATA 1992-12-01 ZBB

BAIER ANDREA 2004-12-06 PA

BAJDA AGNIESZKA 2001-10-01 ZBL

BAL WOJCIECH 2000-04-01 ZB

BANASZEK MONIKA A. 2000-09-15 ZBB

BARANOWSKA-WYSZOMIRSKA HANNA 2003-01-01
ZBD-MUT

BARAŃSKA ZOFIA 1987-02-04 ADM

BARDOWSKI JACEK 1994-09-01 ZBD

BARSZCZ DANIELA 1960-01-01 ZBM

BARTMAŃSKI JANUSZ 1970-09-10 WAR

BARTNIK EWA 1995-05-01 UW-ZG

BARTOSIK ANETA 2004-05-01 ZBD

BEDNARCZYK GRZEGORZ 2004-09-20 ZBR-PPR

BERLIŃSKA MAGDALENA 2002-09-16 ADM

BERNATOWICZ PIOTR 2004-07-01 NMR

BĘBENEK ANNA 1986-01-01 ZBM

BIAŁKOWSKA AGNIESZKA 2003-03-01 ZG

BIAŁOSKÓRSKA MAŁGORZATA 1996-05-01 ZBD-MUT

BIEŃKOWSKI RYSZARD 1979-11-29 ADM

BIERZYŃSKI ANDRZEJ 1970-06-24 ZB

BOGUSZEWSKA-CHACHULSKA ANNA MARIA 1990-
09-25 ZBB

BOGUTA MAŁGORZATA 1996-09-16 ADM

BOLEWSKA KRYSZYNA 1972-12-01 ZB

BOŁTOWICZ DANUTA 1999-10-01 ZBR

BORSUK PIOTR 1998-06-01 UW-ZG

BORYS-BRZYWCZY EWA 2002-10-01 ZBM

BRETNER MARIA 1976-01-02 PA

BRZESKA KATARZYNA 2004-11-01 ZBB

BRZESKI JAN 1999-04-01 UW-PBM

BRZYWCZY JERZY 1984-11-08 ZG

BUCHOLC MARIA 1983-10-10 ZBR

BUCHOWICZ JERZY 1959-01-01 ZBR

BULANDA AŁŁA 1987-04-15 ADM

BURZYŃSKA BEATA 1996-10-01 ZG

CALIKOWSKI TOMASZ 2000-07-01 UW-PBM

CHEŁSTOWSKA ANNA 1986-02-01 ZG

CHEŁSTOWSKA SYLWIA 2003-02-17 ZBD-MUT

CHOJNACKI TADEUSZ 1958-10-01 ZBL

CHOŁBIŃSKI PIOTR 2004-01-26 ZG

CHROSTOWSKA HELENA 2005-01-05 ADM

CIEPICHAŁ EWA 2004-03-16 ZBL

CIESIELSKI ARKADIUSZ 1995-01-01 ZBR

CIEŚLA JAROSŁAW 1984-11-16 ZBM-GMO

CIEŚLA ZYGMUNT 1968-08-30 ZBD-MUT

CIEŚLA MAŁGORZATA 2000-10-23 ZG

CZYŻ AGATA 1999-10-12 UGd.-ZG

DADLEZ MICHAŁ 1982-09-01 ZB

DAMIAN GAWEŁ 2002-10-01 ZG-MUT

DEBA GRAŻYNA 1992-05-25 ADM

DMOCHOWSKA ALEKSANDRA 1998-06-01 UW-ZG

DOBROWOLSKA GRAŻYNA 1981-09-08 ZBR

DOBRUK-SERKOWSKA ANETA 2002-10-01 ZBD

DOBRZAŃSKA-WIERNIKOWSKA MARTA 1972-12-01
ZBR

DURAWA MAŁGORZATA 2004-11-10 ZBD

DYCKOWSKI JERZY 2002-11-01 BIN

DZIKOWSKA AGNIESZKA 1998-06-01 UW-ZG

DZIKOWSKA IRENA 1999-09-01 ZBR

EJCHART ANDRZEJ 1985-02-15 NMR

EJCHLER ARKADIUSZ 1995-11-16 WAR

FABIJAŃSKA AGNIESZKA 2003-11-17 ZB

FELCZAK KRZYSZTOF 1981-10-01 PA

FIJAŁKOWSKA IWONA 1981-11-11 ZBD-MUT

FIKUS MAGDALENA 1975-09-01 ZB

FIKUS - KRYŃSKA MARTA 2002-04-01 ZBD-MUT

FILIPIAK MAŁGORZATA 1997-06-01 ZBB

FLIS KRZYSZTOF 2004-10-15 ZBD-MUT

FRASK MAŁGORZATA 1997-07-01 ADM

FURGA KINGA 1998-10-12 ZBR

GABIG MAGDALENA 1999-04-21 UGd.-PBM

GAŁADYN MICHAŁ 2003-01-01 ADM
GETLICH BOŻENA 1992-10-01 ADM
GOCH GRAŻYNA 1983-03-01 ZB
GOLCZYK IRENA 1984-12-03 ADM
GOLIK PAWEŁ 2003-01-01 UW-ZG
GORAJ-BASAJ MAŁGORZATA 1997-04-01 BIB
GOZDEK AGNIESZKA 2004-10-01 ZBB
GÓRA MONIKA 1992-10-15 ZG
GÓRA-SOCHACKA ANNA 1990-02-01 ZBB
GÓRECKI ROMAN 2003-04-01 ZBD
GRABIŃSKA KARIONA 2001-10-01 ZBL-PGG
GRABOWSKA DOROTA 2002-10-01 ZG
GRELOW IWONA 1994-11-01 ADM
GRELOW ADAM 1995-10-23 ADM
GROMADKA ROBERT 1990-06-01 ZBB
GRYNBERG MARCIN 2000-07-01 ZG
GRZELA RENATA 2001-03-01 ZBB
GRZELAK KRYSZYNA 1964-02-01 ZBB
GRZESIUK ELŻBIETA 1979-03-01 ZBM
GWÓŹDŹ JÓZEFA 1991-06-24 ZG
HAŁAS AGNIESZKA 2001-04-01 ZBD-MUT
HENNIG JACEK 1981-10-16 ZBR-PPR
HERTEL JÓZEFINA 1973-10-08 ZBL
HRYNIEWICZ MONIKA 1985-11-15 ZBD
HULANICKA-DZIECHCIŃSKA MARIA DANUTA 1964-09-01 ZBD
IWANICKA-NOWICKA ROKSANA 1992-12-01 ZBD
JABŁONOWSKA AGNIESZKA 2003-02-15 ZB
JABŁOŃSKA MARIOLA 1992-05-27 ADM
JACEWICZ AGATA 2004-10-01 ZBM
JACHYMCZYK WITOLD 1971-10-01 ZBD-MUT
JAGIEŁŁO - WILGAT KATARZYNA 1993-09-15 ADM
JAGURA-BURDZY GRAZYNA 1976-10-01 ZBD
JANIK ANNA 2002-07-01 ZBL-PGG
JANION CELINA 1955-03-01 ZBM
JANKOWSKA AGNIESZKA 2003-10-01 ZG
JANKOWSKI WIESŁAW 1970-01-15 ZBL
JERZMANOWSKI ANDRZEJ 1995-01-01 UW-PBM
JEWDOSZUK GRAŻYNA 1983-08-01 P
JONCZYK PIOTR 1976-10-01 ZBD-MUT
JUSZCZUK MAREK 1992-11-01 ZBB
JUSZCZUK OLGA 2004-10-01 ZBD
KACZANOWSKI SZYMON 2001-10-01 BIN
KALIŃSKA EWA ELŻBIETA 2001-08-16 UW-PBM
KAŁUŻA MARIA 2001-12-01 ADM
KAMIŃSKA JOANNA 2004-09-01 ZG
KAMIŃSKA JOLANTA A. 2004-09-01 ZBR
KAMIŃSKA RENATA 1992-10-12 ADM
KANIAK ANETA 2003-10-01 ZBD-MUT
KERN-ZDANOWICZ IZABELA 1992-07-01 ZBD
KIERZEK ANDRZEJ 1999-05-01 BIN-PBS
KŁONIECKI MARCIN PIOTR 2004-06-07 ZB
KŁUDKIEWICZ BARBARA 1971-08-01 ZBB
KOŁODZIEJCZYK MIROSŁAW 1998-04-01 WAR
KOMAR PAULINA 2004-05-19 ADM
KOMPANOWSKI ANDRZEJ 1984-03-01 BIN
KONOPKA-POSTUPOLSKA DOROTA 1998-12-01 ZBR-PPR
KOPAŃSKA KATARZYNA 2001-12-01 PA
KOPER LUIZA 2004-09-01 ZBR
KOPER - NAWROCKA JULITA 2004-09-01 ZBR
KOSAKOWSKI JAROSŁAW 2001-08-01 ZBB
KOSIOR IGNACY 1987-10-16 ADM
KOWALCZYK PAWEŁ 2003-10-01 ZBM
KOWALSKA EWA 1980-10-01 ADM
KOWALSKA MAŁGORZATA 2003-04-01 ZB
KOZŁOWSKA HANNA 1973-01-04 ZB
KRAJEWSKA-GRYNKIEWICZ KRYSZYNA 1962-10-01 ZBD
KRASZEWSKA ELŻBIETA 1971-09-01 ZBR
KRAWCZYK DANUTA 1992-10-21 ADM
KRAWCZYK MARIUSZ 2003-05-01 ZB
KRUSZEWSKA JOANNA 1986-10-01 PGG
KRWAWICZ JOANNA 2004-01-01 ZBM
KRZYMOWSKA MAGDALENA 1992-09-01 ZBR-PPR
KSIĘŻOPOLSKI ANTONI 1967-12-08 WAR
KUCHARCZYK RÓŻA 1995-09-01 ZG
KULA-ŚWIEŻEWSKA EWA 1983-04-01 ZBL
KULIGOWSKA ELŻBIETA 1964-02-10 ZBB
KULIKOWSKI TADEUSZ 1968-10-01 PA
KURLANDZKA ANNA 1980-06-02 ZG
KUŚMIEREK JAROSŁAW 1968-10-01 ZBM
KUTHAN ROBERT 2004-08-01 ZBR-PPR
LAMPKOWSKA JOANNA 2004-05-01 ZBD
LASKOWSKI LECH MAREK 1996-11-01 ADM
LEWAK STANISŁAW 2000-10-02 ADM
LEWANDOWSKA IRMINA 1981-04-15 ZG
LISZEWSKA FRANTZ 2004-10-15 ZBR
ŁOBOCKA MAŁGORZATA 1981-11-01 ZBD
ŁOCHOWSKA ANNA 2001-06-05 ZBD
ŁONIEWSKA - LWOWSKA ADRIANNA 2000-05-01 ZBB
ŁOZIŃSKI TOMASZ 1985-01-01 ZB
MACIEJCZYK MACIEJ 2004-10-01 ZB
MACIEJEWSKA AGNIESZKA 2003-01-01 ZBM
MACIEJEWSKA URSZULA 1993-02-15 ZBR
MAJCHER KRYSZYNA 1989-09-04 BIN
MAKOWSKA BARBARA 1987-01-15 ADM
MAKOWSKI EUGENIUSZ 1995-01-01 ADM
MAKÓWKA GRAŻYNA 1987-09-16 ADM
MATUSZYK ELŻBIETA 1968-02-09 ADM
MIAZGA AGNIESZKA 1997-11-17 PA
MICEWICZ JAN 1994-07-15 ADM
MICHALSKA MONIKA 2002-08-01 ADM
MIEDZIŃSKA EWA 2001-11-29 ADM
MIGDALSKI ANDRZEJ 1989-01-01 ZBB
MIKOSA MAŁGORZATA 2004-07-06 ZBD
MILNER MAŁGORZATA 2002-03-01 ZBB
MUSZYŃSKA GRAŻYNA 1963-10-01 ZBR
NAJDA ANDŻELIKA 2002-12-01 PA
NATORFF RENATA 1974-12-23 ZG
NIEMINUSZCZY JADWIGA 2002-11-01 ZBM
NOWAK ADAM 2001-08-01 BIN

NOWAK ELŻBIETA 1971-04-01 ZBB
NOWAK JACEK 2001-10-15 ZBB
NOWAK LESZEK 1969-01-01 PI
NOWOSIELSKA ANETTA 2002-09-01 ZBM
OBTUŁOWICZ TOMASZ 2004-10-01 ZBM
ODOLCZYK NORBERT 2004-11-01 ZBB
OLEJNIK KAMIL 2002-11-01 ZBR
OLĘDZKI JACEK 2000-12-01 ZB
OLSZAK KRZYSZTOF 1998-10-01 ZBB
OSIECKA DANUTA 1995-10-04 ADM
PACUŁA MAŁGORZATA 2000-11-18 BIB
PALAMARCZYK-LESZCZYŃSKA GRAŻYNA 1970-10-01 ZBL-PGG
PALARCZYK ELŻBIETA 1997-05-19 ADM
PAŁUCHA ANDRZEJ 1998-02-01 ZBB
PASZEWSKI ANDRZEJ 1961-03-01 ZG
PAWŁOWICZ JERZY 1981-06-03 ZBB
PAWŁOWSKI PIOTR 1986-06-09 BIN
PERLIŃSKA-LENART URSZULA 1992-10-15 ZBL-PGG
PIECHOTA KATARZYNA 2002-05-01 ZB
PIETRZYKOWSKA IRENA 1955-07-01 ZBM
PIOTRKOWICZ MONIKA M. 2004-06-01 ADM
PIOTROWSKA MAŁGORZATA 1966-10-01 ZG
PIWOWAREK MAGDALENA 2004-06-01 ZBD
PŁOCHOCKA DANUTA 1974-12-01 BIN
PŁOCHOCKA ANNA DANUTA 2004-01-26 ADM
PODLASKA AGNIESZKA 2004-10-01 ZBD-MUT
PODSTOLSKI WOJCIECH 2002-01-16 ZB
PODWIŃSKA ROMUALDA 2003-11-16 PA
POKRYWIŃSKA GERTRUDA 2003-11-01 ZBM
POLICIŃSKA ZOFIA 1988-05-01 ZBD-MUT
POLKOWSKA - KOWALCZYK LIDIA 2003-10-01 ZBR
POPIEL JOANNA 2005-01-01 ADM
POZNAŃSKI JAROSŁAW 1988-11-01 ZB
PRZYKORSKA ANNA 1976-10-01 ZBB
RABCZENKO ANDRZEJ 1964-10-20 ADM
RADZIWONKA ANDRZEJ 1994-07-01 P
RAK TERESA 1972-06-03 ZB
RAKOWSKA-BOGUTA MAGDALENA 1980-11-01 ZG
REKOSZ MIECZYŚLAW 1989-03-01 WAR
REMPOŁA BOŻENNA 1978-10-02 ZB
ROSA IWONA 1994-12-15 ZBB
RÓG KATARZYNA 1997-10-15 ADM
RUSIN BEATA 2003-07-01 ZBM-GMO
RYBUS LESZEK JAN 1998-01-01 ADM
RYTKA JOANNA 1970-05-16 ZG
SALAMOŃCZYK JADWIGA 1973-03-23 ADM
SALAMOŃCZYK PAWEŁ 2000-09-01 P
SAŁAŃSKA ZDZISŁAWA 2004-02-01 ADM
SARNOWSKI TOMASZ JACEK 2003-07-01 ZB
SAWICKI JANUSZ 1992-11-01 ADM
SAWICZ PAULINA 2003-04-10 ADM
SHUGAR DAVID 1954-06-01 ZBM
SIEDLECKI PAWEŁ 2004-05-01 BIN
SIEŃKO MARZENA 1988-09-12 ZG
SIERAKOWSKA HALINA 1955-09-01 ZBM
SIKORA ANNA 1994-11-01 ZBM
SIKORA JACEK 2001-01-15 ZB
SIRKO AGNIESZKA 1983-05-02 ZBR
SIWECKA MARIA AGNIESZKA 1972-08-01 PA
SKONECZNA ADRIANNA 1992-10-12 ZBD-MUT
SKONECZNY MAREK 1981-06-01 ZG
SKORUPIŃSKA - TUDEK KAROLINA 2003-10-01 ZBL
SKRĘTOWSKA ANTONINA 1990-04-17 BIB
SMAGOWICZ WIESŁAW 1974-06-01 ZG
SOCHAŁSKA EWA 1996-04-15 ADM
SOKOŁOWSKA IZABELA 2004-12-13 ZBB
SOSZYŃSKA ELŻBIETA 1991-11-02 ZB
SPEINA ELŻBIETA 1995-02-01 ZBM
STANKIEWICZ ANNA 2003-01-01 ZB
STANKOVIĆ ANNA 2003-01-01 UW-ZG
STASIAK AGATA 1999-04-21 ADM
STEFANI-BANASZEK DANUTA 1996-10-01 ADM
STĘPIEŃ PIOTR 1995-05-01 UW-ZG
STRZELECKA ELŻBIETA 1995-02-15 ADM
STUDZIŃSKA BARBARA 1994-12-01 ADM
SUŁUJA ELŻBIETA 2003-10-01 ZBB
SZAFRAŃSKI-SZELIGA PRZEMYSŁAW 1954-06-01 ZBB
SZARKOWSKI JAN WŁODZIMIERZ 1954-06-01 ZBB
SZCZEGIELNIAK JADWIGA 1983-10-03 ZBR
SZCZERBAKOWA ANNA 1977-08-01 ZBR
SZKOPIŃSKA ANNA 1974-09-20 ZBL
SZOŁAJSKA EWA 1985-01-01 ZBB
SZURMAK BLANKA 1977-12-09 ZBR
SZYMAŃSKA KATARZYNA 2004-09-09 ZBM
SZYSZKA JOLANTA 1996-04-01 UW-ADM
ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA EWA 1981-11-01 ZBD-MUT
TOCZYŁOWSKA BEATA 1995-06-01 NMR
TOMASIAK MARCIN 2001-02-01 ADM
TOMCZYK ANNA 1998-06-01 UW-P
TROJANEK JOANNA 1991-11-01 ZBR
TUDEK BARBARA 1992-09-01 ZBM-GMO
WAWRZYŃSKA ANNA 2004-10-15 ZBR
WAWRZYŃSKI ADAM PAWEŁ 2003-07-01 ZBR
WĘGLEŃSKI PIOTR 1995-05-01 UW-ZG
WĘGRZYN ALICJA 1995-08-01 UG-PBM
WIELGAT BERNARD 1964-01-01 ZBR
WIENCZEK EMILIA 2004-09-01 ZG
WIERZCHOWSKI KAZIMIERZ LECH 1955-04-01 ZB
WIĘSYK ANETA 2003-04-01 UW-PBM
WŁODARSKI MARIUSZ J. 2000-09-25 BIN
WOJTAS MAGDALENA 2001-10-01 ZBL
WOJTOWICZ WOJCIECH 1997-08-01 ADM
WÓJCIK JACEK 1990-05-21 NMR
WYSŁOUCH-CIESZYŃSKA ALEKSANDRA 1999-07-20 ZB
WYSOCKA MONIKA 1995-01-01 ZG
ZAGAWA EWA JOLANTA 2001-01-01 ADM
ZAGÓRSKI-OSTOJA WŁODZIMIERZ 1968-10-01 ZBB
ZAGULSKI MAREK 1992-05-16 ZBB
ZAIM JOLANTA 1993-03-01 BIN-PBS
ZARĘBSKA ZOFIA 1957-08-01 ZBM

ZARĘBSKI PIOTR 2004-02-01 ZB
 ZBROCH ANDRZEJ 1967-10-01 P
 ZDANOWSKI KONRAD 2001-10-01 ZB
 ZEMBEK PATRYCJA 2005-01-01 ZBL-PGG
 ZHUKOV IGOR 2001-11-01 NMR
 ZHUKOVA LILIYA 2000-04-01 ZB
 ZIELENKIEWICZ PIOTR 1981-07-01 BIN
 ZIELENKIEWICZ URSZULA 1993-02-01 ZBD

ZIEMKOWSKI PRZEMYSŁAW 2002-11-01 PA
 ZIENKIEWICZ MAKSYMILIAN 2004-12-01 ZBD
 ŻOŁĄDKIEWICZ JERZY 1979-07-03 WAR
 ŻOŁĄDEK TERESA 1980-04-01 ZG
 ŻYCKA JOANNA 2004-05-01 ZBD
 ŻYLIŃSKA JOANNA 1999-08-01 ZBD
 ŻYŁKA TERESA 1985-11-04 BIB

STUDIA DOKTORANCKIE IBB PAN (2004)

Imię i nazwisko	Zakład	Opiekun doktoranta
<u>I ROK</u>		
Karol Balicki	Genetyka	prof. M. Rakowska-Boguta
Joanna Halibart	Biosynteza Białka	prof. A. Jerzmanowski
Monika Hejnowicz	B. Drobnoustrojów	doc. J. Bardowski
Paweł Hodurek	Prac. NMR	prof. A. Ejchart
Edyta Kopera	Biofizyka	doc. W. Bal
Anna Kupniewska – Kozak	Biofizyka	doc. M. Dadlez
Katarzyna Machuła	Glikobiol. Grzybów	prof. G. Palamarczyk
Marianna Nechypor	Biofizyka	dr G. Goch
Michał Nowakowski	Prac. NMR	prof. A. Ejchart
Agata Rogowska	Prac. Mutagenezy	prof. Z. Cieśla
Wojciech Staniszewski	B. Drobnoustrojów	dr M. Łobocka
Marta Stawiecka	Genetyka	doc. T. Żołądek
Roman Szczęsny	UW-Genetyka	prof. E. Bartnik
Paweł Szczęsny	Bioinformatyka	prof. P. Zielenkiewicz
Anna Trzemecka	Biol. Molekularna	dr A. Bębenek
Alicja Winczura	Biol. Molekularna	doc. B. Tudek
Aleksandra Witkiewicz	Biofizyka	doc. W. Bal
Monika Zakrzewska	UW-Genetyka	dr J. Kufel
Monika Zaręba	Biofizyka	dr A. Wystouch-Cieszyńska
Monika Zelman – Femiak	Bioch. Lipidów	prof. E. Kula-Świeżewska
<u>II ROK</u>		
Małgorzata Bajor	Biofizyka	dr A. Wystouch-Cieszyńska
Ewa Brzozowska	Prac. Mutagenezy	doc. E. Śledziwska-Gójska
Zuzanna Bukowy	Biol. Molekularna	doc. B. Tudek
Kamil Gewartowski	UW-Genetyka	prof. P. Stępień
Paweł Kaliszewski	Genetyka	doc. T. Żołądek
Marek Komisarski	Biol. Molekularna	prof. J. Kuśmierk
Anna Koryszewska	B. Drobnoustrojów	doc. J. Bardowski
Małgorzata Lewandowska	Bioch. Roślin	doc. A. Sirko
Monika Maciąg	Genetyka	dr B. Burzyńska
Arkadiusz Miciałkiewicz	Genetyka	prof. J. Rytka
Jacek Orłowski	Glikobiol. Grzybów	prof. G. Palamarczyk
Małgorzata Rak	Genetyka	prof. J. Rytka
Justyna Rudzka	Prac. Mutagenezy	dr hab. P. Jonczyk
Kamil Witek	Prac. Patogenezy Roślin	prof. J. Hennig
Michał Wrześniński	Biol. Molekularna	doc. E. Grzesiuk
Agata Zielak	B. Drobnoustrojów	doc. M. Hryniewicz
Maja Zielińska	Biol. Molekularna	doc. B. Tudek

III ROK

Michał Dmowski	B. Drobnoustrojów	doc. M. Hryniewicz
Patrycja Dołowy	B. Drobnoustrojów	doc. G. Jagura-Burdzy
Wioletta Górka – Nieć	Glikobiol. Grzybów	prof. G. Palamarczyk
Małgorzata Jaszczur	Prac. Mutagenety	doc. I. Fijałkowska
Klaudia Kuranda	Glikobiol. Grzybów	prof. G. Palamarczyk
Jan Kutner	Genetyka	prof. M. Rakowska-Boguta
Leena Maddukuri	Biol. Molekularna	doc. B. Tudek
Ewa Malc	Prac. Mutagenety	prof. Z. Cieśla
Jolanta Mierzejewska	B. Drobnoustrojów	doc. G. Jagura-Burdzy
Maja Łebska	Bioch. Roślin	prof. G. Muszyńska
Katarzyna Pawlikowska	Biosynteza Białka	prof. A. Jerzmanowski
Izabela Pękala	Bioch. Roślin	doc. G. Dobrowolska
Sebastian Piłsyk	Genetyka	prof. A. Paszewski
Marian Siwiak	Bioinformatyka	prof. P. Zielenkiewicz

IV ROK

Magdalena Bakun	Biofizyka	doc. M. Dadlez
Piotr Dzierzbicki	Prac. Mutagenety	prof. Z. Cieśla
Marta Hoffman	Genetyka	prof. J. Rytka
Wojciech Kuban	Prac. Mutagenety	doc. I. Fijałkowska
Anna Kulińska	B. Drobnoustrojów	doc. G. Jagura-Burdzy
Marta Kwapisz	Genetyka	doc. T. Żołądek
Joanna Lipecka	Biosynteza Białka	prof. W. Zagórski-Ostoja
Leszek Lipiński	Z-d Medyc. Molek.	prof. M. Żylicz
Mariusz Nowacki	Biosynteza Białka	prof. W. Zagórski-Ostoja
Danuta Oficjalska	Genetyka	prof. M. Rakowska-Boguta
Szymon Świeżewski	Biosynteza Białka	prof. A. Jerzmanowski
Agnieszka Witek	Prac. Patogenezy Roślin	prof. J. Hennig

V ROK – PRZEDŁUŻENIE

Katarzyna Arczewska	Biol. Molekularna	prof. J. Kuśmerek
Magdalena Banach-Orłowska	Prac. Mutagenety	dr hab. P. Jonczyk
Anna Barabasz	Prac. Patogenezy Roślin	prof. J. Hennig
Karina Błachnio	Biosynteza Białka	dr hab. A. Przykorska
Marcin Gołębiewski	B. Drobnoustrojów	doc. J. Bardowski
Aleksandra Helwak	Z-d Medyc. Molek.	prof. M. Żylicz
Iwona Karkusiewicz	Prac. Sekwen. DNA	prof. J. Rytka
Anna Kelner	Bioch. Roślin	doc. G. Dobrowolska
Maria Klimecka	Bioch. Roślin	prof. G. Muszyńska
Magdalena Kowalczyk	B. Drobnoustrojów	doc. J. Bardowski
Anna Maassen	Prac. Patogenezy Roślin	prof. J. Hennig
Justyna Mc Intyre	Prac. Mutagenety	doc. Śledziwska-Gójska
Agnieszka Szczepańska	B. Drobnoustrów	doc. J. Bardowski
Joanna Towpik	Genetyka	prof. M. Rakowska-Boguta
Małgorzata Witkowska – Zimny	B. Drobnoustrów	doc. M. Hryniewicz

DAWNI PRACOWNICY IBB PAN (1954-2004)

(Podane daty obejmują cały okres związku z Instytutem; nie uwzględniają przerw w zatrudnieniu wynikłych ze względów rodzinnych bądź staży zagranicznych.)

Adamiec Arnold	1959 – 1960	Bis-Kościńska Krystyna	1988 – 1989
Adamiec Urszula	1956 – 1958	Błaszczak Adam	1995 – 2002
Adamowska Zofia	1975 – 1976	Bobrowski Krzysztof	1984 – 1996
Adamowski Marek	1968 – 1972	Bochnowska Grażyna	1976 – 1987
Alenowicz Maria	1961 – 1961	Boczoń Władysław	1964 – 1968
Ambrozik Henryk	1991 – 1992	Bogatek Marek	1974 – 1977
Andrejewski Jerzy	1967 – 1974	Boguta Grzegorz	1976 – 1977
Andruszczenko Lucyna	1971 – 1993	Bojarska Elżbieta	1982 – 1987
Andrzejewski Bogdan	1986 – 1986	Bolewska Jadwiga	1987 – 1989
Angielski Stefan	1958 – 1964	†Borkowska Maria	1967 – 1999
Antoniuk Nona	1987 – 1987	Borkowska Teresa	1968
†Arczewski Waldemar	2000 – 2004	Borkowska Urszula	2001 – 2003
Argasińska Adela	1964 – 1968	Borkowski Andrzej	1978 – 1978
Augustyniak Halina	1961 – 1969	Borkowski Jerzy	1980 – 1982
		Borowiecki Stanisław	1975 – 1976
Babul Krystyna	1972 – 1973	Borowska Iwona	1986 – 1987
Baczewski Włodzimierz	1980	Borowski Wojciech	1986 – 1988
†Bagdasarian Grzegorz	1964 – 1972	Borucka-Mankiewicz Maria	1971 – 1976;
Bagdasarian Michał	1969 – 1978	Borzęcka Elżbieta	1968
Bagdasarian Mirosława	1969 – 1970	Brach Alicja	1979 – 1995
Bajbakow Barbara	1978 – 1980	Bralczyk Jolanta	1963 – 1991
Bajer Andrzej	1961 – 1964	Bratek-Wiewiórkowska Maria	1961 – 1969
Bajer Jadwiga	1963 – 1964	Brodacki Edward	1963 – 1963
Balcer Izabella	1969 – 1977	Brodawska Irena	1960
Balski Zbigniew	1980	Brodniewicz – Proba Teresa	1974 – 1984
Bańkowska Zofia	1963 – 1966	Brodzik Robert	1995 – 2004
Barankiewicz Jerzy	1972 – 1984	Brychte Barbara	1975
Barawiecka Maria	1983 – 1986	Brzezińska Bożena	1975 – 1978
Barbachowska Grażyna	1995 – 1997	Brzozowski Andrzej	1988 – 1999
Bartkiewicz Hanna	1984 – 1985	Brzuski Andrzej	1970 – 1971
Bartkiewicz Marcjanna	1978 – 1995	Bujalska-Starega Joanna	1969 – 1971
Bartkowiak Ewa	1967 – 1969	Burcan Jerzy	1969
Bartnikowski Wojciech	1987 – 1999	Buraczewska Lucyna	1960
Baściak Jadwiga	1960 – 1961	Brydak Lidia	1964 – 1968
†Bącik Aleksander	1974 – 1993	Byk Krystyna	1965 – 1966
Bednarczuk Tadeusz	1986 – 1989	Bykowski Tomasz	1996 – 2002
Bednarski Bogusław	1982 – 1986	Bystroń Teresa	1972 – 1977
Ber Elżbieta	1969 – 1988		
Berens Krzysztof	1961 – 1982	†Ceglowski Piotr	1992 – 2004
Bębenek Katarzyna	1980 – 1989	Chabros – Piotrowska Wiesława	1965 – 2000
Białek Ewa	1971 – 1971	Cichewicz Halina	1972 – 1972
Biderman Andrzej	1980 – 1983	Ciszewski Stanisław	1967 – 1973
†Bielawska Halina	1961 – 1975	Chacińska Agnieszka	1993 – 2004
Bielińska Anna	1980 – 1987	Chlebicka Lidia	1988 – 1993
Bielińska Małgorzata	1969 – 1987	Chlebowicz-Śledziwska Ewa	1993 – 2004
Biełuszka Janina	1992 – 1993	Chmielecka Jadwiga	1982 – 1992
Bieńkowska Hanna	1996 – 1997	Chmielewski Andrzej	1968 – 1970
Biez Wanda	1960 – 1961	Chodyko Irena	1982 – 1985
Bilewicz Danuta	1973 – 1980	Chojecka Gizela	1971 – 1990
Biliński Tomasz	1967 – 1982	Cholewińska Anna	1973 – 1973

Chomczyńska Anna	1968 – 1979	Ferska Jolanta	1978 – 1979
Chomczyński Piotr	1966 – 1971	Filipek Elżbieta	1962 – 1963
Chrostowski Waldemar	1961	Filipiak Czesław	1969 – 1972
Chudoń Zofia	1969 – 1973	†Filipowicz Czesław	1954 – 1973
Chroboczek Jadwiga	1961 – 1985	Filipowicz Witold	1968 – 1984
Cybulska Jadwiga	1988 – 1991	Filutowicz Marcin	1974 – 1984
Cybis Jan	1979 – 1992	Florczak Agnieszka	1973 – 1974
Czajkowska-Zejdel Anna	1992 – 1999	Fotyma Mariusz	1960 – 1961
Czarkowska Wacława	1976 – 1980	Franczuk Maria	1958 – 1960
Czerska Kamila	1994 – 1996	Frąckiewicz Halina	1962 – 1963
		Fudalej Hanna	1965 – 1966
		Furmańczyk Agata	1991 – 1991
Danielczyk Stanisław	1956 – 2000		
Dąbrowska Ewa	1973 – 1974	Gabrych Marek	2000 – 2002
Dąbrowska Jolanta	1982 – 1984	Gabryszuk Joanna	1990 – 1997
Dąbrowska Regina	1964 – 1966	Gabryś Andrzej	1980 – 1980
Dąbrowski Andrzej	1976 – 1976	Gajewska Beata	1997 – 2002
Debnel Wiktoria	1962 – 1962	Gajewska Ewa	1955 – 1958
Dembek Kornela	1982 – 1983	Gajewski Andrzej	1971 – 1972
Denisiuk Jerzy	1966 – 1967	†Gajewski Wacław	1960 – 1987
Dezor Maria	1965 – 1966	Gajowniczek Patrycja	2002 – 2002
Dębczyńska Dorota	1978 – 1979	Gall Wiesław	1955 – 1957
†Dębczyńska Danuta	1971 – 1995	Galijska-Grunert Zdzisława	1971 – 1971
Dobrowolski Piotr	1994 – 1995	Gałązka Mieczysław	1976 – 1978
Dobrowolski Wincenty	1959 – 1959	Gałaszewska Agnieszka	1998 – 1999
Dmoch Mirosław	1986 – 1987	Gańko Tadeusz	1970 – 1974
Dmytrów Teresa	1969 – 1970	Garaś Monika	2000 – 2001
Domańska Halina	1972 – 1982	Gawryjolek Paweł	1980 – 1980
Domańska Teresa	1974 – 1977	Gączarek Alicja	1986 – 1987
Domański Jerzy	1966 – 1966	Gąsak Witold	1987 – 1993
Dominiński Zbigniew	1985 – 1990	Gąsienica-Samek Władysława	1968 – 1968
Dorosz Elżbieta	1975 – 1976	Gibowicz Jadwiga	1979 – 1985
Drabikowska Alicja Krystyna	1967 – 1992	Giesmanowska Urszula	1963 – 1964
Drewniak Maria	1968 – 1980	Giziewicz Jerzy	1972 – 1976
Drewnik Aldona	1972 – 1972	Gładysz Henryk	1976 – 1976
Droszcz Paweł	1987 – 1995	Głazewska Józefa	1972 – 1974
Drynkowski Zygmunt	1970 – 1972	Głazewska Katarzyna	1976 – 1977
Ducka Sabina	1956 – 1957	Głębecki Tadeusz	1954 – 1959
Duczman Stefan	1970 – 1974	Gniadkowski Marek	1995 – 1996
Dudycz Lech	1976 – 1979	Gocman Krystyna	1958 – 1995
Dylla Eugenia	1955 – 1963	Godlewska-Lipa Wacława	1954 – 1957
Dynarowska Wanda	1966 – 1972	Goldewicz Bożena	1973 – 1973
Dziewanowska Katarzyna	1966 – 1967	Golik Bogdan	1986 – 1989
Dziewońska Zofia	1971 – 1971	Gołaszewska Teresa	1964 – 1974
Dzik Jolanta	1973 – 1974	†Gołaszewski Tomasz	1960 – 1967
Dzikowicz-Wojtasiak Maria	1980 – 1984	Gołaś-Radlgruber Teresa	1984 – 1984
†Dżułyńska Janina	1957 – 1970	Gołabiowska Małgorzata	1987 – 1988
		Gołabiowski Antoni	1975 – 1976
Ejchart Anna	1969; 1972 – 1980	Gorylik-Kozakiewicz Bożena	1976 – 1976
Erbetowska Grażyna	1981 – 1984	Gólska Marianna	1994 – 1997
Erecińska Maria	1967 – 1970	Góral Jakub	1987 – 1996
Eska Jan	1979 – 1981	Górska Hanna	1986 – 1987
		Górska Jadwiga	1957 – 1957
Fabisiewicz Anna	1984 – 1985; 1990 – 2000	Grabarczyk Piotr	1994 – 1995
Falkowska Zofia	1957 – 1958	Grabias Bartłomiej	1980 – 1980
Faszczewski Zygmunt	1977 – 1977	Grajewski Wacław	1960 – 1981
Felczak Magdalena	1983 – 2001		

Graniszewska Janina	1975 – 1982	Juzwik Edward	1981 – 1981
Grąbczewska Ewa	1968 – 1976	Juzwik Władysław	1968 – 1968
Grązewicz Anna Maria	1993 – 2001		
Gromadka Teresa	1966 – 1968	Kabzińska Marta	1970 – 1995
Grzybowski Leon	1972 – 1972	Kachel Krzysztof	1972 – 1973
Grudkowski Józef	1967 – 1967	Kacprzak Magdalena	1997 – 2002
Grzech Marian	1965 – 1967; 1977 – 1978	Kaczkowski Seweryn	1967
Grzelczak Zbyszko	1964 – 1982	Kaczor Aleksander	1978 – 1979
Grzybowska Elżbieta	1981 – 1984	Kaczorowska Henryka	1972 – 1975
Grzybowska Ewa	1991 – 2000	Kaczorowska Regina	1959 – 1960
Guzik Grzegorz	1990- 1998	Kaczurba Anna	1972 – 1973
		Kajdel Barbara	1979
Haładus Halina	1975	Kajtaniak Elżbieta	1976 – 1977
Hankiewicz Krystyna	1976 – 1982	Kakiet Józef	1973 – 1977
Hawrot Kazimierz	1987 – 1988	Kaliszan Waleria	1968 – 1969
Hauzner Alicja	2000 – 2001	Kalisiak Franciszek	1958 – 1961
Hay Małgorzata	1964 – 1968	Kaliszewska Małgorzata	1963
Heleszka Halina	1965 – 1966; 1967 – 1972	Kamiński Zbigniew W.	1976 – 1979
†Heller Józef	1954 – 1966	Kamiński Piotr	1967
†Herburt Michał	1977 – 2003	Kamykowska Barbara	1994 – 1995
Herzyk Paweł	1984 – 1993	Kanabus Magdalena	1989 – 1994
Hirschler-Łaszkiwicz Iwona	1985 – 1989	Kanapek Janina	1978 – 1980
Hiszpańska Bogumiła	1972 – 1973	†Kańska Ewa	1970 – 1987
Hodun Jan	1963 – 1975	Karasiewicz Andrzej	1969 – 1970
Hołub Henryka	1975 – 1975	Karbonowska Halina	1967 – 1977
		Kargol Zofia	1959 – 1960
Idziak Bolesława	1965 – 1966	Karkos Bronisława	1965 – 1977
Ilińska Barbara	1982 – 1988	Kapaon-Kacprzak Jadwiga	1963 – 1972
		Kapusta Józefa	1964 – 1967
Jabłońska Maria	1995 – 1995	Kapuścińska Henryka	1968 – 1969
Jabłoński Jerzy	1977 – 1979	Kasolak Leokadia	1977 – 1985
Jaczevska Joanna	1986 – 1987	Kasprzycka Teresa	1965 – 1966
Jagiełło Izabella	1988 – 1998	Kaszubski Mieczysław	1972
Jagodzińska Kazimiera	1966 – 1967	Kauc Leszek	1967 – 1969
Jakubiec-Pudka Anna	1963 – 1967	Kawczyńska Ewa	1992
Jakubowska Barbara	1969 – 1970	Kawczyńska Maria	1982 – 1992
Jakubowska Zofia	1987 – 1992	Kawczyński Marian	1980
Janczewski Tadeusz	1963 – 1965	Kawecka Czesława	1963 – 1965
Janisz Bożena	2000 – 2002	Kawecki Piotr	1995
Jankowska Krystyna	1971 – 1973	Kazimierczak Katarzyna	1999 – 2000
Jankowski Jacek	1970 – 1984; 1992 – 1996	Kazimierczak Beata	1995 – 1998
Janowicz Aleksandra	1996 – 2001	Kazula Arkadiusz	1993
Janowicz Edward	1958 – 1959	Kądziela Zofia	1974 – 1975
Janowska-Mioduszewska Helena	1964 – 1979	Kembrowska Bożena	1972 – 1976
Jaroszewski Łukasz	1991 – 1995	Kempka Wanda	1975 – 1979
Jasińska Danuta	1970 – 1971	Kęcka Krystyna	1963; 1981 – 1982
Jasiorowska Barbara	1965 – 1974; 1977–1977	Kędracki Ryszard	1964 – 1967
Jaskółka-Duda Bogumiła	1985 – 1986	Kędzierska Barbara	1955 – 1971
Jastrzębska-Czubak M.	1990 – 1993	Kielczyk Aldona	1993 – 1995
Jaśko Apolonia	1971 – 1973	Kiełbasińska Jadwiga	1963 – 1965
Jaworski Michał	1993 – 1995	Kiełbowicz Mariola	1974 – 1975
Jaworski Stefan	1969 – 1972; 1973 – 1974	Kiełczewska Janina	1996 – 1997
Jaźwiński Witold	1985 – 1990	Kijewska Anna	1960 – 1964; 1965 – 1967
Jewsiejew Jerzy	1974 – 1974	Kiss Anna	1999 – 2000
Jeżewska Maria Monika	1955 – 1999	Kiljan Tadeusz	1975 – 1976
Jodkowska Krystyna	1980 – 1981	Kiliańczyk-Szawłowska Beata	1996 – 2003

KIEROWNICTWO, PRACOWNICY, DOKTORANCI

Klienkecht Wanancja	1974 – 1983	Kowalska Krystyna	1996 – 1997
Kijewska Anna	1960 – 1964; 1965-1967	Kowszyk Zuzanna	1958
†Klarkowska Danuta	1959 – 1991	Kossakowska Elżbieta	1985
Kleczkowska Danuta	1954 – 1958	Kozdrój Helena	1956 – 1978
Kleczkowski Krzysztof	1972 – 1973	Kozińska Monika	2002 – 2003
†Kleczkowski Kazimierz	1958 – 1998	†Kościński Andrzej	1954 – 1957
Klej Andrzej	1970 – 1971	Kozłowski Mirosław	1988 – 1990
Klimczak Janina	1960	Kraft Zofia	1955 – 1979
Klimczewska Maria	1966 – 1967	Krajewska Estera	1967 – 1984
Klimczuk Janina	1995 – 1998	Krajewska-Rychlik Izabela	1982 – 1984
Klisiak Michał	1956 – 1967	†Krajewski Waldemar	1987 –1988; 1994 – 1995
†Klita Stefan	1966 – 1986	Kramek Narcyz	1972
†Kłopotowski Tadeusz	1958 – 2003	Krawiec Krzysztof	1990 – 1994
Kłós Bogusław	1982 – 1984	Krawczuk Roman	1981 – 1983
†Kłoskowska Barbara	1991 – 1998	Kroczyńska Barbara	1984 – 2002
Kłoszewska Helena	1981	Król Elżbieta	1981 – 1989
Kłoszewska Małgorzata	1990 – 1991	Król Jacek	1969 – 1970
Kłysz Marian	1991 – 2000	Król Jadwiga	1970 – 1982
Kłysz Teresa	1997	Królak Urszula	1992 – 1993
Knapek Jolanta	1979 – 1980	Królak Wiesława	1987 – 1995
Knapik Grażyna	1976 – 1990	Krówczyńska-Mielniczuk Anna	1977 – 1989
Knopińska Agata	1988 – 2000	Krupińska Ewa	1972
Kochańska Wanda	1985 – 1986	Krusiewicz Marek	1980
Kociotek Ewa	1993 – 1998	Kruszewska Katarzyna	1994 – 1998
Kokot Leszek	1992 – 1994	Krych Małgorzata	1974 – 1985
Kolanowska Ewa	1978 – 1979	Krysiak Alicja	1969 – 1972
Kolasa Iwona	1992 – 1997; 1998 – 2002	Krysiak Cezary	1996 – 2001
Kole Ryszard	1965 – 1979	Krysiński Tadeusz	1972 – 1980
Kolmus Danuta	1976 – 1978	Krzymiński Ryszard	1982 – 1985
Kołaczek Włodzimierz	1981	Kubiak Jacek	1970 – 1973
Kołtuniak Hanna	1991 – 1993	Kubisiak Jan	1980 – 1983
Komendarek Zofia	1962 – 1963	Kucharski Jerzy	1976
Komendarski Zdzisław	1965 – 1975	Kuczyńska Stefania	1971 – 1972
Komender Ewa	1988 – 1989	Kudlińska Krystyna	1971 – 1972
Konarska Maria Magdalena	1979 – 1987	†Kudła Stanisław	1955 – 1963
Kondrat Jadwiga	1975 – 1977	Kukawski Janusz	1966 – 1966
Konopińska Agata	1988 – 2000	Kulawik Tadeusz	1969 – 1970
Konopna-Juzwik Irena	1966 – 1968	†Kulakowska Izabela	1965 – 1976
Konopna-Wierzbicka Jadwiga	1974 – 1975	†Kunicki-Golfinger Władysław	1962 – 1968
Konopna Tomasz	1975 – 1976	Kupis Stanisława	1960
Kopczyński Kazimierz	1966 - 1967	Kurinia Jacek	1970 – 1974
Kordziałek Danuta	1981 – 1985	Kurzepa Henryka	1964 – 1967
Korec Tomasz	1967 – 1968	Kuśmierczyk Wiesław	1970 – 1979
†Korzybski Tadeusz	1956 – 1976	Kubisiak Jan	1980 – 1983
Kosiński Jarosław	1976 – 1986	Kubuj Teresa	1996 – 1997
Koter Marek	1994 – 2000	Kujawa Alicja	1989 – 1995
Kotlarska Danuta	1973 – 1991	Kujawa Joanna	2003
Kowalczyk Andrzej	1981	Kulik Wojciech	1982 – 1986
Kowalczyk Małgorzata	1995 – 1996	Kulma Alina	1993 – 1997
Kowalewicz Janina	1985 – 1986	Kwiatkowski Bogusław	1984 – 1997
†Kowalewska-Kruszewska Anna	1961 – 1991		
Kowalska Halina	1970	Lang Krzysztof	1975
Kowalski Andrzej	1971	Lang Gustaw	1981 – 1982
Kowalska Maria	1972 – 1975	Lasocki Krzysztof	1998 – 2004
Kowalski Janusz	1991 – 1994	Lassota Piotr	1981 – 1990
Kowalska Jadwiga	1988	†Lassota Zofia	1954 – 1997

Laster-Ptasznik Małgorzata	1990 – 1992	Malczewska Jadwiga	1980 – 1984
Laubitz Daniel	2001 – 2002	Malak Wanda	1981
Lauferska Urszula	1984	Malewicz Michał	1997
Leliwa-Kopystyńska Aleksandra	1960 – 1961	Małas Ryszard	1968 – 1970
Lenart Ryszarda	1978 – 1988	Małkowski Ładysław	1971
Leszczyńska Krystyna	1992 – 1998	Mandecki Włodzimierz	1976 – 1979
Leszczyńska Maria	1971 – 1979	Mańkowski Tadeusz	1971 – 1979
Leśniewska Anna	1962 – 1975	Mamontowicz Marek	1981
Lewandowska Elżbieta	1974 – 1977	Marciniak Bożena	1984 – 1994
Lewandowska Irmina	1981 – 1991	Marciniak Kazimierz	1956 – 1963
Lewandowska Małgorzata	2002 – 2003; 2004	Marczak Stanisław	1961 – 1962
Lewicka Katarzyna	1996 – 2000	Mardarowicz Krystyna	1971 – 1984
Lewicka Elżbieta	1957 – 1958	Marko Marek	1968 – 1969
Łędzion Joanna	1972	Markuszevska Maria	1978 – 2001
Lichnowski Edward	1971	Markovich Marianna	1972 – 1974
Lichota Katarzyna	2000	Markowiak Iwona	1994 – 1995
Ligęza- Sieniarska Ewa	1971	Marteny Michał	1989 – 1990
Lipińska Zofia	1966 – 1971	Masłowski Henryk	1979 – 1980
†Lipiński Andrzej	1973 – 1979	Masłowska Danuta	1961 – 1962
Lipowska Aleksandra	2000 – 2001	Masternak Krzysztof	1990 – 1991
Lipska-Dwużnik Anna	1997 – 1999	Masyk Zofia	1972 – 1973
Lisewski Roman	1965 – 1968; 1969 – 1975	Maśka Antoni	1976 – 1977
Lissowska Lidia	1982 – 1986; 1987 – 1991	Maśliński Włodzimierz	1977 – 1979
Litońska Ewa	1962 – 1981	Matysiak Zdzisław	1968 – 1974; 1995 – 2002
Litwińska-Bilińska Jadwiga	1964 – 1982	May Zofia	1956 – 1958
Liwosz Aneta	1997– 2000; 2002	Mazurkiewicz Jerzy	1977 – 1980
Lorenc Krzysztof	1982	Mazuś Barbara	1962 – 1982; 1996 – 2001
Lubierska Felicja	1968 – 1969	Metrycki Stanisław	1963 – 1965
Lubińska Wioletta	1987 – 1991	Michalak Barbara	1982 – 1985
		Michalik Joanna	1976 – 2001
Łabędzka Krystyna	1979	Michalska Iwona	1988 – 1995
Łaska Teresa	1965 – 1985	Michałowska Ludwika	1958
Łazicka Izabela	1992	Miczko-Petryszyn Czesława	1955 – 1961
Łazuka-Tymoszek Ewa	1975 – 1976	Mieczkowski Piotr	1994 – 2002
Łęcka-Czernik Beata	1985 – 1993	Miedziejewska Elżbieta	1962 – 1963
Łotocka Barbara	1967	Mierzejewska Krystyna	1982 – 1984
Łuczak Kazimierz	1973 – 1975	Mieszczak Maria	1986 – 1987
Łukaszewicz Jacek	1982	Mikołajczyk Jerzy	1972 – 1974
Łukawy Jacek	2001 – 2002	Mikołajczyk Monika	1995 – 2000
Łukjaniec Aleksandra	1957 – 1961	Mikołajek-Zielińska Beata	1994 – 1997
Łuniewski Tadeusz	1971 – 1973	†Mikulaszek Edmund	1960 – 1965
Łupienko Anna	1985 – 1987	Milewski Michał	1988 – 1992
Łyjak Jadwiga	1973 – 1975	Miller Danuta	1953 – 1961
		Milner Małgorzata	1997 – 2002
Machnikowski Stefan	1973 – 1991	Minc-Gajewska Joanna	1976 – 1980
Maciejko Dorota	1978 – 1980	Młynarczyk Andrzej	1994 – 1995
Maciejczyk Maciej	1998 – 2003	Młynarczyk Stanisław	1996 – 1999
Macioszek Wioletta	2002	†Mochnacka Irena	1954 – 1963
Mackiewicz Mirosław	1984	Modzelewska Jadwiga	1992 – 1994
Madelski Adam	1972 – 1981	Moes Kazimierz	1983 – 1985
Magalska Adriana	2000 – 2002	Molska Małgorzata	1975 – 1976
Magierowska-Jung Magdalena	1992 – 1994	Mołda Zdzisław	1973
Majewska Maria	1966 – 1968	Monkiewicz Anna	1980 – 1985
Maj Włodzimierz	1980 – 1982	Mońko Magdalena	1988 – 1995
Majtyka Henryk	1973 – 1974	Morzycka Ewa	1978 – 1984
†Makarewicz Aniela	1961 – 1971	Mościcki Witold	1978

KIEROWNICTWO, PRACOWNICY, DOKTORANCI

†Mozołowski Włodzimierz	1959 – 1963	Papa Lena	1986 – 1991
Możdżeńska Liliana	1969 – 1976	Parol Marek	1981 – 1982
Mroczek Jolanta	1971	Pasławska Alicja	1978 – 1980
Mroczkowska Małgorzata	1986 – 1996	Pasternak Krystyna	1978 – 1979
Mrowicki Jacek	1990	Paszczyk Ryszard	1971
Mularczyk Albina	1967 – 1968	Paszkowski Jerzy	1974 – 1984
Murawska Apolonia	1958 – 1992	Pawełko Elżbieta	1971 – 1973
Murawska Małgorzata	1996	Pawlikowska Elżbieta	1974 – 1975
†Murawski Marcin	1992 – 1994	Pawlikowski Jerzy	1973 – 1978
Musielak Małgorzata	1994 – 1996	Pawlikowski Wiktor	1969
Musierowicz Maria	1971 – 1979	Pawłowski Krzysztof	1997 – 2000
Mycka Eugeniusz	1977 – 1978	Paż Wanda	1970 – 1981
Myszkowska Grażyna	1973	†Perzyński Stanisław	1963 – 1984
Myszkowska Krystyna	1964 – 1979	Petryna Teresa	1980 – 1985
		Pęconek Władysława	1964 – 1976
Nadolska-Lutyk Janina	1980 – 1984	Piechocka Maria	1998 – 1999
Nagiel Andrzej	1972 – 1975	Piechowska Maria Janina	1954 – 1992
Nagiel Ewa	1979 – 1985	Piechowska Mirosława	1961 – 1988
Nagórka Barbara	1982 – 1984	Pieniążek Danuta	1975 – 1977
Naimski Piotr	1975 – 1979	Pieńkos Andrzej	1996 – 1998
Natorff Teresa	1960 – 1982	Pietrusińska Romualda	1967 – 1971
Nawosz Bożena	1968 – 1975	Pietrzak Jolanta	1992 – 1995
Nowak Anna	2000 – 2001	Pietrzyk Agnieszka	2001 – 2002
Nowak Aleksander	1963 – 1965	Pilarski Maciej	1997
Nowak Aleksander	1972	Piotrkowska Maria	1966 – 1967
Nowakowski Aleksander	1963 – 1965	Piotrkowski Jan	1963 – 1977; 1979
Nowak Joanna	1977 – 1982	Piotrowska Urszula	1978 – 1988
Nowak Krystyna	1979 – 1985	Piszczyk Barbara	1985 – 2002
Nowicka Halina	1995 – 1997	Piszczyk Maria	1995 – 1996
		Piwnicka Magdalena	1976 – 1979
Obłuski Piotr	1984 – 1985	Plesiewicz Ewa	1969 – 1986
Obstawska Bożena	1983 – 1986	Plewako Stanisław	1980 – 1991
Ochimowska Maria	1976	Pliszkiewicz Agnieszka	1972
Oleksiej Alicja	1958 – 1976	Pluta Krzysztof	1996 – 2001
Olewiuk Anna	1988 – 1992	Płachta Andrzej	1989 – 1991
†Opara Zofia	1954 – 1959	Płochocka Grażyna	1972 – 1973
Ordyłowska Antonina	1971 – 1973	Podgórska Zofia	1995 – 1999
Orłowska Anna	1971 – 1973	Podlewski Henryk	1974 – 1979
Orłowska Krystyna	1972	Podolak Jerzy	1985 – 1986
Orłowski Jacek	2003	Podsiadła Małgorzata	1995
Orzechowska Anna	1978 – 1979	Polaczek Piotr	1984 – 1988
Orzechowska Helena	1991 – 1997	Polakowska Renata	1975 – 1980
Ostrowska Barbara	1968	Pomianowski Jan	1995
Ostrowska Małgorzata	1997	Pomorska Joanna	1990 – 1991
Ostrowski Jacek	1977 – 1984	Ponichtera Józef	1977 – 1979
Ostrowski Krzysztof	1975 – 1979	Popiel Ewa	1995 – 1998
Oszal Tomasz	1992 – 1994	Popis Hanna	1980 – 1984
Ożdżeńska-Marks Zofia	1958 – 1960	Popławska Anna	1978 – 1979
Ożóg Jerzy	1970 – 1971	Popowska Elżbieta	1996 – 2001
		Popowska Ewa	1972 – 1976
Pachnik Elżbieta	1976 – 1989	Porębski Adam	1968
Paciorek Genowefa	1971 – 1973	Potkański Wojciech	1986 – 1987
Pacocha Monika	1997 – 2000	Praszyński Wojciech	1988 – 1989
Pakosz Leokadia	1996 – 1997	Prażmo Wiesława	1953 – 1988
Pakuła Roman	1957 – 1960	Prewysz-Kwinto Maria	1996 – 1997
Pankiewicz Renata	1994 – 1996	Proba Ewa	1970 – 1971

Proba Zbigniew	1969 – 1984	Sasak Włodzimierz	1972 – 1976
Prus Kazimierz	1970 – 1971	Sawicka Teresa	1961 – 1994
Prus-Bogusławski Jerzy	1965 – 1968	Sawicki Krzysztof	1977 – 1978
Przewłocki Grzegorz	1993 – 1998	Sawka Michał	1976 – 1978
Przyborowski Maciej	1971 – 1972	Sawosik Barbara	1961
Przygońska-Ombrach Maryna	1972 – 1981	Schabowicz Tadeusz	1970 – 1971
Puk Magdalena	1962 – 1963	Sekuła Sylwia	2002 – 2003
Puławska Joanna	2001 – 2002	Sidoryk Marta	2001 – 2002
Pura Anna	1995 – 1996	Sielska Małgorzata	1976 – 1978
†Putrament Aleksandra	1968 – 1986	Sienkiewicz Zofia	1968 – 1983
Pydła Jadwiga	1973 – 1985	Sierpińska Helena	1973
Pyrzalska Jolanta	1986 – 1989	Sierzycska Helena	1955 – 1985
Pyś Elżbieta	1965	Sitkiewicz Izabela	1996 – 2002
		Skardow Bronisława	1954 – 1978
Rachwał Elżbieta	1971 – 1972	Skierniewicki Marian	1974 – 1975
Radomińska-Pyrek Anna	1965 – 1979	Sklinda Zofia	1977 – 1983
Radzki Bohdan	1967	Skoczek Danuta	1980 – 1992
Rajczewska Stefania	1994	Skoczylas Elżbieta	1992 – 1995
Ratyński Ludwik	1978 – 1984	Skoneczny Andrzej	1969 – 1970
Redlak Justyna	2000	Skonieczny Janusz	1968 – 1978
Regulski Michał	1982 – 1984	Skóra Danuta	1961 – 1962
†Reifer Ignacy	1954 – 1969	Skrzeczkowska Elżbieta	1962 – 1966
Rekosz Agnieszka	1997 – 1998	Skrzeczkowski Lech	1986–1992
Rodzik Maria	1963	Skwarczyńska Wanda	1976 – 1982
Rogała Wiesława	1981 – 1983	Stonimski Piotr	2000–2001
Rogalska Agnieszka	1991 – 1993	Słowikowski Andrzej	1997
Rogowiec Janusz	1984 – 1994	Smaczyńska de Rooij Iwona	1992 – 2000
Rojek Elżbieta	1979 – 1987	Smagała Katarzyna	1996
Rokita Jan	1965 – 1971	Smolar Nina	1966 – 1970
Rotuska Anna	1984 – 1985	Smolińska Urszula	1984 – 1985
Rousseau Henryk	1970 – 1971	Sobolewska Grażyna	1996
Rowicka Ewa	2002	Sokołowska Magdalena	1996
Rowicka Lidia	1980	†Sokół Wiktoria	1982 – 1983
Różnowski Bohdan	1970 – 1973	Solecka Maria	1954 – 1957
Różycka Zofia	1970 - 1971	Sołtyk Anna	1972 – 1976
Rudan Barbara	1972 – 1974	Sołtyńska Anna	1986
Rudek Marek	1999 – 2000	Sosińska Halina	1981 – 1984
Rudziecka Maria	1961 – 1966	Sosiński Jerzy	1964 – 1965
†Ruszkowska Krystyna	1965 – 1975	Sosnowska Monika	1998 – 2001
Rutkowska Kazimiera	1954 – 1975	Sosnowski Marcin	1972 – 1973
Rutkowski Ryszard	1973	Stachowski Sławomir	1979 – 1980
Ryba Eugenia	1969 – 1971	Staniusz Jan	1979 – 1981
Rybi Antoni	1982 – 1983	Stankiewicz Krzysztof	1991 – 1992
Rybicka Hanna	1964 – 1976; 1981 – 1992	Stańczak Janusz	1995 – 1998
Rybicka Katarzyna	1999 – 2000	Stańczyk Stanisław	1955 – 1969
Rybicka-Jopkiewicz Urszula	1963	Stasiak Alicja	1978 – 1979
Rybus Wojciech	1995	Stasiak Andrzej	1977 – 1984
Rychlik Wojciech	1976 – 1983	Stawicka-Chomiak Danuta	1959 – 1962
Rytelek Marta	1962 – 1988	Stempkowska Janina	1955 – 1957
Rzymkiewicz Danuta	1979 – 1994	Stępień Elżbieta	1965 – 1978
		Stępniewska Krystyna	1988 – 1989
Sadowska Danuta	1995 – 1996	Stolarczyk-Stolanewska Dorota	1988
Sadowy Ewa	1991 – 1998	Strugała Katarzyna	1982 – 1990
Salnik Wiesław	1974 – 1976; 1985 – 1988	Strupiechowski Krzysztof	1985 – 1988
Sander-Tabaczyńska Aurelia	1961 – 1972	Strzałkowski Zbigniew	1971
Sarnowiec Krzysztof	1971 – 1972	Styczyńska Zofia	1959

Stypińska Stanisława	1995	Śpiewak Bogusława	1979 – 1986
Suckewer Adelajda	1962 – 1964	Świaniewicz Michał	1992 – 1993
Sulich Waldemar	1980 – 1984	Świdziński Roman	1988 – 1992
Sułkowski Eugeniusz	1956 – 1965	Świetlińska Zofia	1962 – 1985
Sura Kazimierz	1968 – 1969	Święcki Antoni	1980 – 1991
Surowiec Barbara	1972 – 1975	Świstalnicki Krzysztof	1971 – 1977
Surzycki Stefan	1964 – 1967	Świtalska Maria	1965 – 1977
Suszek Waldemar	1990 – 1992		
Sutowski Jerzy	1970	Talarczyk Andrzej	1993 – 2001
Swęda Władysław	1972 – 1973	Tarantowicz-Marek Elżbieta	1969 – 1984
Szamota-Sadowska Karolina	1994 – 1995	Targoński Edward	1988 – 1990
†Szarkowska Ludmiła	1954 – 1965	Tekieli Halina	1954 – 2001
Szczepankowska Maria	1978 – 1984	Tkaczyk Janina	1968 – 1974
Szczepańska Elżbieta	1972 – 1974	†Toczko Kazimierz	1954 – 1959
Szczepańska Elżbieta	1979	Toczko Maria	1962 – 1963
Szczepańska Helena	1968 – 1978	Toczyłowska Helena	1989 – 1994
Szczęśniak Barbara	1965 – 2001	†Tokarczyk Grażyna	1986 – 1994
Szczęsna-Skorupa Elżbieta	1976 – 1985	Tokarska Romana	1976 – 1977
Szczurkiewicz Władysław	1969 – 1972	Tolak Maria	1970 – 1974; 1995 - 1998
Szczygieł Barbara	1986 – 1987	Tomaszewski Radosław	1993 – 1999
Szczypiorska Zofia	1976 – 1988	†Tomasik Piotr	1989 – 1996
Szelągowska Karolina	2000	†Tomasik Roman	1965 – 2004
Szeliga Zbigniew	1980 – 1983	Tomaszewski Tadeusz	1974 – 1980
Szemplińska Halina	1969 – 1974	Tomaszewski Zygmunt	1978 – 1979
Szenberg Aleksander	1954 – 1958	Tomaszewski-Chyczewski Marek	1969 – 1998
Szendel Adolf	1962 – 1964	Topczewska Jolanta	1983 – 2001
Szer Włodzimierz	1965 – 1967	Topczewski Jacek	1988 – 2001
Szewczyk Krzysztof	1991 – 1992	Torobiński Stefan	1977 – 1978
Szłak Izabella	1958 – 1980	Traczyk Aleksandra	1984 – 1985
Szmigielski Stanisław	1989 – 1994	Traczyk Stanisław	1970
†Szmycińska Wanda	1964 – 1967	Trąbicka Anna	1969 – 1972
Szpineta Agnieszka	2001 – 2002	Trembacz Halina	1976 – 1997
Szrek Elżbieta	1976 – 1979	Trepiłowski Janusz	1977
Sztakielska Maria	1958 – 1962	Truszczyński Adam	1987 – 1988
Sztarejko Andrzej	1972	Trzewiczyńska Maria	1971 – 1972
Szucka Hanna	1993 – 1996	Tworek Hanna	1972 – 1985
Szukiłowicz Dariusz	1969	Tyc Kazimierz	1979 – 1985
†Szubiński Ryszard	1954 – 1970	Tymowska Zuzanna	1993 – 1998
Szulc Małgorzata	1994 – 1997	Tyszkiewicz Maria	1969
Szwacka Maria	1976 – 1977		
Szweda Maria	1981 – 2000	Ulejska Maria	1968 – 1973
Szykut Bogumiła	1987	Urbański Cezary	1984 – 1988
Szylberg Alicja	1956 – 1992		
Szymanowska Hanna	1979 – 1982	Virion Zofia	1976 – 1978
Szymańska Małgorzata	1996 – 1998	Vogtman Tomasz	1981 – 1989
Szymański Jacek	1981		
Szymański Szczepan	1979 – 1980	Wachowska Maria	1963
Szynczewska Agnieszka	2003 – 2004	Wacial Elżbieta	1986
Szyper Kazimierz	1965 – 1967; 1983	Walczak Włodzimierz	1963 – 1992
Szyszko Bożena	1995 – 1997	Walewska Marta	2000
†Szyszko Jadwiga	1964 – 1980	Walkowiak Hanna	1956 – 1967
Szyszko Joanna	1963 – 1982	Wanke Małgorzata	1996 – 2001
Szyszko Jolanta	1976 – 1980	Warczyńska Danuta	1972 – 1977
†Szyszko Małgorzata	1969 – 1992	Wardziak Zofia	1960
		†Wasilewska-Dąbrowska Lidia Danuta	1966 – 2000
Śledziewski Andrzej	1976 – 1984	Wasilewski Jerzy	1961

Waszkiewicz Marian	1984 – 1992	Wójcik Jadwiga	1997 – 2002
Waszkowska Ewa	1993 – 1999	Wrede Andrzej	1970 – 1976
Waśniewska Danuta	1989 – 1992	Wydra Julita	2001 – 2002
Wawrzyniak Piotr	1980 – 1986	Wyrzykowski Jan	1976 – 1980
Wełnicki Marek	1990 – 1995	Wysocki Wiesław	1966
Werde Andrzej	1972 – 1977	Wyszyńska Katarzyna	1998 – 2002
Węgiel Kazimierz	1982		
Węglowski Kazimierz	1986 – 1987	†Zaborowska Danuta	1965 – 1994
Wiater Alina	1964 – 1999	Zagórska Ludwika	1967 – 1981
Wieczorek Dominika	1995 – 1997	Zagrodzka Magdalena	1984 – 1991
Wieczorek Eugeniusz	1982 – 1985	Zagumna Jadwiga	1974
Wielińska Irena	1984 – 1985	Zajączkowska Małgorzata	1969 – 1970
Wierzbicka Julia	1985	Zakrzewska Anna	2000 – 2001
Wierzbicka Maria	1968 – 1971	Zakrzewska Barbara	1980
Wiewiórowska-Bratek Danuta	1960 – 1968	Zakrzewska-Lavery Krystyna	1971 – 1979
Wiewiórowski Maciej	1960 – 1968	Zalińska Maria	1980 – 1981
Więckowski Andrzej	1972 – 1976	Załużka Jan	1971
Więckowski Tadeusz	1985 – 1990	Zan-Kowalczevska Małgorzata	1968 – 1988
Wiktorowska-Jeziarska Agnieszka	1998 – 1999	†Zaręba Ryszard	1990 – 1991
†Wilczewska Małgorzata	1954 – 1978	Zaręba-Ściepień Krystyna	1975
†Wilczewska Róża	1953 – 1976	Zatyka Małgorzata	1983 – 1985; 1987 – 1998
Wilczyńska Krystyna	1965 – 1967	Zawadzka Alicja	1973 – 1974
Wild Jadwiga	1968 – 1989	Zawadzki Zbigniew	1976 – 1980; 1982 – 1983
Wilińska Łucja	1972 – 1976; 1990 – 1991	Zawidzka-Rejman Ewa	1972 – 1973
Wilk Irena	1968	Zawistowska Teresa	1972 – 1973
Wilska Małgorzata	1971 – 1972	Zembrzuska Maria	1986 – 1987
Winnicka Hanna	1980 – 1992	Zgórzyński Krzysztof	1977 – 1993
Winter Ewa	1969 – 1976	Zielińska-Kwiatkowska Anna	1988 – 1997
Wiórkiewicz-Kuczera Joanna	1982 – 1989	Ziemska Anna	1966 – 1970
Wiśniewska Magdalena	2002	Ziombka Mirosława	1981 – 1989
Wiśniewski Józef	1966 – 1970	Zych Maria	1965 – 1966
Witecki Józef	1961 – 1962	Zych Marianna	1992 – 1992
Witkowska Maria	1970	Zysk Maria	1992
†Witkowski Zbigniew	1970 – 1989		
Wiwatowska Joanna	2000	Żbikowska Joanna	1982 – 1986
Wodnar-Filipowicz Aleksandra	1970 – 1984	Żbikowski Przemysław	1971 – 1972
Wojciechowska Jolanta	1983 – 1985	Żekanowski Cezary	1988 – 1992
Wojciechowska Zofia	1986	Żołądkiewicz Ryszard	1994 – 1996
Wojda Antoni	1957 – 1958	Żórawski Janusz	1972 – 1976
Wojs Maria	1983 – 1985	Żuk Jerzy	1959 – 2002
Wojtalik Henryk	1986 – 1993	Żuk Krystyna	1967 – 1981
Wojtanis Robert	1989 – 1991	Żylonis Maria	1956 – 1986
Wojtczak Maria	1977 – 1978		
Wojtulanis Anna	1981 – 1982		
Wojtulanis Maria	1964 – 1989		
Wolczko Krzysztof	1976 – 1977		
Woldański Roland	1994 – 1995		
Wolinowska Renata	1992 – 1996		
Wolska Anna	1965 – 1972		
Wolska Ewa	1971		
Wołosiuk Barbara	1994		
Woronaj Wanda	1985		
Woźniak Grażyna	1989 – 1990		
Woźny Wojciech	1998 – 1999		
Wójcicka Elżbieta	1989 – 1993		
Wójcicka Urszula	1991 – 1995		