

~~Pracownia~~

SPRAWOZDANIE Z DZIAŁALNOŚCI
INSTYTUTU BIOCHEMII I BIOFIZYKI PAN

W 1969 r.

Część ogólna

A. Główną siedzibą Instytutu jest gmach Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego w Warszawie przy ul. Rakowieckiej Nr 36. Jednostką organizacyjną, poza siedzibą Instytutu jest Zakład Genetyki, mieszczący się w Warszawie al. Ujazdowskie 4.

Poza Instytutem /na terenie Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego/ mieści się również Pracownia Immunochemii Zakładu Biochemii Drobnoustrojów.

Uchwałą Nr 3/69 Sekretarza Naukowego PAN z dnia 11 lutego 1969 r. została wydzielona z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN Pracownia Biochemii i Struktury Alkaloidów w Poznaniu i włączona do Instytutu Chemii Organicznej w Poznaniu.

W miesiącu grudniu ubiegłego roku Instytut otrzymał w gmachu przy ul. Rakowieckiej pomieszczenia po zdeglomerowanym Centralnym Laboratorium Przemysłu Paszowego w ilości 267 m². Powierzchnia ta w styczniu br. zostanie zajęta przez Zakład Genetyki.

Pod koniec roku 1968 zostały opracowane dane techniczno-ekonomiczne do projektu budowy gmachu Instytutu przy ul. Żwirki i Wigury. Brak decyzji o zatwierdzeniu lokalizacji spowodował zwłokę o rok w opracowaniu dalszej dokumentacji.

Zakończono podstawowe prace przy wyposażeniu pomieszczenia na źródło kobaltowe. Obecnie usuwa się pewne usterki, w I kwartale 1970 roku źródło zostanie dostarczone.

Działalność Instytutu oparta jest o budżet ustalony przez władze PAN i w roku 1969 po dokonanych korektach i koniecznym dofinansowaniu wyniósł łącznie 13.980 tys. zł. Plan finansowy w roku 1969 został wykonany w 98 %.

Instytut na dzień 31.XII.1969 r. zatrudniał:

Pracownicy nauki	66
Pracownicy nauk.techn.	45
Pracownicy fiz.dział.pom.	11
Pracownicy służby bibliot.	4
Administracja	12
Obsługa	6

Razem 144

Pracownicy godz. płatni 22

W roku 1969 przyjęto 22 osoby, zwolniono 9.

Majątek Instytutu wynosi:

Pomieszczenie na źródło kobaltowe	2.300 tys.zł
Źródki trwałe	25.500
Przedmioty nietrwałe	3.000
Magazyn	1.500
Razem	32.800 tys.zł

B. Ocena przebiegu badań.

Większość badań prowadzonych w Instytucie skupiała się wokół czterech centralnych problemów:

- I. Biosynteza białka i kwasy nukleinowe
- II. Biochemia genetyczna
- III. Funkcje enzymatyczne w komórkach i strukturach podkomórkowych.
- IV. Genetyka i mikrobiologia.

W zakresie badań nad kwasami nukleinowymi, kontynuowano prace zmierzające do poznania torów biosyntezy nukleopirymidynowych i purynowych, polinukleotydów oraz enzymów uczestniczących w ich przemianach w tkankach roślinnych.

Instytut na dzień 31.XII.1969 r. zatrudniał:

Pracownicy nauki	66
Pracownicy nauk.techn.	45
Pracownicy fiz.dział.pom.	11
Pracownicy służby bibliot.	4
Administracja	12
Obsługa	6

Razem 144

Pracownicy godz. płatni 22

W roku 1969 przyjęto 22 osoby, zwolniono 9.

Majątek Instytutu wynosi:

Pomieszczenie na źródło kobaltowe	2.300 tys.zł
Źródki trwałe	25.500
Przedmioty nietrwałe	3.000
Magazyn	1.500

Razem 32.800 tys.zł

B. Ocena przebiegu badań.

Większość badań prowadzonych w Instytucie skupiała się wokół czterech centralnych problemów:

- I. Biosynteza białka i kwasy nukleinowe
- II. Biochemia genetyczna
- III. Funkcje enzymatyczne w komórkach i strukturach podkomórkowych.
- IV. Genetyka i mikrobiologia.

W zakresie badań nad kwasami nukleinowymi, kontynuowano prace zmierzające do poznania torów biosyntezy nukleotydów pirymidynowych i purynowych, polinukleotydów oraz enzymami uczestniczącymi w ich przemianach w tkankach roślinnych.

Stwierdzono m.in., że w odróżnieniu od tkanek zwierzęcych i komórek drobnoustrojów u roślin wyższych adenina może być produktem pośrednim w syntezie nukleotydów purynowych de novo. Zakończono również prace nad oczyszczaniem i charakterystyką dwu enzymów: dwuhydropirymidynazy i dwuhydroorotazy, które mogłyby być podstawą do opracowania dokumentacji dla ich produkcji.

Poważny potencjał badawczy skupiony był, podobnie jak i w latach ubiegłych, wokół rozwiązania zagadnień dotyczących fizyko-chemicznych podstaw funkcjonowania kwasów nukleinowych: mutagenezy wywoływanej przez promieniowanie nadfioletowe i mutagenezy chemicznej oraz warunków przyjmowania przez cząsteczki kwasów nukleinowych czynnych biologicznie konformacji. W zakresie badania podstaw mutagenezy wywoływanej przez promieniowanie prowadzono prace mające na celu wyjaśnienie mechanizmów fotochemicznych pojawiania się uszkodzeń kwasów nukleinowych przez dimeryzację reszt pirymidynowych, poznanie elektronowych stanów wzbudzonych uczestniczących w reakcjach fotochemicznych cząsteczek pirymidyn oraz charakterystyki powstających fotoproduktów. Zakończono m.in. badania elektronowych stanów wzbudzonych grupy izomerycznych aminopirymidyn, prace nad izolacją o charakterystyką szeregu dimerów pochodnych tyminy i uracylu oraz otrzymano izomeryczne fotohydraty dezoksyurydyny wykazując, że jeden z nich powstaje w kwasach nukleinowych.

W zakresie mutagenezy chemicznej zajmowano się w dalszym ciągu fizyko-chemicznymi podstawami mutagenezy wywoływanej przez hydroksyloaminę. Wykazano w oparciu o badania właściwości kompleksotwórczych szeregu kopolimerów zawierających reszty zmodyfikowanej przez hydroksylaminę, cytozyny, że mutageneza hydroksylaminowa nie koniecz- nie musi zachodzić poprzez zmianę właściwości komplementarnych zasad, pojawiać się może ona przypuszczalnie w stadium

enzymatycznej replikacji łańcucha polinukleotydowego zawierającego uszkodzone mutagenem reszty zasadowe.

W dziedzinie badań właściwości konformacyjnych kwasów nukleinowych otrzymano szereg nowych syntetycznych homo-polinukleotydów zawierających reszty 5-metylocytosyny i jej N-alkilopochodnych, 5-etylouracylu, 2'-metoksytydyny, zbadano ich właściwości konformacyjne oraz zdolność do tworzenia dwupasmowych kompleksów z komplementarnymi homopolinukleotydami.

Wyniki tych badań mają znaczenie dla zrozumienia roli podstawników w pozycji 5 pierścienia pirymidynowego oraz grupy 2'-OH rybozy w strukturze kwasów nukleinowych; właściwości kwasu poli-2'-metoksy-cytydylowego wskazują na to, że grupa 2'-OH rybozy nie partycypuje w stabilizacji struktury drugorzędnej rybopolinukleotydów poprzez wiązanie wodorowe. Prace nad otrzymywaniem syntetycznych polinukleotydów związane były ściśle z opracowaniem metod syntezy i otrzymywaniem odpowiednich nukleosydów i nukleotydów, badaniami ich budowy metodami optycznymi oraz właściwości biologicznych. M.in. otrzymano alfa i beta anomery 5-etylodezokacytydyny z których anomer beta okazał się pierwszym poznany związek pozbawiony własności mutagennych lecz wykazującym silną aktywność antywirusową. Rozpoczęto badania specyficznych oddziaływań międzycząsteczkowych leżących u podstaw powstawania natywnych konformacji kwasów nukleinowych.

Poważny potencjał badawczy został również skoncentrowany na pracach związanych ze znaczeniem roli kwasów nukleinowych i nukleotydów dla biochemii porównawczej w świecie bakteryjnym, roślinnym i zwierzęcym. Uwzględniono przy tym rozwój osobniczy na poziomie stadiów rozwojowych organizmu a także organelli komórkowych. W ramach tych prac scharakteryzowano kwasy nukleinowe bezkręgowców w spoczynku i rozwoju oraz przeprowadzone badania porównawcze nad wydaleniem azotowym i przemianą nukleotydów.

Scharakteryzowano również RNA mitochondriów pierwszych liści kielzków żyta oraz roślin hodowanych bez dostępu światła.

Prowadzono badania rozmieszczenia fosfodwusteraaz we frakcjach podkomórkowych wątroby szczura. Rozpoczęto prace związane z badaniem lokalizacji enzymów nukleolitycznych w tkankach roślinnych.

W zakresie badań nad biosyntezą białka prowadzono prace nad ustaleniem warunków kontrolowanej syntezy białka w układach bezkomórkowych pochodzących z materiału bakteriynego i owadziego. Zbadano problem dwuznacznego odczytywania poli U przez rybosomy bakterii termofilnych i mezofilnych jak również czynników wpływających na wierność translacji. Określano stabilność polisomów bakteryjnych i możliwości wiązania analogów poli U z podjednostkami rybosomów. Zbadano także możliwości bezpośredniej translacji naturalnego d/AT/ z kraba w układach bakteryjnych jak również określono fizykochemiczne własności rybosomów z gruczołów przednich jedwabnika.

Do najbardziej istotnych wyników w pracach dotyczących problemu "Biochemia genetyczna" należy zaliczyć otrzymanie rzadkiego typu mutantu *Aspergillus nidulans*, którego wzrost jest hamowany przez metioninę i który wykazuje zaburzenia zarówno w biosyntezie jak też katabolizmie metioniny. Mutant ten pozwoli na badanie współzależności pomiędzy anabolizmem i katabolizmem metioniny.

Na podkreślenie zasługuje fakt stwierdzenia po raz pierwszy zwiększonej w stosunku do szczepu dzikiego produkcji ubichinonu u kilku cytoplazmatycznych mutantów oddechowych *Neurospora crassa*. Rzuca to nowe światło na układ transportu elektronów u tych mutantów a także na kontrolę genetyczną tego układu.

Z badań nad mechanizmem rekombinacji podkreślić należy stwierdzenie po raz pierwszy dodatniej korelacji pomiędzy wymianą wzajemną w obrębie genu i rekombinacją zewnętrznych markerów a także dokładniejsze poznanie charakteru wymiany materiału genetycznego w obrębie genu. Wyniki te pozwoliły na opracowanie nowej hipotezy rekombinacji genetycznej.

Uzyskano dane na temat genetycznej regulacji podziału komórkowego mutantów *Salmonella typhimurium* i oszacowano stałe sedymentacji polisonów operonu *his*. Zbadano zjawisko oporności mutantów *S. typhimurium* opornych na tiazol i regulację transportu D-aminokwasów przez błonę komórkową.

W badaniach cytogenetycznych ustalono na podstawie danych genetycznych i cytochemicznych, że chromosomy Y nie odgrywają żadnej roli w typie determinacji płci X/A u *Rumex thyrsiflorus* decydują o płodności roślin męskich i ich liczebności w populacji. Są to pierwsze tego typu dane uzyskane ze materiału roślinnego.

Zbadano także stosunki ilościowe szeregu cukrów we frakcjach wielocukrowych i nukleoproteidowych pałeczek durowych.

W grupie prac dotyczących funkcji enzymatycznych w komórkach poważne znaczenie w diagnostyce lekarskiej uzyskała opracowana w Instytucie i zmodyfikowana w 1969r. metoda wykrywania bloku genetycznego powodującego galaktozemię.

Otrzymane dalsze wyniki potwierdzające występowanie nowej drogi syntezy argininy w komórkach roślin z ornityny i karbamoilcasparginianu. Zbadano kinetyczne właściwości karbamoilotransferazy ornitynowej z roślin i drobnoustrojów stwierdzając pełne podobieństwo preparatów z obu tkanek. Rozpoczęto prace zmierzające do potwierdzenia obserwacji

wskazujących na uczestnictwo mocznika w przemianie azotowej komórek pozbawionych ureazy.

Kontynuowano badania nad hamowaniem ureazy przez specyficzny inhibitor z liści topoli oraz prace dotyczące mechanizmu działania inhibitora arginazy z liści słonecznika. Wyniki mają znaczenie dla poznania mechanizmu działania centrum aktywnego obu enzymów.

Część szczegółowa

A. BIOCHEMIA I BIOFIZYKA

I. Biosynteza białka i kwasów nukleinowych /B-XIV-1/

1. Biosynteza białka in vitro.

/Prof. dr P. Szafranski/

Rola frakcji rozpuszczalnej i rybosomów w wierności translacji poli U w beśkomórkowych układach bakteryjnych

Wykazano, że płukanie rybosomów *Bacillus stearothermophilus* 0,5M-NH₄Cl, dysocjacja na podjednostki i oczyszczanie 0,2M-sacharozą powoduje kilkukrotne zwiększenie dwukrotności translacji poli U. Dodanie materiału wypłukanego z rybosomów do układu beśkomórkowego przywraca dokładność translacji. Układ mieszany zawierający płukane rybosomy z *B. stearothermophilus* i supernatant z *E. coli*, odczytuje poli U z wysoką wiernością. Jest to spowodowane obecnością w supernatancie z *E. coli* termolabilnych czynników wpływających na precyzję procesu translacji.

Wykonano doświadczenia wykazujące, że wierność translacji poli U w badanych układach zależy jest od obecności pewnych substancji, które występują zarówno w rybosomach, jak i we frakcji rozpuszczalnej.

Wpływ jonów Mg i K na stabilność polisomów z *E. coli*

Polisomy otrzymywano z hodowli *E. coli* B w logarytmicznej fazie wzrostu po 30 sek. pulsacji ¹⁴C-adeniną. Wpływ jonów Mg i K na stabilność polisomów badano przy zastosowaniu techniki milliporowej. Wykazano, że usunięcie jonów Mg i K w pH 7,5 powodowało całkowity rozpad polisomów. Usunięcie samego jonu K nie miało żadnego wpływu na ilość mRNA związanego z rybosomami, natomiast usunięcie jonu Mg

powodowało uwolnienie 25% radioaktywności. W pH 5 obydwa jony jednakowo dobrze stabilizowały kompleks, podczas gdy w pH 9,5 w obecności samego jonu K przeszło 50 % kompleksu ulegało dysocjacji. Ponadto stwierdzono, że kompleks mRNA-rybosom stabilizowany tylko jonem K w pH 7,5, jest bardziej wrażliwy na działanie moczniaka niż kompleks stabilizowany tylko jonem Mg. Reakcja dysocjacji kompleksu matryca-rybosom jest reakcją odwracalną, ponieważ podwyższenie stężeń tych soli przywraca kompleks w 100 %. Dodatek kwasu poliurydylowego w czasie reasocjacji kompleksu nie wpływa na ilość przyłączonego naturalnego mRNA do rybosomów. Wykazuje to, że naturalna i syntetyczna matryca łączy się z rybosomami w sposób niekompetytywny.

Wiązanie analogów poli U z podjednostkami rybosomów E.coli

Badano wiązanie się kwasu poli 5,6-dwuhydrourydylowego oraz kopolimeru zawierającego 5,6-dwuhydrouracyl i uracyl w stosunku 7:3 z podjednostkami rybosomowymi E. coli. Wstępne doświadczenia wskazują, że obydwa polimery wiążą się z podjednostkami 30s a nie wiążą się z podjednostkami 50s.

Struktura rybosomowego RNA z E. coli i B. stearothermophilus badana za pomocą hybrydyzacji

Metodę hybrydyzacji z połączenia z frakcjonowaniem hybrydów w gradiencie temperatury na kolumnach z hydroksyapatytu, zastosowaną do porównania sekwencji zasad w rybosomowym RNA pochodzącym z E. coli i B. stearothermophilus. Otrzymano profile elucji charakterystyczne dla reakcji rybosomowego RNA z homologicznym DNA. Oprócz frakcjonowania na hydroksyapatycie do izolacji hybrydów stosowano również technikę sącakową.

Badania nad translacją poli d/AT/ z kraba Cancer borealis

Podjęto próbę użycia krabowego poli d/AT/, jako bezpośredniej matrycy do kodowania aminokwasów. W ten sposób

można stwierdzić czy sugestia naprzemiennej sekwencji A i T w polimerze jest słuszna. Ponieważ d/AT/ natychmiast renaturuje, stosowano system bezkomórkowy z *Bacillus stearothermophilus*, zdolny do syntezy białek w 65°. Jakkolwiek w 65°, 40 % d/AT/ występuje w formie jednoniciowej, nie wykryto sytylacji inkorporacji ¹⁴C-tyrozyny /kodon UAU/ do białek. Prowadzone są doświadczenia nad transkrypcją krabowego poli d/AT/ z udziałem polimerazy RNA zależnej od DNA w celu zastosowania syntetyzowanego RNA jako matrycy.

Bezkomórkowa biosynteza białek kodowanych przez RNA faga f2

Faga f2 izolowano z hodowli *E. coli*, K 12 /szczep Hfr/. Preparat oczyszczano poprzez wirowanie w Cs Cl. Otrzymywano około 50 mg faga/l pożywki.

RNA ekstrahowano z preparatu metodą fenolową, stosując dodatek macaloidu. Stopień spolimeryzowania preparatów sprawdzano stosując elektroforozę na żelu agarowym.

Nienaruszony RNA wykazuje 20-krotną stymulację włączenia ¹⁴C-argininy i ¹⁴C-lizyny. Po określeniu poprzez rozdział na żelu poliakrylamidowym rodzaju powstających w tych warunkach białek, przebadany zostanie wpływ zachodzących pod wpływem hydroksylaminy zmian w strukturze RNA na jego własności kodujące.

Własności rybosomów z gruczołów przednich jedwabnika morwowego

Rybosomy izolowano z tylnych odcinków gruczołów przednich jedwabnika *Bombyx mori*. Oznaczona stała sedymenracji wynosiła 85S. Podobnie jak rybosomy z wątroby szczura, rybosomy z gruczołów przednich dysocjują na podjednostki pod wpływem EDTA lub 0.850 M KCl i trudno dysocjują w obniżonym stężeniu magnezu. Oznaczono skład aminokwasowy białek rybosomów i scharakteryzowano ich własności elektroforetyczne z użyciem poliakrylamidu.

Niesenzymatyczne wiązanie aminokwasów przez białka
z gruczołów przednich jedwabnika morwowego.

Znaleziono, że rozpuszczalne białka z gruczołów przednich jedwabnika wiążą bardzo silnie aminokwasy. Biologiczny sens tej reakcji jest nieznany nie wydaje się aby była ona związana z transportem aminokwasów w komórce.

Publikacje Nr : 689, 699, 713, 714, 720, 730,
736, 37/69.

2. Kwasy nukleinowe

a/ fotokchemia kwasów nukleinowych

/doc. dr K. Wierzchowski, Prof. dr D. Shugar/

Przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej udało się rozdzielić na dwa izomery fotouwodnione glikozydy uracylu. W przypadku dU jeden z tych izomerów uzyskano w formie kryształicznej. Własności obu izomerów zbadano i wykazano, że jeden z nich powstaje w kwasach nukleinowych. Wyniki opracowano i ukazały się już w druku. Praca jest kontynuowana, m. innymi udało się wykryształizować drugi izomer dU $\cdot H_2O$. Podkreślić należy, że posiadanie obu izomerów pozwoli na ściślejsze określenie kinetyki i mechanizmu odwodnienia fotohydratów oraz wymiany H w pozycji 5 pierścienia.

W oparciu o stwierdzoną uprzednio zależność pomiędzy asocjacją warstwową dwuketopirymidyn w roztworach wodnych i przebiegiem reakcji fotodimeryzacji prowadzono doświadczenia zmierzające do badania równowag asocjacyjnych i wzajemnej orientacji cząsteczek w kompleksach warstwowych przy pomocy metod fotochemicznych. Zakończono prace związane z otrzymywaniem, identyfikacją i charakterystyką fizykochemicznych i chromatograficznych właściwości 4 stereoizomerycznych dimerów 1-metylotyminy /w przygotowaniu publikacja/.

Opracowano warunki i metodykę stosowania C^{14} -znakowanych substratów w doświadczeniach fotochemicznych. Otrzymano C^{14} -znakowane substraty: 1-metylotyminę i 1,3-dwumetylouracyl i przystąpiono do właściwych doświadczeń obejmujących kinetykę fotodimeryzacji i dystrybucję fotoproduktu między 4-stereoisomeryczne dimery.

Zakończono prace związane w badaniem najniższych wzbudzonych stanów elektronowych 3 izomerycznych monoaminoprymidyn metodami spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej. Stwierdzono, że najniższy wzbudzony singletowy stan elektronowy powstaje w wyniku wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia elektronu wolnej pary elektronowej grupy aminowej na antywiązący orbital π -elektronowy, zlokalizowany na pierścieniu pirymidynowym. W rezultacie obserwuje się obniżenie momentu dipolowego cząsteczki i wzrost jej właściwości podstawowych. Najniższy stan tripletowy ma charakter stanu π zaburzonego spinowo-orbitalnie dzięki domieszce stanów charge-transfer. Zaproponowano kinetyczny schemat degradacji energii wzbudzenia elektronowego poprzez promieniste i bezpromieniste procesy z obu najniższych stanów wzbudzonych. Wyniki przedstawiono na międzynarodowym sympozjum "Cząsteczki biologiczne w stanach wzbudzonych", Arden House, N.Y., USA, październik 1969 r. Stanowiąc one będą podstawę do interpretacji widm elektronowych naturalnych aminopirymidyn.

/publikacje: 679, 681, 683, 746, 765/.

b/ Badania strukturalne pochodnych pirymidynowych i purynowych

/ Doc. dr K.L. Wierzechowski /

Przeprowadzono uzupełniające pomiary widm podczerwonych monoaminów oraz naturalnych cząsteczek szeregu alkilowanych pochodnych kwasu barbiturowego. W połączeniu z otrzymanymi poprzednio wynikami dokonano interpretacji widm w

rejonie częstości karbonylowych postulując równomierną dystrybucję ładunku między grupy karbonylowe ugrupowań $\begin{smallmatrix} \text{O} & \text{O} & \text{O} \\ | & | & | \\ \text{O}-\text{N}-\text{C}-\text{NR}- \end{smallmatrix}$ w mononionach.

W przygotowaniu publikacja wyników.

W związku z opublikowanymi ostatnio pracami teoretycznymi i doświadczalnymi Nagakury postulującymi występowanie tautomerii typu imina-amina u naturalnych pochodnych aminopirymidynowych przeprowadzono ich doświadczalną weryfikację. Wykazano, że zmiany spektralne występujące w widmach elektromagnetycznych tej grupy związków pod wpływem temperatury i rozpuszczalników o niskiej popularności występują również u pochodnych w których potencjalnie tautomeryczne atomy wodoru zastąpione zostały grupami metylowymi. Wyklucza to możliwość interpretacji zmian spektralnych tautomerizacją. Są one prawdopodobnie wynikiem zmiany energii solwatacji cząsteczek.

Zakończono prowadzone przy współpracy z Katedrą Biofizyki UW badania oddziaływań charge-transfer pomiędzy pochodnymi purynowymi i pirymidynowymi a chloranilem, związkiem o silnie wyrażonych właściwościach elektronoakceptorowych. Wykazano, wbrew powszechnie przyjętym poglądom, że w przypadku aminowych pochodnych obu zasad nowe pasma absorpcyjne w widzialnej części widma pochodzą nie od domniemywanych kompleksów charge-transfer lecz od produktów reakcji nukleofilowego podstawienia jednego lub dwóch atomów chloru w cząsteczce chloranilu przez reszty aminopirymidynowe lub amino-purynowe. Wyniki przedstawiono na Zjeździe Polskiego Towarzystwa Chemicznego w Krakowie, wrzesień 1969 r. w przygotowaniu publikacja.

W zakresie badań równowag asocjacyjnych w rozpuszczalnikach niepolarnych pomiędzy pochodnymi purynowymi i pirymidynowymi opanowano eksperymentalnie metodykę wyznaczania stałych socjacji przy pomocy spektroskopii w podczerwieni oraz pomiarów dielektrycznych. Metodą spektroskopową badane były autoasocjacje czystych związków oraz asocjacje w roztworach dwuskładnikowych 9-etyloadeniny oraz 5-chloro- i 5-bromo-1-cykloheksylouracylu. Stwierdzono wzrost stałych

asocjacji ze spadkiem polarności rozpuszczalnika oraz w wyniku podstawienia do pierścienia uracylu atomów chloru i bromu. Prace te są prowadzone przy współpracy Katedry Biofizyki UW.

c/ Synteza analogów pirymidyn

/ Prof. dr D. Shugar /

Opracowano metodę syntezy analogów 5-metylo-2'-deoksytydyny oraz jej 5'-mono- trój-fosforanów.

Opracowano syntezę alfa i beta anomerów 5-etylo-deoksyurydyny. Anomer beta, który jest analogiem tymidyny, okazał się pierwszym niemutagennym analogiem posiadającym aktywność antywirusową. Wyniki są już opracowane i ukazały się w druku.

Zakończono syntezę 5-etylouracydyny oraz jej 5'-mono i piro-fosforanów i spolimeryzowano 5'-pirofosforan. Zbadano własności fizyko-chemiczne otrzymanego poli-5-EtU.

Opracowano nową syntezę szeregu 1-syklloheksylo podstawionych analogów uracylu, np. 5-halogenouracyli, 5-karboksylo- itd. Związki te służą do badań nad oddziaływaniami między zasadami w środowiskach niepolarnych. Wyniki w toku opracowania.

/publikacje: 659, 703/.

Synteza i właściwości fizyko-chemicznych analogów polinukleotydów

Zakończono /wspólnie z Prof. dr Bollumem z Uniwersytetu w Kentucky, USA/ syntezę kilku homopolinukleotydów zawierających reszty 5-metylo-2'-deoksytydyny oraz jej N-alkilozaminy pochodne i zbadano własności tych polimerów. W szczególności przeprowadzono porównanie trwałości form kwaśnych polinukleotydów tej serii z analogicznymi formami poli-rG i poli-dG. Wyniki dostarczają dodatkowych danych

co do roli 5-metylopirymidynowych podstawników w strukturze naturalnych kwasów nukleinowych. Są one całkowicie opracowane i ukazały się już w druku.

Opracowano metodę otrzymywania poszukiwanego od dawna poli-dU poprzez dezaminację łatwo dostępnego poli-dC. Jednocześnie udało się także uzyskać poli-dU drogą enzymatyczną przy współpracy Prof. F.J. Bolluma z Uniwersytetu w Kentusky. Stosując poli-dU udało się po raz pierwszy określić wszystkie możliwe struktury spiralne powstające między poli-U, poli-T i poli-A w serii α i β oraz α - β . Wyniki są opracowane i ukażą się w druku w 1970 r.

W związku z istotną rolą 2'-hydroksylu rybozy w strukturze kwasów nukleinowych oraz brakiem konkretnych danych na ten temat, opracowano syntezę poli-2'-O-MeC, tzn. poli-rC, w którym każda grupa 2'-OH rybozy zastąpiona jest grupą metoksy. Właściwości tego polimeru w porównaniu z właściwościami poli-rC i poli-dC dowodzą, że 2'-OH w poli-rC nie bierze udziału w wiązaniach wodorowych i że różnice między właściwościami poli-rC i poli-dC trzeba tłumaczyć innymi czynnikami /np. różnicą w konformacji cukrów, wpływem rozpuszczalnika itd/. Znalezione także nowe warunki dla działania fosforylasy polinukleotydowej. Poli-2'-O-MeC może okazać się przydatnym jako czynnik wywołujący pojawienie się interferonu u ssaków. Wyniki badań własności konformacyjnych opublikowano. W toku przygotowania do publikacji są opisy syntezy substratu, warunki polimeryzacji oraz szczegółowe badania kompleksów spiralnych poli-2'-O-MeC z poli-I.

Zakończono szczegółowe badania nad syntezą oraz właściwościami poli-K.

Praca ukazała się w druku.

/publikacje: 680, 701, 747 /.

d/ Badania nad kwasami nukleinowymi i enzymami
ich przemian u roślin

/ Doc. dr J. Szarkowski /

1/ Wpływ światła na różnicowanie

Przeprowadzono charakterystykę RNA mitochondriów pierwszych liści czteronastennicowych kiełków żyta. Jest on podobny do RNA rybosomów, wykazuje dużą zawartość guaniny i małą cytozyny. Stosunek G+C/A+U=1,17. Udało się rozfrakować ten RNA na frakcję wysoko- i frakcję nisko-częstotkową, podobną do sRNA. Podobne badania przeprowadzono na mitochondriach pochodzących z roślin hodowanych bez dostępu światła. Wpływ światła nie dotyczy RNA mitochondrialnego. W badaniach nad hydrolazami rozkładającymi RNA wykazano, że optimum działania stwierdza się w pH 5,3. Aktywność rybonukleolityczna jest różna w różnych frakcjach mitochondriów.

2/ Przemiany nukleotydów

/Prof. dr I. Reifer, doc. dr J. Buchowicz/

Nukleotydy pirymidynowe

W uzupełnieniu do poprzednio opracowanej charakterystyki dwuhydropirymidynazy z kiełków grochu przebadano trwałość oczyszczonego enzymu w roztworach wodnych. Stwierdzono, że enzym ten w przeciwieństwie do większości znanych dotychczas białek, charakteryzuje się wyjątkową stabilnością termiczną w alkalicznym środowisku. Wyniki przedstawiono na Zjeździe P.T. Bioch. Wrocław, 1969.

Wyniki badań nad dwuhydropirymidynazą i dwuhydrocerotazą mogłyby być podstawą do opracowania dokumentacji dla produkcji tych enzymów do celów handlowych, gdyby nasz przemysł podejmował produkcję tego rodzaju odczynników.

Kontynuowano również rozpoczęte w latach poprzednich badania nad anabolicznymi przemianami kwasu orotowego *in vitro*. Stwierdzono, że substrat ten, oprócz znanej przemiany do UMP, ulegać może także przekształceniu do innych na drodze reakcji, w których UMP nie jest produktem pośrednim. Mechanizm tej przemiany nie został dotychczas wyjaśniony. Wstępne wyniki przedstawiono na Zjeździe P.T. Białych Wrocław, 1969. Dalsze badania w toku.

Nukleotydy purynowe

Porównano wcielenie znakowanych prekursorów /węglian mrowca, octan, karbamiłofosfiran, glicyna i adenina/ pochodnych purynowych w odciętych kielbkach pszenicy. Wyniki wskazują, że w odróżnieniu od tkanek zwierzęcych i komórek drobnoustrojów, u roślin wyższych adenina może być produktem pośrednim w syntezie nukleotydów purynowych *de novo*. Przypuszczenie takie przyjęto jako hipotezę roboczą dalszych badań. Wyniki ogłoszono drukiem.

Polinukleotydy

Stwierdzono, że znakowane zasady purynowe i pirymidynowe /adenina, guanina, uracyl/ mogą być wcielane do frakcji polinukleotydowej *in vitro* w inkubatach zawierających przesiek acetonowy z kielbków pszenicy jako źródło enzymów. W tych samych warunkach nie obserwuje się przemiany zasad do mononukleotydów. Obserwacje te są sprzeczne z panującymi obecnie poglądami na mechanizm wcielenia niskocząsteczkowych prekursorów do kwasów nukleinowych. Niefortunnie, badana reakcja przebiega z niewielką intensywnością, co utrudnia przeprowadzenie charakterystyki i oceny jej znaczenia.

Dalsze badania w toku.

Biosynteza 5'UMP z uracylu i urydyny w kielbkach grochu.

Kontynuowano pracę nad izolacją z kielków grochu i oczyszczeniem kinazy utrydynowej. Opracowano standardowe warunki pozwalające na powtarzalne oczyszczenie tego enzymu ok. 60 razy. Rozpoczęto badania kinetyczne nad charakterystyką tego enzymu. Pozostałe 2 enzymy /fosforylaza utrydynowa i transfosforylaza uracylowa/ będą badane w następnej kolejności.

/publikacje 706, 712, 718, 726, 727/.

e/ Wpływ promieniowania jonizującego na kwasy nukleinowe w rozwoju osobniczym

/ doc. dr Z. Lassota /

W badaniach nad znaczeniem i rolą esterazy acetylocholinowej w rozwoju owada *Galleria euphorbiae* wykazano, że enzym ten może być uważany jako regulator acetylocholinyl tylko w pewnych okresach rozwoju, w innych zaś poziom acetylocholinyl zależy raczej od nasilenia jej syntezy. Ostre zmiany aktywności esterazy stwierdzone w odwołku poczwerek nie są związane z centralnym układem nerwowym; różnice w poziomie tego enzymu w centralnym systemie nerwowym podczas metamorfozy są związane z określonymi zmianami morfologicznymi węzłów i międzwywłóki. Badania intensywności syntezy acetylocholinyl kierowanej przez specyficzną transacetytylaza znalazły wyraz w opracowaniu radiochemicznej metody oznaczania tego enzymu. Zastosowanie testów chemicznych, chromatograficznych, elektroforetycznych i farmakologicznych pozwala przypuścić, że substancją cholinergiczną u gąsienic jest prawdopodobnie acetylo - metylocholina.

Charakterystyka kwasów nukleinowych bezkręgowców w spoczynku i rozwoju.

Preparaty RNA otrzymane z dorosłych form *Drosophila melanogaster* rozdzielono elektroforetycznie na dwie komponenty analogicznie do obydwu frakcji rybosomalnego RNA bakterii.

/publikacje 687, 712/.

f/ Badania porównawcze nad wydalaniem azotowym
i przemianą nukleotydów.

/ dr H. Jeżewska /

W badaniach nad przemianą azotową ślimaka nagiętego *Limax maximus* ustalono zależność między azotem ogólnym i białkowym pokarmu i biosyntezą puryn. Niemal cały /90 %/ azot białkowy pokarmu odnajduje się w wydzielanych purynach, rodzaje puryn zostały oznaczone jakościowo i ilościowo w wydalinach czterech gatunków ślimaków /z rodzaju *Helicidae* i *Limacidae*/ . U innych czterech gatunków, u których nie udało się zauważyć wydzielania puryn, zbadano nephridium na zawartość puryn. U dwóch gatunków z rodziny *Arionidae* nie wykazano puryn, u *Trichia hispida* z rodzaju *Helicidae* przebywającej w przyrodzie raczej w środowisku suchym, wykazano obecność kwasu moczowego, ksantynę i hipoksantynę, natomiast u *Succinea* przebywającego w przyrodzie w środowisku lądowo-wodnym, wykazano kwas moczowy i guaninę. Spostrzeżone różnice nie wystarczają do twierdzenia o wpływie środowiska ekologicznego na zawartość nephridium.

W metabolizmie purynowym ślimaków zbadano właściwości oksydazy ksantynowej.

/publikacje: 707, 738/.

II. Biochemia genetyczna / W-XIVIII-2/

1. Badania nad transformacją drobnoustrojów

/ Prof. dr D. Shugar /

Wpływ pobieranego DNA na bakterie kompetentne.

Badano pobieranie syntetycznych polinukleotydów. Stwierdzono, że pobieranie poli-dAT prowadzi do efektu biologicznego, czego nie obserwowano w przypadku innych polinukleotydów jak poli-C, poli-A itd. Wyniki są w trakcie opracowywania.

f/ Badania porównawcze nad wydalaniem azotowym i przemianą nukleotydów.

/ dr H. Jeżewska /

W badaniach nad przemianą azotową ślimaka nąsiego *Limax maximus* ustalono zależność między azotem ogólnym i białkowym pokarmu i biosyntezą puryn. Niemal cały /90 %/ azot białkowy pokarmu odnajduje się w wydzielanych purynach, różniąc puryn azotaki oznaczone jakościowo i ilościowo w wydalinach czterech gatunków ślimaków /z rodzaju *Helicidae* i *Limacidae*/ . U innych czterech gatunków, u których nie udało się zauważyć wydalenia puryn, zbadano nephridium na zawartość puryn. U dwóch gatunków z rodziny *Arionidae* nie wykazano puryn, u *Trichia hispida* z rodzaju *Helicidae* przebywającej w przyrodzie raczej w środowisku suchym, wykazano obecność kwasu moczowego, ksantynę i hipoksantynę, natomiast u *Succinea* przebywającego w przyrodzie w środowisku lądowo-wodnym, wykazano kwas moczowy i guaninę. Spostrzeżone różnice nie wystarczają do twierdzenia o wpływie środowiska ekologicznego na zawartość nephridium.

W metabolizmie purynowym ślimaków zbadano właściwości oksydazy ksantynowej.

/publikacje: 707, 738/.

II. Biochemia genetyczna / H-KXVIII-2/

1. Badania nad transformacją drobnoustrojów

/ Prof. dr D. Shugar /

Wpływ pobieranego DNA na bakterie kompetentne.

Badano pobieranie syntetycznych polinukleotydów. Stwierdzono, że pobieranie poli-dAT prowadzi do efektu biologicznego, czego nie obserwowano w przypadku innych polinukleotydów jak poli-C, poli-A itd. Wyniki są w trakcie opracowywania.

2. Regulacja metabolizmu drobnoustrojów na poziomie komórkowym

/Prof. dr G. Bagdasarian/

Genetyczna regulacja podziału komórkowego u drobnoustrojów.

U mutantów *Salmonella typhimurium* z konstytutywną derepresją operonu histydyny poddanych analizie morfologicznej w mikroskopie elektronowym stwierdzono, że proces wytwarzania sept międzykomórkowych ulega u nich zaburzeniu. Natomiast proces podziału komórkowego u mutantów smcA z wtórną mutacją zmieniającą morfologię kolonii, przebiega normalnie.

Badania sferoplastów otrzymanych ze szczepów konstytutywnych wykazały, że obserwowane zaburzenia podziału komórkowego nie prowadzi do całkowitego braku sept międzykomórkowych. Badania cytochemiczne pozwoliły stwierdzić, że proces segregacji jąder u mutantów z konstytutywną derepresją operonu histydyny nie jest zaburzony.

Polirybosomy odpowiadające operonowi histydyny.

Opracowano technikę otrzymywania polirybosomów odpowiadających operonowi his u mutantów operatorowych *S. typhimurium*. Wykazano, że w mutantach operatorowych, nawet w obecności nadmiaru histydyny, ilość polirybosomów operonu histydyny jest tego samego rzędu co w warunkach derepresji. Wykazuje to, że regulacja ekspresji operonu his odbywa się według klasycznego modelu Jacob-Monod na poziomie transkrypcji.

Oznaczono stężenie sedymentacji w gradiencie sacharozy polirybosomów operonu his otrzymanych ze szczepu posiadających p e k n y operon histydyny oraz z mutantów posiadających operon s k r ó c o n y wskutek delecji. Wyniki tych oznaczeń potwierdziły koncepcję o wielocystronowości polirybosomów operonu his u *S. typhimurium*.

/publikacje: 715, 728 /

Regulacja syntezy aminokwasów siarkowych.

Stwierdzono, że hamujące działanie triazolu polega na inhibicji któregośkolwiek z enzymów biosyntezy cysteiny lecz na interferencji z procesem indukcji enzymów biosyntetycznych. Stwierdzono, że dodanie O-acetylo-seryny do hod. *S. typhimurium* powoduje indukcję permeazy siarczanowej i enzymów aktywujących siarczany, natomiast obecność triazolu zapobiega temu procesowi.

Otrzymano mutanty odporne na triazol i stwierdzono, że ekspresja oporności u tych mutantów polega na niewrażliwości procesu indukcji enzymów cysteinowych na ten inhibitor. Z pomocą konjugacji zapewniono lokalizację mutacji trz pomiędzy purC a metG.

Stwierdzono, że mutacja trz jest dominująca jeżeli znajduje się na episomie, a recesywna na chromosomie.

/publikacja 723 /

Regulacja transportu D-aminokwasów przez błonę komórkową.

Doświadczenia nad mutantami dhu wykazały wzajemne hamujące działanie D- i L-histydyny podczas ich transportu do wnętrza komórek bakteryjnych u mutantów dhuA. Stwierdzono, że warunkiem fenotypowego ujawnienia się mutacji dhu jest obecność nieszkodzonego genu hisP. Metodą testu trójpunktowego wykazano następującą kolejność genów: hisP, dhuA, pu. Wobec braku danych o drogach racemizacji D-histydyny u drobnoustrojów opracowano metodę śledzenia tego procesu. W bezkomórkowych ekstraktach z mutantów dhu oraz z odpowiednich szczepów wyjściowych wykazano aktywność następujących aminotransferaz: D-histydyna-2-oksoglutaran; L-glutaminian-imidazolopirogromian; L-histydyna-2-oksoglutaran.

Wobec tego zaproponowano następujący schemat racemizacji D-histydyny u *S. typhimurium*: 1. deaminacja D-histydyny do imidazolopirogromianu 2. transaminacja imidazolopirogromianu z wytworzeniem L-histydyny.

/ publikacja 729 /.

Regulacja syntezy aminokwasów siarkowych.

Stwierdzono, że hamujące działanie triazolu polega nie na inhibicji któregośkolwiek z enzymów biosyntezy cysteiny, lecz na interferencji z procesem indukcji enzymów biosyntetycznych. Stwierdzono, że dodanie O-acetylo-seryny do hodowli *S. typhimurium* powoduje indukcję permeazy siarczanowej i enzymów aktywujących siarczany, natomiast obecność triazolu zapobiega temu procesowi.

Otrzymano mutanty odporne na triazol i stwierdzono, że ekspresja oporności u tych mutantów polega na niewrażliwości procesu indukcji enzymów cysteinowych na ten inhibitor. Za pomocą konjugacji zmapowano lokalizację mutacji trz pomiędzy purC a metG.

Stwierdzono, że mutacja trz jest dominująca jeżeli znajduje się na episomie, a recesywna na chromosomie.

/publikacja 723 /

Regulacja transportu D-aminokwasów przez błonę komórkową.

Doświadczenia nad mutantami dhu wykazały wzajemne hamujące działanie D- i L-histydyny podczas ich transportu do wnętrza komórek bakteryjnych u mutantów dhuA. Stwierdzono, że warunkiem fenotypowego ujawnienia się mutacji dhu jest obecność nieuszkodzonego genu hisP. Metodą testu trójpunktowego wykazano następującą kolejność genów: hisP, dhuA, purP. Wobec braku danych o drogach racemizacji D-histydyny u drobnoustrojów opracowano metodę śledzenia tego procesu. W bezkomórkowych ekstraktach z mutantów dhu oraz z odpowiednich szczepów wyjściowych wykazano aktywność następujących aminotransferaz: D-histydyna-2-oksoglutaran; L-glutaminian-imidazolopirogronian; L-histydyna-2-oksoglutaran.

Wobec tego zaproponowano następujący schemat racemizacji D-histydyny u *S. typhimurium*: 1. deaminacja D-histydyny do imidazolopirogronianu 2. transaminacja imidazolopirogronianu z wytworzeniem L-histydyny.

/ publikacja 729 /

Charakterystyka mutantów ant *S. typhimurium* opornych
a aminotriazol.

Wychodząc z założenia, że mutacja ant dotyczy któregoś
z enzymów biosyntezy puryn przebadano dalsze ogniwka tej
biosyntezy. Porównanie akumulacji arylamin w szczepie posia-
dającym mutację purC /karboksylaza AIR/EC 4.1.1.21/ i w
pochodzącym z niego mutancie ant pur 3 nie wykazało różnic.
Ponieważ mutanty ant mapują się na chromosomie między genami
eydB i purF, przebadane szczepy otrzymane z pracowni
Margelina - posiadające delecje obejmujące supX, eydB, a
nawet trp. Cechę ant udało się przenieść do tych szczepów
metodą transdukcji, natomiast nie udało się zaindukować
u nich mutacji ant za pomocą mutagenów.

/publikacja 639/.

Poza tym wykonano kilka innych prac dotyczących tego
zagadnienia.

/publikacje 698, 716 i 732/.

3. Mutagenеза

a/ Specyficzna mutagenеза chemiczna

/Prof. dr D. Shugar/

Zakończono pracę nad przygotowaniem szeregu kopolimerów
cytydilo-hydroksycytydylowych oraz uracylo-hydroksycytydylowych.
Próby kompleksowania ich z innymi homopolimerami dały wynik
ujemny, podobnie jak to obserwowano poprzednio dla homopo-
limerów hydroksycytydylowych. Wyniki te potwierdzają wniosek,
że mutagenеза hydroksylaminowa nie koniecznie zachodzi tylko
poprzez zmianę własności komplementarnych zasad. Inne czyn-
niki wchodzi tutaj przypuszczalnie w grę, np. enzymy
replikujące. Pracę oddane do druku.

Zsyntetyzowano szereg pochodnych hydroksylaminowych
cytozyny i podstawionych cytozyn zbadano ich widmo i pH
oraz w celu określenia form tautomerycznych mogących mieć
znaczenie w mechanizmie mutagenезы.

Jak się wydaje u *A. nidulans* indukowane rewersje ad- ad są równie częste w obecności jak przy braku adeniny.

/publikacje: 739, 749, 750, 757/

d/ Mutacje chromosomowe u roślin wyższych

/Prof. dr W. Gajewski /

Temat został przerywany w związku z wyjazdem pracownika staż długeterminowy. Będzie kontynuowany w 1970 roku.

/Publikacja 760/

4. Mechanizm rekombinacji

a/ Rekombinacja w obrębie genu

/Prof. dr W. Gajewski, Prof. dr A. Makarewicz/

U *Ascomobolus immersus* stwierdzono wysoką korelację pomiędzy wymianą w obrębie genu zarówno typu konwersji jak i crossingover a wymianą zewnętrznych markerów. Uzyskano także szeroki dodatkowych danych co do typu wymiany materiału dziedzicznego w rekombinacji wewnątrzgenowej i wpływu na tę rekombinację charakteru użytych mutantów.

Dane te pozwoliły na opracowanie nowej hipotezy mechanizmu konwersji genów u grzybów.

U mutantów alternatywnych *Ascomobolus immersus* stwierdzono korelację między intensywnością zabarwienia askospory a szybkością ich kiełkowania: im bardziej intensywna barwa tym dłuższy okres indukowania kiełkowania.

Występujące spontanicznie mutanty morfologiczne *A. immersus* podzielone na kilka charakterystycznych typów. Mutanty tzw. alternatywne należą do typu o zmiennym przejawianiu się fenotypu, do którego należą również mutanty tzw. nieparzyste wykazujące pozorną segregację 7:1 i 5:3.

Poza planem prowadzono badania nad rekombinacją genetyczną u drożdży, u których stwierdzono znaczny wpływ głodzenia lizynowego i uracylowego na częstość rekombinacji indukowanej oraz nad rekombinacją w obrębie locus met⁺ u *Aspergillus nidulans*. Zarówno częstość jak ogólny schemat rekombinacji w tym locus różni się drastycznie od obserwowanych w innych loci u tego organizmu. Może to mieć związek z różnicami w budowie poszczególnych chromosomów /układ DNA-histony-białka-niehistonowe jest swoisty dla każdego chromosomu i różnych odcinków danego chromosomu; może to skutkować na częstość i schemat rekombinacji wewnątrzgenowej/.

Ten spadek częstości rekombinacji nie był uwzględniony w żadnym modelu rekombinacji.

/Publikacje: 751, 753, 754, 755, 762, 763/

5. Wpływ wbudowywania analogów tyminy na własności biologiczne i strukturę DNA fagów.

/Prof. dr S. Shugar/

Badania nad przekształceniem fotochemicznym 5-etylowuracylu i jego glikozydów zostały poważnie rozszerzone, szczególną uwagę zwrócono na identyfikację fotoproduktów. Wykazano m.in., że pod wpływem promieniowania dżugofalowego wytwarzają się cztery izomeryczne fotodimery oraz że fotodimeryzacja glikozydów uracylu zachodzi z wydajnością podobną jak dla tymidyny. Praca jest już prawie na ukończeniu, a wyniki w toku opracowywania. Po zakończeniu tej pracy, przewiduje się powrót do fotochemii bakteriofagów zawierających 5-etylodeoksyurydyne zamiast tymidyny.

III. Funkcje enzymatyczne w komórках, w strukturach podkomórkowych oraz in vitro

1. Środkomórkowa lokalizacja enzymów nukleolitycznych

/Prof. dr D. Shugar/

Zapoczątkowano w 1968 roku pracę nad rozniesszeniem fosfodwunasteryaz I i II we frakcjach podkomórkowych wątroby szczura /wspólnie z dr M. Hrecińską z Zakładu Biochemii Ewolucyjnej/ została w 1969 roku znacznie rozszerzona, sakończona i oddana do druku. Potwierdza ona między innymi wyniki uzyskane poprzednio metodami cytochemicznymi.

Opracowano uproszczoną metodę syntezy - naftylo fosforanu-3'-urydyny, substratu niezbędnego do badania swoistości rybonukleaz. Zgodnie z planem rozpoczęto pracę nad lokalizacją enzymów nukleolitycznych w materiale roślinnym. Stwierdzono występowanie enzymów hydrolizujących zarówno naftylofosforany 3' jak i 5' nukleosydów. Wobec próby bliższej charakterystyki swoistości tych enzymów próbując rozdzielić je za pomocą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym.

Prowadzi się porównawcze badania swoistości rybonukleaz alkalicznych z różnymi nanzadów szczura, przy użyciu serii modelowych substratów.

Opublikowano artykuł przeglądowy na temat zagadnień związanych z lokalizacją i funkcją rybonukleaz.

/publikacje: 700, 745/

Przeprowadzono dodatkowe nie przewidziane planem badania nad przydatnością 5-aklio uracyli i ich nukleosydów jako substratów dla fosforylaz nukleosydów pirymidynowych z wątroby szczura. Przebadano możliwość enzymatycznej syntezy rybosydów i przeprowadzono badania nad rozniesszeniem fosforylaz nukleosydów pirymidynowych we frakcje

subkomórkowych wątroby szczura. Praca w dalszym toku, a część wyników w opracowywaniu.

2. Badanie aparatu oddechowego komórki, zwłaszcza roli i miejsca w nim ubiquinonu

/dr A. Drabikowska, dr M. Erecińska/

W komórkach *Salmonella typhimurium* dominującym chinonem jest ubiquinon zawierający osiem jednostek izoprenowych. Pełni on rolę przenośnika elektronów z substratów na tlen. Związany jest głównie z frakcją membranową /Praca 692/. W komórkach *Salmonella typhimurium* enzymy łańcucha oddechowego są słoalizowane we frakcji membranowej. W skład tych enzymów wchodzi cytochrom b_1 , c , a_1 i a_2 , z których ostatni pełni rolę oksydazy końcowej. Wykazano intensywną aktywność oksydazy zredukowanego NAD.

/publikacje: 692, 675, 705/

3. Biosynteza fosfolipidów in vitro

/Prof. dr T. Korzybski, doc. dr T. Chojański/

Zbadano systemy enzymatyczne przeprowadzające dwa ostatnie etapy biosyntezy fosfolipidów w różnych materiałach biologicznych. Oznaczono stałe kinetyczne i optymalne pH enzymów /cytydyliotransferaz/ kierujących przedostatnim krokiem biosyntezy, mianowicie wytwarzaniem związków o typie cytydynodwufosfoetanolaminy. Enzymy, które wytwarzają tego typu związki różniąc się stopniem metylacji grupy aminowej etanolaminy /braki "0-Me", "1-Me", "2-Me", lub "3-Me" - na azocie/ wykazują wybitne różnice we właściwościach i występowaniu w przyrodzie. Enzym "0-Me" tkanek szczura i grzyba *Neurospora crassa* jest białkiem niejednorodnym /M=40 i 80 tys/. Enzym "1-Me" występujący u *Neurospora* jest enzymem różnym od wszystkich enzymów tej serii. Enzymy "2-Me" i "3-Me" są prawdopodobnie identyczne. Wykazano, że u *Neurospora crassa* lecytyna może narównie powstać przez

przeniesienie grup metylowych z S-adenozylometioniny na kefalinę jak i na drodze mechanizmu cytydynowego. Aktywność enzymów "O-Me" i "3-Me" w różnych tkankach szczura jest różna, w mózgu wybitnie wzrasta w okresie mielinizacji. Stwierdzono znaczną aktywność tego enzymu w oczyszczonym mielinie mózgu szczura.

W analogii do włączenia aminozasad do fosfolipidów, włączanie cukrów do polisacharydów odbywa się w dwóch enzymatycznych etapach. Skoncentrowano się na przemianach aminocukrów. Opracowano chemiczną metodę otrzymywania fosforanów różnych N-acetylowanych heksozamin z ich pięciocotanów.

Aktywność enzymów syntetyzujących nukleotydy pochodne N-acetylowanych cukrów została oznaczona w różnych tkankach szczura, królika i świni.

Największa aktywność enzymu syntetyzującego nukleotydy pochodne N-acetylowanych cukrów stwierdzono w ślinie śliniowej królika; dorównywała one aktywności enzymu prowadzącego do nukleotydu pochodnej glukozy. Oznaczenie masy cząsteczkowej pierwszego z tych enzymów, wynosi ona 40.000. Stwierdzono istotną rolę acetylacji grupy aminowej heksozamin. Nieacetylowane na azocie heksozaminy nie wchodziły w reakcję z UTP. Odpowiednie syntetazy wymagają więc aby substrat aminocukrowy był acetylowany na azocie. Wydzielono syntetazę UDP-galaktozy z grzyba *Aspergillus nidulans*. Enzym ten daje się indukować dodatkiem laktozy do podłoża. Otrzymano mutanty pozbawione tego enzymu.

Uproszczono opracowaną metodę /Chojnacki, Sawicki/ diagnostyczną dla wykrywania błędów genetycznych, powodujących już od wczesnego dzieciństwa ciężkie schorzenie - galaktozemię, której skutkiem można w znacznym stopniu zapobiegać za pomocą diety. Wykazano mianowicie, że w metodzie tej można zastąpić znakowany ^{32}P galaktozo-1-fosforan przez znakowany glukozo-1-fosforan.

/publikacje: 676, 677, 678, 682, 688, 694, 697, 722, 724, 725, 737, 744 i jedna praca bez numeru/

4. Przemiany niebiałkowych związków azotowych w roślinach wyższych

a/ Przemiany intermediatów cyklu ornitynowego i karbamiloasparagianu

/Prof. dr I. Reifer, doc. dr E. Kleczkowski/

Synteza argininy u roślin wyższych.

a. z karbamiloasparagianu i ornityny.

Dla potwierdzenia wcześniej uzyskanych wyników na preparatach z kłosek pszenicy, przeprowadzone również badania z mutantami *Aspergillus nidulans* pozbawionymi zdolności syntezy cytruliny z ornityny i resnących wyłącznie na argininie. /mutanty otrzymane z Zakładu Genetyki IBB PAN/.

Stwierdzono, że dodatek do minimalnej pożywki ornityny i karbamiloasparagianu poprawia znacznie warunki wzrostu tego mutantu. Wyniki te potwierdzają jeszcze raz, obecność nowej drogi syntezy argininy w komórkach roślin.

Stwierdzenie to ma duże znaczenie poznawcze w interpretacji mechanizmu syntezy tak ważnego metabolicznego aminokwasu.

Gabakterystyka kinetyczna syntezy N-karbamiloputrescyny.

Badano kinetyczne własności karbamilotransferazy ornitynowej z roślin i mikroorganizmów. Poza różnicą w specyficzności substratowej /enzym bakteryjny nie karbamyluje putrescyny/ nie stwierdzono zasadniczych różnic we własnościach kinetycznych obu preparatów. Dla obu preparatów wyznaczono c.e.s., który wynosi około 110.000 do 120.000. Dane z literatury mówią o c.e.s. dla enzymu bakteryjnego = 60.000 i dla zwierzęcego = 110.000. Dane powyższe mają znaczenie poznawcze i dają podstawę do badań nad budową centrum aktywnego tego enzymu izolowanego z różnych źródeł.

Biosynteza homoargininy z lizyny.

Kontynuowano badania nad syntezą homoargininy i homocytruliny. Wstępne wyniki wykazują możliwość takiego toru syntezy tego aminokwasu. Aktywność tej przemiany jest jednak bardzo niska. Temat ten zakończono.

Udział mocznika w syntezie związków ureidowych bez udziału ureazy.

Założeniem tych badań jest sprawdzenie, czy i w jakim stopniu mocznik bez udziału ureazy może uczestniczyć w przemieszczaniu azotowej komórki.

Kierunek badań zmierza do wykazania możliwości syntezy karbamidofosforanu z mocznika. Badania rozpoczęte na szczepie drożdży *Torulopsis utilis*, nie zawierającym ureazy rosnącym na moczniku jako jedynym źródle azotu.

Wstępne wyniki wskazują na możliwość występowania w/w mechanizmu. Jest to prawdopodobnie przemiana wielostopniowa.

Wyjaśnienie drogi bezpośredniego włączania mocznika do metabolizmu azotowego będzie miało ogromne znaczenie poznawcze w interpretacji mechanizmów regulacji przemiany azotowej w komórce.

/publikacja: 721/

5. Naturalne inhibitory przemian w tkankach roślinnych

/Prof. dr I. Reifer/

Inhibitor ureazy z liści topoli

Kontynuowano badania nad hamowaniem ureazy przez koinkhibitora. Stwierdzono, że w obecności buforu Tris-80, pH 8,0, 0,006 M preparatu na 1 ml inkubatu hamuje w 100% ureazę. Apoinhibitor nie ma wpływu na hamowanie. W fosfor nie natomiast hamowanie jest uzależnione od obecności apoinhibitora.

-W związku z odejściem do Krakowa Kierownika tematu Prof. dr I. Reifera temat ten zamierza się zakończyć w

I połowie 1970 r. i dalszą kontynuację tej problematyki przekazać Prof. Reiferowi.

Inhibitor arginazy z nasion słonecznika

W dalszych badaniach wykazano, że utlenienie wyisolowanej z nasion słonecznika N-pochodnej kwasu chlorkowego oksydazą tego kwasu prowadzi do utraty aktywności inhibitoryjnej preparatu. Po preinkubacji inhibitora z arginazą /powstania kompleksu enzym-inhibitor/ nie jest on utleniany przez oksydazę. Sugeruje się, że mechanizm działania inhibitora polega na blokowaniu redukujących grup centrum aktywnego enzymu, które są odpowiedzialne za jego aktywność. Wyniki te mają znaczenie poznawcze w wyjaśnieniu mechanizmu działania centrum aktywnego enzymu.

/publikacja 719/

B. GENETYKA

1. Mapa genetyczna *Ascebolus immersus*

/Prof. dr A. Makarewicz/

Temat został zaniechany jako odrębny mapowanie uwzględnia się przy charakterystyce poszczególnych mutantów.

2. Cytogenetyka roślin wyższych

a/ Cytogenetyka rodzaju *Rumex*

/Prof. dr W. Gajewski /

Opracowano i opublikowano wyniki badań nad polimorfizmem autosomów u *Rumex thyrsiflorus*. Stwierdzono, że ilość autosomów zawierających duże odcinki heterochromatynowe jest zmienna u poszczególnych osobników w populacjach.

Opracowano cytologicznie mieszanie *R. tuberosus* x *acetosa*. W pokoleniu F_2 mieszańców stwierdzono występowanie form tetraploidalnych. Ustalono, że u *R. thyrsiflorus*

chromosomy Y decydują o płodności roślin męskich oraz ich liczebności w populacjach.

Zakończono badania nad mechanizmem determinacji płci u *R. bastarda*. Stwierdzono, że mechanizm ten jest pośredni między typem I/A występującym u *R. thraiflorus* a typem I występującym u *R. acetosella*.

/Publikacje: 740, 741, 742, 743, 758, 759, 756/

b/ Stosunki cytogenetyczne między gatunkami
Campanula

/Prof. dr W. Gajewski /

Kontynuowano analizę mieszańców pomiędzy diploidalnymi taksonami *Campanula rotundifolia* L.s.l. Analizowano również mieszańce wsteczne pomiędzy *C. polyantha* Witasak i *C. cheuchzeri* Vill., szczególnie interesujące z punktu widzenia ewolucji ze względu na stwierdzony u nich wysoki procent nie zredukowanego pyłku.

Poważnie zbadano replikację chromosomów jęczmieni. Stwierdzono asynchroniczne replikowanie się odcinków położonych w pobliżu centromeru oraz całego ramienia jednej pary chromosomów.

/Publikacje: 761/

C. MIKROBIOLOGIA

1. Cytologia i cytochemia bakterii

a/ Badania nad składnikami ściany komórkowej bakterii:
immunochemiczne badania *Salmonella*-sero-grupy 48

/Prof. dr E. Mikulaszek /

W pracy tej wykazano, że zawartość kwasów nukleinowych w frakcjach osadowych spada z liczbą precypitowanych frakcji.

Frakcjonowanie osławionowe lepiej nadaje się do izolowania kwaśnych wielocukrów bakterii, aniżeli do usunięcia kwasów nukleinowych z frakcji bakteryjnej bez ultrawierowania.

Badania immunochemiczne pałeczki durowej; stosunki ilościowe cukrowców we frakcjach osławionowych z gładkich i szorstkich pałeczek durowych.

Istotnych różnic w zawartości i stosunku ilościowym badanych cukrów /ramnozy, heksoz i heptoz/ zarówno we frakcjach zawierających kwaśne wielocukry, jak i w tzw. frakcjach nukleoproteidowych, nie udało się wykazać. Przy użyciu techniki osławionowej niektóre cukry, jak ramnoza i heptozy nie ulegają straceniu w znaczniejszej ilości i to niezależnie od ich pozycji w osławionym wielocukrze.

/publikacja: 709/.

D. POZA GŁÓWNYMI KIERUNKAMI PLANU

1. Badania porównawcze nad glikoproteidami krwi i tkanek różnych gatunków zwierząt

/Prof. dr J. Dąbłyńska/

Zakończono badania nad zmianami zachodzącymi w glikoproteidach surowicy kur w okresie wzrostu i niesności. Stwierdzono u kurecząt jednodniówek niski poziom węglowodanów związanych z białkami surowicy w stosunku do dorosłych. W ciągu wzrostu zarówno poziom kwasu sjalinowego, jak i heksoz podnosił się, zmiany jednak nie przebiegały równolegle, w związku z czym stosunek wzajemny obu węglowodanów ulegał zmianom. W okresie maksymalnej niesności występował wzrost badanych cukrowców. Istota kwasu sjalinowego nie ulegała zmianom w w/w stanach fizjologicznych.

Stwierdzono także duże zmiany w poziomie kwasu sjalinowego i heksoz związanych z glikoproteidami surowicy kur w różnych schorzeniach.

Bardzo wysoki poziom badanych węglowodanów występował w wansowanej gruźlicy i chorobach nowotworowych. Zauważono również zmiany w rozdziale elektroforetycznych frakcji glikoproteidowych w porównaniu z zachowaniem się ich w grupie kontrolnej, tj. u osobników zdrowych, dojrziałych fizycznie.

U noworodków zbadanych gatunków gryzoni, tj. królik, myszy, świnek morskich, stwierdzono duże obniżenie poziomu kw. sialinowego i heksoz związanych z glikoproteidami całkowitymi surowicy, oraz wzrost wymienionych węglowodanów w okresie ciąży w porównaniu z grupą kontrolną, osobników fizycznie dojrziałych. Wyraźnie zmiany występowały również w rozdziale elektroforetycznych frakcji glikoproteidowych w/w stanach fizjologicznych w porównaniu z grupą kontrolną.

/publikacja: 708/.

2. Endokrynologia owadów

/Prof. dr J. Heller, doc. dr M.J. Piechowska/

Rozmieszczenie hydrolaz w tkankach owadów w czasie rozwoju osobniczego; metabolizm i cytologia gruczołów dokrewnych owadów.

Opracowano metodykę izolacji hormonu linienia - ecdysonu z gąsienic *Celerio euphorbiae*. Wykazano, że aktywność amylazy w tkankach *Celerio euphorbiae* jest skorelowana ze stanem aktywności hormonalnej. W okresach rozwoju sterowanych przez hormon juvenilny amylaza wzrasta gwałtownie, maleje natomiast w okresach aktywności ecdysonu. Pół mikrograma ecdysonu izolowanego z ciała owadów w kilka godzin po wstrzyknięciu gąsienicom powodowało średnio spadek aktywności amylazy do połowy pierwotnego poziomu.

Zbadano również zmiany aktywności oksydazy cytochromowej w zależności od stadium rozwojowego.

Stwierdzono wysokie aktywności w okresach charakteryzujących się narastaniem hormonu juvenilnego. Wykryto w hemolimfie obecność nieznanego peptydu złożonego z tyrozyny, kwasu glutaminowego i metioniny. Peptyd ten pojawia się dopiero w późnych okresach gąsienicy, wykazać go można u poczwarki, później zanika.

Sprawozdanie z działalności IBS PAN w zakresie kształcenia i doskonalenia kadr

I. Ilość studentów naukowych /doktorów i doktorów habilitowanego/ uczących w roku 1969

Przez:

	Nazwisko i imię	Stopień naukowy	Doktorant uczący się w IBS	Dyscyplina	Specjalność	Stypendium PAN od - do	Miejsce zatrudnienia
1. Pracowników IBS	Pasient Jadwiga	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	
	Krajewska Krystyna	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	
	Kędziora Barbara	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	1.XI.68 - 31.X.69	
	Cieślak Zygmunt	dr	Akad. Med.	medycyna	chem. Fizjol.	1.I.69 - 31.X.69	
	Jasion Celina	dr. habilit.	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	1.XI.68 - 31.X.69	
2. Uczestników studium doktorskigo w IBS	Hay Małgorzata	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia		
3. Osoby nie zatrudnione w PAN	Paśk Lidia	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	Instytut Antybiotyków
	Świechrowski Marek	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	Instytut Onkologii

Sprawozdanie z działalności IBS PAN w zakresie kształcenia i doskonalenia kadr

I. Ilość studentów naukowych /doktorów i doktorów habilitowanego/ uczących w roku 1969

przez:

	Nazwisko i imię	Stopień naukowy	Doktorant uczącemu w:	Dyscyplina	Specjalność	Stypendium PAN od - do	Miejsce zatrudnienia
1. Pracowników IBS	Pasent Jadwiga	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	
	Krajewska Erykta	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	
	Kędziora Barbara	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	1.XI.68 - 31.X.69	
	Cieśla Zygmunt	dr	Akad. Med.	medycyna	chem. fizjol.	1.I.69 - 31.X.69	
	Jasion Celina	dr. habil.	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	1.XI.68 - 31.X.69	
2. Uczestników studium doktorskigo w IBS	Hay Małgorzata	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia		
3. Osoby nie zatrudnione w PAN	Paśk Lidia	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	Instytut Antybiotyków
	Świerkowski Marek	dr	IBS PAN	nauk. przyrod.	biochemia	-	Instytut Onkologii

II. Ilość stypendiów doktorskich i habilitacyjnych udzielonych przez placówkę w 1969 r.

	Lp.	Nazwisko i imię	Stanowisko	Dyscyplina	Specjalność	Ilość miesięcy
1. Pracownicy własni IBB	1	Janion Celina	adiunkt	nauk. przyrodn.	biochemia	10
	2	Sierakowska Halina	adiunkt	nauk. przyrodn.	biochemia	4
	3	Żuk Józef	adiunkt	nauk. przyrodn.	biochemia	4
	4	Ferzyński Stanisław	st. asyst.	nauk. przyrodn.	biochemia	3
	5	Wielgat Bernard	st. asyst.	nauk. przyrodn.	biochemia	9
	6	Kędzierska Barbara	st. asyst.	nauk. przyrodn.	biochemia	10
	7	Guzelak Krystyna	st. asyst.	nauk. przyrodn.	biochemia	12
	8	Cieśla Zygmunt	st. asyst.	medycyna	chem. fizjol.	10
	9	Radomska-Hyrek A.	st. asyst.	nauk. przyrodn.	biochemia	12
	10	Biliński Tomasz	st. asyst.	nauk. przyrodn.	biochemia	4
	11	Wolkowiak Hanna	asystent	nauk. przyrodn.	biochemia	10
2. Osoby nie zatrudnione w IBB	Nie otrzymywały stypendiów PAN					

Spółród pracowników IBB pobierających stypendia doktorskie w 1969 r. doktorat uzyskały 2 osoby

" " " " " habilitacyjne w 1969 r. stopień doktora habil. uzyskała 1 osoba

III. Liczba pracowników skierowanych w 1969 r. na krajowy staż naukowy do innych jednostek PAN lub poza PAN

Pracownicy IBB nie przebywali na stażach poza instytutem.

Liczba osób niezatrudnionych w IBB, odbywających w IBB w okresie sprawozdawczym staż naukowy

1 osoba	Katedra Biochemii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej, Lublin
1 osoba	Katedra Fizjologii Zwierząt SGGW Warszawa
3 osoby	Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec
1 osoba	Katedra Biochemii SGGW Warszawa
1 osoba	Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego PAN, Warszawa
1 osoba	Instytut Matki i Dziecka, Warszawa
1 osoba	Instytut Hematologii, Warszawa
1 osoba	Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław

Razem 10 osób

IV. Liczba studentów szkół wyższych, którzy odbywali praktyki wakacyjne w IBB PAN w roku 1969

Zakład Biochemii Roślin	- 2 studentów
Zakład Biosyntezy Białka	- 2 "
Zakład Biochemii Drożdżowej	- 2 "
Zakład Bioch. Porównawczej	- 1 "
Zakład Biofizyki	- 2 "

Razem 9 studentów

V. Pracownicy Instytutu prowadzili wykłady i ćwiczenia z genetyki, biochemii oraz biofizyki dla studentów wydziałów biologii i fizyki Uniwersytetu Warszawskiego. Kilku pracowników uczestniczyło również w zajęciach seminaryjnych, organizacji specjalnych ćwiczeń oraz w prowadzeniu prac magisterskich dla studentów w/w specjalności.

Sprawozdanie ze współpracy naukowej z zagranicą
w roku 1969A. Współpraca w ramach międzynarodowych programów
badawczych1. Plan współpracy naukowo-technicznej EWPG na lata
1968 - 69

W badaniach tych brały udział placówki naukowe
Bulgarii, NRD, Rumunii, Węgier, ZSRR oraz Instytut Biochemii
i Biofizyki.

Współpraca dotyczyła problemu "Białka i peptydy" /VIII.1.5.
W planie badań naszego Instytutu problematyka ta wiąże
się z problemem I. "Biosynteza białka i kwasy nukleinowe",
temat 1. "Biosynteza białka in vitro".

Badania mają charakter długofalowy. Ich celem jest
pogłębienie wiedzy o procesie biosyntezy białka. Współpraca
umożliwiła wymianę informacji o nowych osiągnięciach
współpracujących jednostek oraz ich dyskusję. W ramach
współpracy odbyło się sympozjum /Halle, NRD, maj 1969/,
w którym wzięło udział dwóch pracowników Instytutu Bio-
chemii i Biofizyki.

Podstawową trudnością jest nieodpowiednie organizowanie
wyjazdów na szkoły letnie i sympozja, organizowane w
ramach tego problemu przez EWPG, a przez to zbyt szczupły
udział przedstawicieli z Polski w porównaniu z innymi
krajami EWPG.

W okresie sprawozdawczym przedstawiciele Instytutu
dwukrotnie uczestniczyli w naradach ekspertów EWPG
/Berlin, lipiec i Moskwa, listopad/ poświęconych podjęciu
współpracy w zakresie problemu "Biofizyka". Zgłoszone
do planu współpracy w tej dziedzinie na lata 1970 do
1975 dwa tematy figurujące w planie badań Instytutu
/X.2, 3, 4/.

2. Współpraca Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN
z Institut de Genetique Moleculaire du C.N.R.S.,
Francja.

Współpraca odbywa się w ramach umowy między PAN a CNRS.
Plan współpracy obejmuje pozycję Planu Badań naszego Instytutu
II.2. - Regulacja metabolizmu drobnoustrojów.

W ramach współpracy jeden z pracowników Instytutu odbył
jednoroczny staż naukowy w Institut de Genetique Moleculaire.
Wymiana stażów krótkoterminowych obejmowała wyjazd jednej osoby
do Francji oraz przyjazd dwu osób z Francji do Polski. Wygłoszono
oni /Prof. P. Słonimski i dr H. Fukuwara/ referaty oraz odbyły się
szczegółowe dyskusje we wszystkich zakładach Instytutu nad
bieżącym badaniem objętym współpracą.

Korzyści ze współpracy polegają na unowocześnieniu metod
badawczych. W realizacji programu badań nie napotkano na trudności
formalne.

3. Współpraca w ramach komisji kwasów nukleinowych Akad.
Nauk krajów socjalistycznych. /problem 1. "Biosynteza
białka i kwasy nukleinowe", zwłaszcza temat 2. "Kwas
nukleinowe"/.

Współpraca polega na wymianie informacji naukowej przekazywanej
korespondencyjnie oraz drogą wymiany pracowników. Przewodniczący
Instytutu reprezentował komisję kwasów nukleinowych na
okresowej naradzie Komitetu Koordynacyjnego w Bukareszcie.
Przygotowano informacje o tematyce badawczej większych placówek
krajowych w dziedzinie kwasów nukleinowych i przekazane sekretar-
iatowi Komisji Koordynacyjnej w celu rozpowszechnienia poprzez
wydawany przez nią biuletyn.

B. Przyjazdy i wyjazdy za granicę /łącznie z konferencjami
i zjazdami/, poza stypendiami długoterminowymi ponad
trzy miesiące.

1. Przyjazdy

na okres 3-14 dni

na okres 2-4 tygodnie

11 osób w tym

6 z Krajów Socjalistycznych

8 osób w tym

7 z Krajów Socjalistycznych

na okres 1-3 miesięcy	1 osoba	z Kraju Socjalistycznego
na okres 6 miesięcy	2 osoby	z Krajów Socjalistycznych
Łącznie	24 osoby w tym 16 z Krajów Socjalistycznych	

Program dużej części przyjazdów krótkoterminowych /3-14 dni/ obejmował wygłoszenie wykładów, wzajemne konsultacje i omawianie współpracy naukowej z wybitnymi specjalistami w dziedzinach naukowych reprezentowanych przez Instytut. Gośćmi Instytutu byli m.in. Prof. Prof. E.J. Staba /rektor Uniwersytetu Minnesota/, L.R. Nardaszew - v-prezes AN Medycznych ZSRR, L. Fowden - Uniwersytet Londyński, D.W. Liebfiedew - Instytut Botaniki w Leningradzie, P. Słonimski - Instytut Genetyki Molekularnej CBMS, Francja, C.D. Reese - Uniwersytet Cambridge, Anglia, E.J. Budowski - Instytut Chemii Związków Naturalnych AN ZSRR, Moskwa.

Programy dłuższych pobytów związane były z reguły z odbyciem stażów naukowych w różnych laboratoriach Instytutu w celu zapoznania się z metodyką pracy, wykonaniem wspólnych badań itp. Problematyka naukowa dużej części stażów odbytych przez naukowców z krajów socjalistycznych pokrywała się z programami współpracy RWPG i Komisji Kwestii Nukleinowych Akademii Nauk krajów socjalistycznych.

2. Wyjazdy

W okresie sprawozdawczym wyjeżdżało z Instytutu za granicę łącznie 31 osób. W tym:

na okres 3-10 dni	8 osób	w tym 5 do Krajów Socjalistycznych
na okres 11-30 dni	11 osób	w tym 8 do Krajów Socjalistycznych
na okres 31 dni-3 mies.	6 osób	w tym 1 do Kraju Socjalistycznego

Problematyka wyjazdów kształtowała się następująco. 13 osób wzięło czynny udział w międzynarodowych zjazdach i sympozjach wygłaszając referaty i przewodnicząc w dwu przypadkach obradom sesji naukowych:

XI Międzynarodowy Kongres Botaniczny, Seattle, USA	- 1 osoba
V Międzynarodowa Konferencja Endokrynologii Porównawczej w Utrechcie, Holandia	- 1 osoba
VI Zjazd Europejskich Towarzystw Biochemicznych, Madryt, Hiszpania	- 3 osoby
Zjazd Towarzystwa Biochemicznego ZSRR, Taszkient	- 1 osoba
II Międzynarodowy Zjazd Towarzystwa Neurochemicznego, Mediolan	- 1 osoba
Symposium "Chemia i mechanizm działania koenzymów", Moskwa	- 1 osoba
Symposium "Chemia składników kwasów nukleinowych" Libice, USSR	- 2 osoby
Symposium "Molekularne mechanizmy rekombinacji genetycznych i drobnoustrojów" Lunteren i/Utrechtu, Holandia	- 2 osoby
Symposium "Cząsteczki biologiczne w stanach wzbudzonych", Arden House, N.Y., USA	- 1 osoba

Osterej pracownicy Instytutu wygłosili szereg wykładów na Uniwersytetach w Kanadzie i USA.

Trzy osoby uczestniczyły w kursach szkoleniowych:

- "Frakcjonowanie kwasów nukleinowych", Sofia, organizator Bułgarska Akademia Nauk.
- "Hybrydyzacja DNA-RNA", Neapol, organizator Międzynarodowa Organizacja Badań Komórki /ICRO/.
- "Struktura i funkcje błon komórkowych" - Rochester University, USA.

Pracownicy Instytutu wzięli ponadto udział w pracach dotyczących organizacji międzynarodowej współpracy naukowej uczestnicząc w dwu kolejnych spotkaniach ekspertów RWPG w dziedzinie badań biofizycznych /Berlin, Moskwa/, w posiedzeniu Komitetu Koordynacyjnego Akademii Nauk krajów socjalistycznych dla badań w dziedzinie kwasów nukleinowych /Bukareszt/ oraz posiedzeniu Międzynarodowej Organizacji Zdrowia poświęconemu programowi badań radiobiologicznych /Genewa/.

Większość krótkoterminowych wyjazdów mających na celu zapoznanie się z metodami pracy pokrewnych tematycznie laboratoriów, wykonanie określonych doświadczeń na niedostępnej w kraju aparaturze itp. zrealizowano w ramach między- państwowych umów o wymianie i współpracy naukowej. I tak dwie osoby pracowały /2 i 4 miesiące/ w Międzynarodowym Laboratorium Genetycznym i Biofizycznym w Neapolu /stypendia rządu włoskiego/, zapoznając się ze współczesnymi metodami biochemii genetycznej oraz otrzymywanie i oczyszczanie kwasów nukleinowych, jedna osoba odbyła dwumiesięczny staż naukowy w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu w Glasgow /stypendium British Council/, wybitnym ośrodku badań nad kwasami nukleinowymi. W ramach bezdeklarowanej wymiany pomiędzy akademiami krajów socjalistycznych zrealizowano pobyty w następujących ośrodkach:

- Instytut Biochemii Węgierskiej Akademii Nauk, Budapeszt /mechanizmy regulacji biosyntezy białek/
- Instytut Biologii Molekularnej AN ZSRR, Moskwa /pomiar czasu życia stanów wzbudzonych cząsteczek biologicznych/.
- Instytut Mikrobiologii i Doświadczalnej Terapii NAW w Jenie /biofizyka i biochemia kwasów nukleinowych/.
- Instytut Chemii Organicznej i Biochemii AN CSSR, Praga /białkowe inhibitory trypsyny/.

- Instytut Biochemii Roślin PAN, Halle
/przemiana aminokwasów i kwasów nukleinowych u roślin/
- Instytut Entomologii AN CSSR, Praga oraz Instytut
Doświadczalnej Fitopatologii i Entymologii Słowackie
AN /histochemiczne i fizjologiczne metody badania
rozwoju owadów/.
- Instytut Genetyki AN ZSRR
/mechanizmy rekombinacji genetycznych/.
- Instytut Biochemii im Bacha AN ZSRR, Moskwa
/przemiana azotowa u roślin/.

Wszystkie wyjazdy związane były z problematyką zawartą w planach badawczych Instytutu. Wyjątkowo ożywiona i wielostronna wymiana naukowa w okresie sprawozdawczym poważnie przyczyniła się do ogólnego podniesienia poziomu prac naukowych oraz fachowych kwalifikacji pracowników naukowych Instytutu.

Ad. C. Wypraw naukowych nie było.

Ad. D. Funkcje pełnione w organizacjach międzynarodowych
Prof. J. Heller - V-przewodniczący Międzynarodowej Unii Biochemicznej od 1967 roku do chwili obecnej, członek redakcji czasopisma Life Sciences.

Prof. W. Gajewski - członek Administrative Councils Section of Genetics Międzynarodowa Unia Towarzystw Biologicznych /IUBG/, członek redakcji czasopisma Molecular and General Genetics.

Prof. D. Shugar - członek redakcji czasopism naukowych European Journal of Biochemistry, Photochemistry and Photobiology, Biochimica et Biophysica.

Instytut Biochemii
i Biofizyki PAN

Nowe urządzenia opracowane w 1969 roku

1. Mieszadło wirowe typ MW-1

1/ Znajduje zastosowanie we wszystkich pracowniach biologicznych, biochemicznych, chemicznych, fizykochemicznych, klinikach przyślabkowych i klinikach szpitalnych.

Służy do mieszania roztworów w próbkach szklanych

2/ Wymiary: wysokość 130 mm
szerokość 150 mm
długość 170 mm
waga 3 kg

zasilanie prądem zmiennym 220 V 50 Hz.

moc pobierana 50 W

amplituda wirowania około 2800/min.

max objętość płynu mieszanego około 4 cm³

3/ Seria próbna 30 szt.

4/ Cena jednego egzemplarza około 1.000 zł i wykonano w warsztatach mechanicznych przy IBB PAN

Cena rynkowa jednego egzemplarza około 50 dolarów.

5/ Możliwość przekazania dokumentacji innym jednostkom.

2. Automatyczny rejestrator absorpcji UV dla chromatografii na kolumnach poliakrylamidowych

1/ Znajduje zastosowanie w pracowniach biochemicznych, biologicznych, fizykochemicznych, chemicznych itp. i służy rejestracji absorpcji keli poliakrylamidowych w ultrafioletowym zakresie widma.

- 2/ Wymiary 360 x 500 x 180 mm
waga około 10 kg
zakres pomiarowy absorpcji od 0 do 100 % w 2-ech podzakresach
zakres pomiarowy w UV 260 i 280 nm
zasilanie prądem zmiennym 220 V 50 Hz
moc pobierana z sieci około 120 W

3/ Praca przy prototypie.

- 4/ Pokrycie potrzeb Instytutu - 3 - 4 egzemplarze.
Możliwość przekazania dokumentacji innym jednostkom

5. Automatyczny rejestrator absorpcji w UV w wysiękach z kolumn chromatograficznych.

- 1/ Znajduje zastosowanie w pracowniach biochemicznych, biologicznych, fizykochemicznych, chemicznych i służy do współpracy z kolektorem frakcji chromatografii kolumnowej przy rejestracji absorpcji w ultrafiolecie zakresie.

- 2/ Wymiary 330 x 300 x 130 mm
waga około 8 kg
zakres pomiarowy absorpcji od 0 do 100 % w 2-ech podzakresach
zakres pomiarowy w UV 200 i 280 nm
zasilanie prądem zmiennym 220 V 50 Hz
moc pobierana z sieci około 80 W.

3/ Praca przy prototypie

- 6/ Pokrycie zapotrzebowania wewnętrznego Instytutu 10 szt.
Możliwość przekazania dokumentacji innym jednostkom.

4. Zasilacz do lampy ksenonowej

- 1/ Znajduje zastosowanie w pracowniach biochemicznych, biologicznych, chemicznych, fizykochemicznych i służy do napłonu i zasilania lampy ksenonowej o mocy do 200

2/ wymiary 505 x 220 x 350 mm

waga 40 kg

zasilanie prądem zmiennym 220 V 50 Hz

moc pobierana z sieci około 400 W

napięcie wyjściowe bez obciążenia 180 V

napięcie z obciążeniem około 19 V

max prąd obciążenia 10 A

wstępne napięcie zapłonu lampy około 25 kV.

3/ Wykonano prototyp 1 szt.

5/ Cena jednego egzemplarza wykonanego w warunkach warsztatowych IBB około 12.000 zł.

6/ Zapotrzebowanie: pojedyncze egzemplarze.

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN

KONSULTACJE NAUKOWE

udzielone w 1969 r.

Określenie konsultacji	Odbiorca/oy/	Uwagi
2	3	4
Metody izolacji i oznaczenie aktywności enzymów	Katedra Fizjolog. Zwierząt SGGW	ciągła VIII-XII
Chromatografia kolumnowa białek	Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt	ciągła II-VII
Przemiana aminokwasów i szkolenie w korzystaniu ze spektrofotometru	Centr. Labor. Przem. Spoż. Min. Roln.	ciągła I-IV VIII-XII
Synteza analogów pirymidyn, polinukleotydów oraz badania konformacyjne	Pracow. Biochemii, Zakład Radiobiol. Instytutu Onkologii	ciągła I-XII
Badania stanów wzbudzonych kwasów nukleinowych	Katedra Biofizyki UW	ciągła I-XII
Badania oddziaływań międzycząsteczkowych pomiędzy purynami i pirymidynami	- " -	ciągła I-XII
Merytoryczna ocena programów badawczych placówek naukowych zgłaszających swój udział w badaniach objętych problemem węzłowym 09.5.1 "Biosynteza białka i kwasy nukleinowe"	40 placówek naukowych, władze PAN	ciągła X-XII
Merytoryczna ocena programów badawczych placówek naukowych zgłaszających swój udział w badaniach objętych problemem węzłowym 09.5.2. "Informacja genetyczna"	31 placówek naukowych, władze PAN	ciągła X-XII
Frakcjonowanie i badanie budowy peptydów hydrolizatów żelatyny /badania nad mechanizmami uczulania emulsji fotograficznych w procesie dojrzewania/	Zakłady FOTON Warszawa	ciągła XI-XII

Załącznik nr 8

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN

KURSY, KONFERENCJE ORAZ SEMINARIA SPECJALISTYCZNE
I SZKOLENIOWE
organizowane w 1969 r.

1	2	Liczba uczestników		5
		Ogółem	w tym spoza PAN	
1	Konferencja robocza "Kwasy nukleinowe i biosynteza białek" w ramach IV spot- kania Naukowego Zakładu Biologii Nowotworów Instytutu Onkologii, Gli- wice	20	15	Czas trwania 1 dzień /charak- ter specja- lizacyj- ny/

SPRAWOZDANIE

z wykonywania etatów i środków budżetowych
na tematy finansowane przedmiotowo z budżetu 1969 r.

A. Część finansowa

Lp.	Temat	Poniesione w 1969r. koszty na temat	Liczba osób pracujących przy temacie	Wydatki z fund. pań. § 10	Wydatki z budż. pań. § 11	Wydatki pozostałe	Razem
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Opracowania: wykonanie automatyzowanego rejestrowania absorpcji w UV. Kierownik tematu: R. Szubiński	a/ ogółem z budżetu państwa b/ w tym ze środków dodatkowych	5 3	10.203 6.603	10.000 10.000	20.000 10.000	40.203 26.603
2	Oddziaływanie międzycząsteczkowe między zasadami purynowymi i pirymidynowymi: równowagi asocjacyjne w roztworach, charakterystyka specyficznych wiązań wodorowych, oddziaływań van der Waalsowskich, termodynamika. Kierownik tematu: dr habil. K.L. Wierzbowski	a/ ogółem z budżetu państwa b/ w tym ze środków dodatkowych	6 3	94.376 27.956	30.000 50.000	123.580 50.000	297.956 87.956
3	Regulacja podziału komórkowego. Kierownik tematu: dr habil. Tadeusz Kłopotowski	a/ ogółem z budżetu państwa b/ w tym ze środków dodatkowych	6,5 3	165.000 8.374	30.000 13.650	45.000 14.980	240.000 36.604
4	Mechanizm wykonywania meosnika przez organizmy nie posiadające ureazy Kierownik tematu: dr habil. K. Kleczkowski	a/ ogółem z budżetu państwa b/ w tym ze środków dodatkowych	2 pr.nauk. 1 pr.techn. 2 pr.nauk. 1 pr.techn. 1 pom.lab.	61.600 5.000	- 9.880	48.400 7.000	110.000 21.880

1	2	3	4	5	6	7	8
5	Genetyczne mechanizmy regulacji komórkowych w metabolizmie kwasów nukleinowych i ich składowych.	a/ ogłoszeń z budżetu placówki	27	337.500	-	225.000	562.500
		b/ w tym ze środków dodatkowych	4 staty 29 prac. 2lec.	44.486	115.580	100.000	260.066
	Kierownik tematu:						
	prof. dr						
	T. Kowczyński						

Przy w/w temacie z budżetu Instytutu było zatrudnionych 27 osób przez okres 5 miesięcy. Wydatki zostały wyliczone w punkcie a/ na sumę zł 562.500 - przyjmując na jedną osobę przez okres całego roku 100.000.- wyliczając procentowo na fundusz płac 30%, na wydatki pozostałe 20%.

Przy pracach ze środków dodatkowych z funduszu płac było zatrudnionych 2 osoby na funduszu pełnozatrudnionych 1.350.- x 7 mies. = 9.450.-

2.630.- x 7 mies. = 18.410.-

2 osoby z funduszu niepełnozatrudnionego

13.250.-

3.736.-

44.486.-

Z funduszu płac bezosobowego zatrudniono

27 pracowników własnych w godz. pomiaru 112.850.-

2 " obcych

2.730.-

115.580.-

Wydatki pozostałe zostały wykonane z § 21 na różne drobne zakupy na pomoce naukowe

zł 18.352.-

na mikropipety do chromatografii

" 9.000.-

na pipety

" 21.760.-

na próbki wirowane i mieszane

" 8.416.-

na odczynniki izotopowe

" 42.472.-

zł 100.000.-

przeznane kredyty w § 31 w wysokości zł 30.000.- zostały wykorzystane przez budżet Instytutu. Dotyczyło wydatków na konserwację aparatury, remont aparatury, pranie fartuchów oraz reperacje i inne wydatki z tego paragrafu, które figuruje w ogólnych wydatkach Instytutu.

UWAGA: dotycząca przyznanej kwoty zł 40.000.- na § 10, dla niepełnozatrudnionych.

Przyznana na § 10 dla niepełnozatrudnionych kwota zł 40.000.- składała się

z przyznanych od 1.VI.1969 r. 10.000.- zł

od stycznia 1969 r. 30.000.- zł

Kwota 30.000.- zł nie mogła być w całości wydatkowana, ponieważ już od września 69 r. obowiązuje Instytut przepis o limitowaniu płac, a suma ta w stosunku miesięcznym stanowiła limit zł 2.500.- i nie mogła zostać przekroczona.

Temat Nr 1: Wykonanie automatycznego rejestratora
absorpcji w UV.

Kierownik tematu: R. Szubiński

W okresie tym opracowano i wykonano włącznie z rys. roboczymi i technicznymi:

- wzmacniacz tranzystorowy na testowej podstawie z wyjściem dostosowanym do polskiego serwomotoru,
- kufkę i obudowę defektora nadfioletowego wiarna,
- wielobiegową przekładnię mechaniczną do przesuwu papieru rejestratora,
- kompletną obudowę z blachy aluminiowej.

Na podstawie w/w prac można przypuszczać, że przy odpowiedniej organizacji i niewielkim dofinansowaniu warsztatów IBB w/w rejestrator jest w pełni wykonalny w naszych warunkach warsztatowych i całkowicie na polskich częściach z wyjątkiem fotokomórek i wysokiej jakości potencjometrów drutowych, które prawdopodobnie trzeba będzie importować, a od których w dużej mierze zależy całość i jakość rejestratora.

R. Szubiński

SPRAWOZDANIE

z wykorzystania etatów i środków budżetowych
na tematy finansowane przedmiotów z budżetu 1969 r.

B. Część opisowa

Temat Nr 2: Oddziaływania międzycząsteczkowe między zasadami purynowymi i pirymidynowymi: równowagi asocjacyjne w roztworach, charakterystyka specyficznych wiązań wodorowych, oddziaływań van der Waalsowskich, termodynamika.

Kierownik tematu: dr habil. K.L. Wierzchowski

W okresie sprawozdawczym prace prowadzone były zasadniczo w dwu kierunkach: a/ zastosowania reakcji dimeryzacji dwuketopirymidyn w roztworach wodnych do wyznaczania stałych asocjacji warstwowej oraz wzajemnej orientacji cząsteczek w kompleksach, b/ badania specyficznych oddziaływań asocjacyjnych pomiędzy zasadami purynowymi i pirymidynowymi w rozpuszczalnikach niepolarnych przy pomocy spektroskopii podczerwonej. Przesłanką zastosowania metod fotochemicznych do badania asocjacji warstwowych w roztworach wodnych było wykazanie w naszym laboratorium /R. Lisewski i K.L. Wierzchowski, Van der Waals stacking and photodimerization of 1,5-dimethylthymine in water, Chem. Comm. 1969, 861/, że reakcja dimeryzacji dwuketopirymidyn zachodzi w tych warunkach przede wszystkim poprzez warstwowe asocjaty oraz, że postać stereochemiczna powstających dimerów zależy od orientacji wzajemnej cząsteczek w kompleksie. W okresie sprawozdawczym podjęto prace zmierzające do charakterystyki równowag asocjacyjnych w roztworach dwu dalszych modelowych związków -1- metylobyminy oraz 1,3-dwumetylouracylu. W tym celu otrzymano na skalę preparatywną wszystkie 4 stereoizomery dimeru 1-metylobyminy, zidentyfikowano je metodami spektroskopowymi i chemicznymi, opracowano metody chromatograficznego rozdzielania. Wykonano również syntezę O^{14} -1-metylobyminy i opracowano warunki autoradiograficznej detekcji i ilościowego oznaczania mikrogramowych ilości dimerów na chromatogramach. Pod koniec okresu sprawozdawczego przystąpiono do właściwych doświadczeń polegających na

pomiarach wydajności kwantowych powstawania poszczególnych dimerów w zależności od stężenia roztworu i określania dystrybucji fotoproduktu między 4 stereoisomery. Wykonano poza tym syntezę C^{14} -dwumetylouracylu i podjęto doświadczenia zmierzające do opracowania warunków chromatograficznego rozdzielania fotoproduktów. Od 1.X.69 r. zatrudniono nowego pracownika naukowego powierzając mu opanowanie metod niezależnego wyznaczania stałych asocjacji warstwowej w roztworach wodnych przy pomocy pomiarów hydrodynamicznych i osmotycznych.

W zakresie badań specyficznych asocjacji poprzez wiązania wodorowe pomiędzy zasadami purynowymi i pirymidynowymi w rozpuszczalnikach niepolarnych opanowano eksperymentalnie metodę wyznaczania stałych asocjacji przy pomocy spektroskopii w podczerwieni. Metodą tą badane były autoasocjacje czystych związków i asocjacje w roztworach dwuskładnikowych 9-etyloadeniny oraz 5-chloro- i 5-bromo-1-cykloheksylouracylu. Wyznaczone parametry termodynamiczne badanych równowag, stwierdzono wzrost stałych asocjacji ze spadkiem polarności rozpuszczalnika oraz w wyniku podstawienia do pierścienia uracylu atomów chloru i bromu. Prace te były prowadzone przy współpracy Katedry Biofizyki UW.

dr habil. K.L. Wierschowski

Temat Nr 3: Regulacja podziału komórkowego Salmonella typhimurium

Kierownik tematu: dr habil. T. Kłopotowski

Celem pracy jest poznanie czynników i mechanizmów regulujących przebieg podziału komórkowego u *S. typhimurium*.

Podstawowa metoda pracy jest izolacją mutantów, wykazujących zaburzenie procesu podziałowego, ich genetyczna charakterystyka, badanie własności fizjologicznych i biochemicznych. Z danych tych wnioskuje się o naturze czynnika kodowanego przez zidentyfikowany gen i jego udział w procesie podziału komórkowego.

W okresie sprawozdawczym wprowadzono szereg nowych technik, takich jak izolacja mutantów nadwrażliwych na temperaturę, izolacja mutantów beztryminowych przy użyciu trójmetaprymu /jest to niezbędne dla badania kinetyki biosyntezy DNA/, barwienie jąder komórkowych metodą Piéchaud oraz testy dominacji.

Ważniejsze wyniki:

1. Izolacja mutantów

- a/ Wyizolowano 30 mutantów wrażliwych na temperaturę. W trakcie są doświadczenia mające na celu stwierdzenie, które z nich wykazuje zmiany w procesie biosyntezy DNA.
- b/ Uzyskano mutacje thy⁻ w szeregu szczepów wykazujących zaburzenie podziału komórkowego.
- c/ Poraz pierwszy wyizolowano mutacje wtórne w szczepie wrkA1, normalizujące przebieg podziału komórkowego.
- d/ Uzyskano mutanty aziA wykazujące defekt podziału komórkowego w nieobecności azydku.
- e/ Uzyskano mutant o zaburzeniu podziału komórkowego oraz procesu racemizacji D-histydyny.

2. Charakterystyka mutantów

- a/ Uzyskano dane, świadczące, że gen wrkB znajduje się na chromosomie między genami aroD i purC. Trwają doświadczenia, mające na celu ustalenie czy przypadkowo wykryta u mutantu wrkB4 oporność na triazol jest wynikiem mutacji w genie wrkB.
- b/ Badanie mutantów azia wykazały, że dzięki mutacji stały się one nadwrażliwe na temperaturę. Świadczy to, iż produkt genu azia ma funkcję niezbędną dla wzrostu bakterii, a mutacje zmieniające jego własności w kierunku azydkooporności nie mogą polegać na destrukcji produktu. Wykazano również, że mutacje azia mają charakter recesywny. Choć większość mutantów azia i aziaazib nie wykazuje defektu podziału komórkowego, badania te należą do tematu, ze względu na zdolność azydu do fenotypowego zaburzenia procesu podziałowego.

W planie badań nad tym tematem na rok 1970 przewiduje się badanie biosyntezy DNA u przygotowanych już do tego celu mutantów, badanie rozpadu DNA oraz badania morfologiczne przy użyciu mikroskopu elektronowego. Zasadniczym celem do osiągnięcia w roku 1970 będzie rozstrzygnięcie, czy defekty podziału u poszczególnych klas mutantów są wynikiem defektywnej replikacji DNA czy też zaburzeń w tworzeniu sept komórkowych.

Dr habil. T. Kłopotowski

Temat Nr 4: Mechanizm wykorzystania mocznika przez organizmy nie zawierające ureazy.

Kierownik tematu: dr habil. K. Kleczkowski

Materiałem badawczym były drożdże *Torulopsis utilis*, nie zawierające ureazy.

Wyniki uzyskane w okresie sprawozdawczym są bardzo zachęcające. Po opracowaniu metody otrzymywania preparatu enzymatycznego /układ bardzo labilny/, oraz odpowiedniego testu do oznaczania produktów reakcji, przystąpiono do zbadania zapotrzebowania układu na składniki mieszaniny inkubacyjnej.

Wykazano, że w badanym układzie w obecności mocznika, ATP i 3-fosfoglicerynianu syntetyzuje się nieznany ureidoposytywny związek, nie będący mocznikiem. Dodanie do układu ornityny i karbamoilotransferazy ornitynowej zwiększa badaną syntezę o 5 - 10%, co wskazuje na to, że część syntetyzowanego produktu stanowi karbamoilofosforan. Na podstawie tych danych można przypuszczać, że jednym z produktów badanej przemiany /być może końcowym/ jest karbamoilofosforan, który może powstawać nieznana dotąd drogą z mocznika poprzez szereg produktów pośrednich.

Wstępne wyniki tych badań referowano na VII Zjeździe P.T.Bioch. we Wrocławiu i skrót komunikatu ogłoszono w materiałach Zjazdu.

Zadania na najbliższy rok są następujące:

- a/ wyizolowanie i identyfikacja produktu, względnie produktów otrzymywanych dotychczasową metodą,
- b/ jeśli badana przemiana okaże się wielostopniową, podejmemy próbę izolowania poszczególnych enzymów i ich charakterystyki.

Do w/w badań niezbędne będzie zastosowanie ^{14}C mocznika oraz ^{14}C -3-fosfoglicerynianu celem wyjaśnienia jego roli w tej przemianie.

Oznaczono w cytoplazmatycznych mutantach *Neurospora crassa* zawartość ubichinonu.

W badaniach nad enzymami biorącymi udział w biosyntezie lipidów u mutantów *Neurospora crassa* wykazano, że istnieje współzależność między występowaniem enzymów metylujących /na szocie/ fosfolipidy i enzymów syntetyzujących pośrednio produkty biosyntezy fosfolipidów o typie nukleozydodwufosforasów /np. cytydynodwufosfocholiny i in./.

Przygotowano niedostępny w handlu znakowany związek nukleotydowy o budowie UDP-N-acetylo- ^{14}C -galaktozaminę. Związek będzie służył do śledzenia wbudowywania N-acetylowanej galaktozamininy do glikoproteidowych polimerów o cechach antygenów grupowych.

Ustalono warunki powtarzalnych hodowli komórek *Salmonella typhimurium*. Ustalono najkorzystniejsze warunki ekstrakcji wolnych nukleotydów, używając do badań komórki całkowite, lub rozbijane ultradźwiękami i stosując kwas nadchlorowy lub alkohol. Chromatografia ekstraktów wykazała obecność następujących nukleotydów: GMP, UDP, NAD, AMP, ADP, UMP, UDP, UDPX i GMP.

Badano kwasy nukleinowe jaj owadów /*Bombyx mori* i *Drosophila melanogaster*/. Ekstrahowano z diapaузujących jaj jedwabnika całkowity RNA metodą fenolową uzyskuje wyniki powtarzalne, rozdzielają zadowalające. Uzyskane preparaty RNA frakcjonowano drogą elektroforezy i drogą wirowania w gradiencie sacharozy. RNA z jaj jedwabnika rozdzielał się elektroforytycznie na 7 frakcji /w tym dwie odpowiadały dwóm typom rybosomalnego RNA/, natomiast RNA otrzymany z dorosłych much *Drosophila* był uboższy o jedną frakcję.

W celu zbadania mechanizmów działania hormonów owadów, a zwłaszcza ich wpływu na funkcję gruczołu przędnego u motyla *Galleria euphorbiae*, zbadano morfologię, lokalizację tego gruczołu, budowę oprzędu i jego nici jak również fizjologię jej tworzenia. Zbadano także aminokwasowy /po kwasnej hydrolizie/ nici oprzędu, lepizację i gruczołu przędnego.

Uzyskano wysoko oczyszczone preparaty mitochondrialne z pierwszych liści dwutygodniowych kiełków żyta; preparaty wykazywały wysoką aktywność oksydazy cytochromowej. Materiał uzyskany po dezintegracji ultradźwiękami rozfrakcjonowano pod względem wielkości drogą wirowania. Częstki osadzone przy 20.000 g zawierają największą zawartość RNA; najintensywniejsze włączenie znakowanego węgla radioaktywnym uracylu wykazywała podfrakcja zawierająca tak zwane rybosomy mitochondrialne.

Prof dr T.Korzybski