

**SPRAWOZDANIE
Z DZIAŁALNOŚCI INSTYTUTU
BIOCHEMII I BIOFIZYKI
W 1971 r.**

Do użytku służbowego

Egz. Nr 16

A. CZĘŚĆ OGÓLNA

Główną siedzibą Instytutu jest gmach przy ul. Rakowieckiej 36, w którym zajmujemy 2.400 m², w tym pomieszczeń laboratoryjnych około 1.600 m².

W roku sprawozdawczym przekazaliśmy Instytutowi Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego pracownię Immunochemii i Immunologii wraz z personelem i aparaturą.

W związku z brakiem dostatecznej powierzchni dla warsztatów i aparatury naukowo-badawczej, przekazaliśmy również do Instytutu Biologii Doświadczalnej stolarza wraz z etatem i obecnie korzystamy z usług stolarskich odpłatnie.

Pracownia kserograficzna została zlikwidowana do czasu uzyskania odpowiednich pomieszczeń,

Prace kserograficzne wykonuje nam odpłatnie Instytut Przemysłu Fermentacyjnego.

Trudne i niezgodne z przepisami warunki w magazynach uległy częściowo poprawie dzięki nabytym 4 garażom metalowym usytuowanym na terenie Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego.

W dalszym ciągu prowadzone były roboty remontowe instalacji elektrycznej. Wykonano pełną dokumentację obciążeń poszczególnych obwodów.

Rozpoczęliśmy również prace remontowe dla uruchomienia nieczynnej instalacji wentylacyjnej - wyciągowo-nawiewnej.

Bunkier na źródło kobaltowe nie został oddany do użytku ze względu na wadliwie wykonany system odwadniający.

Przewiduje się przekazanie go w I kwartale 1972 r.

Projekt budowy nowego gmachu Instytutu jest już poważnie zaawansowany.

Uzgodniono i przeanalizowano z projektantem nasze potrzeby.

Instytut na dzień 31.12.71 r. zatrudniał:

Pracownicy nauki	78 osób
" naukowo-techniczni	50 "
" fiz.dz.podst.	17 "
" służba bibl.	4 "
Administracja	16 "
Obsługa	5 "
R a z e m	170 osób
Pracownicy godz.płatni	28 "
O g ó ł e m	198 osób

W roku 1971 przyjęto 39 osób
Zwolniono 26 "

W 1971 roku zmarł prof. dr L. Reifer

Na emeryturę odeszli - prof. J. Dzużyńska
- prof. A. Makarewicz

Majątek Instytutu na koniec 1971 roku wynosi:

Pomieszczenie na źródło kobaltowe	2.315,-
Środki trwałe	24.500,-
Przedmioty nietrwałe	6.520,-
Magazyny	1.550,-
Księgozbiory	1.410,-
Łącznie	36.295,-

Z dniem 1.I.1971 r. Instytut nasz przeszedł z jednostki budżetowej na nową formę rozliczeniową zakładu budżetowego.

Instytut jest głównym koordynatorem w skali krajowej w zakresie węzłowego problemu 09.3.1. - "Badania nad informacją genetyczną u drobnoustrojów roślin i zwierząt celem doskonalenia ich cech użytkowych".

Koordinatorami II stopnia są: Zakład Genetyki Roślin PAN w Poznaniu i Instytut Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu.

W ramach wspomnianego problemu Instytut współpracuje z 39 jednostkami z różnych resortów: Ministerstwa Oświaty i Szkolnictwa Wyższego, Ministerstwa Zdrowia i Opieki Społecznej, Ministerstwa Przemysłu Chemicznego oraz z Ministerstwem Rolnictwa.

Plan finansowy za rok 1971 problemu węzłowego 09.3.1. wynosił 76,173 mln, z tego planowano na zakończenie pierwszego etapu prac badawczych sumę 48,650 tys.zł a wykonano

59.486 tys.

w tym: IBB PAN	19.029 tys.
Zakład Gen. Roślin Poznań	16.305 "
Inst.Hod.Zwierząt, Jastrzębiec	12.406 "
Jednostki współpracujące	11.746 "

Niezależnie od powyższego Instytut nasz zaplanowo wykonał prace konstrukcyjne, które na dzień 30.XI.1971 r. zamknęły się kwotą 126.230,52 oraz inne prace zlecone przez jednostki uspołecznione na kwotę 50.442,-

Realizację planu finansowego Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN na rok 1971 przewiduje się następująco:

Lp.	T r e ś ć	Plan	Wykonanie
1	Osobowy fundusz płac	7.079	6.626
2	Bezosobowy fundusz płac	600	571
3	Nagrody i inne wynagrodzenia	185	185
4	Materiały i przedmioty nietrwałe	8.295	8.040
5	Delegacje	66	60
6	Usługi materialne	700	736
7	Usługi niematerialne	500	450
8	Amortyzacja	3.200	3.150
9	Składki na ZUS	1.097	1.027
10	Narzut na kapitalne remonty	300	300
11	Dodatki do płac	25	25
	R a z e m	22.047	21.170
	Inwestycje	4.903	2.870
	O g ó ł e m	26.950	24.040

W związku z realizacją planu napotymano na trudności z powodu zbyt niskiego limitu na rzecz jednostek nieuspołecz-nionych oraz niskiego funduszu prac badawczych przydzie-lonego przez Polską Akademię Nauk.

Decyzją Sekretarza Naukowego PAN z dnia 8.XII.1971 r. pracownicy Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN z dniem 1.X.1971 r. przeszli na nową siatkę płac, zgodnie z zarzą-dzeniem RM z dn. 13.09.61 MP Nr 43 p.226.

W 1971 r. ukazał się pod redakcją Prof. dr T. Korzybskiego Informator o Instytucie omawiający historię IBB oraz te-matykę poszczególnych Zakładów.

Dane dotyczące biblioteki Instytutu Biochemii i Biofizyki
PAN za rok 1971

I. Dane statystyczne

Księgozbiór - stan księgozbioru biblioteki na koniec roku 1971 wynosi:

- druki zwarte - 5915 vol.
- czasopisma - 4476 vol.

w ciągu roku przybyło:

druków zwartych - 246 vol.
w tym: zakup - 231 vol.
wymiana - 15 vol.

czasopism - 351 vol.

w tym: prenumerata - 195 vol.
wymiana - 156 vol.

Ogółem otrzymywaliśmy na bieżąco 203 tytuły czasopism.

Wartość księgozbioru:

na koniec roku 1970 - druki zwarte - 1.128.461,-
- czasopisma - 2.000.085,-
Razem 3.128.546,-

Przybyło w ciągu roku - druki zwarte - 77.940,-
czasopisma /pren./ - 188.516,-
" /wym./ - 60.000,-
Razem 3.455.002,-

Wymiana wydawnictw - prowadzona była na bieżąco z 67 placówkami w tym: placówek zagranicznych - 63
placówki krajowe - 4

Jako materiał wymienny wysyłano:

Acta Biochimica Polonica - 66 egz.
Postępy Biochemii - 18 egz.

Wzajemian za nasze wydawnictwa otrzymywaliśmy:

- tytuły krajowe	- 4
- z krajów socjalis.	- 13
- z krajów kapitalis.	- 45
Razem	62 tytuły

Wypożyczenia:

Ogółem w okresie sprawozdawczym wypożyczono ok. 2.500 vol. w tym do innych bibliotek - 293 vol. i 123 vol. dla pracowników Instytutu z bibliotek obcych.

II. Wydatki biblioteki:

- zakup książek i czasopism	- 98.497,-
- prenumerata czasopism	- 167.960,-
- zakup odbitek	- 10.230,-
- zakup czasopism na wymianę	- 7.425,-
- konserwacja zbiorów	- 15.300,-
Razem	- 299.412,-

III. Dokumentacja i informacja:

W okresie sprawozdawczym wysłano ok. 1200 sztuk odbitek publikacji pracowników Instytutu. Rozesłano spis publikacji Instytutu za rok 1970 do ok. 190 adresatów.

Wykonano 265 zamówień na prace kserograficzne /łącznie ok. 7000 odbitek/ oraz 38 zamówień na prace powielaczowe.

B. OCENA PRZEBIEGU BADAŃ

Wszystkie badania w Instytucie prowadzone były w ramach problemu węzłowego 09.3.1. - Badania nad informacją genetyczną drobnoustrojów roślin i zwierząt celem doskonalenia ich cech użytkowych

Głównym koordynatorem tego problemu w skali krajowej jest Instytut Biochemii i Biofizyki PAN.

Prace realizowane w Instytucie dotyczyły dwóch spośród czterech istniejących w planie węzłowym 09.3.1. podprobleatów.

Są to:

- 09.3.1.1. - Genetyka drobnoustrojów.
- 09.3.1.4. - Molekularne podstawy genetyki.

Najważniejsze osiągnięcia

W ramach tematu "Struktura genów i chromosomów" przeprowadzono badania nad mutagennym i rekombinacyjnym działaniem hydroksylaminy /HA/ i jej analogu, O-metylohydroksylaminy /OMHA/ u grzybów. Wiadomo, że zarówno HA jak i OMH reagują z cytozyną natywnego DNA bardzo powoli. Natomiast przy działaniu na komórki drożdży HA indukuje mutacje i rekombinację już po krótkim działaniu. HA jest inhibitorem szeregu enzymów, m.in. katalazy i enzymów oddechowych. Działanie mutagenne HA jest prawdopodobnie pośrednie, być może poprzez wytwarzanie w komórkach H_2O_2 .

W badaniach nad indukowaniem aberracji chromosomowych związkami alkilującymi, stwierdzono, że kofeina zwiększa ponad czterokrotnie ilości aberracji indukowanych dwusopkysybutanem /DEB/ u bobiku. W celu wyjaśnienia wpływu kofeiny na powstawanie aberracji zbadano jej wpływ na syntezę DNA i białek w korzonkach bobiku. Wykazano, że kofeina w stężeniu 0,1% hamuje syntezę białek w ok. 60%, natomiast

nie wpływa na syntezę DNA. Przypuszcza się, że kofeina zwiększa ilości aberracji indukowanych DEB poprzez hamowanie procesów reperacji uszkodzeń w DNA.

W ramach tematu "Regulacja funkcji genów" stwierdzono, że u Aspergillus nidulans co najmniej trzy geny biorą udział w kontroli aktywności permeazy laktozowej i trzy geny kontrolują aktywność β -galaktozydazy. Nie stwierdzono jednak wspólnej regulacji tych enzymów jak to ma miejsce u bakterii.

W badaniach nad regulacją biosyntezy aminokwasów siarkowych stwierdzono występowanie dwóch odrębnych syntetaz cysteinowych. Dla jednej z nich substratem jest seryna, dla drugiej O-acetyloseryna. Otrzymano również kilka mutantów w genach regulacyjnych dla syntezy homocysteino-wej.

W pracach nad biogenezą mitochondriów scharakteryzowano pod względem biochemicznym i genetycznym kilka oddechowych mutantów u Neurospora crassa, co stanowi punkt wyjścia do badań nad jądrowo cytoplazmatycznym współdziałaniem w powstawaniu i funkcji mitochondriów. U drożdży wykazano in vivo oporność na erytromycynę mitochondrialnego systemu biosyntezy białek u pozachromosomowych mutantów opornych na ten antybiotyk.

Zlokalizowano na mapie genetycznej Salmonella typhimurium dwa loci genetyczne związane z regulacją podziału komórkowego. Na podstawie badania szczepów zawierających te mutacje wysnuto hipotezę dotyczącą charakteru sygnału regulacyjnego pomiędzy ukończeniem rundy replikacji chromosomu a wytworzeniem septy międzykomórkowej.

Wydzielono także dwa rodzaje mutantów warunkowych z zaburzeniami replikacji chromosomu. W jednej grupie mutantów zaburzenie polega na zablokowaniu inicjacji nowej rundy

replikacji chromosomu w niepermissyjnej temperaturze. W drugiej grupie zaburzenie dotyczy samego aparatu replikacyjnego. Zaburzenia te są prawdopodobnie wynikiem zmian strukturalnych błony cytoplazmatycznej.

Badania nad biochemicznymi i genetycznymi mechanizmami regulacji biosyntezy cysteiny u S. typhimurium wykazały, że zahamowanie wzrostu bakterii pod wpływem triazolu polega na inhibicji indukcji enzymów biosyntezy cysteiny przez O-acetylo-L-serynę.

Kontynuacja badań nad mechanizmami uczestniczącymi w wykorzystaniu D-histydyny przez S. typhimurium pozwoliła ustalić, że proces racemizacji polega na utlenieniu dezaminacji D-histydyny przez dehydrogenazę D-aminokwasów, a następnie transaminacji keto-produktu. Gen dehydrogenazy D-aminokwasów zlokalizowano. Zbadano również swoistość dehydrogenazy D-aminokwasów i stwierdzono, że enzym ten może być 50-krotnie indukowany przez L-alaninę w warunkach nieobecności represji katabolicznej.

W badaniach nad biosyntezą histydyny u organizmów eukariotycznych stwierdzono, że u roślin wyższych szlak tego procesu jest zasadniczo identyczny do poznanego u bakterii. Jest on regulowany przez hamowanie wsteczne a nie przez represję. U innych organizmów eukariotycznych-drożdży Saccharomyces cerevisiae - zbadano właściwości centrum aktywnego dehydratazy imidazologlicerolofosforanu. Poszukując mutantów drożdży o zmienionej regulacji biosyntezy histydyny, opracowano metodę pozytywnej selekcji mutantów defektywnych w procesie permeacji aminokwasów.

Na podstawie kinetyki wcielenia specyficznych znakowanych prekursorów do DNA, RNA i białka ustalono kolejność wznawiania syntezy tych makrocząsteczek w czasie indukcji procesu kiełkowania ziarna pszenicy. Stwierdzono, że synteza RNA jest uruchamiana niemal natychmiast po umie-

szczeniu ziarna w optymalnych warunkach kiełkowania podczas gdy synteza białka i DNA rozpoczyna się dopiero w kilka godzin później. Wykazano także, że dojrzałe ziarno pszenicy wyposażone jest w komplet enzymów niezbędnych do katalizowania syntezy RNA z prostych prekursorów.

Po traktowaniu znakowaną tymidyną mitochondriów jednokomórkowych ziaren kiełkujących żyta, stwierdzono w kiełkach najintensywniejszą inkorporację piętna do DNA zawartego w mitochondriach a najmniej w jądrach komórkowych, co potwierdza zapatrywania o połowicznej autonomii mitochondriów. Gdy przeprowadzono inkubację poszczególnych frakcji subkomórkowych to albo nie stwierdzono włączania tymidyny w ogóle, albo tylko w nieznacznym stopniu.

Uzyskano znacznie oczyszczone preparaty fikaprenolofosforanu i dolicholofosforanu, które okazały się sprawnymi prekursorami poliizoprenolofosfocukrów w homogenatach mózgu i wątroby szczura. Wykazano, że specyficzność enzymu przenoszącego galaktozę z jej pochodnej nukleozyddwufosforanowej na akceptory nie różni się w przypadkach galaktozemii u dzieci i osobników dorosłych.

Stwierdzono przy użyciu mutantów Neurospora crassa, że cholina i dwumetyloetanoloamina są induktorami syntetazy cytydynodwufosfocholinowej. Wykazano, że w homogenatach drożdży powstawania fosfolipidów diolowych zachodzi poprzez acylację diolofosforanu.

Znaleziono, że zmiany aktywności acetylocholinoesterazy u Celerio euphorbiae w rozwoju²diapauzy są wynikiem syntezy tego enzymu de novo i są uwarunkowane płcią. Nie są one związane z układem nerwowym i przebiegają podobnie bez diapauzy. Wykazano, że główną substancją acetylocholinopodobną jest ester acetylowy beta-metylocholiny, natomiast acetylocholina występuje tylko w niewielkich

ilościach. W jajach jedwabnika morwowego, pod koniec diapauzy i w okresie podiapauzalnym stwierdzono ilościowe różnice we wzajemnym stosunku cięższych i lżejszych frakcji rybosomalnego RNA, który odznaczał się wyjątkową labilnością.

Pośród rozdzielonych dwudziestu rodzajów białek hemolimy Celerio euphorbiae z ostatnich faz rozwoju stwierdzono oksydazę o-dwufenolową, amylazę i fosfatazę. W tkankach szarańczy zbadano umiejscowienie cyklicznego AMP i oznaczono aktywność fosfodwuesterazy. Wyznaczono wielkość dawki i charakterystykę działania preparatu hormonu juvenilnego na szarańczę w różnych stadiach rozwojowych.

Zaproponowano schemat katabolizmu nukleotydów purynowych u Helix pomatia: nukleotydy ulegają wyłącznie hydrolizie odszczepiającej fosforan, nukleozydy natomiast rozkładają się wyłącznie fosforolitycznie z wytworzeniem rybozofosforanu. Fosforylaza tę scharakteryzowano enzymologicznie.

Zidentyfikowano pośredni produkt rozkładu mocznika przez bezureazowy szczep Torulopsis utilis jako allofanian. Związek ten jest karboksylpochodną mocznika. Jest on oporny na działanie ureazy i w kwaśnym środowisku ulega spontanicznie dekarboksylacji do mocznika. W preparacie enzymatycznym z Torulopsis utilis wykazano, że 2/3 ¹⁴C-mocznika uwalnia się w postaci CO₂ a 1/3 znaku wykrywana jest w allofanianie. W związku z tym zaproponowano dwustopniowy proces przemiany mocznika. Wykazano również, że aktywność enzymatyczna badanego układu jest hamowana przez awidynę, co wskazuje na obecność biotyny w badanym układzie enzymatycznym.

W badaniach nad biosyntezą białka wykazano, że istnieją różnice w mechanizmie przyłączania naturalnych i synte-

tycznych matryc do rybosomów. Stabilność kompleksów rybosomów z oboma typami matryc jest również inna. Stwierdzono, że grupy aminowe białek rybosomowych są niezbędne w reakcji z naturalnymi matrycami jak RNA faga f2 lub mRNA *Escherichia coli*, natomiast w wiązaniu poli U z rybosomami istotny jest udział resztaminowych RNA rybosomów.

Znaleziono, że podczas translacji RNA faga f2 w układach bakteryjnych, niewielkie zmiany w stężeniu soli magnezu powodują znaczne przyspieszenie lub opóźnienie procesu syntezy polimerazy RNA i białka płaszczka fagowego. Zjawisko to tłumaczy szereg spotykanych w literaturze wyników, wokół których powstały błędne hipotezy.

Poważne wyniki uzyskano w badaniach nad mechanizmem metylacji 1-metylocytozyny i nukleotydów cytozynowych oraz w preparatyce pochodnych nukleotydów cytozynowych i uracylowych zawierających alkilowane /O'-metylo i O-etylowe/ reszty cukrowe. Związki te są istotne ze względu na występowanie 2'-O-metylonukleotydów w tRNA i rRNA, możliwość ich wykorzystania jako antymetabolitów, a także jako analogi do badań konformacji nukleotydów, nukleotydów i polinukleotydów.

Prowadzono dalsze badania nad konformacją oligo- i polinukleotydów przy pomocy metod optycznych oraz wykorzystano takie modele jak kwas poli 2'-O-metylo urydylowy.

Rozszerzono wcześniejsze badania na fotochemię 5-etylouracylu o kolejne pochodne jak 5-propylouracyl i 5-butylouracyl i wykazano wspólny mechanizm przekształceń fotochemicznych polegający na utworzeniu związku, który jest nowym analogiem dwuhidropirymidyn i fotodimerów.

Opracowano metody syntezy nowego substratu specyficznego dla rybonukleazy, całkowicie odpornego na fosfodwuesterazę II. Jest to 5'-O-benzyl-urydyn-3'- α -naftylofosforan/. Ponadto ulepszono metody syntezy substratów dla lokalizacji enzymów nukleolitycznych w tkankach.

Wyjaśniono przyczynę braku efektu mutagennego N-metylohydroksylaminy w przypadku bakteriofagów parzystych. Wykazano mianowicie, że związek ten nie reaguje z resztami cytozyny podstawionymi w pozycji 5 pierścienia pirymidynowego.

Badania nad fotodimeryzacją wykazały, że w warstwowych kompleksach dwuketopirymidyn fotochemiczna reakcja dimeryzacji cechuje się wysoką wydajnością kwantową porównywalną z wydajnością kwantową tej reakcji w warstwowo upakowanych kryształach dwuketopirymidyn oraz że w obu tych układach reakcja zachodzi przede wszystkim we wzbudzonym stanie singletowym cząsteczek.

Zakończono opracowywanie wyników badań metodami spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej charakteru najniższych stanów wzbudzonych aminopirymidyn. Opracowano również wyniki analogicznych badań stanów wzbudzonych 2-aminopuryny, dochodząc do wniosku, że poza różnym względnym położeniem stanów n, i, a, decydującym o właściwościach luminescencji związku, charakter najniższych stanów wzbudzonych 2-aminopuryny jest w zasadzie taki sam jak w przypadku 2-aminopirymidyny.

Stwierdzono, że w obu grupach aminowych pochodnych agregacja cząsteczek, podobnie jak ich wbudowanie do łańcuchów polinukleotydowych, powoduje silne gaszenie fluorescencji monomeru i pojawienie się emisji ekscimerowej w niskiej temperaturze.

Stosując metody równowagowego ultrawierowania oraz osmotrii termoelektrycznej prowadzono badania wielostopniowych równowag asocjacyjnych związanych z tworzeniem się w roztworach wodnych pochodnych pirymidynowych i purynowych warstwowych, n-składnikowych kompleksów. Celem tych badań jest poznanie wpływu podstawników na wielkość oddziaływań dyspersyjnych pomiędzy pochodnymi pirymidynowymi oraz określenie stałych równowagi w układach, w których badany jest wpływ asocjacji warstwowych na procesy degradacji energii wzbudzenia elektronowego.

SPRAWOZDANIE SZCZEGÓŁOWE

GENETYKA DROBNOUSTROJÓW

Temat: Nr 09.3.1.1.1.1. Kierownik: Prof.dr G. Bagdasarian

Genetyczne mechanizmy regulacji podziału komórkowego i metabolizmu

Izolacja i konstruowanie mutantów Salmonella typhimurium z zaburzonym podziałem komórkowym.

W pierwszym etapie pracy wyizolowano dwa mutanty Salmonella typhimurium nazwane divA i divC /od division/, które posiadały defekt podziału komórkowego. Proces podziału u tych mutantów mógł być zatrzymany przez podwyższenie temperatury powyżej 40⁰, podczas gdy synteza DNA i synteza białka, a co zatem idzie i wzrost masy komórkowej, pozostawały niezahamowane. W rezultacie powstają długie niciowate komórki /filamenty/. Takie wydłużone komórki po przeniesieniu ich do temperatury permissyjnej dzielą się na kilka mniejszych komórek po upływie krótkiego lag'u. Zahamowanie syntezy DNA za pomocą kwasu nalidysynowego nie zatrzymuje takiego podziału. Sugeruje to, że ciepłowrażliwym jest jakiś etap cyklu podziałowego, późniejszy niż sama synteza DNA.

Chloramfenikol zapobiega podziałowi nici /filamentów/ po przeniesieniu ich z powrotem do permissyjnej temperatury tylko u jednego z tych mutantów /divA/ ale dopuszcza ograniczoną ilość podziałów u drugiego mutantu /divC/.

Zatrzymanie podziału przy podwyższonej temperaturze może być fonotypowo zniesione za pomocą zwiększenia ciśnienia osmotycznego środowiska.

Mutacja divA została zmapowana pomiędzy lokusem rha i metB, zaś mutacja divC pomiędzy lokusem leu i aziA.

Jeżeli poddać filamenty szczepu divA głodzeniu tyminowemu i następnie przenieść je do permissyjnej temperatury z jed-

noczesnym dostarczeniem tyminy - początek podziału opóźnia się w porównaniu do kontroli prowadzonej bez głodu tyminowego.

Na podstawie tych danych można przypuszczać, że dla umożliwienia podziału wymagane jest osiągnięcie pewnego stosunku pomiędzy ilością uformowanych chromosomów a masą komórki.

Jednocześnie zostały wyizolowane mutanty z termolabilną syntezą DNA. Jeden z tych mutantów nazwany dna 26 został zbadany bardziej szczegółowo. Synteza DNA zatrzymuje się u tego mutantu bez szczątkowej replikacji przy przeniesieniu do 42° mimo, że przyrost masy komórkowej nie jest w tych warunkach zahamowany.

Mutant dna 26 wykazuje zwiększoną wrażliwość na dezoksy-cholan, na kwas nalidyksynowy i rifampicynę. Wskazuje to na defekt ściany komórkowej.

Zahamowanie syntezy DNA przy 42° u tego mutantu może być zniesione fenotypowo za pomocą 0.25 M NaCl lub KCl lub 0.44 M sacharozy, ale nie znosi go 0.44 M glicerol.

Synteza DNA indukowana hipertonicznym środowiskiem odbywa się wolniej niż przyrost masy komórkowej ale jest rezultatem normalnej replikacji chromosomów jak wykazała analiza frakcji DNA przez wirowanie w gradiencie CsCl.

Położenie mutacji dna 26 zostało w przybliżeniu zmapowane w rejonie genu purD.

Wpływ azydku sodu na syntezę DNA i podział komórkowy u azydko-opornych i wrażliwych szczepów Salmonella typhimurium ✓

Stwierdzono, że azydek sodu powoduje fenotypowe zaburzenie podziału komórkowego u Salmonella typhimurium. Efekt ten jest widoczny zarówno u szczepów wrażliwych na azydek jak i u szczepów azydkoopornych /aziA/. W stężeniu 6 mM azydek preferencyjnie hamuje syntezę DNA u szczepów aziA, nieznacznie hamując przyrost masy komórkowej. Doprowadza to do deficytu względnego DNA w komórkach, które rosną w postaci długich filamentów. Usunięcie z pożywki azydku, powoduje bardzo szybką, wyrównawczą syntezę DNA, a po osiągnięciu prawidłowego stosunku DNA do masy komórkowej, powrót podziałów komórkowych. Zahamowanie podziałów komórkowych przez azydek występuje szczególnie wyraźnie, gdy źródłem węgla w pożywce jest glukoza.

Z mutantu aziA wyizolowano wtórny mutant aziAaziC, u którego podział komórkowy i replikacja DNA nie jest hamowana przez mM azydek.

Badania nad regulacją biosyntezy cysteiny i działania triazolu na ten proces ✓

Stwierdzono, że triazol hamuje wzrost Salmonella typhimurium i działanie jego może być odwrócone przez dodanie seryny, lub metioniny, lub cysteiny. Doświadczenia wykazały, że obecność jonów SO_3^{2-} lub S^{2-} nawet w stężeniu poniżej 1 mM znosi efekt triazolu. Działanie tych związków na efekt triazolowy jest specyficzne, gdyż nie znoszą one zahamowania wzrostu wywołane np. przez aminotriazol.

Wyniki te sugerowały, że triazol może interferować z metabolizmem siarkowym na jednym z jego wcześniejszych etapów, to jest albo z pobieraniem SO_4^{2-} przez komórkę /tzn. z permeazą siarczanową/ albo z procesami aktywacji

lub redukcji siarczanu do siarczynu i dalej. Po opracowaniu zmodyfikowanej metody oznaczania permeazy siarczanowej oznaczono stałą Michaelisa dla permeazy dzikiego szczepu LT-2 *Salmonella typhimurium*, która wynosi 0.03 M. Siarczyny i cysteina hamują aktywność permeazy. Natomiast nie udało się stwierdzić hamującego wpływu triazolu na permeazę, co oznacza, że miejsce działania triazolu powinno znajdować się na innym odcinku. Nie znaleziono również wpływu triazolu na ilość wytworzonego PAPS /adezyno-3'-fosforano-5'-siarczano-fosforan/ przez ekstrakty szczepu LT-2.

Dalsze eksperymenty wykazały, że toksyczny efekt triazolu polega nie na hamowaniu aktywności enzymów biosyntezy cysteiny lecz na zahamowaniu procesu indukcji permeazy siarczanowej i enzymów aktywujących siarczany. Otrzymano mutant nazwanego "smc" /od słów: seryna, metionina, cysteina/ nadwrażliwego na triazol, który okazał się "leaky" mutantem cysE - genu kodującego transacetylazę serynową odpowiedzialną za syntezę OAS /O-acetyloseryny/, to jest induktora enzymów biosyntezy cysteiny.

Charakterystyka mutantów zdolnych do wykorzystywania D-histydyny jako źródła L-izomeru ✓

U aukсотrofów histydynowych *Salmonella typhimurium* wyizolowano wtórne mutanty mające zdolność wykorzystywania D-histydyny. Mutacje jednego rodzaju, dhuA, są blisko sprzężone przez transdukcję /ponad 90%/ z miejscem hisP chromosomu, kodującym kilka elementów permeazy histydynowej.

Mutanty dhuA wykazują 2 - do 7-krotny wzrost swoistej aktywności permeacji L-histydyny. Niektóre z mutantów dhuB mają również zwiększoną zdolność do transportu L-histydyny.

Permeacja D-histydyny jest ledwie wykrywalna u szczepów dhu⁺, a występuje wyraźnie u mutantów dhu. Stała Michaelisa dla pobierania D-histydyny jest ok. 1000 razy wyższa niż dla L-histydyny. Mutacje dhu nie zmieniają parametrów kinetycznych pobierania L-histydyny ze środowiska. D- i L-histydyna współzawodniczą w procesie transportu do komórek.

Używając szczepów his⁻ dhuA wyizolowano potrójne mutanty niezdolne do wykorzystywania D-histydyny. Wszystkie z wyjątkiem dwu były zmutowane dodatkowo w rejonie dhuA hisP. Większość z nich wykazywała wszystkie znane własności mutantów hisP.

Powyższe dane świadczą, że warunkiem zdolności wykorzystywania D-histydyny przez *S. typhimurium* jest wzrost aktywności permeazy histydynowej, wykazującej powinowactwo do obu stereozomerów histydyny.

Konsekwencją tego stwierdzenia było przypuszczenie, że proces racemizacji D-histydyny może zachodzić nawet w komórkach dzikiego szczepu *S. typhimurium*. Stwierdzono, że proces ten jest dwuetapowy. W pierwszym etapie D-histydyna ulega utlenieniu i deaminacji do imidazolopirogronianu pod wpływem dehydrogenazy D-aminokwasów. Okazało się, że dwa potrójne mutanty otrzymane ze szczepów his⁻ dhuA, a nie wykazujące zmian w hisP, nie mają w ogóle aktywności dehydrogenazy D-aminokwasów. Miejsce chromosomalne kodujące ten enzym nazwano dadA. Posługując się koniugacją zlokalizowano je orientacyjnie w odcinku chromosomu między pro a trp.

Drugi etap racemizacji D-histydyny polega na transaminacji imidazolopirogronianu. Reakcję tę katalizuje produkt genu hisC, aminotransferaza imidazoloacetolofosforanu oraz inny, jeszcze niezidentyfikowany enzym.

Badania nad biosyntezą histydyny i jej regulacją u roślin i drobnoustrojów -

Mutacje regulatorowe dla biosyntezy histydyny u *Saccharomyces cerevisiae* nie są dotychczas znane. Jednym z dwu równoległych punktów wyjścia w poszukiwaniu takich mutantów było uprzednie nasze stwierdzenie, że dehydrataza imidazoglicerolofosforanu /IGP/ enzym biosyntezy histydyny, jest hamowana przez aminotriazol. Jak w przypadku innych systemów regulacyjnych można oczekiwać, że niektóre mutanty odporne na aminotriazol będą wykazywały zmiany dotyczące syntezy lub struktury tego enzymu.

Zbadano szczegółowo mechanizm działania aminotriazolu i jego analogów na aktywność dehydratazy IGP drożdży. Wykryto przy tym, że drugą grupę kompetycyjnych inhibitorów tego enzymu stanowią dwuwartościowe aniony. Okazało się, że triazolowe i anionowe inhibitory wykazują synergistyczne oddziaływanie na dehydratazę IGP. Analiza wartości stałych interakcji dla różnych par inhibitorów pozwoliła na stwierdzenie, że w obrębie centrum aktywnego tego enzymu znajdują się odrębne miejsca dla oddziaływania triazoli i dwuwartościowych anionów. Stwierdzono, że odległość między nimi jest rzędu wielkości cząsteczki substratu.

Drugim punktem wyjścia w poszukiwaniu mutantów drożdży o zmienionej regulacji biosyntezy histydyny jest wrażliwość drożdży na D-histydynę. Wyizolowano mutanty odporne na D-histydynę. Badania ich własności wykazało, że większość ich to mutanty odporne na większość D-aminokwasów. Oznaczanie aktywności permeaz pozwoliło na stwierdzenie, że mutacje u mutantów opornych na D-aminokwasy prowadzą do braku aktywności tzw. ogólnej permeazy aminokwasowej. Na tej podstawie sklasyfikowano je jako mutanty gap /od general amino acid permease/. W trakcie tych badań określono szereg parametrów kinetycznych ogólnej permeazy

aminokwasowej drożdży oraz potwierdzono, że podlega ona represji przez jony amonowe.

Wyniki powyższe umożliwiły sformułowanie postulatu, iż mutanty o zmienionym mechanizmie oddziaływania na D-histydynę powinny być odporne na nią, lecz w dalszym ciągu wrażliwe na inne D-aminokwasy. Wprowadzono odpowiednie zmiany do metodyki izolacji mutantów. Uzyskano w ten sposób mutanty odporne na D-histydynę, lecz wrażliwe na D-serynę i D-tyrozynę. Przedmiotem badań w dalszym etapie będzie badanie mechanizmu oporności oraz regulacji biosyntezy histydyny u tych mutantów.

W poprzednich badaniach stwierdziliśmy, że dehydrataza IGP roślin wyższych jest hamowana przez aminotriazol. In vivo działanie to musi prowadzić do obniżenia stężenia histydyny w komórkach i derepresji biosyntezy histydyny, jeśli komórki roślinne są do tego zdolne. Oznaczanie aktywności enzymów biosyntezy histydyny w kielkach jęczmienia i owsa wyrosłych w obecności aminotriazolu nie wykazały ich derepresji.

W dalszym ciągu tych badań zajęto się pierwszym enzymem szlaku biosyntezy histydyny, tj. syntetazą fosforybozylo-ATP. U mikroorganizmów podlega on inhibicji wstecznej /feedback inhibition/ przez histydynę. Stwierdzono, że enzym ten u roślin jest bardziej termowrażliwy niż u bakterii. Wykazano, że jest hamowany przez L-histydynę. Stopień wrażliwości syntetazy z roślin jest taki sam jak z *Salmonella typhimurium*.

Konkluzją tych badań jest stwierdzenie, że inhibicja wsteczna jest głównym mechanizmem regulacji histydyny także u roślin wyższych.

Publikacje nr: 870, 930, 931, 932.

Temat: Nr 09.3.1.1.2.8. Kierownik: Prof.dr D. Shugar

Oddziaływanie między egzogennymi kwasami nukleinowymi i komórkami bakterii

Poszukiwanie uproszczonego układu do badań

Traktując transformację bakterii jako model do badania oddziaływania egzogenego DNA na komórki, poszukiwano możliwości uproszczenia układu. W tym celu zastosowano sztuczne dezoksypolinukleotydy zamiast naturalnego DNA. Stwierdzono aktywne wiązanie radioaktywnych polimerów przez paciorkowce zdolne do transformacji oraz konkurencję z naturalnym DNA o miejsca receptorowe komórek. W czasie gdy te badania były ukończone i opisane ukazała się publikacja: "Uptake of synthetic polynucleotides by competent cells of *B. subtilis*", O. Ciferri, S. Barlati, J. Lederberg, J. Bact. 104, 684, 1970. Wobec daleko idącego podobieństwa ogłoszonych i naszych wyników pracy zrezygnowaliśmy, tymczasowo, z publikacji własnej. Dalszych badań układu zaniechano, ponieważ nie zaobserwowano żadnego biologicznego działania sztucznych polimerów na komórki.

Scharakteryzowanie składników komórkowych /poza DNA/ z którymi łączy się DNA wynikające do komórek

W wyniku prób z dwoma układami transformacji: *Streptococcus Challis* oraz *Bacillus subtilis* wybrano ten drugi z powodu względnej łatwości znakowania DNA i rozpuszczania komórek. Zastosowano odróżnienie DNA dawcy od DNA burocy za pomocą znakowania izotopami radioaktywnymi i ciężkimi. Komórki pobierające DNA rozpuszczano i analizowano w gradiencie gęstości CsCl. Wstępne wyniki świadczą o tym, że heterologiczny, nietransformujący DNA z *E. coli* tworzy trwały kompleks ze składnikami komórek biorców *B. subtilis*

podobnie jak transformujący, homologiczny DNA. Dalsze badania losów pobranego heterolog. DNA w komórkach *B. subtilis* są w toku.

Równocześnie z wyżej opisaną pracą usiłowano powtórzyć wyniki kilku publikacji donoszących o wykryciu tzw. czynnika kompetencji w układzie transformacji *Bacillus subtilis*. Wynik był negatywny. Prowadzenie osiągnięto po zastosowaniu ekstrakcji komórek traktowanych toluenem. W takich ekstraktach wykrywa się; aktywność biologiczną mierzoną jako zwiększenie transformowalności populacji *B. subtilis*. Dalsze badania są w toku.

Publikacja nr 50/71.

Temat: Nr 09.3.1.1.3. Kierownik: Doc. dr J. Żuk

Struktura genów i chromosomów

Badania nad mutagenezą i rekombinacją u grzybów

W zakresie badań nad rekombinacją i mutagenezą u grzybów wykonano następujące prace:

W badaniach nad rekombinacją u *Ascobolus immersus* uzyskano dalsze dowody, że konwersja genów, a być może i crossing over, rozpoczyna się niesymetrycznie w jednej z dwu koniugujących chromatyd, przy czym druga chromatyda zostaje włączona w proces rekombinacji później. Wykazano również możliwość występowania wielokrotnych, oddzielnych ale ściśle ze sobą skorelowanych konwersji w obrębie genu.

W badaniach nad indukowaniem rekombinacji u drożdży i *Aspergillus* stwierdzono, że hydroksylamina indukuje rekombinację zarówno wewnątrzgenową jak i międzygenową.

Stwierdzono, że hydroksylamina indukuje rewersje mutantów Amber u drożdży. Analog hydroksylaminy, O-metylohydroksylamina indukuje u drożdży zarówno mutacje jak rekombinację, jakkolwiek oba efekty są b. słabe, Stwierdzono, że oba związki są silnymi inhibitorami katalazy i oddychania u drożdży.

Badania z zakresu cytogenetyki roślin wyższych

Z zakresu cytogenetyki roślin wyższych wykonano pracę dotyczącą stosunków pokrewieństw między trzema gatunkami Rumex: R.tuberosus, R.acetosa i R.thyrsiflorus. Wykazano, że gatunki te mimo bliskiego pokrewieństwa są już izolowane barierami sezonowymi, ekologicznymi i sterility. W pokoleniu F₁ niektórych mieszańców stwierdzono masowe produkowanie niezredukowanych gamet, co prowadziło do poliploidyzacji pokolenia F₂.

Kontynuowano badania nad determinacją płci w rodz. Rumex. Potwierdzono metodą autoradiografii z zastosowaniem ³H urydyny, że heterochromatynowe chromosomy Y despiralizują się w interfazie przedmeiotycznej i aktywnie syntetyzują RNA, co świadczy o ich aktywności genetycznej w tym stadium ontogenezy.

Przeprowadzono obserwacje nad roślinami superżeńskimi, supermęskimi i interseksualnymi u R.thyrsiflorus. Stwierdzono, że każde odchylenie od indeksu płci charakterystycznego dla roślin żeńskich lub męskich powoduje znaczne obniżenie żywotności i płodności. Wykazano, że indeks płci u roślin interseksualnych waha się w szerokich granicach, co dodatkowo potwierdza, że u Rumex płeć jest determinowana przez zbalansowanie czynników "żeńskości" w chromosomach X i czynników "męskości" w chromosomach Y.

W badaniach nad rodzajem Campanula zakończono analizę krzyżówek między europejskimi i amerykańskimi taksonami

C. rotundifolia. Mieszańce otrzymano bez trudności i były one w pełni żywotne i płodne, co świadczy o ich pochodzeniu od wspólnych przodków.

Zbadano replikację chromosomów jęczmienia metodą autoradiografii. W dwóch parach chromosomów stwierdzono późną replikację odcinków położonych po obu stronach centromerów, a w jednej parze późną replikację jednego ramienia. Przypuszcza się, że są to odcinki heterochromatynowe, w których szczególnie często powstają aberracje pod wpływem mutagenów chemicznych.

Prowadzono badania nad mechanizmem indukowania uszkodzeń chromosomów przy pomocy mutagenów chemicznych. Stwierdzono, że 0,1% kofeina hamuje w korzonkach bobiku syntezę białek w około 60%, nie wpływa natomiast na tempo syntezy DNA. Dodatkowo stwierdzono, że kofeina zastosowana po związku alkilującym /DEB/ prawie pięciokrotnie zwiększa częstość aberracji chromosomowych u bobiku.

Publikacje nr: 875, 883, 884, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958.

Temat: Nr 09.3.1.1.10. Kierownik: Prof. dr K.Kleczkowski

Mechanizmy wykorzystania mocznika przez organizmy nie zawierające ureazy.

Opracowanie warunków stabilizacji nieznanego ureidopozytywnego labilnego produktu przemiany mocznika. Próby izolacji w/w produktu.

W początkowym okresie badań stwierdzono, że ureidopozytywny produkt syntetyzowany w obecności preparatu enzymatycznego z *Torulopsis utilis* oraz mocznika, ATP+Mg, NaHCO_3 i KCl jest odporny na działanie ureazy. Próby wyizolowania i oczyszczenia produktu reakcji nie dawały zadowalających wyników, ponieważ w trakcie oczyszczania produkt ulegał degradacji. Przeprowadzono następujące próby oczyszczania: chromatografia kolumnowa na wymiennicach anionowych i kationowych, chromatografia na kolumnach z Sephadex G-10 i G-25, chromatografia bibułowa i cienkowarstwowa w różnych układach rozpuszczalników, elektroforeza bibułowa wysokonapięciowa w różnych buforach, ekstrakcja produktu różnymi rozpuszczalnikami organicznymi.

Doświadczenia prowadzono zarówno z zimnym jak również ^{14}C -mocznikiem jako substratem. We wszystkich technikach izolowania i oczyszczania produktu obserwowano znaczne straty, a pozostałość dająca pozytywny test na grupy ureidowe ulegała rozkładowi przez ureazę.

Radioautogramy z dwukierunkowych chromatogramów oczyszczanego produktu jak również barwny test odczynnikiem Ehrlicha pozwoliły na identyfikację związku na chromatogramach jako mocznika.

Dane te wskazywały na fakt włączania mocznika do produktu jego przemiany w postaci nie zmienionej i związek

taki jest odporny na działanie ureazy. W trakcie różnych technik oczyszczania badany produkt ulega rozpadowi i uwalnia się mocznik, który hydrolizuje ureazą. Wykazano, że badany produkt jest bardzo nietrwały w pH poniżej 7,0 i względnie trwały w pH powyżej 7,0.

W końcu 1970 r. Roon i Levenberg /J.Biol.Chem. 245, 4593, 1970/ opublikowali wyniki świadczące o dwustopniowej przemianie mocznika przez organizmy nie zawierające ureazy.

Autorzy ci stwierdzają, że obie w/w aktywności związane są w jednej jednostce białka enzymatycznego i końcowym produktem przemiany jest CO_2 i NH_3 . Powtórzyliśmy metody stosowane przez w/w autorów i stwierdziliśmy uwalnianie CO_2 z mocznika z równoczesną obecnością ureazoodpornego, ureidopozytywnego produktu. Ponieważ ten ostatni związek może być allofaniem przystąpiono do chemicznej syntezy tego związku. Produkt syntetyczny był odporny na ureazę i po zakwaszeniu był rozkładany przez ureazę /podobnie jak nasz produkt/ i chromatograficznie zachowywał się również jak interesujący nas związek.

Bilans przebiegu badanej przez nas przemiany nie zgadza się z bilansem podanym przez Roon i Levenberga, którzy sugerują kompletne przesunięcie równowagi reakcji w kierunku CO_2 i NH_3 . W naszych badaniach znajdujemy 2/3 ^{14}C z przereagowanego mocznika w CO_2 i 1/3 pozostaje w postaci allofianu. Stały poziom zawartości allofianu ustala się po 20 minutach inkubacji i nie zmienia się w czasie przeszło 1,5 godzinnej inkubacji.

Prawdopodobnie w układzie in vivo nie następuje nagromadzenie allofianu i ulega on rozkładowi do CO_2 i NH_3 . Sytuacja ta wymaga jednak doświadczalnego potwierdzenia w naszych warunkach hodowli.

W następnym etapie /1972/ zamierzamy bliżej scharakteryzować w/w przemianę jak również prześledzić losy allofanianu w żywej komórce. Podstawowym jednak problemem będzie znalezienie odpowiedzi na pytanie, czy badany przez nas enzym, względnie enzymy są syntetyzowane de novo w czasie hodowli drożdży na moczniku.

Publikacje: nr 934, 888, 899, 921, 922, 923, 968.

Temat: Nr 09.3.1.1.1.2. Kierownik: Doc.dr M.Bagdasarini

Regulacja funkcji genów

Indukcyjne i represyjne układy enzymatyczne u Aspergillus nidulans

A. Regulacja enzymów związanych z metabolizmem aminokwasów siarkowych.

W badaniach nad regulacją biosyntezy metioniny u A. nidulans zajęto się głównie enzymami syntetyzującymi homocysteinę tj. beta-cystationazą i syntetazą homocysteinową. Stwierdzono, że oba enzymy występują u badanego grzyba i oba ulegają represji jeśli grzybnie hoduje się w obecności metioniny. Obecność tych dwóch enzymów stwarza alternatywne drogi biosyntezy metioniny i tłumaczy trudności w otrzymaniu mutantów auksotroficznym pozbawionych aktywności któregoś z tych enzymów. Zbadano szereg mutantów wymagających do wzrostu metioniny lub homocysteinę. Wszystkie one miały jednak normalny poziom badanych enzymów. Istnieje przypuszczenie, że mutacje te nie dotyczą biosyntezy metioniny, lecz procesów, w których metionina występuje jako substrat. Przystąpiło do otrzymywania nowych mutantów zarówno cysteinowych jak i metioninowych biorąc do mutagenyzy szczep noszący

supresor znoszący efekt większości znanych już mutacji metioninowych, aby zwiększyć szansę otrzymania mutantów nowego typu. Otrzymano już szereg mutantów cysteinowych i metioninowych. Większość mutantów cysteinowych ma zdolność wzrostu na acetylohomoserynie - bezpośrednim prekursorze homo cysteiny, co świadczy, że u Aspergillus siarka homocysteinę może być łatwo dostępna do syntezy cysteiny. Jeden z otrzymanych mutantów cysteinowych nie rośnie na acetylohomoserynie. U niego stwierdzono 75-80% obniżenie aktywności syntetazy homocysteinowej.

B. Analiza mutantów niezdolnych do wykorzystywania laktozy jako jedyne źródła węgla.

Przeprowadzono genetyczną i enzymatyczną analizę kilkunastu mutantów laktozowych. A nidulans. Stwierdzono, że u mutantów z trzech różnych loci niezdolność do wzrostu na laktozie wiąże się z brakiem lub osłabieniem pobierania tego związku. Mutacje w trzech innych genach dotyczą samego enzymu betagalaktozydazy. U tych mutantów pobieranie laktozy jest normalne. W przeciwieństwie do bakterii w systemie laktozowym u badanego grzyba nie stwierdzono dotąd powiązania pod względem regulacji permeazy laktozowej i beta-galaktozydazy.

Genetyczna i biochemiczna charakterystyka cytoplazmatycznie dziedziczonych mutacji systemu mitochondrialnego u grzybów.

System oddechowy u Neurospora crassa.

A. Rola ubiquinonu.

1. Mitochondria cytoplazmatycznych mutantów oddechowych mi-1 i mi-4 zawierają około czterokrotnie więcej ubiquinonu niż typ dziki Neurospora crassa.

2. Procent redukcji ubichinonu przez substraty w warunkach aerobowych jest niski w mitochondriach dzikiego typu /11-16%/ i wysoki /ca 40-60%/ w mitochondriach obu mutantów /rosnących exponencjalnie/. W anaerobiozie stopień redukcji ubichinonu u trzech testowanych szczepów jest w przybliżeniu taki sam i wynosi 60-70 procent całego ubichinonu występującego w mitochondriach.
3. Redukcji ubichinonu towarzyszy redukcja cytochromu c. W warunkach aerobowych cytochrom c w mitochondriach typu dzikiego jest słabo redukowany przez substraty /15%/, podczas gdy u obydwu mutantów redukcja ta jest wysoka i osiąga 50-60 procent. W warunkach anaerobowych stopień redukcji cytochromu c przez substraty jest w przybliżeniu taki sam u wszystkich trzech szczepów i wynosi ponad 90 procent całego cytochromu c występującego w mitochondriach.
4. Egzogenny cytochrom c w obecności mitochondriów badanych szczepów jest redukowany zarówno przez bursztynian jak i NADH. Szybkość redukcji cytochromu c przez bursztynian jest w przybliżeniu taka sama u wszystkich trzech szczepów i niezależna od wieku hodowli. Szybkość redukcji cytochromu c przez NADH jest dwukrotnie wyższa w mitochondriach mutantu mi-4 niż w mitochondriach pozostałych szczepów.

B. Wstępne badania wolnorosnących mutantów *Neurospora crassa*.

W drugim półroczu 1971 roku rozpoczęto analizę biochemiczną i genetyczną wolnorosnących mutantów *Neurospora crassa* indukowanych przez ICR-170.

Wstępna analiza widm cytochromów izolowanych mitochondriów sześciu takich mutantów wykazała, że pięć z nich ma widma zbliżone do typu dzikiego, u jednego zaobserwowano brak wierzchołka odpowiadającego oksydazie cytochromowej.

Wykonano i częściowo zanalizowano 12 krzyżówek mających na celu sprawdzenie czy omawiane mutanty są jądrowe czy cytoplazmatyczne. Stwierdzono, że dwa z omawianych mutantów są mutantami jądrowymi. Analiza pozostałych mutantów jest w toku.

Prace te są wstępnym etapem badań nad jądrowo cytoplazmatycznym współdziałaniem w kontroli struktury i funkcji mitochondriów.

G. Cytoplazmatyczne mutanty drożdży odporne na antybiotyki.

W okresie sprawozdawczym kontynuowano rozpoczęte wcześniej badania nad mitochondrialnym systemem biosyntezy białek. Obiektem pracy były mutanty rho- pozbawione funkcjonującego systemu mitochondrialnego. Wykazano u tych mutantów znaczną oporność cytoplazmatycznego systemu biosyntezy białek w stosunku do cykloheksimidu. Badania nad rozkładem piętna w komórce po inkorporacji ¹⁴C-leucyny in vivo wykazały brak funkcjonalnego systemu biosyntezy białek w mitochondriach, co potwierdziło wyniki otrzymane in vitro.

Badanie zaburzeń w podziale komórkowym bakterii.

Ten temat prowadzono przy współudziale pracowników grupy tematycznej Nr 09.3.1.1.1.8. i grupy Nr 09.3.1.1.1.1.

Praca dotyczy:

1. mutacji związanej z zaburzeniami inicjacji syntezy DNA,
2. mutacji dotyczącej replikacji DNA,
3. mutacji wpływających na tworzenie sept międzykomórkowych.

Wyniki tych doświadczeń opisane są w temacie Nr 09.3.1.1.1.1.

Publikacje nr: 904, 912, 913.

Temat: Nr O9.3.1.1.1.9. Kierownik: Doc. dr T. Chojnacki

Udział koenzymów nukleozydo-5- fosforanowych w procesach adaptacji

W ramach tego tematu przeprowadzono następujące prace:

1. Badanie specyficzności dwuglicerydów w reakcjach glicerydotransferazowych.

Wykazano, iż natężenie reakcji glicerydotransferazowych nie zależy od składu acylowego dwuglicerydu w wypadku biosyntezy czterech fosfolipidów w mikrosomach wątroby szczura.

Wykazano ponadto, iż u mutantów cholinowych *Neurospora crassa*, cholina i dwuetanoloamina są induktorami syntezy GDPcholinyl.

2. Badanie mechanizmu biosyntezy lipidów diolowych i kadriolipiny.

Wykazano możliwość biosyntezy fosfolipidów diolowych u *S. Cerevisiae* polegającej na acylacji diolofosforanów. Natomiast nie udało się zaobserwować biosyntezy kadriolipiny stosując znakowany glicerofosforan i kilka różnych preparatów enzymatycznych.

3. Izolowanie, charakterystyka i synteza chemiczna koenzymów lipidowych.

Wykonano preparat fikaprenolofosforanu oraz dolicholofosforanu oraz stwierdzono, iż są one prekursorami poliisoprenolofosfo-cukrowców w mózgu i wątrobie szczura u *E. coli* i *Sh. flexneri*.

Ponadto we współpracy z Instytutem Matki i Dziecka w Warszawie stwierdzono brak zmian specyficznością urydylotransferazy galaktozo-1-fosforanowej w stosunku do substratu w kilku przypadkach galaktozemii u dzieci i dorosłych.

Publikacje nr: 874, 886, 897, 903, 926, 927, 938, 961, 47/71; 48/71.

MOLEKULARNE PODSTAWY GENETYKI

Temat: Nr 09.3.1.4.3.1. Kierownik: Prof. dr D. Szugar

Synteza polinukleotydów - badanie ich właściwości fizykochemicznych oraz podstawy mutagenezy

Cytosyna, analogi cytydyny i kwas 5-etylocytydylowy

Praca została podjęta w celu badania wpływu podstawnika 5-etylowego na strukturę kwasów nukleinowych. Opisano m.in. syntezę 1,5,N⁴,N⁴-tetraaminocytosyny, związku, który ze względu na trudności steryczne między grupami N⁴-dwumetylową i 5-metylową dotychczas nie był otrzymany. Opracowano nową, wydajną syntezę 5-etylocytosyny. Przeprowadzając grupowanie Hilberta-Johnsona wykorzystano do syntezy 5-etylocytydyny, jej niektórych N⁴-alkilo pochodnych i 5-etylouracydyny.

Używając fosforylasy polinukleotydowej i pirofosforanu 5-etylocytydyny opracowano warunki syntezy kwasu 5-etylocytydylowego. Otrzymano polimer o stałej sedimentacji $S_{20} = 2.6$ /c.cz. około 45.000/. Struktura drugorzędowa otrzymanego poli 5-EtC, badana w warunkach obojętnych i kwaśnych, jest znacznie słabsza niż struktura poli C. Polimer +-EtC kompleksuje się z poli I dając kompleksy o T_m nieco wyższym, niż odpowiednie kompleksy poli I + poli C. Wyższa wartość T_m poli I + poli 5-EtC sugeruje, że kompleks ten będzie lepszym induktorem interferonu, niż poli I + poli C.

Chemiczna mutageneza

W pracy badano produkty reakcji powstające w wyniku działania N-metylohydroksylaminy /NMeHA/ na pierścień cytozyny. NMeHA, mimo podobieństwa chemicznego z hydroksylaminą /HA/ wykazuje istotne różnice w reakcji z cytozyną. Najważniejsze z nich to:

1. NMeHA z glikozydowymi pochodnymi cytozyny tworzy jeden produkt reakcji odpowiednią pochodną N⁴metylo, N⁴hydroksycytozyny.
2. NMeHA nie wchodzi w reakcję z 5-podstaionymi pochodnymi cytouyny i przez to nie powoduje mutacji u fagów parzystych.

Chemiczne podstawy reakcji prowadzą do wniosku, że mechanizm mutacji zachodzących pod wpływem działania HA i NMeHA musi być odmienny.

Produkty napromieniania i naświetlania UV uracylu i pochodnych tyminy

Zestawiono dane chromatograficzne obejmujące 12 najczęściej używanych solwentów na 3 podłożach: bibule, cienkiej warstwie celulozy i żelu krzemowego. Praca bardzo użyteczna dla prowadzących badania w zakresie określania rodzaju oraz identyfikacji powstających produktów napromieniania i naświetlania UV kwasów nukleinowych.

Produkty napromienienia tyminy w obecności etanolu

Tymina napromieniona promieniami gamma w obojętnym roztworze wodnym etanolu tworzy produkty addycji z podstawnikiem -hydroksyetylowym w pozycji C₆. Związki te stanowią około 25% powstających radioproduktów. Jeden z wyizolowanych radioproduktów, 6-/-hydroksyetylo/-6hydro-5-hydroksytymina, poddany działaniu promieniowania ultrafioletowego przy 254 nm, ulega fotochemicznej konwersji do macierzystej tyminy. Reakcji tej towarzyszy wydzielenie aldehydu octowego. Wyizolowano i oznaczono wtórny produkt reakcji radiochemicznych, 6-etylotyminę. Właściwości powyższych produktów określono na podstawie 7 metod badawczych, przedstawiono również próby określenia mechanizmu przebiegających reakcji radiochemicznych.

Fotochemiczne przemiany pochodnych uracylu i jego nukleozydów

Praca dotyczy przemian fotochemicznych jakim ulegają 5-propylo- i 5-izopropylouracyl i jego nukleozydy pod wpływem promieniowania UV 254 nm. Stwierdzono, że w wyniku naświetlania neutralnych wodnych /10⁻⁴ - 10⁻³ M/ tych związków następuje odszczepienie grupy alkilowej i w końcowym efekcie powstaje uracyl /nukleozyd/ i gaz propylen. Proces ten przebiega via produkt pośredni powstały w wyniku wewnątrzcząsteczkowej heterocyklicznej fotoaddycji. Ten pośredni fotoprodukt prezentuje nową klasę dwuhydropyrimidyn, a mianowicie 5,6-dwuhydro-5,6-cyklobutanylouracylu /i ich nukleozydy/, posiadające właściwości z jednej strony dwuhydropyrimidyn, a z drugiej zaś dimerów pyrimidynowych.

Zależność między strukturą drugorzędową kwasu poliryboadenilowego i jego wrażliwością na promieniowanie jonizujące

Oznaczono radiochemiczne wydajności zniszczenia adeniny /G_a/ i rybozy /G_r/ w wolnej adeninie i rybozie, adenozyne, kwasach adenilowych oraz w dwóch formach strukturalnych kwasu poliryboadenilowego /poly-A/, tj. w formie obojętnej, jedno-łańcuchowej i kwaśnej, dwu-łańcuchowej. Zbadano także wpływ niskich dawek promieniowania gamma na strukturę własną poli-A. Otrzymane wyniki posłużyły do określenia zależności między wrażliwością na promieniowanie jonizujące składników poli-A, a jego strukturą drugorzędową.

Stwierdzono, że wydajności G_a są bliskie sobie we wszystkich badanych związkach, natomiast wydajność G_r obniża się już w nukleozydzie, a spada o ponad rząd wielkości w kwaśnej, dwułańcuchowej formie poli-A. Jednak w kwaśnej formie poli-A. Jednak w kwaśnej formie poli-A wydajność

G_r wzrasta z dawką promieniowania wskazując na istotny wpływ struktury drugorzędowej na przebieg radiolizy polinukleotydu. Określenie wydajności G pozwoliło powiązać zmiany w strukturze poli-A po dawkach sięgających 10 kR, głównie z radiolizą adeniny; radioliza rybozy odgrywa istotną rolę po wyższych dawkach promieniowania.

Badania strukturalne podstawionych nukleozydów na poziomie monomerów, dimerów i polimerów

Głównym punktem było określenie wpływu podstawnika w pozycji 2' w pentozie. Z dotychczasowych prac wynikała ważność podjętego problemu - zmiana podstawnika z wodoru na hydroksyl powodowała głębokie zmiany strukturalne oraz inną biologiczną aktywność badanych związków. Zmiana podstawnika na 2'-O-metylo powodowała dodatkowe zmiany, ale swoim zachowaniem badane związki zbliżały się do rybo pochodnych a nie do dezoksy. W wyniku badania efektu Cottona dla opisywanej wyżej serii pochodnych w wodnym roztworze przy zmiennej temperaturze stwierdzono, że grupa 2'-O-metylowa zwiększa stabilność dwunukleozydo-monofosforanów oraz polimerów w porównaniu do rybo pochodnych i dezoksyrybo. W dyskusji przedstawiono model wyjaśniający takie zachowanie się w serii: Grupa hydroksylowa w pozycji 2' zwiększa oddziaływanie między zasadami w wyniku ich zbliżenia wskutek wytworzenia wiązania wodorowego łączącego 2'OH z tlenem furanozowym O_4' ; Przy zastąpieniu hydroksylu grupą metoksyłową zwiększa się również oddziaływanie między zasadami również w wyniku ich zbliżenia ale wskutek oddziaływań hydrofobowych - grupa metylowa ustawiona w pozycji cis do 2'wodoru plasuje się między zasadami, co powoduje zwiększenie oddziaływań.

W pracy wysunięto szereg wniosków dotyczących struktury uporządkowanych konformacji homopolimerów, zależności widma kołowego dichroizmu od otoczenia zasady azotowej itp.

Optyczne własności zasad pirymidynowych w cieple stałym i struktura kwasów nukleinowych.

Przewidywanie na drodze teoretycznej widm kwasów nukleinowych w ich uporządkowanych formach opierało się o własności optyczne r ztworów, natomiast teoria opierała się o wyniki dla ciała stałego. Wydawało się, że byłoby ciekawe porównanie własności optycznych pochodnych kwasów nukleinowych w cieple stałym z widmami roztworów kwasów nukleino- wych. Dogodną metodą do obserwacji widm absorpcyjnych i kołowego dichroizmu w nadfiolecie okazała się metoda stosowana w podczerwieni, a mianowicie badanych kryształów w matrycy KBr.

W wyniku przeprowadzonych badań nad tymidyną, cytydyną oraz tyminą, 1-metylouracylem, 1-metylocytydyną i jeszcze kilkoma pochodnymi, których struktura krystalograficzna była dokładnie poznana, stwierdzono że związki te w cieple stałym mają własności optyczne drastycznie różne od tych w roztworze, poza tym różnią się one zasadniczo od widm dla odpowiednich polinukleotydów.

Wyniki te, ze względu na ścisłe ustawienie względem siebie zasad azotowych w cieple stałym, mogą być podstawą do rewizji dotychczasowych poglądów na widmo kołowego dichroizmu i absorpcji elektronowej kwasów nukleinowych w roztworze.

Publikacje nr : 881, 891, 894, 898, 900, 907 ,
907, 940, 941, 942, 943, 944.

Temat: Nr 09.3.1.4.3.2. Kierownik: Prof. dr K.L. Wierzchowski

Podstawy regulacji funkcji kwasów nukleinowych

Prace prowadzone w okresie sprawozdawczym stanowiły w dużej mierze kontynuację badań rozpoczętą w ubiegłych latach. Grupowały się one w zasadzie wokół dwóch związanych ze sobą zagadnień, którym podporządkowane były wszystkie zadania badawcze:

1. Elektronowe stany wzbudzone pochodnych pirymidynowych i purynowych oraz drogi degradacji energii wzbudzenia w zależności od stanu fizycznego związku;
2. Warstwowe kompleksy asocjacyjne pochodnych pirymidynowych i purynowych w roztworach wodnych i ich wpływ na fotochemiczne i fizyczne drogi dezaktywacji wzbudzenia elektronowego.

Opracowano teoretycznie i opublikowano wyniki badań wpływu warstwowych asocjacji 1,3-dwumetylotyminy w roztworze wodnym na efektywność i mechanizm reakcji fotodimeryzacji. Badania te wykazały, że w warstwowych kompleksach dwuketopirymidyn fotochemiczna reakcja dimeryzacji cechuje się wysoką wydajnością kwantową porównywalną z wydajnością kwantową tej reakcji w warstwowo upakowanych kryształach dwuketopirymidyn, oraz że w obu tych układach reakcja zachodzi przede wszystkim we wzbudzonym stanie singletowym cząsteczek. Prace w tym zakresie będą nadal kontynuowane koncentrując się na wpływie asocjacji warstwowych na przebieg reakcji dimeryzacji i fotohydratacji pochodnych uracylu. W okresie sprawozdawczym opracowano technikę i metodykę badawczą opartą na wykorzystaniu ^{14}C znaczonych pochodnych.

Zakończono opracowywanie wyników badań metodami spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej charakteru najniższych stanów

wzbudzonych aminopirymidyn. Wykazały one, że najniższy wzbudzony stan singletowy tej grupy pochodnych pirymidynowych jest stanem $1, a_x$ - powstającym w wyniku wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia elektronu 1-pary atomu azotu grupy aminowej na antywiążący orbital n^x -elektronowy pierścienia pirymidynowego. Podobny charakter ma prawdopodobnie najniższy stan tripletowy. Istotną rolę w mechanizmie fosforescencji odgrywają leżące nieco wyżej stany n, x związane z obecnością n-par elektronowych na atomach azotu pierścienia. Sprzężenie spinowoorbitalne singletu n, x z najniższym tripletem oraz względne położenie tripletu n, x w stosunku do singletu $1, a_x$, zależne od miejsca podstawienia grupy aminowej na pierścieniu pirymidynowym oraz od tego czy n-para elektronowa związana jest wodorowo z grupą OH rozpuszczalnika, decydują o populacji stanu tripletowego $1, a_x$ i wydajności kwantowej fosforescencji. Opracowano również wyniki analogicznych badań stanów wzbudzonych 2-aminopuryny, dochodząc do wniosku, że poza różnym względnym położeniem stanów n, x i $1, a_x$, decydującym o właściwościach luminescencji związku, charakter najniższych stanów wzbudzonych 2-aminopuryny jest w zasadzie taki sam jak w przypadku 2-aminopirymidyny.

Ze względu na $1, a_x$ charakter najniższego wzbudzonego stanu singletowego pochodnych aminowych pirymidyny i puryny istotne znaczenie dla jego właściwości powinien mieć kąt skręcenia płaszczyzny 1-pary elektronowej grupy aminowej w stosunku do płaszczyzny pierścienia heteroaromatycznego. Podjęto prace mające na celu bliższe zbadanie efektu orientacji przestrzennej grupy aminowej na właściwości spektroskopowe związku w szeregu N,N-dwualkiloaminowych pochodnych 2-aminopirymidyny oraz 4-amino-5-metylopirymidyny. Wstępne wyniki dla szeregu pochodnych 2-N, N-dwualkiloaminopirymidyny potwierdzają przewidywania.

Stwierdzono też, że w obu grupach aminowych pochodnych agregacja cząsteczek, podobnie jak ich wbudowanie do łańcuchów polinukleotydowych, powoduje silne gaszenie fluorescencji monomeru i pojawienie się emisji eksymerycznej w niskiej temperaturze.

W związku z tym podjęto systematyczne badania stężeniowego gaszenia fluorescencji oraz właściwości emisyjnych 9,9'-propylenobis-2-aminopuryny i jej N,N-dwumetyloaminowej pochodnej, zdolnych do przyjmowania w roztworach wodnych warstwowych konformacji.

Stosując metody równowagowego ultrawierowania oraz osmometrii termoelektrycznej prowadzono badania wielostopniowych równowag asocjacyjnych związanych z tworzeniem się w roztworach wodnych pochodnych pirymidynowych i purynowych warstwowych, n-składnikowych kompleksów. Celem badań jest poznanie wpływu podstawników na wielkość oddziaływań dyspersyjnych pomiędzy pochodnymi pirymidynowymi oraz określenie stałych równowagi w układach, w których badany jest wpływ asocjacji warstwowych na procesy degradacji energii wzbudzenia elektronowego. W okresie sprawozdawczym opano- wano metodę termoelektrycznej osmometrii, określono stałe równowagi asocjacyjnej dla szeregu pochodnych dwuetopirymidynowych oraz dla 2-aminopuryny, oceniono też praktycznie stosowalność obu metod w zależności od rozpuszczalności badanego związku i rzędu wielkości stałej równowagi asocjacyjnej.

W celu uzyskania przesłanek dotyczących rozkładu gęstości elektronowej w pierścieniach dwuketopirymidynu oraz wielkości elektrostatycznych oddziaływań międzycząsteczkowych w ich roztworach kontynuowano pomiary momentów dipolowych alkilo- i chlorowco-pochodnych dwuketopirymidyn uzyskując szereg dalszych danych i uściślając otrzymane poprzednio z dokładnością $\pm 0.01 - 0.02$ jedn. Debye'a.

Publikacje nr: 896, 908, 969, 970.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.2. Kierownik: Doc. dr Z. Lassota

Kwasy nukleinowe w mechanizmie różnicowania się komórek

Zmiany profilów elektroforetycznych RNA w embriogenezie jedwabnika

Badano RNA jaj *Bombyx mori* w diapauzie i na 1 dzień przed wylęgiem. RNA wyodrębniano met. Hastings i Kirby, frakcję mikrosomową met. Kedes i Stavy, a elektroforezę przeprowadzono wg Bishopa i wsp. Z 1 g jaj w diapauzie uzyskiwano 0,5 mg RNA całk., 100 - 200 ug rybosomów i 15 - 50 ug r RNA a z 1 g jaj pod koniec rozwoju - 1,0 mg RNA całk., 500 - 600 ug rybosomów i 50 - 70 ug r RNA. W całk. RNA w głębokiej diapauzie wyróżniono 8 frakcji głównych /1 - "29S", 2 - "27S", 3 - "19S", 4 - bliska 3,5,6 i 7 odp. ruchliwsze oraz 8 w obszarze "4-5S/ oraz dwie słabe frakcje mniej ruchliwe niż "29S".

Stosunek frakcji "29S"/"19S" w RNA całk. w głębokiej diapauzie wynosi 1, pod koniec rozwoju zaś zbliża się do 2 a najruchliwsza frakcja /8/ dzieli się wówczas na dwie. W r RNA występują frakcje 1,2,3,4,5 oraz jedna w obszarze "4/5S" /frakcje 2 i 4 są tu znacznie obfitsze niż w RNA całk./. Z danych wynika, że zmiany w obrazie RNA zaczynają się jeszcze podczas przebywania jaj w niskiej temperaturze, a więc wcześniej niż dotąd uważano. Można przypuszczać, że działa rybonukleaza związana z rybosomami a szczególnie aktywna w diapauzie.

Wyjaśnienie mechanizmu aktywacji enzymu /AChE/ w metamorfozie *Celerio euphorbiae*.

Poprzednio wykazaliśmy, że u diapauzujących poczwerek *Celerio* jeszcze w czasie przebywania w temp. 4° następuje gwałtowny wzrost aktywności esterazy acetylocholinowej /AChE/ i że zmiany te zależą od płci a następnie, że AChE uczestniczy w przemianach poza układem nerwowym, zapewne w przemianie lipidowej.

Stosując *in vivo* puromycynę i aktynomycynę wykazano, że hamują one narastanie aktywności AChE w omawianym okresie. W fizjologicznym szczycie aktywności AChE sięgającym 12-13

M AChBr/godz/osobnika, po uprzednim podaniu aktynomycyny w dawce 2 g/osobnika aktywność wynosi zaledwie 1 M AChBr/godz/osobnika, a przy dawce dwukrotnie wyższej - aktywność w ogóle się nie pojawia. Wskazuje to, że narastanie aktywności AChE jest wynikiem syntezy enzymu *de novo*, a zatem, że wbrew dotychczasowym poglądom w takich warunkach przebiega u poczwerek zarówno transkrypcja jak i translacja.

Publikacje Nr : 906, 928, 945, 946.

Temat: Nr 09.3.1.4.1.1. Kierownik: Prof. dr P.Szafranski

Kontrolowana biosynteza białka w układach bezkomórkowych

Reakcja rybosomów *Escherichia coli* z matrycami

W pracy tej badano mechanizm przyłączania mRNA *E.coli*, RNA faga f2 oraz poli U do rybosomów z *E.coli*. Dwa aspekty tego problemu były przedmiotem doświadczeń:

- 1/ rola kationów w stabilności kompleksu mRNA - rybosomy
- 2/ rola struktury rybosomu w przyłączaniu mRNA.

Wyniki wskazują, że zarówno poli U jak i naturalne matryce przyłączają się do tych samych miejsc na rybosomie. Jednakże mechanizm wiązania rybosomów z obu typami matrycy okazał się inny. Przyłączanie poli U do rybosomów wymaga udziału jonów dwuwartościowych, natomiast w reakcji naturalnych matryc mogą być one zastąpione w znacznym stopniu przez jony jednowartościowe. Usunięcie części białek rybo-

somowych za pomocą 1 M NH_4Cl uniemożliwia przyłączenie naturalnych matryc do rybosomów nie wpływając w istotny sposób na wiązane poli U.

Grupy aminowe białek rybosomowych są niezbędne w reakcji z naturalnymi matrycami, natomiast w wiązaniu poli U z rybosomami istotny jest udział reszt aminowych rRNA.

Badania nad dwuznacznym odczytywaniem poli U

Praca jest kontynuacją poprzednich badań, w których wykazano, że odpowiednio przygotowane rybosomy *Bacillus stearothermophilus* prowadzą w obecności poli U, obok syntezy poli fenylalaniny - syntezę polileucyny. Przedstawiane obecnie wyniki wskazują, że również rybosomy *Escherichia coli* mogą wykazywać istotną dwuznaczność w odczytywaniu poli U. Zjawisko zwiększonego włączania ^{14}C -leucyny w stosunku do ^3H -fenylalaniny w obecności odpowiednio przygotowanych rybosomów zostało potwierdzone za pomocą akcji ^{14}C -leucylo-tRNA i ^{14}C -fenyloalanylo-tRNA z rybosomami.

Wyniki sugerują, że prawidłowe odczytywanie kodu genetycznego jest związane ze strukturą rybosomów.

W okresie sprawozdawczym rozpoczęto pracę nad mechanizmem translacji RNA faga f2 w układach bezkomórkowych z *Escherichia coli*.

Translacja RNA faga f2 *in vitro*

W ostatnim czasie nagromadziło się wiele hipotez dotyczących mechanizmów uruchamiania aktywności odpowiednich cistronów na matrycy. W omawianej pracy wykazano, że niewielkie różnice stężeń magnezu w środowisku mogą powodować znaczne różnice w szybkości tłumaczenia odcinków RNA faga f2 odpowiedzialnych za syntezę polimerazy RNA i białka

płatcza fagowego. Zbadano produkty translacji RNA fagowego w zakresie stężeń Mg^{2+} od 10,6 do 18,6 mM. Syntetyzowane pod wpływem RNA f2 znakowane ^{14}C -alaniną i 3H -hystydyną produkty, rozdzielano za pomocą elektroforezy na poliakrylamidzie. Produkty utworzone w układzie zawierającym od 12,6 do 18,6 mM Mg^{2+} odpowiadały specyficznym białkom: polimerazie RNA i białku płatcza fagowego. Optymalne warunki translacji znaleziono w 12,6 mM Mg^{2+} . Obniżenie stężenia Mg^{2+} . Obniżenie stężenie Mg^{2+} poniżej optymalnej wartości do 10,6 mM prowadziło do braku syntezy polimerazy RNA. Rezultat ten był wynikiem obniżenia szybkości elongacji co powodowało niekompletne tłumaczenie większego genu polimerazy RNA podczas gdy 4-krotnie mniejszy gen białka płatcza był w tych warunkach tłumaczony.

Dekodowanie formylometionylo-tRNA

W okresie sprawozdawczym rozpoczęto pracę celem której jest ustalenie czy F-met-tRNA jest w obecności RNA faga f2 przyłączany na rybosomie do miejsca A-akceptorowego, P-peptydylowego, czy też do jeszcze innego trzeciego miejsca. Doświadczenia z blokowaniem przyłączania F-met-tRNA w obecności puromycyny i tetracykliny wskazują, że inicjujący tRNA może przyłączać się do innego niż P-miejsce na rybosomie, a następnie jest przenoszony do miejsca peptydylowego.

Publikacje nr: 866, 879, 885, 901, 935, 939, 959,
965, 49/71, 51/71, 52/71.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.3. Kierownik: Doc. dr M. Jeżewska

Metabolizm prekursorów i produktów rozpadu kwasów nukleinowych

Przemiana kwasu inozynowego do kwasu moczowego

Badania wykonano na homogenatach, supernatancie homogenatu i frakcjach białkowych otrzymanych z wątrobotrzustki ślimaka lądowego *Helix pomatia*.

1. Odszczepienie fosforanu i rybozy

- a. enzymy rozkładające mononukleotydy purynowe - nie stwierdzono aktywności nukleozydazy mononukleotydów i fosforybozylo-transferazy. Wykazano aktywność fosfatazy odszczepiającej fosforan nieograniczony z utworzeniem nukleozydu. Rozszczepiane są IMP i GMP, słabiej AMP, XMP i UMP. Pirofosforan hamuje reakcję,
- b. enzymy działające na nukleozydy - nie stwierdzono aktywności nukleozydazy, wykryto silną aktywność fosforylasy nukleozydowej. Enzym oczyszczono około 50 razy. Oznaczono wpływ stężenia substratu /inozyny/, czasu reakcji, temperatury i stężenia jonów wodorowych oraz wpływ jonów magnezu i wapnia, Na_2SO_4 i ADP na przebieg reakcji katalizowanej przez ten enzym. Oczyszczony enzym rozkłada inozynę, guanozynę, adenozynę, nie rozkłada ksantozyny i urydyny.

2. Dehydrogenaza ksantynowa

- zastosowano do badań metodę spektrofotometryczną zamiast poprzednio stosowanej chromatograficznej, co umożliwiło jednoczesne śledzenie obu etapów reakcji utleniania hipoksantyny do kwasu moczowego, a także na użycie NAD jako akceptora elektronów. Próbowano zmieniając warunki reakcji, względnie zmieniając preparatykę enzymu, uzyskać bądź zwiększenie wydajności.

utleniania ksantyny do kwasu moczowego, bądź całkowity zanik 2 etapu utleniania. Badano i porównywano aktywność enzymu wobec hipoksantyny i ksantyny jako substratów i błękitu metylenowego i NAD jako akceptorów elektronów. Wydaje się, że stosunek ksantyny do kwasu moczowego przy utlenianiu hipoksantyny nie zależy od rodzaju buforu, pH środowiska, stężenia akceptora elektronów i temperatury, natomiast zależy od stosunku enzymu do substratu i od rodzaju akceptora elektronów i w pewnym stopniu od czasu reakcji.

3. Dezaminazy

- wykryto słabą aktywność dezaminazy adeniny. Próba aminowania ksantozyny i ksantyny nie dała pozytywnych wyników.

Publikacje nr: 924, 925.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.10. Kierownik: Doc. dr J. Buchowicz

Metabolizm prekursorów kwasów nukleinowych u roślin

Ustalenie kolejności wznowiania syntezy DNA, RNA i białka w ziarnie pszenicy poddanym kiełkowaniu

Celem podjętych badań jest ustalenie kierunku i kolejności przekazywania informacji genetycznej między DNA, RNA i białkiem w warunkach naturalnej synchronizacji procesów rozwojowych. Jako obiekt badań wybrano ziarno pszenicy, a jako pierwszy etap badań zaplanowano ustalenie kolejności wznowiania syntezy DNA, RNA i białka w czasie indukcji procesu kiełkowania. Wykazano, że ziarno pszenicy pozostające w stanie spoczynku wyposażone jest w komplet enzymów

niezbędnych do syntezy RNA z prostych prekursorów.

Po mieszczeniu ziarna w warunkach sprzyjających kiełkowaniu synteza RNA zostaje wznowiana niemal natychmiast. W trzy i cztery godziny później uruchamiane zostają kolejno synteza białka i DNA. Wraz z rozpoczęciem syntezy białka obserwuje się także prawdopodobną degradację nowopowstałego RNA.

Na marginesie przeprowadzonych badań, w trakcie opracowywania metod analitycznych, zaobserwowano alkoholityczną degradację nukleotydów, katalizowaną przez fosfatazy roślinne w stężonych roztworach alkoholowych.

Publikacje nr: 87, 889, 902, 909, 910, 911, 917, 962, 963.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.4. Kierownik: Doc. dr M. Piechowska

Kwasy nukleinowe i białka w mechanizmie regulacji hormonalnej u owadów

Białka hemolimfy

Białka 1/ z hemolimfy gąsienic ostatniego stadium larwalnego, przedpoczwerek, poczwerek i motyli obu płci oraz

2/ z homogenatów jaj w czasie ich cyklu rozwojowego rozdzielono za pomocą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym. Wyodrębniono około 20 frakcji w hemolimfie i około 15 w homogenatach, charakterystycznych dla określonego stanu fizjologicznego owada i stadium rozwoju embrionalnego.

A. CZĘŚĆ OGÓLNA

Główną siedzibą Instytutu jest gmach przy ul. Rakowieckiej 36, w którym zajmujemy 2.400 m², w tym pomieszczeń laboratoryjnych około 1.600 m².

W roku sprawozdawczym przekazaliśmy Instytutowi Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego pracownię Immunochemii i Immunologii wraz z personelem i aparaturą.

W związku z brakiem dostatecznej powierzchni dla warsztatów i aparatury naukowo-badawczej, przekazaliśmy również do Instytutu Biologii Doświadczalnej stolarza wraz z etatem i obecnie korzystamy z usług stolarskich odpłatnie.

Pracownia kserograficzna została zlikwidowana do czasu uzyskania odpowiednich pomieszczeń,

Prace kserograficzne wykonuje nam odpłatnie Instytut Przemysłu Fermentacyjnego.

Trudne i niezgodne z przepisami warunki w magazynach uległy częściowo poprawie dzięki nabytym 4 garażom metalowym usytuowanym na terenie Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego.

W dalszym ciągu prowadzone były roboty remontowe instalacji elektrycznej. Wykonano pełną dokumentację obciążeń poszczególnych obwodów.

Rozpoczęliśmy również prace remontowe dla uruchomienia nieczynnej instalacji wentylacyjnej - wyciągowo-nawiewnej.

Bunkier na źródło kobaltowe nie został oddany do użytku ze względu na wadliwie wykonany system odwadniający.

Przewiduje się przekazanie go w I kwartale 1972 r.

Projekt budowy nowego gmachu Instytutu jest już poważnie zaawansowany.

Uzgodniono i przeanalizowano z projektantem nasze potrzeby.

Instytut na dzień 31.12.71 r. zatrudniał:

Pracownicy nauki	78 osób
" naukowo-techniczni	50 "
" fiz.dz.podst.	17 "
" służba bibl.	4 "
Administracja	16 "
Obsługa	5 "
R a z e m	170 osób
Pracownicy godz.płatni	28 "
O g ó ł e m	198 osób

W roku 1971 przyjęto 39 osób
Zwolniono 26 "

W 1971 roku zmarł prof. dr L. Reifer

Na emeryturę odeszli - prof. J. Dzużyńska
- prof. A. Makarewicz

Majątek Instytutu na koniec 1971 roku wynosi:

Pomieszczenie na źródło kobaltowe	2.315,-
Środki trwałe	24.500,-
Przedmioty nietrwałe	6.520,-
Magazyny	1.550,-
Księgozbiory	1.410,-
Łącznie	36.295,-

Z dniem 1.I.1971 r. Instytut nasz przeszedł z jednostki budżetowej na nową formę rozliczeniową zakładu budżetowego.

Instytut jest głównym koordynatorem w skali krajowej w zakresie węzłowego problemu 09.3.1. - "Badania nad informacją genetyczną u drobnoustrojów roślin i zwierząt celem doskonalenia ich cech użytkowych".

Koordynatorami II stopnia są: Zakład Genetyki Roślin PAN w Poznaniu i Instytut Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu.

W ramach wspomnianego problemu Instytut współpracuje z 39 jednostkami z różnych resortów: Ministerstwa Oświaty i Szkolnictwa Wyższego, Ministerstwa Zdrowia i Opieki Społecznej, Ministerstwa Przemysłu Chemicznego oraz z Ministerstwem Rolnictwa.

Plan finansowy za rok 1971 problemu węzłowego 09.3.1. wynosił 76,173 mln, z tego planowano na zakończenie pierwszego etapu prac badawczych sumę 48,650 tys.zł a wykonano

59.486 tys.

w tym: IBB PAN	19.029 tys.
Zakład Gen. Roślin Poznań	16.305 "
Inst.Hod.Zwierząt, Jastrzębiec	12.406 "
Jednostki współpracujące	11.746 "

Niezależnie od powyższego Instytut nasz zaplanowo wykonał prace konstrukcyjne, które na dzień 30.XI.1971 r. zamknęły się kwotą 126.230,52 oraz inne prace zlecone przez jednostki uspołecznione na kwotę 50.442,-

Realizację planu finansowego Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN na rok 1971 przewiduje się następująco:

Lp.	T r e ś ć	Plan	Wykonanie
1	Osobowy fundusz płac	7.079	6.626
2	Bezosobowy fundusz płac	600	571
3	Nagrody i inne wynagrodzenia	185	185
4	Materiały i przedmioty nietrwałe	8.295	8.040
5	Delegacje	66	60
6	Usługi materialne	700	736
7	Usługi niematerialne	500	450
8	Amortyzacja	3.200	3.150
9	Składki na ZUS	1.097	1.027
10	Narzut na kapitalne remonty	300	300
11	Dodatki do płac	25	25
	R a z e m	22.047	21.170
	Inwestycje	4.903	2.870
	O g ó ł e m	26.950	24.040

W związku z realizacją planu napotymano na trudności z powodu zbyt niskiego limitu na rzecz jednostek nieuspołecz-nionych oraz niskiego funduszu prac badawczych przydzie-lonego przez Polską Akademię Nauk.

Decyzją Sekretarza Naukowego PAN z dnia 8.XII.1971 r. pracownicy Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN z dniem 1.X.1971 r. przeszli na nową siatkę płac, zgodnie z zarzą-dzeniem RM z dn. 13.09.61 MP Nr 43 p.226.

W 1971 r. ukazał się pod redakcją Prof. dr T. Korzybskiego Informator o Instytucie omawiający historię IBB oraz te-matykę poszczególnych Zakładów.

Dane dotyczące biblioteki Instytutu Biochemii i Biofizyki
PAN za rok 1971

I. Dane statystyczne

Księgozbiór - stan księgozbioru biblioteki na koniec roku 1971 wynosi:

- druki zwarte - 5915 vol.
- czasopisma - 4476 vol.

w ciągu roku przybyło:

druków zwartych - 246 vol.
w tym: zakup - 231 vol.
wymiana - 15 vol.

czasopism - 351 vol.

w tym: prenumerata - 195 vol.
wymiana - 156 vol.

Ogółem otrzymywaliśmy na bieżąco 203 tytuły czasopism.

Wartość księgozbioru:

na koniec roku 1970 - druki zwarte - 1.128.461,-
- czasopisma - 2.000.085,-
Razem 3.128.546,-

Przybyło w ciągu roku - druki zwarte - 77.940,-
czasopisma /pren./ - 188.516,-
" /wym./ - 60.000,-
Razem 3.455.002,-

Wymiana wydawnictw - prowadzona była na bieżąco z 67 placówkami w tym: placówek zagranicznych - 63
placówki krajowe - 4

Jako materiał wymienny wysyłano:

Acta Biochimica Polonica - 66 egz.
Postępy Biochemii - 18 egz.

Wzajemian za nasze wydawnictwa otrzymywaliśmy:

- tytuły krajowe	- 4
- z krajów socjalis.	- 13
- z krajów kapitalis.	- 45
Razem	62 tytuły

Wypożyczenia:

Ogółem w okresie sprawozdawczym wypożyczono ok. 2.500 vol. w tym do innych bibliotek - 293 vol. i 123 vol. dla pracowników Instytutu z bibliotek obcych.

II. Wydatki biblioteki:

- zakup książek i czasopism	- 98.497,-
- prenumerata czasopism	- 167.960,-
- zakup odbitek	- 10.230,-
- zakup czasopism na wymianę	- 7.425,-
- konserwacja zbiorów	- 15.300,-
Razem	- 299.412,-

III. Dokumentacja i informacja:

W okresie sprawozdawczym wysłano ok. 1200 sztuk odbitek publikacji pracowników Instytutu. Rozesłano spis publikacji Instytutu za rok 1970 do ok. 190 adresatów.

Wykonano 265 zamówień na prace kserograficzne /łącznie ok. 7000 odbitek/ oraz 38 zamówień na prace powielaczowe.

B. OCENA PRZEBIEGU BADAŃ

Wszystkie badania w Instytucie prowadzone były w ramach problemu węzłowego 09.3.1. - Badania nad informacją genetyczną drobnoustrojów roślin i zwierząt celem doskonalenia ich cech użytkowych

Głównym koordynatorem tego problemu w skali krajowej jest Instytut Biochemii i Biofizyki PAN.

Prace realizowane w Instytucie dotyczyły dwóch spośród czterech istniejących w planie węzłowym 09.3.1. podprobleatów.

Są to:

- 09.3.1.1. - Genetyka drobnoustrojów.
- 09.3.1.4. - Molekularne podstawy genetyki.

Najważniejsze osiągnięcia

W ramach tematu "Struktura genów i chromosomów" przeprowadzono badania nad mutagennym i rekombinacyjnym działaniem hydroksylaminy /HA/ i jej analogu, O-metylohydroksylaminy /OMHA/ u grzybów. Wiadomo, że zarówno HA jak i OMH reagują z cytozyną natywnego DNA bardzo powoli. Natomiast przy działaniu na komórki drożdży HA indukuje mutacje i rekombinację już po krótkim działaniu. HA jest inhibitorem szeregu enzymów, m.in. katalazy i enzymów oddechowych. Działanie mutagenne HA jest prawdopodobnie pośrednie, być może poprzez wytwarzanie w komórkach H_2O_2 .

W badaniach nad indukowaniem aberracji chromosomowych związkami alkilującymi, stwierdzono, że kofeina zwiększa ponad czterokrotnie ilości aberracji indukowanych dwusopkysybutanem /DEB/ u bobiku. W celu wyjaśnienia wpływu kofeiny na powstawanie aberracji zbadano jej wpływ na syntezę DNA i białek w korzonkach bobiku. Wykazano, że kofeina w stężeniu 0,1% hamuje syntezę białek w ok. 60%, natomiast

nie wpływa na syntezę DNA. Przypuszcza się, że kofeina zwiększa ilości aberracji indukowanych DRB poprzez hamowanie procesów reperacji uszkodzeń w DNA.

W ramach tematu "Regulacja funkcji genów" stwierdzono, że u Aspergillus nidulans co najmniej trzy geny biorą udział w kontroli aktywności permeazy laktozowej i trzy geny kontrolują aktywność β -galaktozydazy. Nie stwierdzono jednak wspólnej regulacji tych enzymów jak to ma miejsce u bakterii.

W badaniach nad regulacją biosyntezy aminokwasów siarkowych stwierdzono występowanie dwóch odrębnych syntetaz cysteinowych. Dla jednej z nich substratem jest seryna, dla drugiej O-acetyloseryna. Otrzymano również kilka mutantów w genach regulacyjnych dla syntezy homocysteino-
wej.

W pracach nad biogenezą mitochondriów scharakteryzowano pod względem biochemicznym i genetycznym kilka oddechowych mutantów u Neurospora crassa, co stanowi punkt wyjścia do badań nad jądrowo cytoplazmatycznym współdziałaniem w powstawaniu i funkcji mitochondriów. U drożdży wykazano in vivo oporność na erytromycynę mitochondrialnego systemu biosyntezy białek u pozachromosomowych mutantów opornych na ten antybiotyk.

Zlokalizowano na mapie genetycznej Salmonella typhimurium dwa loci genetyczne związane z regulacją podziału komórkowego. Na podstawie badania szczepów zawierających te mutacje wysnuto hipotezę dotyczącą charakteru sygnału regulacyjnego pomiędzy ukończeniem rundy replikacji chromosomu a wytworzeniem septy międzykomórkowej.

Wydzielono także dwa rodzaje mutantów warunkowych z zaburzeniami replikacji chromosomu. W jednej grupie mutantów zaburzenie polega na zablokowaniu inicjacji nowej rundy

replikacji chromosomu w niepermisyjnej temperaturze. W drugiej grupie zaburzenie dotyczy samego aparatu replikacyjnego. Zaburzenia te są prawdopodobnie wynikiem zmian strukturalnych błony cytoplazmatycznej.

Badania nad biochemicznymi i genetycznymi mechanizmami regulacji biosyntezy cysteiny u S. typhimurium wykazały, że zahamowanie wzrostu bakterii pod wpływem triazolu polega na inhibicji indukcji enzymów biosyntezy cysteiny przez O-acetylo-L-serynę.

Kontynuacja badań nad mechanizmami uczestniczącymi w wykorzystywaniu D-histydyny przez S. typhimurium pozwoliła ustalić, że proces racemizacji polega na utlenieniu dezaminacji D-histydyny przez dehydrogenazę D-aminokwasów, a następnie transaminacji keto-produktu. Gen dehydrogenazy D-aminokwasów zlokalizowano. Zbadano również swoistość dehydrogenazy D-aminokwasów i stwierdzono, że enzym ten może być 50-krotnie indukowany przez L-alaninę w warunkach nieobecności represji katabolicznej.

W badaniach nad biosyntezą histydyny u organizmów eukariotycznych stwierdzono, że u roślin wyższych szlak tego procesu jest zasadniczo identyczny do poznanego u bakterii. Jest on regulowany przez hamowanie wsteczne a nie przez represję. U innych organizmów eukariotycznych-drożdży Saccharomyces cerevisiae - zbadano właściwości centrum aktywnego dehydratazy imidazologlicerolofosforanu. Poszukując mutantów drożdży o zmienionej regulacji biosyntezy histydyny, opracowano metodę pozytywnej selekcji mutantów defektywnych w procesie permeacji aminokwasów.

Na podstawie kinetyki wcielenia specyficznych znakowanych prekursorów do DNA, RNA i białka ustalono kolejność wznawiania syntezy tych makrocząsteczek w czasie indukcji procesu kiełkowania ziarna pszenicy. Stwierdzono, że synteza RNA jest uruchamiana niemal natychmiast po umie-

szczeniu ziarna w optymalnych warunkach kiełkowania podczas gdy synteza białka i DNA rozpoczyna się dopiero w kilka godzin później. Wykazano także, że dojrzałe ziarno pszenicy wyposażone jest w komplet enzymów niezbędnych do katalizowania syntezy RNA z prostych prekursorów.

Po traktowaniu znakowaną tymidyną mitochondriów jednokomórkowych ziaren kiełkujących żyta, stwierdzono w kiełkach najintensywniejszą inkorporację piętna do DNA zawartego w mitochondriach a najmniej w jądrach komórkowych, co potwierdza zapatrywania o połowicznej autonomii mitochondriów. Gdy przeprowadzono inkubację poszczególnych frakcji subkomórkowych to albo nie stwierdzono włączania tymidyny w ogóle, albo tylko w nieznacznym stopniu.

Uzyskano znacznie oczyszczone preparaty fikaprenolofosforanu i dolicholofosforanu, które okazały się sprawnymi prekursorami poliizoprenolofosfocukrów w homogenatach mózgu i wątroby szczura. Wykazano, że specyficzność enzymu przenoszącego galaktozę z jej pochodnej nukleozyddwufosforanowej na akceptory nie różni się w przypadkach galaktozemii u dzieci i osobników dorosłych.

Stwierdzono przy użyciu mutantów Neurospora crassa, że cholina i dwumetyloetanoloamina są induktorami syntetazy cytydynodwufosfocholinowej. Wykazano, że w homogenatach drożdży powstawania fosfolipidów diolowych zachodzi poprzez acylację diolofosforanu.

Znaleziono, że zmiany aktywności acetylocholinoesterazy u Celerio euphorbiae w rozwoju²diapauzy są wynikiem syntezy tego enzymu de novo i są uwarunkowane płcią. Nie są one związane z układem nerwowym i przebiegają podobnie bez diapauzy. Wykazano, że główną substancją acetylocholinopodobną jest ester acetylowy beta-metylocholiny, natomiast acetylocholina występuje tylko w niewielkich

ilościach. W jajach jedwabnika morwowego, pod koniec diapauzy i w okresie podiapauzalnym stwierdzono ilościowe różnice we wzajemnym stosunku cięższych i lżejszych frakcji rybosomalnego RNA, który odznaczał się wyjątkową labilnością.

Pośród rozdzielonych dwudziestu rodzajów białek hemolimy Celerio euphorbiae z ostatnich faz rozwoju stwierdzono oksydazę o-dwufenolową, amylazę i fosfatazę. W tkankach szarańczy zbadano umiejscowienie cyklicznego AMP i oznaczono aktywność fosfodwuesterazy. Wyznaczono wielkość dawki i charakterystykę działania preparatu hormonu juvenilnego na szarańczę w różnych stadiach rozwojowych.

Zaproponowano schemat katabolizmu nukleotydów purynowych u Helix pomatia: nukleotydy ulegają wyłącznie hydrolizie odszczepiającej fosforan, nukleozydy natomiast rozkładają się wyłącznie fosforolitycznie z wytworzeniem rybozofosforanu. Fosforylaza tę scharakteryzowano enzymologicznie.

Zidentyfikowano pośredni produkt rozkładu mocznika przez bezureazowy szczep Torulopsis utilis jako allofanian. Związek ten jest karboksylpochodną mocznika. Jest on oporny na działanie ureazy i w kwaśnym środowisku ulega spontanicznie dekarboksylacji do mocznika. W preparacie enzymatycznym z Torulopsis utilis wykazano, że 2/3 ¹⁴C-mocznika uwalnia się w postaci CO₂ a 1/3 znaku wykrywana jest w allofanianie. W związku z tym zaproponowano dwustopniowy proces przemiany mocznika. Wykazano również, że aktywność enzymatyczna badanego układu jest hamowana przez awidynę, co wskazuje na obecność biotyny w badanym układzie enzymatycznym.

W badaniach nad biosyntezą białka wykazano, że istnieją różnice w mechanizmie przyłączania naturalnych i synte-

tycznych matryc do rybosomów. Stabilność kompleksów rybosomów z oboma typami matryc jest również inna. Stwierdzono, że grupy aminowe białek rybosomowych są niezbędne w reakcji z naturalnymi matrycami jak RNA faga f2 lub mRNA *Escherichia coli*, natomiast w wiązaniu poli U z rybosomami istotny jest udział resztaminowych RNA rybosomów.

Znaleziono, że podczas translacji RNA faga f2 w układach bakteryjnych, niewielkie zmiany w stężeniu soli magnezu powodują znaczne przyspieszenie lub opóźnienie procesu syntezy polimerazy RNA i białka płaszczka fagowego. Zjawisko to tłumaczy szereg spotykanych w literaturze wyników, wokół których powstały błędne hipotezy.

Poważne wyniki uzyskano w badaniach nad mechanizmem metylacji 1-metylocytozyny i nukleotydów cytozynowych oraz w preparatyce pochodnych nukleotydów cytozynowych i uracylowych zawierających alkilowane /O'-metylo i O-etylowe/ reszty cukrowe. Związki te są istotne ze względu na występowanie 2'-O-metylonukleotydów w tRNA i rRNA, możliwość ich wykorzystania jako antymetabolitów, a także jako analogi do badań konformacji nukleotydów, nukleotydów i polinukleotydów.

Prowadzono dalsze badania nad konformacją oligo- i polinukleotydów przy pomocy metod optycznych oraz wykorzystano takie modele jak kwas poli 2'-O-metylo urydylowy.

Rozszerzono wcześniejsze badania na fotochemię 5-etylouracylu o kolejne pochodne jak 5-propylouracyl i 5-butyloouracyl i wykazano wspólny mechanizm przekształceń fotochemicznych polegający na utworzeniu związku, który jest nowym analogiem dwuhidropirymidyn i fotodimerów.

Opracowano metody syntezy nowego substratu specyficznego dla rybonukleazy, całkowicie odpornego na fosfodwuesterazę II. Jest to 5'-O-benzyl-urydyn-3'- α -naftylofosforan/. Ponadto ulepszono metody syntezy substratów dla lokalizacji enzymów nukleolitycznych w tkankach.

Wyjaśniono przyczynę braku efektu mutagennego N-metylohydroksylaminy w przypadku bakteriofagów parzystych. Wykazano mianowicie, że związek ten nie reaguje z resztami cytozyny podstawionymi w pozycji 5 pierścienia pirymidynowego.

Badania nad fotodimeryzacją wykazały, że w warstwowych kompleksach dwuketopirymidyn fotochemiczna reakcja dimeryzacji cechuje się wysoką wydajnością kwantową porównywalną z wydajnością kwantową tej reakcji w warstwowo upakowanych kryształach dwuketopirymidyn oraz że w obu tych układach reakcja zachodzi przede wszystkim we wzbudzonym stanie singletowym cząsteczek.

Zakończono opracowywanie wyników badań metodami spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej charakteru najniższych stanów wzbudzonych aminopirymidyn. Opracowano również wyniki analogicznych badań stanów wzbudzonych 2-aminopuryny, dochodząc do wniosku, że poza różnym względnym położeniem stanów n, i, a, decydującym o właściwościach luminescencji związku, charakter najniższych stanów wzbudzonych 2-aminopuryny jest w zasadzie taki sam jak w przypadku 2-aminopirymidyny.

Stwierdzono, że w obu grupach aminowych pochodnych agregacja cząsteczek, podobnie jak ich wbudowanie do łańcuchów polinukleotydowych, powoduje silne gaszenie fluorescencji monomeru i pojawienie się emisji ekscimerowej w niskiej temperaturze.

Stosując metody równowagowego ultrawierowania oraz osmotrii termoelektrycznej prowadzono badania wielostopniowych równowag asocjacyjnych związanych z tworzeniem się w roztworach wodnych pochodnych pirymidynowych i purynowych warstwowych, n-składnikowych kompleksów. Celem tych badań jest poznanie wpływu podstawników na wielkość oddziaływań dyspersyjnych pomiędzy pochodnymi pirymidynowymi oraz określenie stałych równowagi w układach, w których badany jest wpływ asocjacji warstwowych na procesy degradacji energii wzbudzenia elektronowego.

SPRAWOZDANIE SZCZEGÓŁOWE

GENETYKA DROBNOUSTROJÓW

noczesnym dostarczeniem tyminy - początek podziału opóźnia się w porównaniu do kontroli prowadzonej bez głodu tyminowego.

Na podstawie tych danych można przypuszczać, że dla umożliwienia podziału wymagane jest osiągnięcie pewnego stosunku pomiędzy ilością uformowanych chromosomów a masą komórki.

Jednocześnie zostały wyizolowane mutanty z termolabilną syntezą DNA. Jeden z tych mutantów nazwany dna 26 został zbadany bardziej szczegółowo. Synteza DNA zatrzymuje się u tego mutantu bez szczątkowej replikacji przy przeniesieniu do 42° mimo, że przyrost masy komórkowej nie jest w tych warunkach zahamowany.

Mutant dna 26 wykazuje zwiększoną wrażliwość na dezoksycholan, na kwas nalidyksynowy i rifampicynę. Wskazuje to na defekt ściany komórkowej.

Zahamowanie syntezy DNA przy 42° u tego mutantu może być zniesione fenotypowo za pomocą 0.25 M NaCl lub KCl lub 0.44 M sacharozy, ale nie znosi go 0.44 M glicerol.

Synteza DNA indukowana hipertonicznym środowiskiem odbywa się wolniej niż przyrost masy komórkowej ale jest rezultatem normalnej replikacji chromosomów jak wykazała analiza frakcji DNA przez wirowanie w gradiencie CsCl.

Położenie mutacji dna 26 zostało w przybliżeniu zmapowane w rejonie genu purD.

Wpływ azydku sodu na syntezę DNA i podział komórkowy u azydko-opornych i wrażliwych szczepów Salmonella typhimurium ✓

Stwierdzono, że azydek sodu powoduje fenotypowe zaburzenie podziału komórkowego u Salmonella typhimurium. Efekt ten jest widoczny zarówno u szczepów wrażliwych na azydek jak i u szczepów azydkoopornych /aziA/. W stężeniu 6 mM azydek preferencyjnie hamuje syntezę DNA u szczepów aziA, nieznacznie hamując przyrost masy komórkowej. Doprowadza to do deficytu względnego DNA w komórkach, które rosną w postaci długich filamentów. Usunięcie z pożywki azydku, powoduje bardzo szybką, wyrównawczą syntezę DNA, a po osiągnięciu prawidłowego stosunku DNA do masy komórkowej, powrót podziałów komórkowych. Zahamowanie podziałów komórkowych przez azydek występuje szczególnie wyraźnie, gdy źródłem węgla w pożywce jest glukoza.

Z mutantu aziA wyizolowano wtórny mutant aziAaziC, u którego podział komórkowy i replikacja DNA nie jest hamowana przez mM azydek.

Badania nad regulacją biosyntezy cysteiny i działania triazolu na ten proces ✓

Stwierdzono, że triazol hamuje wzrost Salmonella typhimurium i działanie jego może być odwrócone przez dodanie seryny, lub metioniny, lub cysteiny. Doświadczenia wykazały, że obecność jonów SO_3^{2-} lub S^{2-} nawet w stężeniu poniżej 1 mM znosi efekt triazolu. Działanie tych związków na efekt triazolowy jest specyficzne, gdyż nie znoszą one zahamowania wzrostu wywołane np. przez aminotriazol.

Wyniki te sugerowały, że triazol może interferować z metabolizmem siarkowym na jednym z jego wcześniejszych etapów, to jest albo z pobieraniem SO_4^{2-} przez komórkę /tzn. z permeazą siarczanową/ albo z procesami aktywacji

lub redukcji siarczanu do siarczynu i dalej. Po opracowaniu zmodyfikowanej metody oznaczania permeazy siarczanowej oznaczono stałą Michaelisa dla permeazy dzikiego szczepu LT-2 *Salmonella typhimurium*, która wynosi 0.03 M. Siarczyny i cysteina hamują aktywność permeazy. Natomiast nie udało się stwierdzić hamującego wpływu triazolu na permeazę, co oznacza, że miejsce działania triazolu powinno znajdować się na innym odcinku. Nie znaleziono również wpływu triazolu na ilość wytworzonego PAPS /adezyno-3'-fosforano-5'-siarczano-fosforan/ przez ekstrakty szczepu LT-2.

Dalsze eksperymenty wykazały, że toksyczny efekt triazolu polega nie na hamowaniu aktywności enzymów biosyntezy cysteiny lecz na zahamowaniu procesu indukcji permeazy siarczanowej i enzymów aktywujących siarczany. Otrzymano mutant nazwanego "smc" /od słów: seryna, metionina, cysteina/ nadwrażliwego na triazol, który okazał się "leaky" mutantem cysE - genu kodującego transacetylazę serynową odpowiedzialną za syntezę OAS /O-acetyloseryny/, to jest induktora enzymów biosyntezy cysteiny.

Charakterystyka mutantów zdolnych do wykorzystywania D-histydyny jako źródła L-izomeru ✓

U aukсотrofów histydynowych *Salmonella typhimurium* wyizolowano wtórne mutanty mające zdolność wykorzystywania D-histydyny. Mutacje jednego rodzaju, dhuA, są blisko sprzężone przez transdukcję /ponad 90%/ z miejscem hisP chromosomu, kodującym kilka elementów permeazy histydynowej.

Mutanty dhuA wykazują 2 - do 7-krotny wzrost swoistej aktywności permeacji L-histydyny. Niektóre z mutantów dhuB mają również zwiększoną zdolność do transportu L-histydyny.

Permeacja D-histydyny jest ledwie wykrywalna u szczepów dhu⁺, a występuje wyraźnie u mutantów dhu. Stała Michaelisa dla pobierania D-histydyny jest ok. 1000 razy wyższa niż dla L-histydyny. Mutacje dhu nie zmieniają parametrów kinetycznych pobierania L-histydyny ze środowiska. D- i L-histydyna współzawodniczą w procesie transportu do komórek.

Używając szczepów his⁻ dhuA wyizolowano potrójne mutanty niezdolne do wykorzystywania D-histydyny. Wszystkie z wyjątkiem dwu były zmutowane dodatkowo w rejonie dhuA hisP. Większość z nich wykazywała wszystkie znane własności mutantów hisP.

Powyższe dane świadczą, że warunkiem zdolności wykorzystywania D-histydyny przez *S. typhimurium* jest wzrost aktywności permeazy histydynowej, wykazującej powinowactwo do obu stereozomerów histydyny.

Konsekwencją tego stwierdzenia było przypuszczenie, że proces racemizacji D-histydyny może zachodzić nawet w komórkach dzikiego szczepu *S. typhimurium*. Stwierdzono, że proces ten jest dwuetapowy. W pierwszym etapie D-histydyna ulega utlenieniu i deaminacji do imidazolopirogronianu pod wpływem dehydrogenazy D-aminokwasów. Okazało się, że dwa potrójne mutanty otrzymane ze szczepów his⁻ dhuA, a nie wykazujące zmian w hisP, nie mają w ogóle aktywności dehydrogenazy D-aminokwasów. Miejsce chromosomalne kodujące ten enzym nazwano dadA. Posługując się koniugacją zlokalizowano je orientacyjnie w odcinku chromosomu między pro a trp.

Drugi etap racemizacji D-histydyny polega na transaminacji imidazolopirogronianu. Reakcję tę katalizuje produkt genu hisC, aminotransferaza imidazoloacetolofosforanu oraz inny, jeszcze niezidentyfikowany enzym.

Badania nad biosyntezą histydyny i jej regulacją u roślin i drobnoustrojów -

Mutacje regulatorowe dla biosyntezy histydyny u *Saccharomyces cerevisiae* nie są dotychczas znane. Jednym z dwu równoległych punktów wyjścia w poszukiwaniu takich mutantów było uprzednie nasze stwierdzenie, że dehydrataza imidazoglicerolofosforanu /IGP/ enzym biosyntezy histydyny, jest hamowana przez aminotriazol. Jak w przypadku innych systemów regulacyjnych można oczekiwać, że niektóre mutanty odporne na aminotriazol będą wykazywały zmiany dotyczące syntezy lub struktury tego enzymu.

Zbadano szczegółowo mechanizm działania aminotriazolu i jego analogów na aktywność dehydratazy IGP drożdży. Wykryto przy tym, że drugą grupę kompetycyjnych inhibitorów tego enzymu stanowią dwuwartościowe aniony. Okazało się, że triazolowe i anionowe inhibitory wykazują synergistyczne oddziaływanie na dehydratazę IGP. Analiza wartości stałych interakcji dla różnych par inhibitorów pozwoliła na stwierdzenie, że w obrębie centrum aktywnego tego enzymu znajdują się odrębne miejsca dla oddziaływania triazoli i dwuwartościowych anionów. Stwierdzono, że odległość między nimi jest rzędu wielkości cząsteczki substratu.

Drugim punktem wyjścia w poszukiwaniu mutantów drożdży o zmienionej regulacji biosyntezy histydyny jest wrażliwość drożdży na D-histydynę. Wyizolowano mutanty odporne na D-histydynę. Badania ich własności wykazało, że większość ich to mutanty odporne na większość D-aminokwasów. Oznaczanie aktywności permeaz pozwoliło na stwierdzenie, że mutacje u mutantów opornych na D-aminokwasy prowadzą do braku aktywności tzw. ogólnej permeazy aminokwasowej. Na tej podstawie sklasyfikowano je jako mutanty gap /od general amino acid permease/. W trakcie tych badań określono szereg parametrów kinetycznych ogólnej permeazy

aminokwasowej drożdży oraz potwierdzono, że podlega ona represji przez jony amonowe.

Wyniki powyższe umożliwiły sformułowanie postulatu, iż mutanty o zmienionym mechanizmie oddziaływania na D-histydynę powinny być odporne na nią, lecz w dalszym ciągu wrażliwe na inne D-aminokwasy. Wprowadzono odpowiednie zmiany do metodyki izolacji mutantów. Uzyskano w ten sposób mutanty odporne na D-histydynę, lecz wrażliwe na D-serynę i D-tyrozynę. Przedmiotem badań w dalszym etapie będzie badanie mechanizmu oporności oraz regulacji biosyntezy histydyny u tych mutantów.

W poprzednich badaniach stwierdziliśmy, że dehydrataza IGP roślin wyższych jest hamowana przez aminotriazol. In vivo działanie to musi prowadzić do obniżenia stężenia histydyny w komórkach i derepresji biosyntezy histydyny, jeśli komórki roślinne są do tego zdolne. Oznaczanie aktywności enzymów biosyntezy histydyny w kielkach jęczmienia i owsa wyrosłych w obecności aminotriazolu nie wykazały ich derepresji.

W dalszym ciągu tych badań zajęto się pierwszym enzymem szlaku biosyntezy histydyny, tj. syntetazą fosforybozylo-ATP. U mikroorganizmów podlega on inhibicji wstecznej /feedback inhibition/ przez histydynę. Stwierdzono, że enzym ten u roślin jest bardziej termowrażliwy niż u bakterii. Wykazano, że jest hamowany przez L-histydynę. Stopień wrażliwości syntetazy z roślin jest taki sam jak z *Salmonella typhimurium*.

Konkluzją tych badań jest stwierdzenie, że inhibicja wsteczna jest głównym mechanizmem regulacji histydyny także u roślin wyższych.

Publikacje nr: 870, 930, 931, 932.

Temat: Nr 09.3.1.1.2.8. Kierownik: Prof.dr D. Shugar

Oddziaływanie między egzogennymi kwasami nukleinowymi i komórkami bakterii

Poszukiwanie uproszczonego układu do badań

Traktując transformację bakterii jako model do badania oddziaływania egzogenego DNA na komórki, poszukiwano możliwości uproszczenia układu. W tym celu zastosowano sztuczne dezoksypolinukleotydy zamiast naturalnego DNA. Stwierdzono aktywne wiązanie radioaktywnych polimerów przez paciorkowce zdolne do transformacji oraz konkurencję z naturalnym DNA o miejsca receptorowe komórek. W czasie gdy te badania były ukończone i opisane ukazała się publikacja: "Uptake of synthetic polynucleotides by competent cells of *B. subtilis*", O. Ciferri, S. Barlati, J. Lederberg, J. Bact. 104, 684, 1970. Wobec daleko idącego podobieństwa ogłoszonych i naszych wyników pracy zrezygnowaliśmy, tymczasowo, z publikacji własnej. Dalszych badań układu zaniechano, ponieważ nie zaobserwowano żadnego biologicznego działania sztucznych polimerów na komórki.

Scharakteryzowanie składników komórkowych /poza DNA/ z którymi łączy się DNA wynikające do komórek

W wyniku prób z dwoma układami transformacji: *Streptococcus* Challis oraz *Bacillus subtilis* wybrano ten drugi z powodu względnej łatwości znakowania DNA i rozpuszczania komórek. Zastosowano odróżnienie DNA dawcy od DNA burocy za pomocą znakowania izotopami radioaktywnymi i ciężkimi. Komórki pobierające DNA rozpuszczano i analizowano w gradiencie gęstości CsCl. Wstępne wyniki świadczą o tym, że heterologiczny, nietransformujący DNA z *E. coli* tworzy trwały kompleks ze składnikami komórek biorców *B. subtilis*

podobnie jak transformujący, homologiczny DNA. Dalsze badania losów pobranego heterolog. DNA w komórkach *B. subtilis* są w toku.

Równocześnie z wyżej opisaną pracą usiłowano powtórzyć wyniki kilku publikacji donoszących o wykryciu tzw. czynnika kompetencji w układzie transformacji *Bacillus subtilis*. Wynik był negatywny. Prowadzenie osiągnięto po zastosowaniu ekstrakcji komórek traktowanych toluenem. W takich ekstraktach wykrywa się; aktywność biologiczną mierzoną jako zwiększenie transformowalności populacji *B. subtilis*. Dalsze badania są w toku.

Publikacja nr 50/71.

Temat: Nr 09.3.1.1.3. Kierownik: Doc. dr J. Żuk

Struktura genów i chromosomów

Badania nad mutagenezą i rekombinacją u grzybów

W zakresie badań nad rekombinacją i mutagenezą u grzybów wykonano następujące prace:

W badaniach nad rekombinacją u *Ascobolus immersus* uzyskano dalsze dowody, że konwersja genów, a być może i crossing over, rozpoczyna się niesymetrycznie w jednej z dwu koniugujących chromatyd, przy czym druga chromatyda zostaje włączona w proces rekombinacji później. Wykazano również możliwość występowania wielokrotnych, oddzielnych ale ściśle ze sobą skorelowanych konwersji w obrębie genu.

W badaniach nad indukowaniem rekombinacji u drożdży i *Aspergillus* stwierdzono, że hydroksylamina indukuje rekombinację zarówno wewnątrzgenową jak i międzygenową.

Stwierdzono, że hydroksylamina indukuje rewersje mutantów Amber u drożdży. Analog hydroksylaminy, O-metylohydroksylamina indukuje u drożdży zarówno mutacje jak rekombinację, jakkolwiek oba efekty są b. słabe, Stwierdzono, że oba związki są silnymi inhibitorami katalazy i oddychania u drożdży.

Badania z zakresu cytogenetyki roślin wyższych

Z zakresu cytogenetyki roślin wyższych wykonano pracę dotyczącą stosunków pokrewieństw między trzema gatunkami Rumex: R.tuberosus, R.acetosa i R.thyrsiflorus. Wykazano, że gatunki te mimo bliskiego pokrewieństwa są już izolowane barierami sezonowymi, ekologicznymi i sterility. W pokoleniu F₁ niektórych mieszańców stwierdzono masowe produkowanie niezredukowanych gamet, co prowadziło do poliploidyzacji pokolenia F₂.

Kontynuowano badania nad determinacją płci w rodz. Rumex. Potwierdzono metodą autoradiografii z zastosowaniem ³H urydyny, że heterochromatynowe chromosomy Y despiralizują się w interfazie przedmeiotycznej i aktywnie syntetyzują RNA, co świadczy o ich aktywności genetycznej w tym stadium ontogenezy.

Przeprowadzono obserwacje nad roślinami superżeńskimi, supermęskimi i interseksualnymi u R.thyrsiflorus. Stwierdzono, że każde odchylenie od indeksu płci charakterystycznego dla roślin żeńskich lub męskich powoduje znaczne obniżenie żywotności i płodności. Wykazano, że indeks płci u roślin interseksualnych waha się w szerokich granicach, co dodatkowo potwierdza, że u Rumex płeć jest determinowana przez zbalansowanie czynników "żeńskości" w chromosomach X i czynników "męskości" w chromosomach Y.

W badaniach nad rodzajem Campanula zakończono analizę krzyżówek między europejskimi i amerykańskimi taksonami

C. rotundifolia. Mieszańce otrzymano bez trudności i były one w pełni żywotne i płodne, co świadczy o ich pochodzeniu od wspólnych przodków.

Zbadano replikację chromosomów jęczmienia metodą autoradiografii. W dwóch parach chromosomów stwierdzono późną replikację odcinków położonych po obu stronach centromerów, a w jednej parze późną replikację jednego ramienia. Przypuszcza się, że są to odcinki heterochromatynowe, w których szczególnie często powstają aberracje pod wpływem mutagenów chemicznych.

Prowadzono badania nad mechanizmem indukowania uszkodzeń chromosomów przy pomocy mutagenów chemicznych. Stwierdzono, że 0,1% kofeina hamuje w korzonkach bobiku syntezę białek w około 60%, nie wpływa natomiast na tempo syntezy DNA. Dodatkowo stwierdzono, że kofeina zastosowana po związku alkilującym /DEB/ prawie pięciokrotnie zwiększa częstość aberracji chromosomowych u bobiku.

Publikacje nr: 875, 883, 884, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958.

Temat: Nr 09.3.1.1.10. Kierownik: Prof. dr K.Kleczkowski

Mechanizmy wykorzystania mocznika przez organizmy nie zawierające ureazy.

Opracowanie warunków stabilizacji nieznanego ureidopozytywnego labilnego produktu przemiany mocznika. Próby izolacji w/w produktu.

W początkowym okresie badań stwierdzono, że ureidopozytywny produkt syntetyzowany w obecności preparatu enzymatycznego z *Torulopsis utilis* oraz mocznika, ATP+Mg, NaHCO_3 i KCl jest odporny na działanie ureazy. Próby wyizolowania i oczyszczenia produktu reakcji nie dawały zadowalających wyników, ponieważ w trakcie oczyszczania produkt ulegał degradacji. Przeprowadzono następujące próby oczyszczania: chromatografia kolumnowa na wymiennicach anionowych i kationowych, chromatografia na kolumnach z Sephadex G-10 i G-25, chromatografia bibułowa i cienkowarstwowa w różnych układach rozpuszczalników, elektroforeza bibułowa wysokonapięciowa w różnych buforach, ekstrakcja produktu różnymi rozpuszczalnikami organicznymi.

Doświadczenia prowadzono zarówno z zimnym jak również ^{14}C -mocznikiem jako substratem. We wszystkich technikach izolowania i oczyszczania produktu obserwowano znaczne straty, a pozostałość dająca pozytywny test na grupy ureidowe ulegała rozkładowi przez ureazę.

Radioautogramy z dwukierunkowych chromatogramów oczyszczanego produktu jak również barwny test odczynnikiem Ehrlicha pozwoliły na identyfikację związku na chromatogramach jako mocznika.

Dane te wskazywały na fakt włączania mocznika do produktu jego przemiany w postaci nie zmienionej i związek

taki jest odporny na działanie ureazy. W trakcie różnych technik oczyszczania badany produkt ulega rozpadowi i uwalnia się mocznik, który hydrolizuje ureazą. Wykazano, że badany produkt jest bardzo nietrwały w pH poniżej 7,0 i względnie trwały w pH powyżej 7,0.

W końcu 1970 r. Roon i Levenberg /J.Biol.Chem. 245, 4593, 1970/ opublikowali wyniki świadczące o dwustopniowej przemianie mocznika przez organizmy nie zawierające ureazy.

Autorzy ci stwierdzają, że obie w/w aktywności związane są w jednej jednostce białka enzymatycznego i końcowym produktem przemiany jest CO_2 i NH_3 . Powtórzyliśmy metody stosowane przez w/w autorów i stwierdziliśmy uwalnianie CO_2 z mocznika z równoczesną obecnością ureazoodpornego, ureidopozytywnego produktu. Ponieważ ten ostatni związek może być allofaniem przystąpiono do chemicznej syntezy tego związku. Produkt syntetyczny był odporny na ureazę i po zakwaszeniu był rozkładany przez ureazę /podobnie jak nasz produkt/ i chromatograficznie zachowywał się również jak interesujący nas związek.

Bilans przebiegu badanej przez nas przemiany nie zgadza się z bilansem podanym przez Roon i Levenberga, którzy sugerują kompletne przesunięcie równowagi reakcji w kierunku CO_2 i NH_3 . W naszych badaniach znajdujemy 2/3 ^{14}C z przereagowanego mocznika w CO_2 i 1/3 pozostaje w postaci allofianu. Stały poziom zawartości allofianu ustala się po 20 minutach inkubacji i nie zmienia się w czasie przeszło 1,5 godzinnej inkubacji.

Prawdopodobnie w układzie in vivo nie następuje nagromadzenie allofianu i ulega on rozkładowi do CO_2 i NH_3 . Sytuacja ta wymaga jednak doświadczalnego potwierdzenia w naszych warunkach hodowli.

W następnym etapie /1972/ zamierzamy bliżej scharakteryzować w/w przemianę jak również prześledzić losy allofanianu w żywej komórce. Podstawowym jednak problemem będzie znalezienie odpowiedzi na pytanie, czy badany przez nas enzym, względnie enzymy są syntetyzowane de novo w czasie hodowli drożdży na moczniku.

Publikacje: nr 934, 888, 899, 921, 922, 923, 968.

Temat: Nr 09.3.1.1.1.2. Kierownik: Doc.dr M.Bagdasarin

Regulacja funkcji genów

Indukcyjne i represyjne układy enzymatyczne u Aspergillus nidulans

A. Regulacja enzymów związanych z metabolizmem aminokwasów siarkowych.

W badaniach nad regulacją biosyntezy metioniny u A. nidulans zajęto się głównie enzymami syntetyzującymi homocysteinę tj. beta-cystationazą i syntetazą homocysteinową. Stwierdzono, że oba enzymy występują u badanego grzyba i oba ulegają represji jeśli grzybnie hoduje się w obecności metioniny. Obecność tych dwóch enzymów stwarza alternatywne drogi biosyntezy metioniny i tłumaczy trudności w otrzymaniu mutantów auksotroficznych pozbawionych aktywności któregoś z tych enzymów. Zbadano szereg mutantów wymagających do wzrostu metioniny lub homocysteinę. Wszystkie one miały jednak normalny poziom badanych enzymów. Istnieje przypuszczenie, że mutacje te nie dotyczą biosyntezy metioniny, lecz procesów, w których metionina występuje jako substrat. Przystąpiło do otrzymywania nowych mutantów zarówno cysteinowych jak i metioninowych biorąc do mutagenezy szczep noszący

supresor znoszący efekt większości znanych już mutacji metioninowych, aby zwiększyć szansę otrzymania mutantów nowego typu. Otrzymano już szereg mutantów cysteinowych i metioninowych. Większość mutantów cysteinowych ma zdolność wzrostu na acetylohomoserynie - bezpośrednim prekursorze homo cysteiny, co świadczy, że u Aspergillus siarka homocysteinę może być łatwo dostępna do syntezy cysteiny. Jeden z otrzymanych mutantów cysteinowych nie rośnie na acetylohomoserynie. U niego stwierdzono 75-80% obniżenie aktywności syntetazy homocysteinowej.

B. Analiza mutantów niezdolnych do wykorzystywania laktozy jako jedyne źródła węgla.

Przeprowadzono genetyczną i enzymatyczną analizę kilkunastu mutantów laktozowych. A nidulans. Stwierdzono, że u mutantów z trzech różnych loci niezdolność do wzrostu na laktozie wiąże się z brakiem lub osłabieniem pobierania tego związku. Mutacje w trzech innych genach dotyczą samego enzymu betagalaktozydazy. U tych mutantów pobieranie laktozy jest normalne. W przeciwieństwie do bakterii w systemie laktozowym u badanego grzyba nie stwierdzono dotąd powiązania pod względem regulacji permeazy laktozowej i beta-galaktozydazy.

Genetyczna i biochemiczna charakterystyka cytoplazmatycznie dziedziczonych mutacji systemu mitochondrialnego u grzybów.

System oddechowy u Neurospora crassa.

A. Rola ubiquinonu.

1. Mitochondria cytoplazmatycznych mutantów oddechowych mi-1 i mi-4 zawierają około czterokrotnie więcej ubiquinonu niż typ dziki Neurospora crassa.

2. Procent redukcji ubichinonu przez substraty w warunkach aerobowych jest niski w mitochondriach dzikiego typu /11-16%/ i wysoki /ca 40-60%/ w mitochondriach obu mutantów /rosnących exponencjalnie/. W anaerobiozie stopień redukcji ubichinonu u trzech testowanych szczepów jest w przybliżeniu taki sam i wynosi 60-70 procent całego ubichinonu występującego w mitochondriach.
3. Redukcji ubichinonu towarzyszy redukcja cytochromu c. W warunkach aerobowych cytochrom c w mitochondriach typu dzikiego jest słabo redukowany przez substraty /15%/, podczas gdy u obydwu mutantów redukcja ta jest wysoka i osiąga 50-60 procent. W warunkach anaerobowych stopień redukcji cytochromu c przez substraty jest w przybliżeniu taki sam u wszystkich trzech szczepów i wynosi ponad 90 procent całego cytochromu c występującego w mitochondriach.
4. Egzogenny cytochrom c w obecności mitochondriów badanych szczepów jest redukowany zarówno przez bursztynian jak i NADH. Szybkość redukcji cytochromu c przez bursztynian jest w przybliżeniu taka sama u wszystkich trzech szczepów i niezależna od wieku hodowli. Szybkość redukcji cytochromu c przez NADH jest dwukrotnie wyższa w mitochondriach mutantu mi-4 niż w mitochondriach pozostałych szczepów.

B. Wstępne badania wolnorosnących mutantów *Neurospora crassa*.

W drugim półroczu 1971 roku rozpoczęto analizę biochemiczną i genetyczną wolnorosnących mutantów *Neurospora crassa* indukowanych przez ICR-170.

Wstępna analiza widm cytochromów izolowanych mitochondriów sześciu takich mutantów wykazała, że pięć z nich ma widma zbliżone do typu dzikiego, u jednego zaobserwowano brak wierzchołka odpowiadającego oksydazie cytochromowej.

Wykonano i częściowo zanalizowano 12 krzyżówek mających na celu sprawdzenie czy omawiane mutanty są jądrowe czy cytoplazmatyczne. Stwierdzono, że dwa z omawianych mutantów są mutantami jądrowymi. Analiza pozostałych mutantów jest w toku.

Prace te są wstępnym etapem badań nad jądrowo cytoplazmatycznym współdziałaniem w kontroli struktury i funkcji mitochondriów.

G. Cytoplazmatyczne mutanty drożdży odporne na antybiotyki.

W okresie sprawozdawczym kontynuowano rozpoczęte wcześniej badania nad mitochondrialnym systemem biosyntezy białek. Obiektem pracy były mutanty rho- pozbawione funkcjonującego systemu mitochondrialnego. Wykazano u tych mutantów znaczną oporność cytoplazmatycznego systemu biosyntezy białek w stosunku do cykloheksimidu. Badania nad rozkładem piętna w komórce po inkorporacji ^{14}C -leucyny in vivo wykazały brak funkcjonalnego systemu biosyntezy białek w mitochondriach, co potwierdziło wyniki otrzymane in vitro.

Badanie zaburzeń w podziale komórkowym bakterii.

Ten temat prowadzono przy współudziale pracowników grupy tematycznej Nr 09.3.1.1.1.8. i grupy Nr 09.3.1.1.1.1.

Praca dotyczy:

1. mutacji związanej z zaburzeniami inicjacji syntezy DNA,
2. mutacji dotyczącej replikacji DNA,
3. mutacji wpływających na tworzenie sept międzykomórkowych.

Wyniki tych doświadczeń opisane są w temacie Nr 09.3.1.1.1.1.

Publikacje nr: 904, 912, 913.

Temat: Nr O9.3.1.1.1.9. Kierownik: Doc. dr T. Chojnacki

Udział koenzymów nukleozydo-5- fosforanowych w procesach adaptacji

W ramach tego tematu przeprowadzono następujące prace:

1. Badanie specyficzności dwuglicerydów w reakcjach glicerydotransferazowych.

Wykazano, iż natężenie reakcji glicerydotransferazowych nie zależy od składu acylowego dwuglicerydu w wypadku biosyntezy czterech fosfolipidów w mikrosomach wątroby szczura.

Wykazano ponadto, iż u mutantów cholinowych *Neurospora crassa*, cholina i dwuetanoloamina są induktorami syntezy GDPcholinyl.

2. Badanie mechanizmu biosyntezy lipidów diolowych i kadriolipiny.

Wykazano możliwość biosyntezy fosfolipidów diolowych u *S. Cerevisiae* polegającej na acylacji diolofosforanów. Natomiast nie udało się zaobserwować biosyntezy kadriolipiny stosując znakowany glicerofosforan i kilka różnych preparatów enzymatycznych.

3. Izolowanie, charakterystyka i synteza chemiczna koenzymów lipidowych.

Wykonano preparat fikaprenolofosforanu oraz dolicholofosforanu oraz stwierdzono, iż są one prekursorami poliisoprenolofosfo-cukrowców w mózgu i wątrobie szczura u *E. coli* i *Sh. flexneri*.

Ponadto we współpracy z Instytutem Matki i Dziecka w Warszawie stwierdzono brak zmian specyficznością urydylotransferazy galaktozo-1-fosforanowej w stosunku do substratu w kilku przypadkach galaktozemii u dzieci i dorosłych.

Publikacje nr: 874, 886, 897, 903, 926, 927, 938, 961, 47/71; 48/71.

MOLEKULARNE PODSTAWY GENETYKI

Temat: Nr 09.3.1.4.3.1. Kierownik: Prof. dr D. Szugar

Synteza polinukleotydów - badanie ich właściwości fizykochemicznych oraz podstawy mutagenezy

Cytosyna, analogi cytydyny i kwas 5-etylocytydylowy

Praca została podjęta w celu badania wpływu podstawnika 5-etylowego na strukturę kwasów nukleinowych. Opisano m.in. syntezę 1,5,N⁴,N⁴-tetraaminocytozyny, związku, który ze względu na trudności steryczne między grupami N⁴-dwumetylową i 5-metylową dotychczas nie był otrzymany. Opracowano nową, wydajną syntezę 5-etylocytozyny. Przeprowadzając grupowanie Hilberta-Johnsona wykorzystano do syntezy 5-etylocytydyny, jej niektórych N⁴-alkilo pochodnych i 5-etylouracydyny.

Używając fosforylasy polinukleotydowej i pirofosforanu 5-etylocytydyny opracowano warunki syntezy kwasu 5-etylocytydylowego. Otrzymano polimer o stałej sedimentacji $S_{20} = 2.6$ /c.cz. około 45.000/. Struktura drugorzędowa otrzymanego poli 5-EtC, badana w warunkach obojętnych i kwaśnych, jest znacznie słabsza niż struktura poli C. Polimer +-EtC kompleksuje się z poli I dając kompleksy o T_m nieco wyższym, niż odpowiednie kompleksy poli I + poli C. Wyższa wartość T_m poli I + poli 5-EtC sugeruje, że kompleks ten będzie lepszym induktorem interferonu, niż poli I + poli C.

Chemiczna mutageneza

W pracy badano produkty reakcji powstające w wyniku działania N-metylohydroksylaminy /NMeHA/ na pierścień cytozyny. NMeHA, mimo podobieństwa chemicznego z hydroksylaminą /HA/ wykazuje istotne różnice w reakcji z cytozyną. Najważniejsze z nich to:

1. NMeHA z glikozydowymi pochodnymi cytozyny tworzy jeden produkt reakcji odpowiednią pochodną N⁴ metylo, N⁴hydroksycytozyny.
2. NMeHA nie wchodzi w reakcję z 5-podstaionymi pochodnymi cytouyny i przez to nie powoduje mutacji u fagów parzystych.

Chemiczne podstawy reakcji prowadzą do wniosku, że mechanizm mutacji zachodzących pod wpływem działania HA i NMeHA musi być odmienny.

Produkty napromieniania i naświetlania UV uracylu i pochodnych tyminy

Zestawiono dane chromatograficzne obejmujące 12 najczęściej używanych solwentów na 3 podłożach: bibule, cienkiej warstwie celulozy i żelu krzemowego. Praca bardzo użyteczna dla prowadzących badania w zakresie określania rodzaju oraz identyfikacji powstających produktów napromieniania i naświetlania UV kwasów nukleinowych.

Produkty napromienienia tyminy w obecności etanolu

Tymina napromieniona promieniami gamma w obojętnym roztworze wodnym etanolu tworzy produkty addycji z podstawnikiem -hydroksyetylowym w pozycji C₆. Związki te stanowią około 25% powstających radioproduktów. Jeden z wyizolowanych radioproduktów, 6-/-hydroksyetylo/-6hydro-5-hydroksytymina, poddany działaniu promieniowania ultrafioletowego przy 254 nm, ulega fotochemicznej konwersji do macierzystej tyminy. Reakcji tej towarzyszy wydzielanie aldehydu octowego. Wyizolowano i oznaczono wtórny produkt reakcji radiochemicznych, 6-etylotyminę. Właściwości powyższych produktów określono na podstawie 7 metod badawczych, przedstawiono również próby określenia mechanizmu przebiegających reakcji radiochemicznych.

Fotochemiczne przemiany pochodnych uracylu i jego nukleozydów

Praca dotyczy przemian fotochemicznych jakim ulegają 5-propylo- i 5-izopropylouracyl i jego nukleozydy pod wpływem promieniowania UV 254 nm. Stwierdzono, że w wyniku naświetlania neutralnych wodnych /10⁻⁴ - 10⁻³ M/ tych związków następuje odszczepienie grupy alkilowej i w końcowym efekcie powstaje uracyl /nukleozyd/ i gaz propylen. Proces ten przebiega via produkt pośredni powstały w wyniku wewnątrzcząsteczkowej heterocyklicznej fotoaddycji. Ten pośredni fotoprodukt prezentuje nową klasę dwuhydropyrimidyn, a mianowicie 5,6-dwuhydro-5,6-cyklobutanylouracylu /i ich nukleozydy/, posiadające właściwości z jednej strony dwuhydropyrimidyn, a z drugiej zaś dimerów pyrimidynowych.

Zależność między strukturą drugorzędową kwasu poliriboadenilowego i jego wrażliwością na promieniowanie jonizujące

Oznaczono radiochemiczne wydajności zniszczenia adeniny /G_a/ i rybozy /G_r/ w wolnej adeninie i rybozie, adenozyne, kwasach adenilowych oraz w dwóch formach strukturalnych kwasu poliriboadenilowego /poly-A/, tj. w formie obojętnej, jedno-łańcuchowej i kwaśnej, dwu-łańcuchowej. Zbadano także wpływ niskich dawek promieniowania gamma na strukturę własną poli-A. Otrzymane wyniki posłużyły do określenia zależności między wrażliwością na promieniowanie jonizujące składników poli-A, a jego strukturą drugorzędową.

Stwierdzono, że wydajności G_a są bliskie sobie we wszystkich badanych związkach, natomiast wydajność G_r obniża się już w nukleozydzie, a spada o ponad rząd wielkości w kwaśnej, dwułańcuchowej formie poli-A. Jednak w kwaśnej formie poli-A. Jednak w kwaśnej formie poli-A wydajność

G_r wzrasta z dawką promieniowania wskazując na istotny wpływ struktury drugorzędowej na przebieg radiolizy polinukleotydu. Określenie wydajności G pozwoliło powiązać zmiany w strukturze poli-A po dawkach sięgających 10 kR, głównie z radiolizą adeniny; radioliza rybozy odgrywa istotną rolę po wyższych dawkach promieniowania.

Badania strukturalne podstawionych nukleozydów na poziomie monomerów, dimerów i polimerów

Głównym punktem było określenie wpływu podstawnika w pozycji 2' w pentozie. Z dotychczasowych prac wynikała ważność podjętego problemu - zmiana podstawnika z wodoru na hydroksyl powodowała głębokie zmiany strukturalne oraz inną biologiczną aktywność badanych związków. Zmiana podstawnika na 2'-O-metylo powodowała dodatkowe zmiany, ale swoim zachowaniem badane związki zbliżały się do rybo pochodnych a nie do dezoksy. W wyniku badania efektu Cottona dla opisywanej wyżej serii pochodnych w wodnym roztworze przy zmiennej temperaturze stwierdzono, że grupa 2'-O-metylowa zwiększa stabilność dwunukleozydo-monofosforanów oraz polimerów w porównaniu do rybo pochodnych i dezoksyrybo. W dyskusji przedstawiono model wyjaśniający takie zachowanie się w serii: Grupa hydroksylowa w pozycji 2' zwiększa oddziaływanie między zasadami w wyniku ich zbliżenia wskutek wytworzenia wiązania wodorowego łączącego 2'OH z tlenem furanozowym O_4' ; Przy zastąpieniu hydroksylu grupą metoksylową zwiększa się również oddziaływanie między zasadami również w wyniku ich zbliżenia ale wskutek oddziaływań hydrofobowych - grupa metylowa ustawiona w pozycji cis do 2'wodoru plasuje się między zasadami, co powoduje zwiększenie oddziaływań.

W pracy wysunięto szereg wniosków dotyczących struktury uporządkowanych konformacji homopolimerów, zależności widma kołowego dichroizmu od otoczenia zasady azotowej itp.

Optyczne własności zasad pirymidynowych w cieple stałym i struktura kwasów nukleinowych.

Przewidywanie na drodze teoretycznej widm kwasów nukleinowych w ich uporządkowanych formach opierało się o własności optyczne r ztworów, natomiast teoria opierała się o wyniki dla ciała stałego. Wydawało się, że byłoby ciekawe porównanie własności optycznych pochodnych kwasów nukleinowych w cieple stałym z widmami roztworów kwasów nukleino- wych. Dogodną metodą do obserwacji widm absorpcyjnych i kołowego dichroizmu w nadfiolecie okazała się metoda stosowana w podczerwieni, a mianowicie badanych kryształów w matrycy KBr.

W wyniku przeprowadzonych badań nad tymidyną, cytydyną oraz tyminą, 1-metylouracylem, 1-metylocytydyną i jeszcze kilkoma pochodnymi, których struktura krystalograficzna była dokładnie poznana, stwierdzono że związki te w cieple stałym mają własności optyczne drastycznie różne od tych w roztworze, poza tym różnią się one zasadniczo od widm dla odpowiednich polinukleotydów.

Wyniki te, ze względu na ścisłe ustawienie względem siebie zasad azotowych w cieple stałym, mogą być podstawą do rewizji dotychczasowych poglądów na widmo kołowego dichroizmu i absorpcji elektronowej kwasów nukleinowych w roztworze.

Publikacje nr : 881, 891, 894, 898, 900, 907 ,
907, 940, 941, 942, 943, 944.

Temat: Nr 09.3.1.4.3.2. Kierownik: Prof. dr K.L. Wierzchowski

Podstawy regulacji funkcji kwasów nukleinowych

Prace prowadzone w okresie sprawozdawczym stanowiły w dużej mierze kontynuację badań rozpoczętą w ubiegłych latach. Grupowały się one w zasadzie wokół dwóch związanych ze sobą zagadnień, którym podporządkowane były wszystkie zadania badawcze:

1. Elektronowe stany wzbudzone pochodnych pirymidynowych i purynowych oraz drogi degradacji energii wzbudzenia w zależności od stanu fizycznego związku;
2. Warstwowe kompleksy asocjacyjne pochodnych pirymidynowych i purynowych w roztworach wodnych i ich wpływ na fotochemiczne i fizyczne drogi dezaktywacji wzbudzenia elektronowego.

Opracowano teoretycznie i opublikowano wyniki badań wpływu warstwowych asocjacji 1,3-dwumetylotyminy w roztworze wodnym na efektywność i mechanizm reakcji fotodimeryzacji. Badania te wykazały, że w warstwowych kompleksach dwuketopirymidyn fotochemiczna reakcja dimeryzacji cechuje się wysoką wydajnością kwantową porównywalną z wydajnością kwantową tej reakcji w warstwowo upakowanych kryształach dwuketopirymidyn, oraz że w obu tych układach reakcja zachodzi przede wszystkim we wzbudzonym stanie singletowym cząsteczek. Prace w tym zakresie będą nadal kontynuowane koncentrując się na wpływie asocjacji warstwowych na przebieg reakcji dimeryzacji i fotohydratacji pochodnych uracylu. W okresie sprawozdawczym opracowano technikę i metodykę badawczą opartą na wykorzystaniu ^{14}C znaczonych pochodnych.

Zakończono opracowywanie wyników badań metodami spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej charakteru najniższych stanów

wzbudzonych aminopirymidyn. Wykazały one, że najniższy wzbudzony stan singletowy tej grupy pochodnych pirymidynowych jest stanem $1, a_x$ - powstającym w wyniku wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia elektronu 1-pary atomu azotu grupy aminowej na antywiążący orbital n^x -elektronowy pierścienia pirymidynowego. Podobny charakter ma prawdopodobnie najniższy stan tripletowy. Istotną rolę w mechanizmie fosforescencji odgrywają leżące nieco wyżej stany n, x związane z obecnością n-par elektronowych na atomach azotu pierścienia. Sprzężenie spinowoorbitalne singletu n, x z najniższym tripletem oraz względne położenie tripletu n, x w stosunku do singletu $1, a_x$, zależne od miejsca podstawienia grupy aminowej na pierścieniu pirymidynowym oraz od tego czy n-para elektronowa związana jest wodorowo z grupą OH rozpuszczalnika, decydują o populacji stanu tripletowego $1, a_x$ i wydajności kwantowej fosforescencji. Opracowano również wyniki analogicznych badań stanów wzbudzonych 2-aminopuryny, dochodząc do wniosku, że poza różnym względnym położeniem stanów n, x i $1, a_x$, decydującym o właściwościach luminescencji związku, charakter najniższych stanów wzbudzonych 2-aminopuryny jest w zasadzie taki sam jak w przypadku 2-aminopirymidyny.

Ze względu na $1, a_x$ charakter najniższego wzbudzonego stanu singletowego pochodnych aminowych pirymidyny i puryny istotne znaczenie dla jego właściwości powinien mieć kąt skręcenia płaszczyzny 1-pary elektronowej grupy aminowej w stosunku do płaszczyzny pierścienia heteroaromatycznego. Podjęto prace mające na celu bliższe zbadanie efektu orientacji przestrzennej grupy aminowej na właściwości spektroskopowe związku w szeregu N,N-dwualkiloaminowych pochodnych 2-aminopirymidyny oraz 4-amino-5-metylopirymidyny. Wstępne wyniki dla szeregu pochodnych 2-N, N-dwualkiloaminopirymidyny potwierdzają przewidywania.

Stwierdzono też, że w obu grupach aminowych pochodnych agregacja cząsteczek, podobnie jak ich wbudowanie do łańcuchów polinukleotydowych, powoduje silne gaszenie fluorescencji monomeru i pojawienie się emisji eksymerycznej w niskiej temperaturze.

W związku z tym podjęto systematyczne badania stężeniowego gaszenia fluorescencji oraz właściwości emisyjnych 9,9'-propylenobis-2-aminopuryny i jej N,N-dwumetyloaminowej pochodnej, zdolnych do przyjmowania w roztworach wodnych warstwowych konformacji.

Stosując metody równowagowego ultrawierowania oraz osmometrii termoelektrycznej prowadzono badania wielostopniowych równowag asocjacyjnych związanych z tworzeniem się w roztworach wodnych pochodnych pirymidynowych i purynowych warstwowych, n-składnikowych kompleksów. Celem badań jest poznanie wpływu podstawników na wielkość oddziaływań dyspersyjnych pomiędzy pochodnymi pirymidynowymi oraz określenie stałych równowagi w układach, w których badany jest wpływ asocjacji warstwowych na procesy degradacji energii wzbudzenia elektronowego. W okresie sprawozdawczym opano- wano metodę termoelektrycznej osmometrii, określono stałe równowagi asocjacyjnej dla szeregu pochodnych dwuetopirymidynowych oraz dla 2-aminopuryny, oceniono też praktycznie stosowalność obu metod w zależności od rozpuszczalności badanego związku i rzędu wielkości stałej równowagi asocjacyjnej.

W celu uzyskania przesłanek dotyczących rozkładu gęstości elektronowej w pierścieniach dwuketopirymidynu oraz wielkości elektrostatycznych oddziaływań międzycząsteczkowych w ich roztworach kontynuowano pomiary momentów dipolowych alkilo- i chlorowco-pochodnych dwuketopirymidyn uzyskując szereg dalszych danych i uściślając otrzymane poprzednio z dokładnością $\pm 0.01 - 0.02$ jedn. Debye'a.

Publikacje nr: 896, 908, 969, 970.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.2. Kierownik: Doc. dr Z. Lassota

Kwasy nukleinowe w mechanizmie różnicowania się komórek

Zmiany profilów elektroforetycznych RNA w embriogenezie jedwabnika

Badano RNA jaj *Bombyx mori* w diapauzie i na 1 dzień przed wylęgiem. RNA wyodrębniano met. Hastings i Kirby, frakcję mikrosomową met. Kedes i Stavy, a elektroforezę przeprowadzono wg Bishopa i wsp. Z 1 g jaj w diapauzie uzyskiwano 0,5 mg RNA całk., 100 - 200 ug rybosomów i 15 - 50 ug r RNA a z 1 g jaj pod koniec rozwoju - 1,0 mg RNA całk., 500 - 600 ug rybosomów i 50 - 70 ug r RNA. W całk. RNA w głębokiej diapauzie wyróżniono 8 frakcji głównych /1 - "29S", 2 - "27S", 3 - "19S", 4 - bliska 3,5,6 i 7 odp. ruchliwsze oraz 8 w obszarze "4-5S/ oraz dwie słabe frakcje mniej ruchliwe niż "29S".

Stosunek frakcji "29S"/"19S" w RNA całk. w głębokiej diapauzie wynosi 1, pod koniec rozwoju zaś zbliża się do 2 a najruchliwsza frakcja /8/ dzieli się wówczas na dwie. W r RNA występują frakcje 1,2,3,4,5 oraz jedna w obszarze "4/5S" /frakcje 2 i 4 są tu znacznie obfitsze niż w RNA całk./. Z danych wynika, że zmiany w obrazie RNA zaczynają się jeszcze podczas przebywania jaj w niskiej temperaturze, a więc wcześniej niż dotąd uważano. Można przypuszczać, że działa rybonukleaza związana z rybosomami a szczególnie aktywna w diapauzie.

Wyjaśnienie mechanizmu aktywacji enzymu /AChE/ w metamorfozie *Celerio euphorbiae*.

Poprzednio wykazaliśmy, że u diapauzujących poczwerek *Celerio* jeszcze w czasie przebywania w temp. 4° następuje gwałtowny wzrost aktywności esterazy acetylocholinowej /AChE/ i że zmiany te zależą od płci a następnie, że AChE uczestniczy w przemianach poza układem nerwowym, zapewne w przemianie lipidowej.

Stosując *in vivo* puromycynę i aktynomycynę wykazano, że hamują one narastanie aktywności AChE w omawianym okresie. W fizjologicznym szczycie aktywności AChE sięgającym 12-13

M AChBr/godz/osobnika, po uprzednim podaniu aktynomycyny w dawce 2 g/osobnika aktywność wynosi zaledwie 1 M AChBr/godz/osobnika, a przy dawce dwukrotnie wyższej - aktywność w ogóle się nie pojawia. Wskazuje to, że narastanie aktywności AChE jest wynikiem syntezy enzymu *de novo*, a zatem, że wbrew dotychczasowym poglądom w takich warunkach przebiega u poczwerek zarówno transkrypcja jak i translacja.

Publikacje Nr : 906, 928, 945, 946.

Temat: Nr 09.3.1.4.1.1. Kierownik: Prof. dr P.Szafranski

Kontrolowana biosynteza białka w układach bezkomórkowych

Reakcja rybosomów *Escherichia coli* z matrycami

W pracy tej badano mechanizm przyłączania mRNA *E.coli*, RNA faga f2 oraz poli U do rybosomów z *E.coli*. Dwa aspekty tego problemu były przedmiotem doświadczeń:

- 1/ rola kationów w stabilności kompleksu mRNA - rybosomy
- 2/ rola struktury rybosomu w przyłączaniu mRNA.

Wyniki wskazują, że zarówno poli U jak i naturalne matryce przyłączają się do tych samych miejsc na rybosomie. Jednakże mechanizm wiązania rybosomów z obu typami matrycy okazał się inny. Przyłączanie poli U do rybosomów wymaga udziału jonów dwuwartościowych, natomiast w reakcji naturalnych matryc mogą być one zastąpione w znacznym stopniu przez jony jednowartościowe. Usunięcie części białek rybo-

somowych za pomocą 1 M NH_4Cl uniemożliwia przyłączenie naturalnych matryc do rybosomów nie wpływając w istotny sposób na wiązanie poli U.

Grupy aminowe białek rybosomowych są niezbędne w reakcji z naturalnymi matrycami, natomiast w wiązaniu poli U z rybosomami istotny jest udział reszt aminowych rRNA.

Badania nad dwuznacznym odczytywaniem poli U

Praca jest kontynuacją poprzednich badań, w których wykazano, że odpowiednio przygotowane rybosomy *Bacillus stearothermophilus* prowadzą w obecności poli U, obok syntezy poli fenylalaniny - syntezę polileucyny. Przedstawiane obecnie wyniki wskazują, że również rybosomy *Escherichia coli* mogą wykazywać istotną dwuznaczność w odczytywaniu poli U. Zjawisko zwiększonego włączania ^{14}C -leucyny w stosunku do ^3H -fenylalaniny w obecności odpowiednio przygotowanych rybosomów zostało potwierdzone za pomocą akcji ^{14}C -leucylo-tRNA i ^{14}C -fenyloalanylo-tRNA z rybosomami.

Wyniki sugerują, że prawidłowe odczytywanie kodu genetycznego jest związane ze strukturą rybosomów.

W okresie sprawozdawczym rozpoczęto pracę nad mechanizmem translacji RNA faga f2 w układach bezkomórkowych z *Escherichia coli*.

Translacja RNA faga f2 *in vitro*

W ostatnim czasie nagromadziło się wiele hipotez dotyczących mechanizmów uruchamiania aktywności odpowiednich cistronów na matrycy. W omawianej pracy wykazano, że niewielkie różnice stężeń magnezu w środowisku mogą powodować znaczne różnice w szybkości tłumaczenia odcinków RNA faga f2 odpowiedzialnych za syntezę polimerazy RNA i białka

płatcza fagowego. Zbadano produkty translacji RNA fagowego w zakresie stężeń Mg^{2+} od 10,6 do 18,6 mM. Syntetyzowane pod wpływem RNA f2 znakowane ^{14}C -alaniną i 3H -hystydyną produkty, rozdzielano za pomocą elektroforezy na poliakrylamidzie. Produkty utworzone w układzie zawierającym od 12,6 do 18,6 mM Mg^{2+} odpowiadały specyficznym białkom: polimerazie RNA i białku płatcza fagowego. Optymalne warunki translacji znaleziono w 12,6 mM Mg^{2+} . Obniżenie stężenia Mg^{2+} . Obniżenie stężenie Mg^{2+} poniżej optymalnej wartości do 10,6 mM prowadziło do braku syntezy polimerazy RNA. Rezultat ten był wynikiem obniżenia szybkości elongacji co powodowało niekompletne tłumaczenie większego genu polimerazy RNA podczas gdy 4-krotnie mniejszy gen białka płatcza był w tych warunkach tłumaczony.

Dekodowanie formylometionylo-tRNA

W okresie sprawozdawczym rozpoczęto pracę celem której jest ustalenie czy F-met-tRNA jest w obecności RNA faga f2 przyłączany na rybosomie do miejsca A-akceptorowego, P-peptydylowego, czy też do jeszcze innego trzeciego miejsca. Doświadczenia z blokowaniem przyłączania F-met-tRNA w obecności puromycyny i tetracykliny wskazują, że inicjujący tRNA może przyłączać się do innego niż P-miejsce na rybosomie, a następnie jest przenoszony do miejsca peptydylowego.

Publikacje nr: 866, 879, 885, 901, 935, 939, 959,
965, 49/71, 51/71, 52/71.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.3. Kierownik: Doc. dr M. Jeżewska

Metabolizm prekursorów i produktów rozpadu kwasów nukleinowych

Przemiana kwasu inozynowego do kwasu moczowego

Badania wykonano na homogenatach, supernatancie homogenatu i frakcjach białkowych otrzymanych z wątrobotrzustki ślimaka lądowego *Helix pomatia*.

1. Odszczepienie fosforanu i rybozy

- a. enzymy rozkładające mononukleotydy purynowe - nie stwierdzono aktywności nukleozydazy mononukleotydów i fosforybozylo-transferazy. Wykazano aktywność fosfatazy odszczepiającej fosforan nieograniczony z utworzeniem nukleozydu. Rozszczepiane są IMP i GMP, słabiej AMP, XMP i UMP. Pirofosforan hamuje reakcję,
- b. enzymy działające na nukleozydy - nie stwierdzono aktywności nukleozydazy, wykryto silną aktywność fosforylasy nukleozydowej. Enzym oczyszczono około 50 razy. Oznaczono wpływ stężenia substratu /inozyny/, czasu reakcji, temperatury i stężenia jonów wodorowych oraz wpływ jonów magnezu i wapnia, Na_2SO_4 i ADP na przebieg reakcji katalizowanej przez ten enzym. Oczyszczony enzym rozkłada inozynę, guanozynę, adenozynę, nie rozkłada ksantozyny i urydyny.

2. Dehydrogenaza ksantynowa

- zastosowano do badań metodę spektrofotometryczną zamiast poprzednio stosowanej chromatograficznej, co umożliwiło jednoczesne śledzenie obu etapów reakcji utleniania hipoksantyny do kwasu moczowego, a także na użycie NAD jako akceptora elektronów. Próbowano zmieniając warunki reakcji, względnie zmieniając preparatykę enzymu, uzyskać bądź zwiększenie wydajności.

utleniania ksantyny do kwasu moczowego, bądź całkowity zanik 2 etapu utleniania. Badano i porównywano aktywność enzymu wobec hipoksantyny i ksantyny jako substratów i błękitu metylenowego i NAD jako akceptorów elektronów. Wydaje się, że stosunek ksantyny do kwasu moczowego przy utlenianiu hipoksantyny nie zależy od rodzaju buforu, pH środowiska, stężenia akceptora elektronów i temperatury, natomiast zależy od stosunku enzymu do substratu i od rodzaju akceptora elektronów i w pewnym stopniu od czasu reakcji.

3. Dezaminazy

- wykryto słabą aktywność dezaminazy adeniny. Próba aminowania ksantozyny i ksantyny nie dała pozytywnych wyników.

Publikacje nr: 924, 925.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.10. Kierownik: Doc. dr J. Buchowicz

Metabolizm prekursorów kwasów nukleinowych u roślin

Ustalenie kolejności wznowiania syntezy DNA, RNA i białka w ziarnie pszenicy poddanym kiełkowaniu

Celem podjętych badań jest ustalenie kierunku i kolejności przekazywania informacji genetycznej między DNA, RNA i białkiem w warunkach naturalnej synchronizacji procesów rozwojowych. Jako obiekt badań wybrano ziarno pszenicy, a jako pierwszy etap badań zaplanowano ustalenie kolejności wznowiania syntezy DNA, RNA i białka w czasie indukcji procesu kiełkowania. Wykazano, że ziarno pszenicy pozostające w stanie spoczynku wyposażone jest w komplet enzymów

niezbędnych do syntezy RNA z prostych prekursorów.

Po mieszczeniu ziarna w warunkach sprzyjających kiełkowaniu synteza RNA zostaje wznowiana niemal natychmiast. W trzy i cztery godziny później uruchamiane zostają kolejno synteza białka i DNA. Wraz z rozpoczęciem syntezy białka obserwuje się także prawdopodobną degradację nowopowstałego RNA.

Na marginesie przeprowadzonych badań, w trakcie opracowywania metod analitycznych, zaobserwowano alkoholityczną degradację nukleotydów, katalizowaną przez fosfatazy roślinne w stężonych roztworach alkoholowych.

Publikacje nr: 87, 889, 902, 909, 910, 911, 917, 962, 963.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.4. Kierownik: Doc. dr M. Piechowska

Kwasy nukleinowe i białka w mechanizmie regulacji hormonalnej u owadów

Białka hemolimfy

Białka 1/ z hemolimfy gąsienic ostatniego stadium larwalnego, przedpoczwarek, poczwarek i motyli obu płci oraz

2/ z homogenatów jaj w czasie ich cyklu rozwojowego rozdzielono za pomocą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym. Wyodrębniono około 20 frakcji w hemolimfie i około 15 w homogenatach, charakterystycznych dla określonego stanu fizjologicznego owada i stadium rozwoju embrionalnego.

Spośród wyodrębnionych białek hemolimfy określono metodą wybiórczego wybarwienia lokalizację esteraz, fosfatazy kwaśnej i alkalicznej oraz amylazy, kontynuowano również badania nad lokalizacją oksydazy polifenolowej.

Aminokwasy hemolimfy

Oznaczono pulę wolnych aminokwasów i związków ninkydryno-dodatnich u gąsienic w 5-tym okresie, przedpoczwarek i poczwarek podczas rozwoju doraźnego i przewlekłego na automatycznym analizatorze aminokwasów Beckmana. Wykazano 18 aminokwasów białkowych, 6 niewystępujących w białkach, 3 niezidentyfikowane związki, 6 pochodnych oraz mocznik i amoniak. Wykazano zmiany w poziomie aminokwasów w zależności od stadium rozwoju oraz różnice między rozwojem doraźnym i przewlekłym.

Zakończono oznaczanie składu aminokwasów w gruczole przednim i oprzędzie po hydrolizie kwaśnej i zasadowej. Wykazano obecność 16 aminokwasów w gruczole, oprzędzie i oprzędzie po ekstrakcji /białko nierozpuszczalne/, a 15 w ekstrakcie wodnym /białko rozpuszczalne/, gdzie nie znaleziono argininy. W żadnym z badanych białek nie stwierdzono tryptofanu.

Cykliczny adenozy-3', 5'- monofosforan

Oznaczenia jakościowe prowadzono na homogenatach z mięśni, ścian jelita, ciała tłuszczowego, cewek Malpighiego i narządów płciowych u imago obu płci szarańczy *Schistocerca gregaria*.

Najsilniejsze plamy c-AMP sprawdzane w świetle UV wykazywały mięśnie, jaja, słabsze narządy płciowe i cewki Malpighiego oraz ciało tłuszczowe samców.

Do oznaczeń ilościowych przygotowano fosfodwuesterazę specyficzną dla c-AMP z mózgu szczura oraz przeprowadzono wstępne oznaczenia aktywności fosfodwuesterazy z homogenatów mięśni szarańczy.

Hormon juvenilny

Określono wrażliwość gąsienic 5-go okresu, przedpoczwarek i poczwarek na działanie syntetycznego preparatu HJ produkcji Calbiochem. Wystandaryzowano wielkość dawki hormonu i najwłaściwszy okres dla jego stosowania. Stwierdzono zmiany w metamorfozie, jak niespotykane w naturze wydłużenie okresu przedpoczwarkowego, zmiany w kutikuli larwalnej, a także stopień zahamowania rozwoju i wzrostu tkanek i narządów. Przeprowadzone badania pozwolą ustalić sposób działania hormonu u przedstawiciela rodziny Sphingidae i dadzą punkt wyjścia do dalszych badań nad wpływem hormonu juvenilnego na metabolizm pośredni.

Publikacje nr 871, 892, 882.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.1. Kierownik: Prof. dr J.W. Szarkowski

Struktura i funkcja kwasów nukleinowych oraz białek organeli komórkowych w ich biogenezie.

Charakterystyka frakcji rybosomopodobnej mitochondriów liści żyta.

Badania przeprowadzono na krajowej odmianie żyta /Secale Cereale L. odm. "Dańkowskie".

Mitochondria izolowano z pierwszych liści 14 dniowych kielków. Porównano własności osadu nukleoproteidów mitochondrialnych opadających w trakcie wirowania homogenatów mitochondrialnych przy 100 000 g z własnościami innych podfrakcji, tj. osadu 20 000 g i supernatantu po osadzie 100 000 g. Stwierdzono, że ok. 80% RNA osadu nukleoproteidów jest związkiem wysokopolimeryzowanym. Stosunek RNA/białko tej podfrakcji

Spośród wyodrębnionych białek hemolimfy określono metodą wybiórczego wybarwienia lokalizację esteraz, fosfatazy kwaśnej i alkalicznej oraz amylazy, kontynuowano również badania nad lokalizacją oksydazy polifenolowej.

Aminokwasy hemolimfy

Oznaczono pulę wolnych aminokwasów i związków ninkydryno-dodatnich u gąsienic w 5-tym okresie, przedpoczwarek i poczwarek podczas rozwoju doraźnego i przewlekłego na automatycznym analizatorze aminokwasów Beckmana. Wykazano 18 aminokwasów białkowych, 6 niewystępujących w białkach, 3 niezidentyfikowane związki, 6 pochodnych oraz mocznik i amoniak. Wykazano zmiany w poziomie aminokwasów w zależności od stadium rozwoju oraz różnice między rozwojem doraźnym i przewlekłym.

Zakończono oznaczanie składu aminokwasów w gruczole przednim i oprzędzie po hydrolizie kwaśnej i zasadowej. Wykazano obecność 16 aminokwasów w gruczole, oprzędzie i oprzędzie po ekstrakcji /białko nierozpuszczalne/, a 15 w ekstrakcie wodnym /białko rozpuszczalne/, gdzie nie znaleziono argininy. W żadnym z badanych białek nie stwierdzono tryptofanu.

Cykliczny adenozylo-3', 5'- monofosforan

Oznaczenia jakościowe prowadzono na homogenatach z mięśni, ścian jelita, ciała tłuszczowego, cewek Malpighiego i narządów płciowych u imago obu płci szarańczy *Schistocerca gregaria*.

Najsilniejsze plamy c-AMP sprawdzane w świetle UV wykazywały mięśnie, jaja, słabsze narządy płciowe i cewki Malpighiego oraz ciało tłuszczowe samców.

Do oznaczeń ilościowych przygotowano fosfodwuesterazę specyficzną dla c-AMP z mózgu szczura oraz przeprowadzono wstępne oznaczenia aktywności fosfodwuesterazy z homogenatów mięśni szarańczy.

Hormon juvenilny

Określono wrażliwość gąsienic 5-go okresu, przedpoczwarek i poczwarek na działanie syntetycznego preparatu HJ produkcji Calbiochem. Wystandaryzowano wielkość dawki hormonu i najwłaściwszy okres dla jego stosowania. Stwierdzono zmiany w metamorfozie, jak niespotykane w naturze wydłużenie okresu przedpoczwarkowego, zmiany w kutikuli larwalnej, a także stopień zahamowania rozwoju i wzrostu tkanek i narządów. Przeprowadzone badania pozwolą ustalić sposób działania hormonu u przedstawiciela rodziny Sphingidae i dadzą punkt wyjścia do dalszych badań nad wpływem hormonu juvenilnego na metabolizm pośredni.

Publikacje nr 871, 892, 882.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.1. Kierownik: Prof. dr J.W. Szarkowski

Struktura i funkcja kwasów nukleinowych oraz białek organeli komórkowych w ich biogenezie.

Charakterystyka frakcji rybosomopodobnej mitochondriów liści żyta.

Badania przeprowadzono na krajowej odmianie żyta /Secale Cereale L. odm. "Dańkowskie".

Mitochondria izolowano z pierwszych liści 14 dniowych kielków. Porównano własności osadu nukleoproteidów mitochondrialnych opadających w trakcie wirowania homogenatów mitochondrialnych przy 100 000 g z własnościami innych podfrakcji, tj. osadu 20 000 g i supernatantu po osadzie 100 000 g. Stwierdzono, że ok. 80% RNA osadu nukleoproteidów jest związkiem wysokopolimeryzowanym. Stosunek RNA/białko tej podfrakcji

wynosi 0.3 i odbiega od analogicznych wartości innych podfrakcji mitochondrialnych i rybosomów cytoplazmatycznych. Stosunek ilości DNA/RNA wynosi 0.04 i jest najniższy w zestawieniu z innymi podfrakcjami. Temperatura topienia RNA osadu nukleoproteidów wynosi 52° i jest wyższa od analogicznej wartości dla RNA rybosomów cytoplazmatycznych. Porównawcza charakterystyka podfrakcji mitochondrialnych wskazuje na odmienność osadu nukleoproteidów zarówno od innych podfrakcji mitochondrium jak również od rybosomów cytoplazmatycznych.

Zbadanie rozmieszczenia i intensywności biosyntezy DNA i RNA w mitochondriach żyta w czasie kiełkowania oraz charakterystyka enzymów nukleolitycznych

Badania przeprowadzono na zarodkach żyta izolowanych przy zastosowaniu kilkakrotnej flotacji w 2 M roztworze sacharozy. Kiełkowanie prowadzono przez 24 i 48 godz. z zachowaniem dziennie-nocnego cyklu dobowego. Stwierdzono, że rozmieszczenie RNA w podfrakcjach uzyskiwanych przez różnicowe wirowanie homogenatów mitocjondriów zarodków jest nierównomierne. Wykrywano ok. 90% RNA w podfrakcji 20 000 g i blisko 10% w osadzie 100 000 g. Wymienione proporcje nie ulegały zmianom w ciągu początkowych 24 i 28 godzin kiełkowania. Wyniki te są zbliżone do analogicznych danych dla mitochondriów 14-to dniowych liści żyta. Przebadano włączanie 2-¹⁴C-uracylu do RNA mitochondriów izolowanych z zarodków i 24-o godzinnych kiełków. Stwierdzono ośmiokrotny wzrost aktywności właściwej RNA mitochondrialnego po 24 godz. kiełkowania. Badano również metabolizm DNA in vivo w mitochondriach i innych organellach komórkowych w czasie kiełkowania. Wykazano, że relatywnie najintensywniejsze włączanie ³H-tymidyny zachodzi we frakcji mitochondrialnej, przy najniższej intensywności włączania do DNA jądrowego, zarówno po 24 jak i po 48 godz. kiełkowania. Wynik ten sugeruje, że mitochondria, podobnie jak plastydy,

charakteryzują się pewną autonomią metaboliczną już we wczesnych fazach swojego rozwoju.

Badano aktywność nukleolityczną frakcji jądrowej, plastydialnej, mitochondrialnej, rybosomalnej oraz supernatantu postrybosomalnego zarodków i 24-o godzinnych kiełków żyta. Przeprowadzono próby izolowania i charakterystyki oraz oczyszczenia enzymów rozkładających RNA supernatantu postrybosomalnego zarodków. Stosując frakcjonowane wysalanie siarczanem amonu i chromatografię kolumnową na wymiennicach celulozowych i żelu Sephadex G-50 uzyskano kilkakrotnie oczyszczoną, termolabilną frakcję białkową rozkładającą RNA przy pH 5,4 i 7,2.

Publikacje nr: 872, 887, 893, 916, 964.

Temat: Nr 09.3.1.4.2.9. Kierownik: Prof. dr D. Shugar

Przygotowanie specyficznych substratów dla enzymów nukleolitycznych i lokalizacja nukleaz metodami cytochemicznymi

Opracowanie metody syntezy i wyodrębniania 3' - naftylofosforanów rybonukleozydów swoistych substratów do histochemicznej lokalizacji i kolorymetrycznych oznaczeń enzymów o swoistości RNaz

Opracowano metodę syntezy czterech substratów do histochemicznych i kolorymetrycznych oznaczeń RNaz:

3' - - naftylofosforan urydyny, substrat dla RNazy trzuskowej i RNazy T2, o niewielkiej podatności na fosfodwuesterazę II;

5'-O-metylo- oraz 5'-O-etylo-3' -naftylofosforany urydyny, substraty dla powyższych RNaz, charakteryzujące się zwiększoną opornością na działanie fosfodwuesterazy II;

3'- - naftylofosforan inozy, substrat dla RNazy T2, o niewielkiej podatności na działanie RNazy T1 i fosfodwuesterazy II.

Ustalono szybkości hydrolizy tych substratów przez RNazę trzustkową, T1 oraz T2. Stwierdzono wpływ wielkości podstawnika w pozycji 5'OH substratu na jego oporność na działanie fosfodwuesterazy II.

Histochemiczna lokalizacja rybonukleazy w pędach pszenicy

Zlokalizowano histochemicznie enzym działający na 3'- - naftylofosforan urydyny oraz inozy w młodych pędach pszenicy, głównie we wiązkach, w cytoplazmie komórek miazgi floemu, towarzyszących oraz miękiszowych wiązkach oraz w mniejszym stopniu w cytoplazmie komórek miękiszowych coleoptyle i liścia; brak enzymu w jądrach i chloroplastach. Stwierdzono identyczność enzymu działającego na oba substraty na podstawie identyczności lokalizacji histochemicznej, występowania w supernatancie komórkowym, optimum pH, wpływu jonów, etc. Na podstawie elektroforezy na żelu poliakrylamidowym w szeregu układów oraz zachowania się wobec szeregu syntetycznych substratów ustalono jego identyczność z RNazą.

Wyodrębnianie RNazy alkalicznej śledziony; badania swoistości enzymu w porównaniu z RNazą tkanek wydzielniczych

Stwierdzono występowanie w trzustce, śliniance i nerce RNazy alkalicznej działającej na 3'- - naftylofosforan urydyny z szybkością odpowiadającą szybkości hydrolizy katalicznej RNazy trzustki oraz zbadano jej histochemiczną lokalizację. Podobną aktywność wobec tego substratu stwierdzono w RNazie alkalicznej łożyska, podczas gdy RNazy alkaliczne wątroby, śledziony i płuc charakteryzują się brakiem aktywności wobec tego substratu.

Obecnie prowadzone są prace nad oczyszczaniem RNazy śledziony, celem ustalenia różnic w jej swoistości w stosunku do RNazy trzustki i ślinianek.

Publikacje nr : 878, 880, 895.

1. Kształcenie kadr
2. Współpraca naukowa z zagranicą
3. Konsultacje naukowe
4. Kursy, konferencje, zjazdy
5. Prace usługowe
6. Nowe urządzenia

1. SPRAWOZDANIE

z działalności Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN
w zakresie kształcenia i doskonalenia kadr

I. Ilość stopni naukowych uzyskanych w roku 1971:

1. Ogółem: 7 doktorów nauk przyrodn. i 1 doktor habilitow. /nauki przyrodnicze - biochemia/
w tym: a/ pracown. IBB: 6 osób " " - "
b/ w szkole wyższej - " " - "
2. Uczestników studiów doktoranckich w placówce - " " - "
3. Osoby nie zatrudnione w IBB: 1 osoba " " - "

II. Ilość stypendiów doktorskich i habilitac. udzielonych przez Instytut w 1971 r.

1. Pracownikom własnym 5 /styp.doktorskie/ nauki przyr. - bioch. 93
..... 2 /styp.habilitac./ " " - " 1
2. Osobom nie zatrudnionym w PAN 1

III. Liczba pracowników skierowanych ~~na~~ na staż krajowy naukowy do innych jednostek PAN lub poza PAN - Liczba osób nie zatrudnionych w IBB, odbywających w Instytucie staż naukowy 3

IV. Liczba studentów szkół wyższych, którzy odbywali praktyki wakacyjne w IBB w 1971 r. 16

V. Uwagi i wnioski placówki na temat kształcenia i doskonalenia pracowników własnych lub ich udziału w kształceniu i doskonaleniu pracowników spoza PAN.

Sprawozdanie z kształcenia kadr naukowych w ramach Studium Doktoranckiego przy IBB PAN będzie złożone oddzielnie.

2. SPRAWOZDANIE

ze współpracy naukowej z zagranicą w 1971 r.

Instytut współpracował w tematyce objętej problemem węzłowym 09.3.1.

A. W ramach RWPG

a/ Kontynuowano współpracę w problemie planu RWPG "Chemia i technologia białek, peptydów i aminokwasów". W tym problemie Instytut Biochemii i Biofizyki PAN jest jednostką wiodącą w skali krajowej.

Przedstawiciel /1 osoba/ Instytutu uczestniczył w posiedzeniu ekspertów odbytym we wrześniu 1971 r. w Warnie /Bułgaria/.

b/ Zgłoszono z Instytutu 3 tematy do planu współpracy RWPG w dziedzinie "Badanie w zakresie biofizyki":

- 1/ Konformacyjne właściwości syntetycznych polinukleotydów;
- 2/ Badanie oddziaływań międzycząsteczkowych pomiędzy zasadami purynowymi i pirymidynowymi;
- 3/ Molekularne podstawy mutogenezy.

Przedstawiciel /1 osoba/ Instytutu uczestniczył w posiedzeniu Rady Pełnomocników Centrum Koordynującego tego problemu, odbytym w październiku br. w Puszczyńsku /ZSRR/.

B. W ramach współpracy wielostronnej Akademii Nauk, kontynuowano współpracę w tematyce "Chemia i Biochemia kwasów nukleinowych".

Przedstawiciele /3 osoby/ Instytutu uczestniczyli w spotkaniu stron współpracujących w tej tematyce, odbytym w czerwcu br. w Budapeszcie.

C. W ramach współpracy dwustronnej:

1. Kontynuowano współpracę w ramach umowy PAN - CNRS, Francja;

2. Kontynuowano współpracę w ramach umowy PAN - CNR, Włochy.

Instytut zamierza kontynuować i rozwijać wszystkie wyżej wymienione sposoby współpracy. Przy odpowiednich usprawnieniach i odformalizowaniu /o czym wielokrotnie sygnalizowaliśmy władzom PAN/ możliwe jest uzyskanie większych korzyści niż dotychczas.

W ramach wyżej podanych kierunków i sposobów współpracy prowadziliśmy wymianę pracowników.

W 1971 r. przyjęliśmy: 3 osoby z Francji, 1 osobę z Włoch, 3 osoby z Czechosłowacji 1 osobę z Bułgarii i 1 osobę z Węgier na krótkie wizyty.

Wysłaliśmy na krótkie pobyty:

4 osoby do Francji, 4 osoby do Czechosłowacji 2 osoby do NRD i 1 osobę do ZSRR.

W 1971 r. 5 osób uczestniczyło w szkole letniej w Pradze /Czechosłowacja/, tematyka dotyczyła kwasów nukleinowych, 1 osoba w szkole letniej FEBS w Bari /Jugosławia/ tematyka dotyczyła enzymologii, 1 osoba w szkole letniej w Pizie /Włochy/ tematyka dotyczyła zastosowań metod fizycznych w biologii oraz 2 osoby w szkole letniej w Nowosybirsku /ZSRR/ tematyka dotyczyła kwasów nukleinowych.

Korzyści z uczestnictwa w wymienionych szkołach są znaczne. Wysyłano z reguły młodych pracowników, którzy zapoznawali się tam teoretycznie i praktycznie z nowoczesną metodą badań stosowaną w odpowiednich dziedzinach. Tematyka szkół była związana z profilem naukowym naszego Instytutu.

W 1971 r. przedstawiciele Instytutu brali udział w następujących kongresach i zjazdach:

1. Zjazd Environmental Mutageny Society, European Branch /1 osoba/.
2. Europejski Kongres Biofizyczny, Austria /2 osoby/.
3. VII Kongres Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych Bułgaria /2 osoby + 4 osoby w ramach wymiany/.
4. Sympozjum "The Bacterial Cell Envelope" /1 osoba/.

Wyjazdy długoterminowe:

W 1971 r. z IBB wyjechały 2 osoby do USA, 1 do Kanady i 1 do ZSRR.

Z pobytów długoterminowych powróciły w 1971 r. 4 osoby z USA i 1 z Belgii.

KONSULTACJE NAUKOWE UDZIELONE W 1971 ROKU

Lp.	Określenie konsultacji	Odbiorca/cy/	Uwagi
1	Analiza genetyczna Streptomyces	Inst. Antybiotyków Warszawa	konsultacja ciągła /przez cały rok/
2	Analiza mutantów oddechowych u drożdży	Zakł. Mikrobiol. UW /Wrocław/	" "
3	Otrzymywanie wysoko produkcyjnych szczepów drożdży	Inst. Mikrob. Przem. Polit. i Żywności	konsultacja jednorazowa
4	Analiza cytologiczna mieszańców róży	IBL - Warszawa	" "
5	Analiza embriologiczna mieszańców gruszy z jarzębiną	Inst. Sadownictwa Skierbiewice	" "
6	Wykonywanie preparatów autoradiograficznych	Inst. Hodowli Zwierząt, Jastrzębiec	" "
7	Konsultowanie prac magisterskich	Zakład Genetyki UW	konsultacje ciągłe /styczeń - październik 1971/
8	Konsultacje w dziedzinie biochemii defektu metabolicznego u dzieci: galaktozemia	Instytut Matki i Dziecka, Warszawa	konsultacje ciągłe

4. KURSY, KONFERENCJE ORAZ SEMINARIA SPECJALISTYCZNE I SZKOLENIOWE
ORGANIZOWANE W 1971 R.

Lp.	Temat kursu, konferencji lub seminarium	Liczba uczestników		Uwagi
		Ogółem	w tym spoza PAN	
1	2	4	5	
1	FEBS. Symp. 3 /Varna, Bułgaria "Reakcje wirusa z komórką i antymetabolity wirusowe"	2 200		
2	FEBS, Sekcja komunikatów "Biosynteza białek", Varna Bułgaria	2 200		

5. WYKAZ PRAC USŁUGOWYCH WYKONANYCH PRZEZ INSTYTUT BIOCHEMII
I BIOFIZYKI W 1971 R.

/zlecenia jednostek gospodarki uspołecznionej/

Lp.	Nazwa jednostki zlecającej	Temat zlecenia	Ilość prac
1	Wojskowa Akademia Techniczna W-wa	Oznaczenia efektu Cottona	15 oznaczeń
2	Przedsiębiorstwo Kompletowania Dostaw i Organizowania Produkcji "Kompleks"	Opracowanie dwóch ofert bloków laboratoryjnych niżej podanych tematów - fotoelektrokalory- metria	2 oferty na wyposaże- nie bloków
3	Uniwersytet Warszawski - Wydział Chemii Instytut Podstawowych Problemów Chemii W-wa	- mikrobiologia	19 oznaczeń
4	Instytut Chemii UMCS Zakład Chemii Organicznej - Lublin	Wykonanie serii widm ORD i CD i UV	10 oznaczeń
5	Wojskowa Akademia Medyczna Łódź	Wykonanie widm ORD, CD i UV 10 połączeń optycznie czynnych pochodnych dwubenzofuranu i benzenu	10 oznaczeń
6	Instytut Chemii Organicznej PAN - Łódź	Oznaczenia efektu Cottona	6 oznaczeń
7	Instytut Chemii UMCS, Z-d Chemii Organicznej - Lublin	Wykonanie pomiarów optycznej dispersji rotacyjnej 6 związków	5 próbek
8	Uniwersytet Warszawski Wydział Chemii Inst. Podst.Probl.Chemii W-wa	Wykonanie widm ORD i CD	20 oznaczeń
9	Instytut Biologii Doświadczalnej PAN Im. Nenckiego	Wykonanie widm ORD	2 analizy
10	Instytut Biochemii i Fizjologii UL Zakład Fizjologii Roślin	Wykonanie analizy aminokwasów	1 analiza
11	Instytut Gruźlicy - Warszawa	Wykonanie analizy aminokwasów /u chorej/	1 analiza

6. Nowe urządzenia wykonane w warsztatach
Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN
w 1971 roku

=====

TERMOREGULATOR IMERSYJNY - TYP I

1. Urządzenie znajduje zastosowanie przy pracach laboratoryjnych gdy wymagana jest stabilizacja temperatury cieczy w dowolnym /praktycznie/ naczyniu.
2. Zakres temperatur 20 - 70°C.
Dokładność stabilizacji $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ temperatury.
3. Seria próbna.
4. 4 szt. wykonane we własnym zakresie dla potrzeb Instytutu.
5. Cena przy wykonywaniu serii próbnej bez oprzyrządowania ok. 2.000 zł za 1 szt. Porównywalna cena termoregulatora o mniejszej uniwersalności prod. Techn.Lab. Instruments INC USA wynosi ok. 50 \$.
6. Zapotrzebowanie własne - kilkanaście sztuk.

TERMOREGULATOR DO KOMÓR TERMOSTATOWYCH TYP KZ

1. Termoregulator znajduje zastosowanie przy stabilizacji temperatury w obiektach wymagających dużej niezawodności działania z uwagi na cenną zawartość ulegającą zniszczeniu w przypadku przekroczenia określonej maksymalnej temperatury.
2. Zakres temperatur 20 - 70°C.
Dokładność stabilizacji $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ temperatury.
3. Seria próbna.
4. 10 sztuk wykonanych w własnym zakresie dla potrzeb Instytutu.
5. Cena przy wykonywaniu serii próbnej bez oprzyrządowania ok. 2.000 zł za 1 szt. Porównywalna cena termoregulatora bez dodatkowego układu zabezpieczającego produkcji Techn. Lab. Instruments INC USA wynosi ok. 50 \$.
6. Zapotrzebowanie własne - kilkadziesiąt sztuk.

PRZYSTAWKA STERUJĄCA DO KOLEKTORA FRAKCJI - TYP CS 120

1. Przystawka przeznaczona jest do regulacji czasu zbierania frakcji z kolumn chromatograficznych itp.
Z uwagi na prostą konstrukcję /układ elektromechaniczny może być użytkowany w trudnych warunkach klimatycznych /duży zakres temperatur i wysoka wilgotność/, w których czasostery elektroniczne wykazują dużą zawodność.
2. Zakres 1 min. do 120 min. - regulacja płynna
Dokładność $\pm 2 \pm 10$ sek.
3. Prototyp.
4. Cena przy produkcji seryjnej 1.500 - 2.000 tys.zł.
Porównywalny czasoster f-my Techni Lab.Instruments USA kosztuje ok. 70 \$.

WYTRZĄSARKA ORBITALNA Z ŁAŻNIĄ WODNĄ - typ MW-1

1. Urządzenie przeznaczone jest do mieszania roztworów znajdujących się w kolbach o niewielkich rozmiarach przy jednoczesnym utrzymaniu stałej temperatury roztworu w trakcie mieszania.

Ma to zastosowanie przy prowadzeniu hodowli bakterii na pożywkach płynnych o małych objętościach.

2. Zakres obrotów 50 - 400/min /regulacja płynna/.

Amplituda wstrząsów - nastawiana w zakresie 0 + 10 mm
Łażnia wodna o temperaturach 20 + 60°C z dokładnością $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

3. Prototyp.

4. Cena przy produkcji seryjnej ok. 6.000 zł. Ceny podobnych urządzeń firmy Gallenkamp wynoszą ok. 600 zł.

WYTRZĄSARKA ORBITALNA Z TERMOSTATEM POWIETRZNYM - TYP WP-1

1. Urządzenie przeznaczone jest do mieszania roztworów znajdujących się w kolbach o większych wymiarach przy jednoczesnym utrzymywaniu stałej temperatury roztworu w trakcie mieszania.

Ma to zastosowanie przy prowadzeniu hodowli bakterii na pożywkach płynnych o dużych objętościach.

2. Zakres obrotów 50 - 350/min /regulacja płynna/.

Amplituda wstrząsów 15 mm.

Komora termostatowa 20 - 60°C z dokładnością $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

3. Prototyp.

4. Cena przy produkcji seryjnej ok. 10.000 zł. Ceny podobnych urządzeń f-my Gallenkamp wynoszą ok. 800 zł.

POLSKA AKADEMIA NAUK
INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI

Publikacje z roku 1971

Prosimy wypisać numery żądanych odbitek i przesłać pod
adresem:

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN
Warszawa 12, ul. Rakowiecka 36

POLISH ACADEMY OF SCIENCES
INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS
List of publications in 1971

Please mark the numbers of reprints you would like to
receive and send the request to the following address:

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN
Warszawa 12, ul. Rakowiecka 36

866. P.Szafranski, S. Perzyński, P.Chomczyński,
L.Zagórska and L.Zwierzechowski
Misreading of polyuridylic acid in relation
to structure of ribosomes. Z
Studia Biophysica 21/22, 21-28, 1970
867. J.Buchowicz, A.Leśniewska
Note on the formation of alkyl phosphates in
plant extracts.
Analytical Biochemistry 38, 296-298, 1970
868. E. Kędzierska and E. Mikulaszek
Chromatographic studies on cellular fractions
derived from Salmonella strains: S.ngozi and
S. dahlm.
Bull.Acad.Polon.Sci., Sér.Sci.Biol. 19, 43-48, 1971 K

869. H. Walkowiak, B. Reklewska, J. Dzużyńska
Badania nad glikoproteidami surowicy krwi owiec
w okresie wzrostu, ciąży i laktacji.
Acta Physiol. Pol. 22, 273-285, 1971
870. K. Krajewska-Grynkiewicz, W. Walczak and T. Kłopotowski
Mutants of Salmonella typhimurium able to utilize
D-histidine as a source of L-histidine.
J. Bacteriol. 105, 28-37, 1971
871. M. J. Piechowska and M. Bielińska
Amino acid composition of the spinning gland of the
hawkmoth Celerio euphorbiae L. /Lepidoptera/.
Bull. Acad. Polon. Sci., Sér. Sci. Biol. 19, 89-93, 1971
872. T. Gołaszewski, J. W. Szarkowski
Uorganizowanie strukturalno-metaboliczne jądra
komórkowego.
Post. Biochem. 17, 163-179, 1971
873. D. Hulanicka
Biosynteza cysteiny i jej regulacja w komórce
bakteryjnej.
Post. Biochem. 17, 27-42, 1971
874. Z. Grodzka and T. Chojnacki
Developmental changes in the activity of galactose-
-1-phosphate uridylyltransferase in the rat.
Acta Biochim. Polon. 18, 93-97, 1971
875. A. Putrament and H. Baranowska
Induction of intragenic mitotic recombination in yeast
by hydroxylamine and its mutagenic specificity.
Molec. Gen. Genetics 111, 89-96, 1971
876. T. Biliński
Amino acid incorporation into cell fractions of yeast
strains sensitive to antibiotics and cytoplasmically
resistant.
Bull. Acad. Polon. Sci., Sér. Sci. Biol. 19, 385-388, 1971

877. J. Dzużyńska, M. Pucek and H. Walkowiak
Studies on serum glycoproteins in voles during
the growth period.
Bull. Acad. Polon. Sci., Sér. Sci. Biol. 19, 101-105, 1971
878. H. Sierakowska and D. Shugar
Phosphodiesterase II activity against nucleoside-3'
phosphate esters and some 5'-O-substituted analogues;
and an improved ribonuclease substrate, α -naphthyl
5'-O-methyluridine-3'-phosphate.
Acta Biochim. Polon. 18, 143-152, 1971
879. P. Chomczyński and P. Szafranski
The effect of high salt concentration on fidelity
of translation by Escherichia coli ribosomes.
Acta Biochim. Polon. 18, 163-170, 1971
880. R. Kole and H. Sierakowska
-naphthyl ribonucleoside-3'-phosphate analogues
for the cytochemical and colomimetric assay of
ribonucleases. Acta Biochim. Polon. 18, 187-197, 1971
881. T. D. Kulikowski and D. Shugar
Cytosine and cytidine analogues: synthesis and
properties of 5-ethylcytosine, 5-ethylcytidine
and a number of their derivatives.
Acta Biochim. Polon. 18, 209-236, 1971
882. J. Heller and M. J. Piechowska
Changes in amylase activity during metamorphosis
of the hawk moth Celerio euphorbiae L. /Lepidoptera/.
Bull. Acad. Polon. Sci., Sér. Sci. Biol. 19, 229-235, 1971
883. A. Putrament, T. Rozbicka and K. Wojciechowska
The highly polarized recombination pattern within
the methA gene of Aspergillus nidulans.
Genet. Res. Camb. 17, 125-131, 1971

884. A. Makarewicz
Tetrad analysis and mendelism.
Proceed. of the Gregor Mendel Colloquium,
Brno 1971, 331-334.
885. S. Klita
Retikulum endoplazmatyczne a biosynteza białka.
Post.Biochem. 17, 225-233, 1971
886. T.Sawicka, A. Piasek
Heteropolisacharydy zwierzęcych błon komórkowych.
Post.Biochem. 17, 275-289, 1971
887. M.Rytel, T. Gołaszewski, J.W. Szarkowski
Mitochondrial nucleoproteins in rye leaves.
Acta Soc.Botan.Polon. 40, 133-142, 1971
888. B.Wielgat and K. Kleczkowski
Putrescine metabolism in pea seedlings.
Acta Soc.Botan.Polon. 40, 197-207, 1971
889. M.Tomaszewski and J. Buchowicz
Hydrolytic and alcoholic dephosphorylation of
nucleotides by acid phosphatase in the presence
of ethanol.
Biochem. J. 124, 189-192, 1971.
890. K.Bożkova, Z.Grodzka, E.Zbieg-Sendecka, W.Jankowski,
T. Chojnacki
A simple quantitative test for galactosemia.
XIII Intern. Congress of Pediatrics,
Vienna 1971, 341-346
891. A.Rabczenko, K.Zakrzewska, D.Smugar
Optical properties of pyrimidine bases in solid
state as a model of nucleic acids.
I European Biophysics Congress,
Baden near Vienna 1971, 323-326

892. M.Bielińska and M.J. Piechowska
The protein in haemolymph and in homogenates of
eggs of the hawk-moth *Celerio euphorbiae* L./Lepidoptera/.
Bull.Acad.Polon.Sci., Sér.Sci.Biol. 7-8, 441-444, 1971
893. M.A. Siwecka and J.W. Szarkowski
The distribution of nucleolytic activity in organelles
of rye embryos and seedlings /*Secale cereale*/.
Bull.Acad.Polon.Sci., Sér.Sci.Biol. 19, 445-449, 1971
894. Z.Zarębska and D. Shugar
Chromatographic data on photochemical and radiation
products of uracil and thymine derivatives.
Bull.Acad.Polon.Sci., Sér.Sci.Biol. 19, 459-466, 1971
895. R.Kole, H. Sierakowska and D. Shugar
A ribonuclease substrate resistant to phosphodiesterase II:
5'-O-benzyluridine-3'-/ -naphthylphosphate/.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 44, 1482-1487, 1971
896. K.Berens, W.J. Smagowicz and K.L. Wierzchowski
Excited electronic states of aminopyrimidines
and of 2-aminopurine.
I European Biophysics Congress,
Baden near Vienna 1971, 63-67
897. A.Radomińska-Pyrek, A.Kruszewska, Z.Matysiak and
T.Chojnacki Cytidylyltransferases in cholineless
mutant strains and in the wild type of *Neurospora*
crassa.
Neurospora Newsletter 18, 3-4, 1971
898. A. Rabczenko, K.Zakrzewska, D.Shugar
Optical properties of nucleic acid derivatives
in the solid state.
Acta Physica Polonica 439, 719-723, 1971

899. G.Muszyńska and K.Kleczkowski
The modification of lysine residues of the arginase
from beef liver.
VII FEBS, Varna 1971, Absts, p.108.
900. T.Kulikowski and D.Shugar
Preparation and properties of poly 5-ethylcytidylic acid
VII FEBS, Varna 1971, Absts, p. 138
901. S.Perzyński and P. Szafranski
The formation of mRNA-ribosome complexes.
VII FEBS, Varna 1971, Absts, p. 168
902. B. Mazuś and J. Buchowicz
RNA polymerase activity of dry and germinating wheat
grains.
VII FEBS, Varna 1971, Absts, p.195
903. G. Palamarczyk and T. Chojnacki
Glycerol-3-phosphate and diol phosphates as precursors
of phospholipids in yeast.
VII FEBS, Varna 1971, Absts, p.199
904. Z.Cieśła and M.Bagdasarian
Mutational changes of Salmonella typhimurium cell
envelope causing defective DNA synthesis.
VII FEBS, Varna 1971, Absts, p.301
905. D. Hulanicka and T. Kłopotowski
Formation of plasmids carrying cysA region of Salmonella
typhimurium chromosome.
VII FEBS, Varna 1971, Absts, p. 302

906. K.Grzelak, Z.Lassota and A. Wroniszewska
Acetylcholinesterase in Celerio euphorbiae during
pupal development with diapause.
J.Insect Physiol. 17, 1961-1968, 1971
907. E.Krajewska and D.Shugar
Photochemical transformation of 5-alkyluracils
and their nucleosides.
Science 173, 435-437, 1971
908. R.Lisewski and K.L.Wierzchowski
Photochemistry of 2,4-diketopyrimidines.Dimeriza-
tion and stacking association of 1,3-dimezylthymine
in aqueous solution.
Mol.Photochem. 2, 231-254, 1971
909. B. Mazuś
Zmiany aktywności enzymów katalizujących syntezę
5-UMP w czasie kiełkowania nasion.
IX Zjazd Polsk.Tow.Biochem., Katowice 1971, 42
910. M.Tomaszewski, J. Buchowicz
Enzymatyczna alkoholiza nukleotydów.
IX Zjazd Polsk.Tow.Biochem., Katowice 1971, 44
911. D.L. Wasilewska, K. Kleczkowski
Hydrolazy nukleozydowe z kiełków grochu
IX Zjazd Polsk.Tow.Biochem., Katowice 1971, 45
912. M. Bagdasarian, M.Zdzienicka, M. Bagdasarian.
Termowrażliwa synteza DNA u mutantu Salmonella typhimurium.
IX Zjazd Polsk.Tow.Biochem., Katowice 1971, 60
913. Z. Cieśła, M. Bagdasarian
Mutanty Salmonella typhimurium z uszkodzonym
procesem replikacji DNA.
IX Zjazd Polsk.Tow.Biochem., Katowice 1971, 61

914. A. Wiater, T. Kłopotowski, M. Iaccarino
Genetyczna derepresja syntetazy acetomleczanu
u *Escherichia coli*.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 62
915. D. Hulanicka, T. Kłopotowski
Tworzenie plazmidów rejonu *cysA* chromosomu *Salmonella typhimurium*.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 63
916. T. Gołaszewski, M. Rytel, E. Kuligowska, J. W. Szarkowski
Włączanie ^3H -tymidyny do DNA zarodków żyta.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 70
917. E. Rejman, J. Buchowicz
Wznawianie syntezy kwasów nukleinowych i białek
w ziarnie pszenicy poddanym kiełkowaniu.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 71
918. H. Walkowiak, J. Dżużyńska
Badania nad istotą kwasu sjalinowego izolowanego
z różnych drakcji białkowych surowicy krwi bydka.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 89
919. J. Wróblewska, W. Walczak, T. Kłopotowski
Dehydrogenaza D-aminokwasów u *Salmonella typhimurium*.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 133
920. W. Walczak, K. Krajewska-Grynkiewicz, J. Wróblewska,
T. Kłopotowski Mechanizm recemizacji D-histydyny u
Salmonella typhimurium.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 139
921. E. Ber, G. Muszyńska, K. Kleczkowski
Izolowanie i oczyszczanie arginazy z siewek łubinu.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 144

922. B. Wielgat, K. Kleczkowski
Kinetyczne własności karbamoilotransferazy ornity-
nowej z różnych źródeł.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 145
923. B. Wielgat, K. Kleczkowski
Izolacja i identyfikacja karbamoilotransferazy
ornitynowej z różnych źródeł.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 145
924. J. Barankiewicz, M. M. Jeżewska
Enzymy przemian związków purynowych w wątrobo-
trzuste *Helix pomatia*.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 147
925. J. Barankiewicz, M. M. Jeżewska
Fosforylaza inozyny u *Helix pomatia*.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 147
926. Z. Matysiak
Znaczenie składu acylowego dwuglicerydu w reakcjach
alkoholoaminofosfotransferazowych.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 161
927. W. Jankowski, T. Chojnacki
Otrzymywanie długołańcuchowych poliprenoli z *Ficus elastica*.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 161
928. K. Grzelak, Z. Lassota
Acylowane pochodne cholinowe w tkankach owadów,
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 172-173
929. J. Rytka, T. Kłopotowski
Transport D-aminokwasów u *Saccharomyces cerevisiae*.
IX Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Katowice 1971, 193

930. A.Wiater, D.Hulanicka and T.Kłopotowski
Structural requirements for inhibition of yeast
imidazoleglycerol phosphate dehydratase by triazole
and anion inhibitors. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 289-297, 1971
931. A. Wiater, K.Krajewska-Grynkiewicz and T.Kłopotowski
Histidine biosynthesis and its regulation in higher
plants. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 299-307, 1971
932. A.Wiater, T.Kłopotowski and G.Bagdasarian
Synergistic inhibition of plant imidazoleglycerol
phosphate dehydratase by aminotriazole and phosphate. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 309-314, 1971
933. B.Żmudzka and B.Shugar
Role of the 2'-hydroxyl in polynucleotide conformation:
poly 2'-O-methyluridylic acid. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 321-337, 1971
934. K.Kleczkowski
Wykorzystanie mocznika przez organizmy nie zawierające
ureazy. *K*
Post.Biochem. 17, 463-472, 1971
935. E.Lenartowicz, S. Klita
Bezpośrednia translacja DNA w układach bezkomórkowych.
Post.Biochem. 17, 497-513, 1971
936. W.Kemula, T.Gańko and A. Janowski
Infrared spectra of dithione and some related
compounds. *K*
Bull.Acad.Polon.Sci., Sér.Sci. Chim. 19, 325-328, 1971

937. W.Kemula and T.Gańko
Structures of secondary metal dithizonates. *K*
Chem.Comm. 1971, 1063-1064
938. T.Chojnicki, W.Jankowski and E.Janczura
Nucleoside diphosphate sugar pyrophosphorylases
of *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 347-351, 1971
939. S.Perzyński, P.Szafranski
Interactions of *Escherichia coli* ribosomes with
natural and synthetic templates. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 373-385, 1971
940. A.Rabczenko, D.Shugar
Studies on the conformation of nucleosides,
dinucleosides monophosphates and homopoly-nucleotides
containing uracil or thymine base residues and ribose,
deoxyribose, or 2'-methylribose. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 389-402, 1971
941. C.Janion, D.Shugar
Chemical mutagenesis: reaction of N-methylhydroxyla-
mine with cytosine analogues. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 403-411, 1971
942. J.T. Kuśmierk, D.Shugar
Alkylation of cytosine glycosides in alkaline medium;
a new route to the preparation of O-alkylated nucle-
otides and nucleosides of cytosine and uracil. *K*
Acta Biochim.Polon. 18, 413-417, 1971
943. C.Janion
Biosynteza i rola rzadkich zasad w tRNA. *K*
Post. Biochem. 17, 631-650, 1971

944. C. Janion
Mutagenеза chemiczna.
W: "Prolegny Genetyki Medycznej"
Państw. Zakł. Wyd. Lek., Warszawa 1971, 256-280
945. Z. Lassota, M. Szysko
RNA napromieniowanych embrionów jedwabnika
/Bombyx mori L./
II Zjazd Polsk. Tow. Badań Radiacyjnych, Poznań 1971.
Streszczenia, 12-13, 1971
Postępy Techniki Jądrowej 15
946. Z. Lassota, K. Grzelak
Wpływ promieni - na aktywność esterazy acetylo-
cholinowej /EC 3.1.1.1./ w metamorfozie owadów.
II Zjazd Polsk. Tow. Badań Radiacyjnych, Poznań 1971.
Streszczenia, 54-55, 1971
Postępy Techniki Jądrowej 15
947. E. Bartkowiak
Mechanism of sex determination in Rumex hastatulus
Baldw.
TAG 41, 320-326, 1971
948. Z. Świetlińska
High frequency of chromosome aberrations induced
by DEB with caffeine posttreatment in Vicia faba
var. minor.
Molec. Gen. Genetics 112, 87-90, 1971
949. Z. Świetlińska, B. Łotocka-Jakubowska and J. Żuk
Cytogenetical relationships between Rumex tuberosus,
R. thyrsoflorus and R. acetosa and occurrence of
polyploidy among their hybrids.
TAG 41, 150-156, 1971

950. A. Paszewski, W. Prażmo and E. Jaszczyk
Multiple recombinational events within the 84W
locus of Ascobolus immersus.
Genet. Res., Camb. 18, 1971
951. A. Putrament
Recombination and chromosome structure in eukaryotes.
Genet. Res., Camb. 18, 85-95, 1971
952. A. Putrament, H. Baranowska and W. Gajewski
Mutagenic and recombinogenic effects of hydroxyla-
mine /HA/ and ometoxyamine /OMHA/ on yeast and
Aspergillus nidulans.
European Environmental Mutagen Society,
I Annual Meeting, Noordwijkerhout, The Netherlands,
May, 5-7, 1971
953. J. Żuk, Z. W. Bolkhowskikh
Further observations on activity of Y chromosome
heterochromatin in Rumex thyrsoflorus.
Acta Soc. Bot. Polon. 40, 513-518, 1971
954. A. Makarewicz
Colourless facultative mutants of Ascobolus immersus.
Genetica Polonica 12, 157-165, 1971
955. A. Putrament, T. Rozbicka and K. Niesner
Recombination between meth⁴ alleles in Aspergillus
nidulans.
Genetica Polonica 12, 167-168, 1971
956. H. Bielawska
Cytogenetic relationships among tetraploid represen-
tatives of Campanula rotundifolia L.
Genetica Polonica 12, 223-225, 1971

957. Z.Świetlińska
The pattern of DNA replication in barley chromosomes.
Genetica Polonica 12, 275-279, 1971 K
958. J.Żuk
Superfemale, supermale and intersexual plants in
Rumex thyrsoiflorus.
Genetica Polonica 12, 293-298, 1971 K
959. J.Kermen, Z.Mościcka-Olczyk, W.Zagórski
W: "Ćwiczenia z mikrobiologii". Red.J.Chabielska-
-Bassalik
Państw.Wyd.Nauk., Warszawa 1971 K
960. A.Psoda and D.Shugar
Spectral studies o tautomeric forms of inosine.
Biochim.Biophys. Acta-247, 507-513, 1971 Z
961. T.Chojnacki and Z.Matysiak
Direct counting of nucleotide ³²P adsorbed
on chorcoal using scintillation spectrometr.
Analyt Biochem. 44, 297-299, 1971. Z
962. E.Rejman and J.Buchowicz
The sequence of initiation of DNA, RNA and protein
synthesis in the wheat grains during germination.
Phytochem. 10, 2951-2957, 1971 Z
963. B.Mazus and J.Buchowicz
Activity of enzymes involved in pyrimidine metabolism
in the germinating wheat grains.
Phytochem. 10, Z

TYTULY PRAC DOKTORSKICH

TITLES OF DISSERTATIONS PRESENTED FOR THE DOCTOR'S DEGREE /Ph.D./

964. M.Rytel
Some characteristics, distribution and synthesis
of ribonucleic acid in mitochondria of rye /Secale
cereale L./ leaves, 80 pp. Presented on April 1st,
1971
965. P.Chomczyński
Ambiguity in polyuridylic acid translation, 68 pp.
Presented on April 1st, 1971
966. T.Biliński
Incorporation of amino acids into protein erythromycin
and chloramphenicol resistant mutants of Saccharomyces
cerevisiae, 41 pp.
Presented on June 24th, 1971
967. M.Piotrowska
The common genetical control of anabolism and catabolism
in Aspergillus nidulans, 70 pp.
Presented on June 24th, 1971
968. B.Wielgat
Biosynthesis of N-carbamoylputrescine catalyzed by
ornithine carbamoyltransferase, 141 pp.
Presented on June 24th, 1971
969. R.Lisewski
Photodimerization of 2,4-diketopyrimidines in crystals
and as association complexes in aqueous solutions,
207 pp.
Presented on November 3rd, 1971
970. K.Berens
Studies of excited states of aminopyrimidines, 92 pp.
Presented on November 3rd, 1971

Original dissertations are in Polish.

PRACE PRACOWNIKÓW INSTYTUTU WYKONANE ZA GRANICĄ

Papers related to research made by members of staff during their stay abroad.

- 47/71. T.Sawicka
Glycosyltransferases of human plasma.
FEBS Letters 16, 346-348, 1971
- 48/71. A.Kobata, C.Hickey, T.Sawicką and V.Ginsburg
Biochemical basis for blood types in man.
The American National Red Cross, IV Annual
Scientific Symposium,
Washington 171, 17
- 49/71. L.Zagórska, J.Dondon, J.C. Lelong, F.Gros and
M.Grunberg-Manago
Decoding site of initiator transfer RNA.
Biochimie 53, 63-70, 1971
- 50/71. M.Piechowska, M.S.Fox
Fate of transforming DNA in Bacillus subtilis.
J.Bacteriol.-108, 680- 1971
- 51/71. J.Passent and P.Kaesberg
Effect of rifampin on the development of ribonucleic
acid bacteriophage
J.Virology 8, 286-292, 1971
- 52/71. G.Gombos, W.Filipowicz, G.Vincendon
Fast and slow components of S-100 protein fraction:
regional distribution in bovine central nervous system.
Brain Research 26, 475-479, 1971
- 53/71. I.Pietrzykowska
On the mechanism of induced mutagenesis.
VIII Annual Meeting of the European Society for Radiatic
Biology Basko Polje, Yugoslavia 1971, Absts, 102.

No reprints available.

ERRATA

Na str. 4, 5, 6, 7, 8,	-	sumy podane, są wyrażone w tysiącach zł
		jest
		winne być
Na str 4	-	Prof. dr L. Reifer
Na str 10 wiersz 14	-	syntezy
Na str 12 wiersz 25	-	powstawania
Na str 13 wiersz 6	-	rozdzielonych
Na str 14 wiersz 20	-	antymetaolitów
Na str 14 wiersz 27	-	na fotochemię
Na str 15 wiersz 15	-	kryształach
W 1 Sprawozdaniu wiersz 7	-	stypendów

Prof. dr I. Reifer
syntetazy
powstawanie
rozdzielonych
antymetabolitów
nad fotochemię
kryształach
stypendiów