POLSKA AKADEMIA NAUK

INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI

SPRAWOZDANIE Z DZIAŁALNOŚCI INSTYTUTU BIOCHEMII I BIOFIZYKI W 1975 r

TYLKO DO UŻYTKU SŁUŻBOWEGO

WARSZAWA 1976

A. CZĘŚĆ OGÓLNA

1. Siedzibą Instytutu jest element I gmachu przy ul. Rakowieckiej 36 w Warszawie, będący własnością Ministerstwa Przemysłu Spożywczego i Skupu, w którym Instytut wynajmuje około 2.400 m^2 powierzchni użytkowej.

2. Władze Instytutu

Dyrektor Naczelny	- prof. dr K.L. Wierzchowski
Z-ca Dyrektora d/s Naukowych	- prof. dr T. Chojnacki
Z-ca Dyrektora d/s Naukowych /do dnia 30.XI.1975 r./	- prof. dr Z. Lassota
Z-ca Dyrektora d/s Administr.-Ekonomicznych	- mgr A. Lipiński
Główny Księgowy	- E. Kańska

3. Rada Naukowa

- Przewodniczący	- Prof. dr J. Heller
- I Z-ca Przewodniczącego	- Prof. dr T. Korzybski
- II Z-ca Przewodniczącego	- Prof. dr W. Gajewski

/Członków powołanych 32, oraz Przedstawiciel POP i Przedstawiciel ZOZ/.

Prezydium Rady Naukowej

- Prof. dr J. Heller	- Przewodniczący
- Prof. dr T. Korzybski	- Z-ca Przewodniczącego
- Prof. dr W. Gajewski	- Z-ca Przewodniczącego
- Prof. dr K.L. Wierzchowski	- Dyrektor Instytutu
- Prof. dr J. Buchowicz	

- Prof. dr T. Chojnacki - Z-ca Dyrektora d/s nauk.
- Doc. dr M.J. Piechowska - Sekretarz Rady Naukowej

/7 osób oraz Przedstawiciel POP i Przedstawiciel ZOZ/

Sekcje powołane przy Radzie Naukowej

1. Sekcja d/s Przewodów Doktorskich i Spraw Stypendialnych
   /6 osób oraz Przedstawiciele POP i ZOZ/przew.prof. T.Korzybski/
2. Sekcja d/s Rekrutacji i Oceny Pracy Doktorantów IBB
   /5 osób oraz Przedstawiciele POP i ZOZ/przew.prof. J.Buchowicz/
3. Sekcja Kwalifikacyjna
   /5 osób oraz Przedstawiciele POP i ZOZ/przew.prof. T.Korzybski/

4. Organizacje społeczne

Przewodniczący RZ	- dr A. Rabczenko
Organizator grupy PZPR	- dr G. Palamarczyk

5. Zatrudnienie

Pracownicy nauki		92
"	inż.-techniczni	48
"	fiz. dział. podst.	14
"	służby bibliot.	3
"	warsztatów	10
Administracja		22
Obsługa		4
	RAZEM:	193
Prac. godzinowo-płatni		12
	OGÓŁEM:	205

W 1975 r. przyjęto:

- prac. etatowi	25
- prac. godzinowi	1
Razem:	27

W 1975 r. zwolniono:

- prac. etatowi	20
- prac. godzinowi	6
Razem:	26

Z liczby prac. "zwolnionych" - 2 prac. przeszło na emeryturę.

6. Majątek Instytutu

Przewiduje się, że stan majątkowy Instytutu na dzień 31.XII.1975 r. będzie wynosił:

		/w tys. zł/
1. Budynki i budowle		2.551
w tym:		
a/ pomieszczenie na źródło kobaltowe	2.405	
b/ garaże	146	
2. Środki trwałe		37.467
3. Przedmioty nietrwałe		8.511
4. Księgozbiór		1.995
5. Materiały		5.865
Razem:		56.389

7. Sprawy lokalowe

W roku 1975 sytuacja lokalowa Instytutu nie uległa zasadniczym zmianom. Przewiduje się natomiast, drogą adap-

tacji i przemieszczeń wewnątrz instytutowych uzyskanie pomieszczeń dla centralnej pożywkarni i fermentowni. W tym celu przeprowadzono demontaż nieczynnych od wielu lat urządzeń chłodni amoniakalnej. Dla tych inwestycji opracowano już projekty koncepcyjne.

Zakończony został również, przez Biuro Projektów Służby Zdrowia, projekt techniczny nowej siedziby Instytutu. Dokumentację przekazano Zarządowi Inwestycji PAN.

8. Remonty

Wobec odległej perspektywy rozpoczęcia budowy nowej siedziby Instytutu, rozpoczęto prace remontowe w budynku obecnej siedziby IBB.

Rozpoczęto wymianę zużytej częściowo instalacji elektrycznej, kontynuowano odnawianie kolejnych pomieszczeń. Zmodernizowano chłodnię na II piętrze, dzięki czemu uzyskano w niej 50% wzrost powierzchni użytkowej. Wykonane pomiary uziomów instalacji elektrycznej oraz ekspertyzę mającą na celu ocenę stanu istniejącej sieci elektrycznej.

9. Sprawy organizacyjne

Celem dalszego doskonalenia struktury organizacyjnej opracowano nowy regulamin organizacyjny Instytutu oraz instrukcję obiegu i kontroli dokumentów, która będzie wdrażana w życie od początku przyszłego roku. Opracowano i wprowadzono nowy regulamin pracy i pocztę wewnątrzinstytutową. Rozpoczęto prace przygotowawcze nad wdrożeniem eto do gospodarki magazynowej oraz księgowości materiałowej.

10. Sprawy ogólne

W roku 1975 przeprowadzono kompleksowy przegląd bhp, którego wyniki staną się podstawą planu prac adaptacyjnych i organizacyjnych IBB PAN na najbliższe lata. Zrealizowano w roku 1975 przydział na samochód "Fiat-combi". Uzyskano od PAN samochód dostawczy Warszawa "Pick-up". Posiadany transport winien w pełni zabezpieczyć potrzeby IBB PAN w tym zakresie.

11. Finanse

Przewiduje się następującą realizację planu finansowego Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN

/w tys. zł/

Lp.	Treść	Plan	Wykon.
1.	Osobowy fundusz płac	9.900	9.887
2.	Bezosobowy fund.płac	1.652	1.415
3.	Podróże służbowe	120	43
4.	Nagrody i inne wynagrodzen.	-	9
5.	Materiały i przedmioty nietrwałe	9.378	9.180
6.	Usługi materialne	-	2.098
7.	Usługi niematerialne		1.508
8.	Amortyzacja	5.100	4.434
9.	Składki ZUS	2.035	1.756
10.	Podróże służbowe zagran.	335	210
11.	Różne opłaty i składki	100	35
12.	Odpis na fundusz akcji socjalnej	198	198

Lp.	Treść	Plan	Wykon.
13.	Odpis na fundusz mieszkaniowy	69	69
14.	Pozostałe koszty	7.479	5.524
	Razem:	36.366	36.366
	Inwestycje	5.542	3.065

12. Koordynacja

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, jako kooedynator I stopnia problemu węzłowego 09.3.1. "Badania nad informacją Genetyczną drobnoustrojów, roślin i zwierząt celem doskonalenia ich cech użytkowych" współpracował w 1975 r. bezpośrednio i za pośrednictwem Koordynatorów II stopnia z 57 placówkami podległymi Polskiej Akademii Nauk i Ministerstwom: Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki, Zdrowia i Opieki Społecznej, Rolnictwa, Przemysłu Spożywczego i Skupu oraz Obrony Narodowej. W 1975 r. realizowano w problemie 132 tematy, a koszt ich realizacji w V etapie badań wyniósł 159.099 tys. zł. W tym:

IBB PAN	35.792 tys. zł
IGHZ PAN	35.483 tys. zł
/Koordynator II stopnia/	
ZGR PAN	24.171 tys. zł
/Koordynator II stopnia/	
ICHO	10.003 tys. zł

CBM	270 tys. zł

RAZEM:

PAN	108.485 tys. zł
Placówki podległe MSzW i T	43.661 tys. zł
Placówki podległe innym resortom	6.953 tys. zł

Razem koszty poniesione do końca realizacji problemu 526.395 tys. zł

13. Biblioteka

I. Dane statystyczne:

Księgozbiór - stan księgozbioru biblioteki na dzień 22.XII.1975 r. wynosi:

druki zwarte	6.605 vol.
w ciągu roku przybyło	254 vol.
wycofano	404 vol.
Czasopisma	6.674 vol.
w ciągu roku przybyło	521 vol.
w tym prenumerata	378 vol.
wymiana	143 vol.

Ogółem otrzymaliśmy na bieżąco 244 tytuły czasopism.

Wymiana wydawnictw:

Liczba kontrahentów wymiany zagranicznej w r. 1975 wynosiła - 65.

Kontrahentów krajowych - 4.

Jako materiał wymienny wysyłano:

Acta Biochimica Polonica	66 egz.
Postępy Biochemii	18 egz.

Różne tytuły /po 1 egz./ 6 egz.

W zamian za nasze wydawnictwa otrzymywaliśmy:

tytuły krajowe 4

" obce 5 + odbitki

Wypożyczenia:

Ogółem w okresie sprawozdawczym wypożyczono około 3760 vol.

w tym:

do innych bibliotek 382 vol.

z innych bibliotek 83 vol.

II. Wydatki biblioteki i wartość księgozbioru:

Wydano na:

zakup książek	192.817.-
zakup i prenumerata czasopism	460.398.-
zakup czasopism na wymianę	9.192.-
zakup odbitek	27.778.-
oprawa czasopism	14.838.-

Wartość księgozbioru:

druki zwarte na koniec roku 1974	3.856.887
przybyło w roku 1975	192.817
ubyło "	31.774
Razem:	4.017.930

Czasopism przybyło w roku 1975	-
z zakupu i prenumeraty	460.398
z wymiany/szacunkowo/	50.000
Razem:	510.398

III. Dokumentacja i informacja

Opracowano i wydano drukiem spis prac naukowych Instytutu za rok 1974. Spis rozesłano do około 180 adresatów w kraju i za granicą. Skompletowano i oprawiono odbitki w/w prac. Ponadto sporządzono wykaz publikacji pracowników Instytutu za rok 1975.

Wysłano około 1900 odbitek publikacji pracowników Instytutu w odpowiedzi na indywidualne requesty.

W ostatnich miesiącach 1975 r. wprowadza się w Instytucie system automatycznej selekcji informacji naukowej oparty na Chemical Abstracts. Tytuły prac wraz z notkami bibliograficznymi przesyłane są przez Bibliotekę Politechniki Warszawskiej według odpowiednich zbiorów słów kluczowych dla danego pracownika. Jednocześnie prowadzi się konsultacje na temat wykorzystania systemu selekcji informacji opartego na Index Medicus w Centralnej Bibliotece Lekarskiej.

Pracownicy naukowi Instytutu korzystali również z systemu serwisu informacyjnego ODiN PAN. W ramach tego systemu w miesiącach IX-XII. 1975 r. zrealizowano zamówienia na 2541 kopii kserograficznych z publikacji naukowych, na łączną kwotę 11.433 zł.-

IV. Inne prace zrealizowane i będące w toku realizacji

W II półroczu 1975 r. przystąpiono do pracy nad sporządzeniem katalogu rzeczowego w/g nowego systemu klasyfikacyjnego, opracowanego przez komisję wyłonioną spośród pracowników naukowych. Prace nad katalogiem połączono z wnikliwą selekcją książek,

W wyniku selekcji wycofano około 900 pozycji jako zdezaktualizowane bądź odległe tematycznie pozostając przy głównym kierunku gromadzenia nastawionym na: biochemię, biofizykę, biologię molekularną, genetykę. Książki, które nie zostały przeznaczone do wycofania, otrzymały przydział rzeczowy w/g przyjętego w systemie klasyfikacyjnym kodu.

Część książek /około 800 pozycji/, które uznano za rzadziej wykorzystywane, została przeniesiona do magazynu przy ul. Maklakiewicza, po uprzednim skatalogowaniu ich z myślą o katalogu rzeczowym.

Zakończenie prac nad katalogiem przewidziane jest na kwiecien - maj 1976 r.

Opracowany został również nowy regulamin biblioteczny, którego wprowadzenie uzależnione jest od zrealizowania pewnych usprawnień technocznych związanych ze zmianą systemu wypożyczeń itp.

W roku sprawozdawczym wydano informator o organizacji i działalności Instytutu : " Polish Academy of Sciences - Institute of Biochemistry and Biophysics - History, organization and activity" w nakładzie 730 egzemplarzy. Jest to drugie z kolei tego rodzaju wydawnictwo. Służy on jako źródło informacji o Instytucie dla zagranicy.

Ocena działalności Instytutu przez Władze P.A.N. i przygotowanie do kontynuacji problemu węzłowego w latach 1976 - 1980

Działalność merytoryczna i organizatorska Instytutu za okres 4-ech lat /1971-74/ była w okresie sprawozdawczym oceniana dwukrotnie. W pierwszym przypadku pozytywnie oceniło działalność merytoryczną i organizatorską Kolegium do Spraw Placówek P.A.N., w drugim przypadku Sekretariat Naukowy P.A.N. pozytywnie ocenił naukową i organizatorską działalność Instytutu jako Koordynatora Problemu Węzłowego 09.3.1. p.t.: "Badania nad informacją genetyczną drobnoustrojów, roślin i zwierząt celem doskonalenia ich cech użytkowych".

W wyniku pozytywnej oceny działalności Instytutu Sekretariat Naukowy P.A.N. podjął decyzję o kontynuacji koordynowania przez IBB PAN problemu węzłowego w latach 1976 - 80.

Przygotowano pierwszą wersję planu problemu węzłowego pod zmienionym tytułem : "Molekularne podstawy procesów życiowych u drobnoustrojów i w organizmach wyższych" /Problem 09.7/. Plan ten został pozytywnie oceniony 20.X.1975 r przez Komitet Biochemii i Biofizyki PAN przy współudziale Komitetu Mikrobiologii, Komitetu Patofizjologii Komórki i Komitetu Cytobiologii P.A.N.

NAJWAŻNIEJSZE OSIĄGNIĘCIA

Opracowano metodę wykrywania zmian w składzie fragmentów transdukujących faga P22. Zmiany składu transdukujących fragmentów DNA prześledzono poprzez analizę zdolności transdukcji różnych markerów chromosomalnych przez frakcje lizatów faga.

Otrzymano mutanta o niskim konstytutywnym poziomie ekspresji dwóch genów biosyntezy cysteiny, cysK kodującego sulfhydrylazę O-acetyloseryny i cysA, kodującego permeazę siarczanową. Stwierdzono brak derepresji tych dwóch enzymów w warunkach hodowli powodującej wzmożoną ekspresję innych genów biosyntezy cysteiny jak również w szczepach z mutacją cysB, wywołującą wysoki konstytutywny poziom enzymów biosyntezy cysteiny. Wyniki te, sugerują, że ekspresja genów cysK i cysA może być pod kontrolą wspólnego operatora.

Wykazano, że supresja inicjatorowej mutacji dnaA może zachodzić w wyniku integracji czynnika F lub kryptycznego plazmidu w różnych miejscach chromosomu, nawet odległych od miejsca początku wegetatywnej replikacji. Potwierdzono, w drodze mapowania genetycznego, możliwość insercji kryptycznego plazmidu w geny rfa. Jest to pierwszy dowód możliwości rekombinacji pomiędzy kryptycznym plazmidem a chromosomem S.typhimurium.

Wykazano, że mutacje w genie polimerazy RNA wywołują supresję mutacji inicjatorowej dnaA.

Stwierdzono po raz pierwszy u grzybów /A. nidulans/, a po raz trzeci u organizmów wyższych aminokwas siarkowy-homolantioninę, która nagromadzała się u niektórych mutantów metioninowych. Wyizolowano i scharakteryzowano mutanta typu operatorowego w genie permeazy siarczanowej.

Zbadano cztery nowe supresory mutantów metioninowych pod kątem enzymów związanych z katabolizmem cysteiny. W dwóch stwierdzono obniżenie poziomu oksydazy hypotauryny, a u jednego dekarboksylazy kwasu cysteino-sulfinowego

Opracowano mową metodę otrzymywania mutantów drożdży o podwyższonej zawartości metioniny w szczepach opornych na analogi tego aminokwasu.

Opracowano nową metodę analizy przydatności szczepów drożdży do zdrożdżowywania określonych surowców. Metoda ta pozwala na kilkakrotne skrócenie cyklu badawczego przy prawie całkowitej eliminacji etapu badań laboratoryjnych.

Stwierdzono, że Mn^{2+} indukuje mutacje w mitDNA drożdży tylko w warunkach zapewniających replikację mitDNA. Mg^{2+} hamuje mutageniczne działanie manganu.

Wykazano metodę analizy sedymentacji DNA w gradiencie sacharozy, że u mutantów drożdży, wrażliwych na MMS naprawa uszkodzeń DNA indukowanych przez ten mutagen jest mniej skuteczna niż w szczepie typu dzikiego.

Opracowano oryginalną metodę izolowania mutantów regulacyjnych dotyczących aktywności katalazy. Opisano dwa mutanty oporne na represję kataboliczną.

U szeregu roślin iglastych wykryto poli-izoprenole o długości łańcucha zbliżonej do długości łańcucha dolicholi organizmów eukariotycznych. Dokonano ich izolacji i identyfikacji.

Opracowano metody preparatywnego rozdziału mieszanin naturalnych alkoholi poliizoprenoidowych, mieszanin selektywnie uwodorowanych poliizoprenoli oraz technikę ich znakowania trytem. Opracowano warunki chemicznego, selektywnego wodorowania "OH-końcowej" reszty izoprenowej w poliizoprenolach.

Uzyskano drogą selektywnego wodorowania poliizoprenolu pochodzenia roślinnego preparaty poliprenolofosforanów wykazujące znacznie obniżoną zdolność wytwarzania prenylofosfo- i dwufosfocukrów w bakteryjnych układach enzymatycznych syntezy polimerów ścianowych /S.typhim., Sh.flexneri i B.stearotherm/ i jednocześnie znacznie podwyższoną aktywność w układach enzymatycznych biosyntezy glikonoteidów zwierzęcych.

Wykazano, że specyficzność łańcucha poliizoprenoidowego w reakcjach tworzenia lipido-fosfo-cukrów-prekursorów polisacharydów zależy głównie od rodzaju "OH-końcowej" reszty izoprenowej /nasycona lub nienasycona/, w małym stopniu zależy od długości łańcucha i od konfiguracji reszt izoprenowych /cis, trans/ w łańcuchu węglowodorowym.

Wykryto kompleksowanie denaturowanego DNA E.coli i DNA $T^{x}6$ z białkiem komórek B.substilis. DNA T6 takich kompleksów nie tworzy. Zakłada się udział białka/ek/ kompleksującego z denaturowanym DNA w transporcie kwasów nukleinowych z otoczenia do wnętrza komórki.

Nawiązano współpracę z zespołem prof. dr W. Dobrzańskiego /Akademia Medyczna, Warszawa/, w wyniku której ustalono, że glukozylowanie DNA fagów T6 zmniejsza powinowactwo cząsteczek do receptorów bakterii z rodzaju Streptococcus. Oznacza to, że obserwowane steryczne wymagania receptorów komórkowych są identyczne w dwu układach bakterii zdolnych do transformacji.

W ramach prac nad biologią molekularną wirusa bakteryjnego f2 wyjaśniono w znacznym stopniu mechanizm powstawania kompleksu białka płaszcza wirusa z jego RNA i rolę jaką odgrywa ten kompleks w regulacji replikazy fagowego RNA.

Wykazano również, że rybosomy Escherichia coli mogą bez udziału czynników inicjujących syntezę białka rozpoznawać inicjujące kodony w zmodyfikowanym RNA faga f2.

Stwierdzono, że po rozpoczęciu kiełkowania ziarniaków żyta w rozwijającej się roślinie pojawia się aktywność kinazy tymidynowej. Najwyższą aktywność właściwą wykazuje kinaza związana z frakcją plastydialną i mitochondrialną. Stwierdzono, że w chloroplastach pierwszych liści żyta poziom aktywności enzymu zmienia się w zależności od wieku rośliny. Najwyższą aktywność stwierdzono w chloroplastach 10-dniowych kiełków. Wykazano, że oprócz kinazy tymidynowej w chloroplastach występuje nieswoista nukleozydorosfotransferaza. Zmiany aktywności obu enzymów w tych organellach nie są skorelowane ze zmianami aktywności analogicznych enzymów cytosolu.

Z jąder komórkowych zarodków żyta wyizolowano nukleazę rozkładającą DNA i RNA o silniejszym zaakcentowaniu aktywności DNAzowej. Optimum aktywności w stosunku do DNA leży w środowisku kwaśnym, zaś w stosunku do RNA w środowisku alkalicznym przy czym w środowisku alkalicznym enzym zachowuje również wysoką aktywność w stosunku do DNA. Badana nukleaza działa na DNA jak typowa egzonukleaza, a na RNA jak endonukleaza. Wnioskuje się, że enzym może mieć znaczenie dla rozkładania hybrydów DNA i RNA.

Wykazano, że ciężkie jądrowe RNA embrionów kurzych zawierają sekwencje poli /A/ oraz znacznie liczniejsze niż odcinki poli/A/, fragmenty dwuniciowe. Populacja cząstek "olbrzymiego" RNA jądrowego jest heterogenna zarówno pod względem wielkości cząsteczek jak i zawartości sekwencji poli A/ Ciężkie szybkosyntetyzowane poli /A/-RNA jądrowe należy uważać

za te pierwotne produkty transkrypcji sekwencji kodujących, które przekształcają się w funkcjonalne m-RNA.

Oczyszczono 2500-krotnie pyrofosfatazę nukleotydową z ziemniaka i stwierdzono, że katalizuje ona hydrolizę (a) estrów arylowych 3'-nukleotydów oraz ortofosforanu; (b) wiązania pyrofosforanowego w pozycji 3' nukleotydów oraz w m^7 GpppG^m- zakończonych fragmentach mRNA wirusowego.

Wykazano, że RNazy typu wydzielniczego, wyodrębnione z trzuski, treści dwunastnicy oraz surowicy i moczu człowieka różnią się zdolnością hydrolizy 3'- α-naftylofosforanu urydyny, optimum pH oraz wpływem Zn++ i Cu++ od RNaz wątroby, śledziony oraz innej frakcji RNaz surowicy i moczu.

Stwierdzono przydatność oznaczeń aktywności RNazy typu wydzielniczego w surowicy dzieci dla diagnostyki marskości torbielowatej trzuski.

Określono charakter produktów transkrypcji DNA, wznawianej w bezpośredniej reakcji zarodka pszenicy na zewnętrzne czynniki kiełkowania. Wykazano, że nowo syntetyzowany RNA posiada bardzo wysoki ciężar cząsteczkowy i specyficzny skład nukleotydowy. W szczególności, charakteryzuje się on niezwykle wysoką zawartością UMP, wynikającą z obecności odcinków oligo (U), typowych dla niektórych prekursorów informacyjnego RNA. Obserwacje te konkretyzują postulowany w poprzednim okresie sprawozdawczym kaskadowy model aktywacji genomu pszenicy w czasie kiełkowania.

Udowodniono preferencyjną stymulację syntezy mRNA w etiolowanych kiełkach kukurydzy w obecności kwasu giberelinowego.

Wykazano również, że 3',5' - cykliczne AMP jest pośrednikiem-"secondary messenger" w hormonalnej regulacji syntezy RNA w komórce roślinnej przez kwas giberelinowy.

Wykazano istnienie enzymatycznej reakcji redukcji N^4-hydroksycytydyny do cytydyny.

Opracowano metodę syntezy i przebadano właściwości przeciwwirusowe metylowanych formycyn. Wykazano właściwości przeciwwirusowe 5-etylodeksyurydyny i 5-etylodezyksycytydyny.

Opracowano technikę produkcji przeciwciał, przeciw DNA-UV. Tą technikę stosuje się obecnie do DNA-UV-8MOP. Cel pracy-uzyskanie preparatu diagnostycznego przy leczeniu ludzi chorych na łuszczycę.

Wykazano istnienie drogi reperacyjnej uszkodzeń wywołanych inkorporacją 5-bromouracylu do DNA.

Potwierdzono, że mechanizm indukcji enzymów katabolicznych u S.typhimurium poprzez urydynę i cytydynę, nie wymaga ich metabolizmu.

Uzyskano dalsze potwierdzenie hipotezy hydrofobowej stabilizacji warstwowych kompleksów alkilowych pochodnych uracylu i urydyny. Zakończono opracowanie fluorescencyjnej metody badania asocjacji warstwowych swobodnych zasad oraz wewnątrzcząsteczkowych w dwunukleotydach i uzyskano w oparciu o nią dane dotyczące asocjacji szeregu modelowych związków pochodnych 2-aminopuryny.

Opracowano metodę interpretacji parametrów luminescencji aminopirymidyn umożliwiającą obliczanie elementów macierzowych sprzężeń spinowo-orbitalnych na drodze doświadczalnej.

W badaniach nad hormonalną regulacją metabolizmu białkowo-nukleinowego u owadów ustalono tok przemian tyrozyny i peptydu w ciele tłuszczowym gąsienic C.euphorbiae.

Badania nad fosfodwuesterazami cyklicznych nukleotydów purynowych u owadów wykazały, że nukleotydy te biorą udział

w wielu procesach w cyklu rozwojowym. Wzrost aktywności fosfodwuesterazy cAMP w ciele tłuszczowym u samic szarańczy związany jest prawdopodobnie z uruchomieniem i wykorzystaniem rezerw energetycznych tej tkanki.

Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę o hamującym wpływie β-ekdysonu na aktywność fosfodwuesterazy cyklicznych nukleotydów in vivo.

Stwierdzono w spoczywających tkankach owadzich występowanie polisomów. W okresie szczytu aktywności acetylocholinoesterazy stwierdzono w polisomach obecność poli/A/-RNA.

W badaniach nad enzymami przemiany purynowej [redacted] stwierdzono równoległy wzrost poziomu fosforybozylotransferaz purynowych i fosforylazy nukleozydu purynowego w gruczołach mlecznych myszy w ciąży, a spadek w czasie laktacji; zwiększone zapotrzebowanie na nukleotydy w czasie ciąży mogłoby być zatem pokrywane przez reutylizację puryn. W ludzkich i mysich fibroblastach z dziedzicznym niedoborem fosforybozylotransferazy hipoksantyno-guaninowej wykryto spadek fosforylazy nukleozydu purynowego, co może wskazywać na sprzężoną regulację metaboliczną tych enzymów.

Wykazano, w badaniach nad centrum aktywnym arginazy, fakt udziału reszt tryptofanowych oraz brak udziału grup sulphydrylowych i reszt tyrozylowych w katalitycznej funkcji enzymu. Przeprowadzono z powodzeniem unieruchomienie tego enzymu na aktywowanej bromocyjanem sefarozie 4B.

Prace nagrodzone

Prace nagrodzone przez Sekretarza Naukowego PAN

1/ "Synchronizacja procesu tworzenia zygot u drożdży.

Praca wykonana przez zespół prof. dr W. Gajewskiego

w ramach tematu 09.3.1.1.1.3 - "Struktura genów i chromosomów".

2/ "Zróżnicowana hormonalnie regulacja syntezy RNA w protoplastach z kiełków kukurydzy i w tarczkach nasion". Praca wykonana przez zespół prof. dr A. Kleczkowskiego w ramach tematu 09.3.1.4.1.14 - "Wpływ substancji wzrostowych na regulację metabolizmu kwasów nukleinowych i białek w tkance roślinnej."

GENETYKA DROBNOUSTROJÓW

Temat nr 09.3.1.1.1.1. "Genetyczne mechanizmy regulacji podziału komórkowego i metabolizmu

Kierownik - prof. T. Kłopotowski

1. Identyfikacja enzymów, których inhibicja przez azydek powoduje zwolnienie replikacji DNA lub wstrzymanie procesów anabolicznych.

Uzyskano dane wykluczające bezpośredni wpływ azydku na DNA oraz polimerazę DNA III. Wykluczono w ten sposób dwa możliwe mechanizmy inhibicji syntezy DNA przez ten inhibitor. Stwierdzono, że fenotyp AziC /oporności syntezy DNA na azydek/ mają mutanty cya, crp i ptsI, u których zmieniony jest metabolizm cAMP i występują zmiany elementów strukturalnych powłok komórkowych. . W badaniach nad wpływem azydku na procesy anaboliczne wykazano, że jest on inhibitorem reduktazy siarczynowej oraz że interferuje z metabolizmem O-acetyloseryny, a więc ma dwa działania na proces biosyntezy cysteiny. Oporność na te mechanizmy działania azydku, czyli fenotyp AziB jest wynikiem mutacji prowadzących do zmian w ekspresji genów szlaku cysteiny lub, w przypadku mutantów aziF, do innych zmian, możliwe, że w metaboliźmie samego azydku. U wszystkich mutantów z fenotypem aziB azydek powodował inhibicję syntezy DNA i defekt podziału komórkowego. Dane te, wraz z wynikami wcześniej przedstawionymi, prowadzą do wniosku, że defekt podziału komórkowego wynikający z działania azydku jest pośrednim skutkiem inhibicji syntezy DNA, a nie jego interferencji w innych rejonach metabolicznych.

2. Genetyczna lokalizacja i biochemiczne skutki mutacji smo

Stwierdzono, że mutacja smoB jest zlokalizowana obok operonu dec, kodującego enzymy katabolizmu dezoksyrybonukleozydów i nie dotyczy tego katabolizmu. Tak więc supresja defektu podziału komórkowego u mutantów z konstytutywną ekspresją operonu his nie jest wynikiem zmian w metaboliźmie prekursorów DNA.

3. Mechanizm duplikacji odcinków chromosomalnych jako odrębny rodzaj mutacji

Wykazano zmiany w składzie populacji fragmentów transdukujących lizatów faga P22 ze szczepów z mutacją dhu-68. dowody na to uzyskano przez pomiary sprzężeń markerów w pobliżu tej mutacji. Ponadto opracowano metodę wykazywania zmian składu fragmentów transdukujących przez wirowanie w gradiencie chlorku cezu. Wyniki uzyskane przy pomocy obu metod umacniają wcześniejsze argumenty, że mutacja dhu-68 polega na duplikacji odcinka chromosomu w innych badaniach zmierzających do poznania zmian chromosomalnych powodujących lokalną niestabilność badano szczepy z mutacją pi-his. Wykazano, że zmiany genetyczne u tych mutantów dotyczą nie tylko operonu his, lecz również pobliskiego operonu rfb. Wykazanie możliwości przenoszenia pi-his do szczepu rec dowodzi, że pi-his może być autonomicznym fragmentem chromosomu lub odcinkiem chromosomu zawierającym elementy systemu rekombinacji typu "site specific".

4. Genetyczna lokalizacja i biochemiczne skutki mutacji aroU u S. typhimurium

Wyizolowano mutanty S. typhimurium zdolne do wykorzystywania O-tryptofanu na cytrynianie jako jedynym źródle węgla. Innymi cechami ich były: zwiększona zdolność wykorzystywania D-histydyny na tym samym źródle węgla oraz, w każdych warunkach, nadwrażliwość na analogi tryptofanu. Stwierdzono, że mutacje te, nazwane aroU, są zlokalizowane w odległości kilku długości genowych od miejsca operonów

5. Kontrola genetyczna ekspresji genów sulphydrylazy O-acetyloseryny i permeazy siarczanowej u bakterii gram-ujemnych

Wyizolowano mutanta S. typhimurium wykazującego niski konstytutywny poziom ekspresji genu cysK, kodującego sulfhydrylazę O-aacetyloseryny i genu cysA, kodującego permazę siarczanową. Żaden z tych enzymów biosyntezy cysteiny nie ulegał u mutanta represji ani na trudnych do wykorzystania źródłach siarki ani w szczepach z mutacją cysB, powodującą wysoki konstytutywny poziom enzymów szlaku cysteiny. Wyniki te sugerują, że ekspresja cysK i cysA może być pod kontrolą tego samego operatora.
W innych badaniach nad genetyczną regulacją biosyntezy cysteiny wyizolowano nieznane dotąd mutanty permeazy siarczanowej, cysA, u E. coli. Ich mutacje zlokalizowano w miejscu homologicznym z cysA u S. typhimurium.

6. Analiza podwójnej kontroli enzymów oksydoredukcyjnych u S. cerevisiae

Przeprowadzono biochemiczne i genetyczne badania szczepu TC211 Saccharomyces cerevisiae. Stwierdzono, że jest on niezdolny do wzrostu na niefermentowalnych źródłach węgla w temperaturze restrykcyjnej. Rosnąc w tej tempe-

raturze na glukozie segreguje on z dużą częstością klony niezdolne do wykorzystywania niefermentowalnych źródeł węgla w każdych warunkach. U TC211 stwierdzono zmiany w układzie enzymów oddechowych. Ustalono, że fenotyp tego mutanta wynika z mutacji pozajądrowej lub zarówno jądrowej jak i pozajądrowej.

Temat nr 09.3.1.1.1.2. - "Regulacja funkcji genów"

Kierownik: Prof. M. Bagdasarian

1. Badania nad mechanizmem inicjacji replikacji chromosomu.

Badania nad mechanizmem replikacji DNA w układach bezkomórkowych

Wykazano, że supresja inicjatorowej mutacji dnaA może zachodzić w wyniku integracji czynnika F lub kryptycznego plazmidu w różnych miejscach chromosomu, nawet odległych od miejsca początku wegetatywnej replikacji chromosomu, jak np. geny rfa lub galK.

Potwierdzono w drodze mapowania genetycznego, możliwość insercji kryptycznego plazmidu w geny rfa, pomiędzy locus cysE i pyrE. Jest to pierwszy dowód możliwości rekombinacji pomiędzy kryptycznym plazmidem i chromosomem Salmonella typhimurium.

Stwierdzono, że zaburzenie podziału komórkowego u mutanta divA, manifestujące się brakiem wytwarzania sept podziałowych w temp. 42°, przejawia się także jako zaburzenie pobierania galaktozy. Dodatek egzogennej metioniny do podłoża znosi oba efekty.

2. Analiza biochemiczna i genetyczna mutantów metioninowych zablokowanych pomiędzy homocysteiną i metioniną

W badaniach nad regulacją biosyntezy metioniny u Aspergillus nidulans stwierdzono występowanie analoga cystaniony - homolantioninę.

Jest to trzeci przypadek opisania tego związku w organiźmie żywym, a pierwszy u grzybów.

Zakończono prace nad mutantem regulacyjnym sBo90 w genie permeazy siarczanowej, w której wykazano operatorowy charakter tej mutacji. Zbadano cztery nowe supresory mutantów metioninowych pod kątem enzymów związanych z katabolizmem cysteiny. W dwóch stwierdzono obniżenie poziomu oksydazy hypotauryny a u jednego dekarboksylazy kwasu cysteinosulfonowego.

Temat nr 09.3.1.1.1.3. - "Struktura genów i chromosomów"

Kierownik: - Doc. J. Żuk

Opracowano prostą i skuteczną metodę indukowania przez mangan punktowych mutacji w mitDNA drożdży. Stwierdzono, że w obecności magnezu i hydroksymocznika mangan traci zdolność indukowania mutacji w mitDNA, natomiast zahamowanie syntezy białek nie hamuje mutagenicznego działania manganu. Ustalono warunki, w jakich mangan indukuje mutacje i konwersję w jądrowym DNA.

Stwierdzono, że inkubacja w manganie nie wpływa na przeżywalność i częstość rekombinacji w komórkach napromienionych UV. Preinkubacja w manganie zwiększa wrażliwość komórek na związki alkilujące.

Stwierdzono, że mutanty drożdży wrażliwe na UV są rów-

nież wrażliwe na dwuepoksybutan /DEB/. Przechowywanie w wodzie mutantów traktowanych UV i DEB różnie wpływa na ich przeżywalność. Przeczy to dotychczasowym założeniom, że uszkodzenie indukowane UV i dwufunkcjonalnymi związkami alkilującymi reperowane są w jednakowy sposób. Metodą analizy sedymentacji DNA w gradiencie sacharozy wykazano, że u mutanta wrażliwego na sulfotlenek /MMS/ naprawa DNA jest mniej skuteczna niż u szczepu dzikiego. Na podstawie obserwacji w mikroskopie elektronowym wykazano, że najdłuższym stadium w procesie koniugacji jest stadium jądra diploidalnego, poprzedzające powstanie 1-go pączka. Synteza DNA w zygocie rozpoczyna się dopiero po zlaniu jąder.

Stosując nowo opracowaną metodę izolowania mutantów dotyczących regulacji katalazy otrzymano dwa mutanty nie wykazujące represji syntezy katalazy przez glukozę. Jeden z nich jest nawet stymulowany przez wyższe stężenie glukozy. Mimo, że mutacje te są recesywne i segregują niezależnie, w diploidalnych krzyżówkach zaobserwowano przejawianie się cechy jednego z mutantów.

Stwierdzono, że oporność na zieleń Janusową B jest cechą pozajądrową ale nie mitochondrialną. Uzyskane dane sugerują, że może to być cecha determinowana przez DNA episomalny drożdży. Stwierdzono, że UV zmienia transmisję markerów mitochondrialnych naświetlonego szczepu. Zaobserwowano również zależność między transmisją mitochondrialnych markerów a ich rekombinacją. Wykazano, że głodzenie szczepu z temperaturowrażliwą elongacją syntezy DNA, bezpośrednio przed kopulacją obniża transmisję cech mitochondrialnych tego szczepu niezależnie od rodzaju głodzenia. Tego efektu nie obserwuje się u szczepu dzikiego.

Temat nr 09.3.1.1.1.9. - "Koenzymy lipidowe w biosyntezie heteropolisacharydów i jej regulacji

Kierownik: - Prof. T. Chojnacki

Wykazano istnienie wyraźnej zależności między strukturą koenzymów lipidowych a ich funkcją w biosyntezie glikoproteidów w tkankach ssaków. Najważniejszym aspektem struktury tych koenzymów okazała się być obecność nasyconej OH-końcowej reszty izoprenowej. Cis/trans-konfiguracja reszt izoprenowych, długość łańcucha poliprenolu i dodatkowe nasycenie są mniej istotne w strukturze cząsteczki. Bardziej złożone zależności między strukturą a funkcją fosforanów poliprenoli stwierdzono w bakteryjnych systemach glikozylotransferazowych.

U szeregu roślin iglastych wykazano obecność poliprenoli o długości łańcucha zbliżonej do długości łańcucha dolicholi organizmów eukariotycznych. Dokonano ich izolacji i identyfikacji.

Opracowano technikę znakowania trytem poliprenoli.

Scharakteryzowano reakcję tworzenia prenolomonofosfoglukozy u Bacillus stearotermophilus. Wykazano przeniesienie glukozy z lipidowego intermediatu do polisacharydowego polimeru. Analiza cukrów ściany komórkowej B. stearotermophilus wykazuje obecność dużej ilości glukozy w stosunku do innych monosacharydów.

Ustalono, że poliprenole w liściach roślin wyższych występują głównie jako niezestryfikowane alkohole, o długości łańcucha od 9 do 13 reszt izoprenowych.

Scharakteryzowano reakcję tworzenia lipido-P-N-acetyloglukozaminy w preparatach membranowych drożdży. Zidentyfikowano powstający lipido-P-cukier jako prenolo-PP-N-acetyloglukozaminę.

Stwierdzono również przyłączenie N-acetyloglukozaminy do lipidu o charakterze obojętnym.

Stwierdzono przeniesienie reszty cukrowej w tej reakcji do nierozpuszczalnego polimeru ścianowego drożdży.

Uzyskano subfrakcje komórkowe drożdży. Zbadano aktywność transferazową w tych subfrakcjach w stosunku do UDPglukozy, GDPMannozy, UDPN- acetyloglukozaminy oraz udział w tych reakcjach endogennego lipidowego intermediatu z drożdży.

W ramach stażu naukowego Dr G. Palamarczyk w Wielkiej Brytanii wykonano prace nad mechanizmem powstawania Dolicholo-PP-Nacetyloglukozaminy i Dolicholo-PP-oligosacharydów w tkankach zwierzęcych.

Poza planem opracowano nowy test do oceny stanu klinicznego w galaktozemii /metoda ilościowego oznaczania stężenia galaktozo-1-fosforanu w krwinkach czerwonych/ oraz opracowano nową metodę oznaczania aktywności enzymu galaktokinazy/ dla celów diagnostyki galaktozemii/.

Temat nr 09.3.1.1.2.8. - "Oddziaływanie między egzogennymi kwasami nukleinowymi i komórkami bakterii

Kierownik: - Prof. D. Shugar

1. Oznaczenie zależności między pobraniem a stężeniem DNA pochodzących z różnych źródeł.

Ustalono, że kompletne hodowle Bacillus subtilis traktowane różnymi stężeniami heterologicznych DNA pobierają DNA z E.coli dwukrotnie gorzej, DNA z fagów T6 20-krotnie gorzej i DNA z nieglukozylowanych fagów T6/T^x6/ równie dobrze jak kontrolny homologiczny, transformujący DNA. Współzawodnictwo z homologicznym DNA o receptory komórkowe jest bardzo dobre

w przypadku DNA T^x6 podczas gdy DNA z fagów T6 z fagów T4 współzawodniczą tylko w minimalnym stopniu.

2. Oznaczenie specyficzności łączenia białka komórek B.subtilis z DNA pochodzącym z różnych źródeł.

Stwierdzono, że DNA E.coli i z fagów T^x6 tworzą kompleksy z białkami komórkowymi analogiczne do kompleksów z homologicznym transformującym DNA, natomiast DNA z fagów T6 nie tworzy takich połączeń. Łączne rozważanie własności badanych preparatów DNA to jest ich powinowactwa do receptorów komórkowych, pobieranie oraz zdolności do rekombinacji z chromosomem biorcy doprowadziło do wniosku, że obserwowane kompleksy z białkiem/kami/ komórkowymi mogą odgrywać rolę w transporcie DNA ze środowiska przez błonę do wnętrza komórki. Specyficzność oddziaływania DNA z receptorem komórkowym wydaje się być uwarunkowana kształtem dużego rowka cząsteczki DNA ponieważ obecność glukozy leżącej w tym rowku wydatnie zmniejsza wiązanie DNA przez komórki.

Nawiązano współpracę z zespołem prof. dr W. Dobrzańskiego. W ramach tej współpracy ustalono, że glukozylowanie 5-hydroksymetylocytozyny w DNA T6 zmniejsza powinowactwo cząsteczek do receptorów kompetentnych bakterii rodzaju Streptococcus, a więc steryczne wymagania receptorów w tym przypadku są podobne jak u Bacillus subtilis.

MOLEKULARNE PODSTAWY GENETYKI

Temat nr 09.3.1.4.1.1. - "Kontrolowana biosynteza białka"
Kierownik: - Prof. P. Szafrański

Kontynuowano badania nad kompleksem zbudowanym z kwasu rybonukleinowego i niewielkiej ilości białka płaszcza /tzw. Kompleks I/. Zbadano własności matrycowe kompleksu I.

Kompleksy utworzone przy różnych stosunkach molowych białka do RNA zostały wyizolowane na drodze wirowania w gradiencie gęstości sacharozy. Zbadano ich aktywność matrycową w układzie bezkomórkowym syntetyzującym białko. Równolegle zmierzono przy użyciu techniki sączenia na milliporach ilość cząsteczek białka związanych z jedną nicią RNA faga. Stwierdzono, że kiedy synteza replikazy RNA jest tylko częściowo zahamowana, to niektóre nici RNA wiążą 6 cząsteczek białka kapsydu, podczas gdy pozostałe nici nie wiążą RNA wcale. Przy całkowitym zahamowaniu translacji cistronu replikazy wszystkie nici RNA wiążą po 6 cząsteczek białka płaszcza. Wyniki tłumaczą mechanizm regulacji syntezy replikazy RNA faga f2.

2. Chemiczna modyfikacja RNA bakteriofaga f2 i RNA rybosomów

Praca ta jest kontynuacją prowadzonych w poprzednich latach badań nad mechanizmem translacji modyfikowanego metoksyaminą RNA faga f2. Obecny etap dotyczy rozpoznawania kodonów AUG przez rybosomy.

Wiązanie natywnego f2 RNA z rybosomami wymaga obecności czynników inicjujących. Czynniki te nie są potrzebne, gdy matrycą jest modyfikowany f2 RNA. Traktowanie RNazą trzustkową kompleksów utworzonych ze zmodyfikowanego f2 RNA i rybosomów 70S pozwala otrzymać rybosomy z fragmentami f2 RNA chronionymi przez RNazą. Fragmenty te zawierają 86% kodonów AUG/GUG dostęp-

nych dla rybosomów w modyfikowanym f2 RNA. Wykazano to za pomocą przyłączenia N-f/^{3}H/Met-tRNA do rybosomów zawierających wspomniane fragmenty. Reakcja puromycynowa wskazuje, że N-fMet-tRNA przyłącza się w tych warunkach do rybosomów w miejscu "P".

Wyniki dowodzą, że rybosomy E.coli mogą rozpoznawać inicjacyjne kodony w zmodyfikowanym f2 RNA bez udziału IF. Wskazuje to, że rozplecenie cząsteczki f2 RNA eliminuje konieczność użycia czynnika IF 3, któremu przypisuje się udział w rozpoznawaniu miejsc inicjujących syntezę białka w natywnym mRNA. Jest to zgodne z hipotezą zakładającą, że działanie IF 3 polega na miejscowej denaturacji fragmentów mRNA zawierających kodony inicjujące.

3. Funkcja niektórych białek rybosomów bakteryjnych

Białka rybosomowe bakterii E.coli obok funkcji strukturalnej odgrywają aktywną rolę w procesie formowania się cząsteczki białkowej. W badaniach nad syntezą polifenyloalaniny w układach z E.coli zauważono, że ekstrakt uzyskany podczas płukania rybosomów 2 M-NH_4Cl zawiera białka stymulujące jak i hamujące wspomnianą syntezę. Opracowano wstępne etapy izolowania tych białek.

Frakcje białek rybosomowych pomiędzy 45% a 75% nasycenia $/NH_4/2SO_4$ rozdzielono chromatograficznie na kolumnie z DEAE celulozy. Białka nieadsorbujące się na DEAE celulozie stymulują syntezę polifenyloaniny, natomiast białka adsorbujące się na DEAE celulozie hamują tę syntezę. Białka stymulujące syntezę polipeptydów rozdzielono chromatograficznie na kolumnie z fosfocelulozy. Stopień oczyszczenia białek kontrolowano metodą chromatografii na żelu poliakrylamidowym.

Wstępna identyfikacja białek stymulujących syntezę polifenyloalaniny wskazuje, że są to dwa białka podjednostki rybosomowej 50S.

Temat nr 09.3.1.4.2.1. - "Struktura i funkcja kwasów nukleinowych oraz białek organelli komórkowych w ich biogenezie

Kierownik: - Prof. J. Szarkowski

1. Zbadanie współzależności metabolizmu kwasów nukleinowych w organellach komórkowych w procesie kiełkowania

Badania dotyczyły zmian aktywności kinazy tymidynowej w czasie kiełkowania. Stwierdzono, że po rozpoczęciu kiełkowania zarodków żyta /Secale cereale L./ w komórkach rozwijającej się rośliny pojawia się aktywność kinazy tymidynowej /EC.2.7.1.75/. Wysoką aktywność enzymu stwierdzono w chloroplastach izolowanych z pierwszych liści kiełków. W organelli tej aktywność właściwa kinazy tymidynowej zmienia się w szerokich granicach w okresie między 4 i 16 dniem hodowli roślin. Stopniowy wzrost aktywności enzymu ma miejsce między 4 i 10 dniem hodowli, w okresie późniejszym następuje spadek poziomu aktywności enzymu związanego z chloroplastami. Zmiany te są odbiciem procesu organellogenezy, a nie różnic w stabilności cząsteczek białka enzymatycznego.

Zmiany aktywności właściwej kinazy tymidynowej występującej w cytosolu nie są ściśle skorelowane ze zmianami poziomu enzymu plastydialnego. Zaobserwowano, że inny enzym fosforylujący tymidynę- nieswoista nukleozydofosfotransferaza /EC.2.7.1.77/ również występuje zarówno w chloroplastach, jak i cytosolu; regulacja aktywności tego enzymu w obu przedziałach metabolicznych komórki odbywa się także w sposób nieskoordynowany.

Stwierdzono nierównomierne rozmieszczenie aktywności kinazy tymidynowej w różnych podfrakcjach strukturalnych chloroplastów. Przeważającą część aktywności kinazy tymidynowej chloroplastów żyta stwierdzono w rozpuszczalnej podfrakcji organelli /matryksie/. Przedyskutowano ewentualne znaczenie kinazy tymidynowej dla właściwego przebiegu rozwoju chloroplastów.

2. Zbadanie aktywności dezoksyrybonukleazy zarodków żyta

Z jąder zarodków żyta wyizolowano frakcję białkową o właściwościach nukleolitycznych do DNA i RNA o silniejszym zaakcentowaniu aktywności DNAazowej. Opracowano kilkuetapową procedurę oczyszczania enzymu na wymieniaczach celulozowych i żelach Sephadex. Uzyskano około 200 i przeszło 300-krotne zwiększenie aktywności w stosunku odpowiednio do RNA i DNA w porównaniu z aktywnościami homogenatu jąder. Badany preparat enzymatyczny jest jednorodny elektroforetycznie. Elektroforezę przeprowadzono na żelach poliakrylamidowym. Optimum aktywności w stosunku do DNA leży w środowisku kwaśnym w okolicy wartości pH 5.8. natomiast maksimum aktywności w stosunku do RNA stwierdzono w pH. 7.4 przy czym w obszarze alkalicznego pH enzym zachowuje również wysoką aktywność w stosunku do DNA. Na aktywność enzymu w niewielkim stopniu mają wpływ jedno- i dwuwartościowe jony metali. Wstępne próby określenia specyficzności badanej nukleazy wykazały, że enzym rozkłada zużyte substraty z różną szybkością w kolejności: Nat. DNA/ z grasicy cielęcej/ > Zdenat. DNA > RNA > poli/A/ > poli/U/ > poli/C/ > poli/G/ Na podstawie kolejności pojawiania się produktów hydrolizy DNA rozdzielanych na żelu Sephadex G-100 stwierdzono, że badana nukleaza

działa na DNA jak typowa egzonukleaza. Enzym jest białkiem termolabilnym jednakże daje się przechowywać w temperaturze - 20° przez kilka miesięcy bez utraty aktywności.

Temat nr 09.3.1.4.2.2. - "Kwasy nukleinowe w mechaniźmie różnicowania się komórek

Kierownik: - Prof. Zofia Lassota

Kontynuowano prace nad wyjaśnieniem natury i roli "olbrzymiego" RNA jądrowego embrionów kurzych. Stosowano poprzednio używane metody wyodrębnienia, frakcjowania i elektroforezy RNA, a także trawienia preparatów pronazą i mieszaniną RNA-az A i T. Okok ^{14}C -urydyny zastosowano też znakowane RNA $[^3H]$ adeninę i $[^3H]$ adenozynę. Wypróbowano używane przez innych autorów metody badania integralności cząsteczek ciężkich RNA jądrowych.

Ustalono, że:

1. Około 17-18% jądrowego RNA_{65} /obfitującego w olbrzymi RNA/ zawiera sekwencje poli/A/.
   Wyniki są zgodne przy stosowaniu kilkunastogodzinnego znakowania zarówno $[^3H]$ -urydyną i $[^3H]$ -adeniną. Pula reszt służących poliadenylacji jest wysycona już po 4-ch godzinach inkubacji z prekursorem izotopowym.
   Dla porównania ustalono, że odcinki poli/A/ są zawarte w 20% RNA polisomowego i 10% RNA cykloplazmatycznego. Wyniki te przemawiają za koncepcją, że jądrowy RNA_{65} obfituje w cząsteczki pre-mRNA.
2. "Olbrzymi" RNA silnie wyznakowany /zarówno przy stosowaniu $[^3H]$ -urydyny jak i $[^3H]$ adeniny występuje zarówno w tej części RNA_{65} jądrowego, która wiąże się z poli/U/ jak i

w części niewiążącej się z poli /U/.

Wskazuje to, że wśród populacji cząstek "olbrzymiego" RNA są takie, które zawierają odcinki poli/A/ i takie, które odcinków tych nie zawierają.

Można zauważyć, że istnieje specyficzność adenylacji transkryptów /innych niż rRNA, pre-rRNA i histonowe mRNA/ być może decydująca o wykorzystaniu jako mRNA lub wewnątrzjądrowym rozpadzie sekwencji kodujących.

3. Wśród sekwencji nukleazo-opornych stanowiących około 5% jądrowego RNA_{65} udział odcinków poli/A/ jest nikły /poniżej 10% materiału nukleazo-opornego/. Nie wyklucza to jednak, że w niewiążącym się z poli/U/ materiale są dwuniciowe hybrydy poli/A/ - poli/U powstające w obrębie sekwencji kodujących.

4. "Olbrzymi " RNA jądrowy zacowuje swą ruchliwość po ogrzaniu w 65° z SDS oraz w 90% formamidzie. W 100% formamidzie ulega degradacji, ale wydaje się z przeprowadzonych testów, że w tym środowisku degradacji ulegają również inne RNA, o niekwestionowanej dotąd integralności cząstek, tyle że wrażliwość na temperaturę wzrośnie ze wzrostem rozmiarów cząsteczek.

5. "Olbrzymi" RNA jądrowy jest heterogenną populacją cząsteczek, co wykazano wprowadzając je do 10-30% gradientu sacharozy przy wysokim stężeniu soli.

Przygotowując się do testów hybrydyzacyjnych opracowano układ izolowanych jąder syntetyzujących <u>in vitro</u> RNA. Wyniki przedstawiono w raporcie. Nie uzyskano na tej drodze silniejszego wyznakowania RNA jądrowego niż przy metodzie <u>in vivo</u>.

Stwierdzono natomiast, że jest to układ modelowy z interesującym defektem: mianowicie syntetyzujący "olbrzymi" RNA przy całkowitym zahamowaniu syntezy pre-rRNA.

Zad. nr 09.3.1.4.2.9. - <u>"Przygotowanie specyficznych substratów dla enzymów nukleolitycznych i lokalizacja nukleaz metodami cytochemicznymi"</u>

Kierownik: - <u>Prof. D. Shugar</u>

1. <u>Cytochemiczna lokalizacja i badania swoistości egzonukleaz pędów pszenicy</u>.

Stwierdzenie występowania w pędach pszenicy enzymu hydrolizującego w pH 5-7 estry arylowe zarówno 3'- jak i 5'-nukleotydów, a więc charakteryzującego się specyficznością nieznotowaną dotychczas wśród enzymów roślin wyższych skłoniło nas do prób bliższego zbadania jego specyficzności. Trudności na jakie napotykała solubilizacja i wyodrębnienie enzymu z pszenicy, w powiązaniu z podobieństwem niektórych jego właściwości do pyrofosfatazy nukleotydowej z ziemniaka, spowodowały, że badaniom specyficzności poddano wstępnie enzym z ziemniaka.

Uzyskano 2500-krotne oczyszczenie pyrofosfatazy nukleotydowej z ziemniaka i stwierdzono następujące nowe cechy jej specyficzności: /a/ hydrolizę estrów arylowych 3'-nukleotydów oraz ortofosforanu /b/ hydrolię wiązania pyrofosforanowego w pozycji 3'-nukleotydów /c/ hydrolizę pm^7G w m^7GpppG^m- zakończonych fragmentach mRNA wirusowego. Ta ostatnia właściwość stwarza perspektywy wykorzystania pyrofosfatazy do badań struktury mRNA.

Stwierdzono, że aktywności wobec estrów p-nitrofenylowych 3'- i 5'- nukleotydów oraz ortofosforanu, jak również NAD

wykazują stały stosunek w trakcie wyodrębnienia enzymu i jego elektroforezy na żelu, a także identyczne właściwości chromatograficzne, optimum pH, przebieg inaktywacji cieplnej oraz wrażliwość na szereg substancji co wskazuje, że stanowią one funkcję jednego białka.

Wykazano,że ponieważ pyrofosfataza nukleotydowa nie przejawia aktywności egzonukleazowej lub fosfotazowej względem naturalnych substratów dla tych enzymów, a mimo to hydrolizuje syntetyczne estry 3'- i 5'- nukleotydów oraz ortofosforanu, to tego typu syntetyczne substraty nie mogą służyć do wykrywania aktywności egzonukleaz lub fosfataz w roślinach wyższych.

Zastosowanie niektórych etapów procedury wyodrębnienia pyrofosfatazy z ziemniaka, jak np. adsorpcję na żelu fosforanowym oraz chromatografię z Concanavalin A-Sepharozą, do oczyszczania enzymu z pędów pszenicy, zsolubilizowanego z osadu 100 000 x g przy pomocy trypsyny, prowadziło do utraty jego rozpuszczalności. Odzyskane z niską wydajnością preparaty, podobnie jak enzym poddany wirowaniu w gradiencie gęstości sacharozy w obecności sarcozylu, wykazały stały stosunek aktywności wobec estrów arylowych 3'- i 5'- nukleotydów i ortofosforanu, co wskazuje na hydrolizę tych substratów przez jeden enzym, o swoistości odpowiadającej pyrofosfatazie nukleotydowej z ziemniaka.

Wykazano, że pyrofosfataza nukleotydowa stanowi jedną aktywność w pędach pszenicy, hydrolizującą estry arylowe 5'- nukleotydów w pH 5-7, co upoważnia do jej cytochemicznej lokalizacji przy użyciu 5'- α -naftylofosforanu tymidyny. Lokalizacja enzymu została częściowo odłożona, z uwagi na

niespodziewanie interesujące wyniki badań specyficzności oraz wykonanie pracy przedstawionej w pozycji 2.

2. Wyodrębnienie i właściwości kwaso-termostabilnych RNaz człowieka oraz zastosowanie oznaczeń RNazy trzustkowej w diagnostyce marskości torbielowatej trzustki

Z trzustki, treści dwunastnicy, wątroby, śledziony, surowicy oraz moczu człowieka wyodrębniono kwaso- i termostabilne RNazy, uzyskując stopień oczyszczenia rzędu 15 - 1000x. Wśród badanych RNaz człowieka wyróżniono dwie grupy enzymów:

/a/ RNazy trzustki, dwunastnicy oraz frakcję RNaz surowicy i moczu o optimum pH 8.5, hamowane przez Zn^{++} i Cu^{++}, stosunkowo szybko hydrolizujące syntetyczny substrat, 3'- α-naftylofosforan urydyny;

/b/ RNazy wątroby, śledziony oraz frakcję RNaz, surowicy i moczu, o optimum pH 7.0, mniej wrażliwe na Zn^{++} i Cu^{++}, hydrolizujące 3'- α -naftylofosforan urydyny około 20-krotnie wolniej niż enzymy grupy /a/.

Stwierdzono, że oznaczenia aktywności RNazy typu trzustkowego w surowicy, przy zastosowaniu 3'- α-naftylofosforanu urydyny lub RNA jako substratów, są przydatne w diagnostyce marskości torbielowatej trzustki u dzieci, eliminując konieczność pobierania treści dwunastnicy celem oznaczania aktywności innych enzymów trzustkowych.

Temat nr 09.3.1.4.2.10. - "Kierunki i mechanizmy przekazywania informacji genetycznej w kiełkującym ziarnie pszenicy

Kierownik: - Prof. J. Buchowicz

W zakresie charakterystyki informosomów zarodka pszenicy uzyskano dalsze dane o ich własnościach i syntezie w czasie kiełkowania. W szczególności, opracowano metodę ich izolacji, opartą na procedurze Weeksa i Marcusa. Metoda ta, w odróżnieniu od jej pierwowzoru, opiera się na użyciu jąder komórkowych jako materiału wyjściowego do izolacji cząstek RNP i ich oczyszczaniu drogą wirowania w gradiencie sacharozy w końcowej fazie izolacji. Uzyskane tą drogą preparaty informosomów z zarodków pszenicy po 3 godz. okresie kiełkowania były mieszaniną cząstek RNP o stałej sedymentacji około 40 S i ich oligomerów różnej wielkości /40 - 200 S/. Nie udało się wyizolować podobnych oligomerów z jąder komórkowego suchego zarodka ani też z frakcji cytoplazmatycznej zarodków pokiełkowanych. Dowodzi to, że oligomery cząstek 40 S powstają w zarodkach pszenicy w czasie kiełkowania i że są one zlokalizowane głównie wewnątrz jądra komórkowego. Komponent białkowy tych cząstek był względnie homogenny i w warunkach elektroforezy na żelu poliakrylamidowym wykazywał ruchliwość odpowiadającą produktom o ciężarze cząsteczkowym około 80.000 daltonów.

Uzyskane dane, w połączeniu z poprzednio ustalonymi własnościami składnika nukleinowego wskazują, że wyodrębniona frakcja cząstek RNP może być porównywana z informosomami jądrowymi komórek zwierzęcych.

2. Charakterystyka wczesnych produktów transkrypcji w kiełkującym ziarnie pszenicy.

W zakresie charakterystyki wczesnych produktów transkrypcji skoncentrowano się głównie na ustaleniu składu nukleotydowego i ciężaru cząsteczkowego nowosyntetyzowanego RNA. Stwierdzono, że RNA syntetyzowany na terenie zarodka w okresie pierwszych 3 godz. kiełkowania jest niezwykle bogaty w UMP /47 mol%/ i ubogi w AMP /13 mol%/. Wysoka zawartość UMP wynika prawdopodobnie z obecności odcinków oligo/U/ lib poli/U/ w łańcuchu nowosyntetyzowanego RNA. W odróżnieniu od zarodka, na terenie endospermy kiełkującego ziarna pszenicy syntetyzuje się RNA o składzie nukleotydowym zbliżonym do składu ogólnego RNA. Elektroforeza na żelu poliakrylamidowym wykazała, że nowosyntetyzowany, bogaty w UMP RNA posiada bardzo wysoki ciężar cząsteczkowy, około 7×10^6.

Zarówno wyniki oznaczeń składu nukleotydowego jak i ciężaru cząsteczkowego dowodzą, że wczesne produkty transkrypcji DNA nie zawierają rRNA i tRNA ani też ich prekursorów. Wskazują one natomiast, że wczesne produkty transkrypcji należeć mogą do klasy tzw. olbrzymiego jądrowego RNA, będącego prekursorem mRNA. W odróżnieniu od scharakteryzowanych dotychczas prekursorów mRNA, produkt powstający w kiełkującym zarodku pszenicy wydaje się zawierać odcinki poli/U/ zamiast poli/A/.

Uogólniając wyniki omówione w pkt. 1 i 2. postulować można, że w bezpośredniej reakcji zarodka pszenicy na zewnętrzne czynniki kiełkowania uruchamiana jest wybiórcza transkrypcja unikalnych sekwencji DNA. Wielkocząsteczkowy produkt tej transkrypcji wydaje się tworzyć na terenie jądra komórkowego kompleksy z białkiem typu informosomów, które mogą być następnie prekursorem cytoplazmatycznego mRNA.

Temat nr 09.3.1.4.2.14. - "Wpływ substancji wzrostowych na regulację metabolizmu kwasów nukleinowych i białek w tkance roślinnej

Kierownik: - Prof. K. Kleczkowski

Wykazano, że frakcja heterogennego RNA jądrowego, której synteza wzmagana jest w obecności GA_3/ kwasu giberelinowego/ zawiera również większą w stosunku do kontroli ilość RNA posiadającego sekwencje poli/A/.

Wyniki te sugerowały, że preferencyjna stymulacja wzrostu aktywności we frakcji heterogennego RNA jądrowego przez GA_3 może się wiązać ze wzmożoną syntezą mRNA. Dla potwierdzenia tego przypuszczenia izolowano polirybosomy z roślin traktowanych GA_3 i kontrolnych. Już sam obraz frakcjonowania w gradiencie sacharozy wskazywał na dodatni, stabilizujący efekt GA_3 na zawartość cięższych polimerów w polirybosomach. Ogólna radioaktywność włączonych do polirybosomów prekursorów /^{3}H-urydyny/ w obecności GA_3 wzrosła przeszło dwukrotnie w porównaniu z kontrolą. Po uwolnieniu RNA z polirybosomów i rozwirowaniu w gradiencie sacharozy najwyższą radioaktywność RNA stwierdzono w obszarze sedymentującym w zakresie 16S-4S. Ten obszar sedymentacji wykazywał również najwyższą zawartość RNA-poli/A/. Aktywność syntezy białka in vivo w roślinach traktowanych GA_3 była również ponad 75% wyższa w porównaniu z kontrolą. Końcowy wniosek z badań roku 1975 jest następujący: GA_3 stymuluje preferencyjnie syntezę mRNA w etiolowanych kiełkach kukurydzy. Pozostaje do wyjaśnienia, czy jest to stymulacja ilościowa, jakościowa, czy też dotyczy ona zwiększonej w obecności GA_3 poliadenylacji posttranskrypcjonalnej. Z bardzo wstępnych naszych danych można przypuszczać, że zwiększenie

długości segmentów poli/A/ w mRNA w obecności GA_3 może być co najmniej jednym z czynników warunkujących regulacje tłumaczenia informacji genetycznej.

Z danych 1974 r. wynikało, że 3' 5'-cykliczne AMP /cAMP/ ma podobne do GA_3 działnie na regulację syntezy RNA w badanym przez nas materiale. W roku sprawozdawczym wykazano również, że cAMP podobnie jak GA_3 stymuluje syntezę bogatych w poli/A/ frakcji RNA. Jedyna różnica polega na tym, że GA_3 działa optymalnie po dłuższym kontakcie z tkanką roślinną a cAMP działa natychmiast. W świetle tych obserwacji założono, że cAMP może być pośrednickiem w hormonalnej regulacji syntezy RNA przez GA_3. Postanowiono więc sprawdzić wpływ GA_3 na poziom cAMP w tkance roślinnej. Okazało się, że rośliny traktowane GA_3 zawierają ponad 70% więcej cAMP w porównaniu z kontrolą. Równocześnie aktywność fosfodwuesterazy cyklicznych nukleotydów była niższa w roślinach traktowanych GA_3. Wyniki te upoważniają do wnioskowania, że:

a/ GA_3 reguluje poziom cAMP w badanym materiale, b/ cAMP może być pośrednikiem w hormonalnej regulacji syntezy RNA przez GA_3 w komórce roślinnej. Równolegle opracowano warunki metodyczne do izolowania aktywnej w syntezie RNA chromatyny z materiału roślinnego oraz wstępnie scharakteryzowano aktywność polimeraz RNA związanych z chromatyną.

Temat nr 09.3.1.4.3.1. - "Synteza polinukleotydów, badania ich właściwości fizykochemicznych oraz podstawy mutagenezy

Kierownik: - Prof. D. Shugar

1. Badanie struktury przestrzennej nukleozydów i polinukleotydów

Ustalono jednoznacznie położenie sygnałów protonów grupy 5 CH_2OH w nukleozydach w widmie NMR. Podano zależność teoretyczną między różnicą przesunięć chemicznych protonów metylenowych a ich stałymi sprzężenia z protonem H^4. Wyjaśniono w ten sposób korelację empiryczną.

2. Tautomeria formycyny - badanie nad specyficznością dezaminazy adenozynowej

Formycynę A, której właściwości antywirusowe i antyrakowe są znane, poddano wybiórczej metylacji. Otrzymano N_1-, N_2, 2-O, 3-O i wszystkie możliwe dwumetylowane pochodne. Ponieważ dane fizyko-chemiczne nie były wystarczające dla ustalenia tautomerii N_1 i N_2 metylowanych pochodnych, przebadano ich aktywność biologiczną. /Współpraca z "The Rega Institute for Medical Res., Louvain, Belgia/. Używanym testem były trzy wirusy: vaccinia, herpes simplex i vesicular stomatitis. Tylko N_2- metylo formycyna wykazywała aktywność antywirusową w stosunku do wszystkich trzech wirusów. Jest to zgodne z innymi niepublikowanymi danymi o aktywności antyrakowej N_2 - metyloformycyny i sugeruje, że ta forma tautomeryczna istnieje w roztworze. Wszystkie pochodne formycyny jak też 2 -O- i 3 -O-metyloadenozyny wykorzystano dla badan specyficzności działania dezaminazy adenozynowej.

3. Badanie kompleksów psolaren-RNA

W poprzedniej pracy stwierdzono możliwość wyizolowania z surowicy króliczej przeciwciał skierowanych specyficznie przeciw UV-naświetlonemu DNA jako antygenowi /z dimerami tyminy/.

Opracowaną technikę produkcji przeciwciał próbuje się zastosować do DNA-8-MOP. Ustalono warunki doświadczalne

naświetlania DNA+ 8-MOP + UV365 oraz oczyszczania sfotolizowanego DNA do injekcji podskórnej. Wykonano pierwszą serię szczepień immunologicznych królików - z wynikiem ujemnym.

4. Tymidylowy addukt etylenu

Wyjaśniono strukturę przestrzenną fotoadduktu etylenu do tyminy /$T.C_2H_4$/ metodą NMR. Wykonano zestawienie z literatury analiz widm NMR dla związków tyminy i tymidyny z wysyconymi wiązaniami 5,6. Stwierdzono występowanie $T.C_2H_4$ w polidAT fotolizowanym w obecności etylenu metodą chromatograficzną, po hydrolizie kwaśnej polimeru.

Porównano ilościowo /zmiany strukturalne/ stopień fotolizy/ wyniki krzywych topnienia metodą spektralną i metodą dichroizmu kołowego.

Obydwie metody wskazują na to, że nawet przy znacznym stopniu uszkodzenia, wynoszącym około 30% tymin, polimer zachowuje dwupasmową strukturę.

5. Chemia radiacyjna kwasów nukleinowych

Przeprowadzono doświadczenia z użyciem radiolizy impulsowej / w ośrodku CNR w Bolonii/. Pulsem elektronów działano na roztwór wodny 6-metylouracylu w warunkach zapewniających obecność tylko rodników OH. Spektrofotometrycznie stwierdzono powstawanie prawdopodobnie jednego produktu labilnego, długożyjącego, który pod wpływem kwasu lub temperatury daje jeden produkt absorbujący: 6-metylouracyl. Wstępne analizy wskazują, że w tych warunkach nie powstaje pochodna kwasu izobarbiturowego.

W końcowej fazie opracowania jest modyfikacja metody oznaczania cis-dioli przy pomocy reakcji barwnej z nadjodanem

i benzydyną, która pozwala na identyfikację takich związków na cienkiej warstwie żelu krzemionkowego. Opracowaną wcześniej modyfikację dla celulozy uzupełniono oznaczeniem zakresu czułości dla różnych związków i różnych, handlowych warstw celulozy.

6. Badanie mechanizmów mutacji indukowanych

Zakończono pracę nad metabolizmem N^4 - hydroksycytydyny w komórkach Salmonella typhimurium. Izolacja RNA i DNA i oznakowania wykazało, że N^4OHcyd jest przekształcona do rybozo i dezoksy cytozyny, urydyny i tymidyny.

Wykazano, że N^4 OHcyd jest włączana do RNA. Wykazano, że N^4 OHcyd jest enzymatycznie redukowana do cytydyny.

Naturę przekształcenia N^4OHcyd ⟶ cyd badano w toluinizowanych komórkach bakteryjnych. System enzymatyczny jest czuły na obecność tioli jak glutanionu czy dimerkaptopropanolu. Enzym działa specyficznie na nukleozydy; N^4hydroksycytozyna, lub jej 1-metylo pochodna redukcji nie ulega.

Zakończono prace wykazujące, że uszkodzenia letalne indukowane przez 5-bromuuracyl /BU/ w DNA są usuwane w procesie reperacji przez wycinanie.

Prowadzono badania nad mutagenozą indukowaną przez BU w szczepie E.coli CR-34 szczególnie wrażliwym na BU. Szczep ten jest mutowany z b. wysoką wydajnością /tre^- ⟶ tre^+/. W warunkach"liguid holding recovery", gdzie faworyzowany jest proces reperacji przez wycinanie obserwuje się ponad 10-krotny spadek frekwencji mutacji. Ponadto stwierdzono, że mutant lex /produkt genu lex jest istotny w procesie "error prone" reperacji/ nie jest mutowany przez BU. Swiadczy to, że uszkodzenia przedmutacyjne indukowane przez BU są

przedmiotem działania przynajmniej dwóch procesów reperacji, reperacji przez wycinanie /bezbłędnej/ i postreplikacyjnej /error prone/ prowadzącej do mutacji.

Uzyskane wyniki dostarczają dowodów na to, że w procesie mutagenezy indukowanej przez BU biorą udział procesy reperacyjne analogiczne jak w mutagenezie indukowanej UV. Wskazuje to, że klasyczna hipoteza, przyjmująca, że mutacje indukowane przez BU są bezpośrednim wynikiem błędnego parowania zasad przez analog jest niesłuszna.

7. Synteza kwasu poli 2-amino - N^6 metoksyadenilowego

Zakończono pracę nad syntezą kwasu N-^{6} metoksy 2-aminopurynowego. Enzymatyczna synteza homopolimeru przy użyciu fosforylazy polinukleotydowej E.coli i M.luteus nie powiodła się. Otrzymano tylko kopolimer-kwasu adenozylo-N^6 - metoksy-2-aminopurynylowego.

8. Anabolizm alkilowanych analogów cytydyny

Zakończono pracę nad specyficznością substratową dezaminazy cytydyny S. typhimurium. Badano czy aktywność dezaminy cytydynowej występuje we krwi ludzkiej. Stwierdzono, że enzym ten znajduje się w białych ciałkach krwi, a nie występuje w kwrinkach czerwonych i surowicy. Jego specyficzność w stosunku do naturalnych substratów jak i analogów strukturalnych różni się zasadniczo od specyficzności enzymu bakteryjnego.

Stwierdzono,że wiele strukturalnych analogów nukleozydów cytozyny i uracylu indukuje u Salmonella typhimurium enzymy katabolizujące nukleozydy, podobnie jak to czynią naturalne nukleozydy /cytydyna i urydyna/, przy czym nie znaleziono korelacji między własnościami induktorowymi analogu, a jego podatnością na działanie enzymu.

Ponadto: 1/ w ramach pobytu w Darmstadt, RFN /dr T. Kulikowski/ opracowano metodę otrzymania i udowodniono strukturę kluczowego składnika antybiotyku oksyamicetyny. Wykazano, że oksyamicetyna jest inhibitorem rybozomowej transferazy peptydowej oraz jest mniej toksyczna niż amicetyna. Wyniki badań wykonanych w tym ośrodku opisano w IBB po powrocie i obecnie są w druku.

2./ W czasie 11 tyg. wizyty w Göttingen, RFN /doc. C. Janion - pracownia dr Scheita/ badano wpływ obecności grupy tiolowej w polu U /S^4U/ na interakcję z poly 2AP i 2AA. Wyniki są w stadium opracowania.

Temat nr 09.3.1.4.3.2. - "Podstawy regulacji funkcji kwasów nukleinowych"

Kierownik: - Prof. K. L. Wierzchowski

I. Asocjacje warstwowe pirymidyn i puryn w roztworach wodnych:

I.1. Zakończenie osmometrycznego badania asocjacji warstwowych dwuketopirymidyn /1,2,3,4/. W celu lepszego udokumentowania udziału klasycznych oddziaływań hydrofobowych w stabilizacji kompleksów zbadano równowagi asocjacyjne i wyznaczono parametry termodynamiczne etylo-podstawionych pochodnych: $m_2^{1,3\,5}$ e Ura i $e_2^{1,3}$ Thy oraz $m_4^{3,2',3',5'}$.

Dodatnia entalpia i entropia asocjacji cząsteczek tych związków oraz zależność entalpii od temperatury bezpośrednio potwierdziła słuszność wysuniętej hipotezy. Selekcja izomerycznych kompleksów asocjacyjnych przez fotodimeryzację m^1Thy i $m_2^{1,3}$ Thy przy różnych temperaturach

wykazała, że kompleksy te różnią się poważnie parametrami termodynamicznymi zależnie od wzajemnej orientacji cząsteczek i że przy wyższych temperaturach roztworów uprzywilejowane są kompleksy o dominującej stabilizacji hydrofobowej.

I.2. Pomiary osmometryczne asocjacji rozszerzono na niektóre pochodne cytozyny, wykazując że zarówno zastąpienie grupy 2-keto grupą 2-tioketo, metylacja grupy aminowej a także obecność grupy C/5/-CH_3 w pierścieniu pirymidynowym zwiększają wydatnie zdolność cząsteczek do asocjacji warstwowej, podobnie jak to było obserwowane w grupie dwuketopirymidyn.

I.3. Przeprowadzono fluorometryczne badania konformacji dwunukleozydomonofosforanu guanylo-2-aminopurynowego Gp2APu oraz trójmetylenowego modelu dwunukleotydu 9-trójmetylèno -/2aminopuryno/-1-tyminy. Wyniki są w trakcie opracowania metodami numerycznymi.

I.4. Zakończenie opracowania metody fluorescencyjnej badania asocjacji warstwowych swobodnych zasad oraz asocjacji wewnątrzcząsteczkowych w dwunukleotydach. Przebudowano aparaturę pomiarową ulepszając układ optyczny i przystosowując ją do automatycznej rejestracji widm fluorescencji z odczytem cyfrowym, przez co uzyskano odtwarzalność pomiaru w granicach $\pm$ 0.3%.

I.5. Przy współpracy z zespołem prof. S. Paszyca z Instytutu Chemii UAM w Poznaniu rozpoczęto badania warstwowych asocjacji zasady Y z adenozyną. Okazało się, że w wyniku asocjacji wydajność kwantowa fluorescencji zasady Y nie

spada lecz rośnie. Prowadzone są doświadczenia mające na celu wyjaśnienie przyczyn tego zjawiska ze szczególnym uwzględnieniem solwatacji i zmiany równowagi taktometrycznej.

I.6. Metodą atomowych funkcji potencjalnych przeprowadzono obliczenia energii oddziaływania dwóch równolegle ułożonych cząsteczek m^1Ura, m^3Ura, m^5Ura, $m^{1,35}$Ura, s^4Ura i $s_2^{2,4}$Ura. Uzyskano minima energii dla ułożeń odpowiadających antyrównoległej orientacji dipoli molekularnych, co jest sprzeczne z obserwowanym upakowaniem kryształów niektórych z tych związków. Powiększenie obliczonego układu o dalsze cząsteczki przypuszczalnie może zmienić ten obraz. Obliczenia kwantowo-mechanicznymi metodami rozpoczęto od poszerzonej metody Huckla. Nie udało się jednak uzyskać tą drogą energii stabilizacyjnej. W przygotowaniu są obliczenia metodą rachunku zaburzeń.

I.7. Zakończono badania struktury elektronowej dwuketopirymidyn oraz konformacji ich nukleozydów i grupy aminowej w cytozynach metodami dielektrycznymi publikując wyniki przedstawione w raporcie 1974 oraz przygotowując rozprawę doktorską.

II. Stany wzbudzone pirymidyn i puryn.

II.1. Budowy jedno-fotonowego spektrofluorymetru nie ukończono ponieważ trzy warianty nanosekundowych lamp błyskowych /kwarcowa z nieregulowaną i regulowaną odległością pomiędzy elektrodami oraz metalowa z regulacją /konstruowane kolejno miały czas repetycji przekraczający pasmo

przenoszenia konwertera czas-amplituda. W tej sytuacji podjęto decyzję o imporcie odpowiedniej lampy z f-my Applied Photophysics, Anglia. Dodatkowe trudności napotyka się w zakresie miernictwa sygnałów wobec braku w kraju oprzyrządowania elektronicznego działającego w zakresie częstotliwości 10^9 Hz.

II.2. Zmierzono i zanalizowano przy pomocy metod numerycznych krzywe zaniku fosforescencji 4 i 5-aminopirymidyn oraz ich pochodnych alkilowych ze wzrastającą zawadą przestrzenną dla obrotu grupy aminowej. Zaproponowano metodę interpretacji czasów życia i poprzednio zmierzonych polaryzacji fosforescencji, która umożliwia obliczenie elementów macierzystych sprzężeń spinowo-orbitalnych między stanami singletowymi i tripletowymi na drodze czysto doświadczalnej. Wartości tych elementów rosną wraz ze wzrostem skręcenia grupy aminowej względem pierścienia w obu seriach pochodnych. Stanowi to bezpośrednie doświadczalne potwierdzenie opisanego w literaturze teoretycznego modelu sprzężenia spinowo-orbitalnego w aminach aromatycznych i heteroaromatycznych. Przy współpracy dr A. Szabo z Biology Division National Research Council of Canada w Ottawie poprzez kinetyczne pomiary absorpcji triplet-triplet metodą nanosekundowej fotolizy błyskowej potwierdzono wcześniej zaproponowany mechanizm

przejścia między systemowego w 2-aminopurynie.

III. Badania zahamowanej rotacji grupy aminowych i alkiloaminowych w aminopirymidynach

III.1. Zmierzono widma absorpcji w podczerwieni 4 i 5-aminę i dwumetyloaminopirymidyn bez zawady przestrzennej i z zawadą w postaci grupy ortometylowej w pierścieniu. Stwierdzono w serii 4-aminopirymidyn podobnie jak i w przypadku dwumetyloaniliny, wpływ orto-CH_3 podstawnika zawady przestrzennej na natężenie pasm związanych z drganiami szkieletu.

III.2. Zmierzono momenty dipolowe wymienionych grup pochodnych aminopirymidynowych. Wykonano metodą PCILO kwantowo-mechaniczne obliczenia energii cząsteczek w zależności od konformacji grupy aminowej /doc. S. Kwiatkowski, temat 09.3.1.4.3.6./. Po obliczeniu metodą CNDO momentów dipolowych dla konformacji o najniższej energii wyniki teoretyczne i doświadczalne umożliwiają zaproponowanie najprawdopodobniejszych postaci konformacyjnych cząsteczek w zależności od podstawnika i zawady przestrzennej.

IV. Inne zadania: Podjęto prace nad syntezą analogów bistrójmetylenowych dwunukleotydów purynowo-pirymidynowych zawierających 2-aminopurynę. Otrzymano modyfikowaną metodę Leonarda 9/2-aminopuryno-/-trójmetyleno-1-tyminę.
Podjęto również prace nad syntezą dwu i oligo-homonukleotydów zawierających 2-aminopurynę. Substratami w reakcji syntezy dwunukleotydu są 5'-fosforan rybozydu 2-aminopuryny zablokowany w pozycji 2' i 3' grupami acetylowymi oraz 5' - trytylorybozyd 2-aminopuryny.

W związku z tym przeprowadzono kilkuetapowe syntezy wspomnianych nowych pochodnych 2-aminopuryny, przy czym związkiem wyjściowym w obu przypadkach był rybozyd 2-aminopuryny. Opracowane optymalne warunki dla reakcji kondensacji, usuwania grup chroniących oraz rozdziału produktów reakcji /izomerów 2', 5' i 3', 5'/ metodą chromatografii jonowymiennej.

Dokonano koniecznego oprogramowania maszyny Compucorp 425G Scientist znajdującej się w posiadaniu Instytutu. Opracowano dwadzieścia programów i procedur bądź o charakterze ogólnym /operacje matematyczne na macierzach, znajdywanie parametrów równań pierwszego i drugiego stopnia metodą najmniejszych kwadratów, znajdywanie dwu parametrów dowolnej funkcji ciągłej metodą iteracyjną/, bądź służących do przetwarzania określonych danych pomiarowych /obliczanie momentów dipolowych, obliczanie czasu życia fosforescencji, wnoszenie poprawek do widm fluorescencji itp./.

Dla pracowników IBB został zorganizowany kurs informacyjny o możliwościach maszyny Compucorp 425G i zasadach jej wykorzystania.

PRACE WŁASNE

Temat C 1/8 - " Kwasy nukleinowe i białka w mechaniźmie regulacji hormonalnej u owadów

Kierownik: Doc. dr M. Piechowska

1. Wpływ hormonów metamorfozy na metabolizm tyrozyny i peptydu

Prowadzone w okresie sprawozdawczym badania nad wpływem ekdysteronu na metabolizm wolnej tyrozyny i peptydu celeriny u gąsienic Celerio euphorbiae w 5-ym okresie rozwoju potwierdziły poprzednie obserwacje. Obecnie wykazano, że spadek stężenia peptydu po injekcji hormonu /40 µg/osobnika/ występuje w okresie początkowej syntezy peptydu, gdy stężenie jego w hemolimfie jest niewielkie, natomiast u gąsienic w okresie wzmożonej ruchliwości, kiedy rozpoczęła się hydroliza peptydu na skutek działania endogennego ekdysonu, dodatkowa dawka syntetycznego hormonu pozostaje bez większego wpływu na stężenie peptydu zarówno u osobników pokolenia doraźnego jak i przewlekłego.

Podawany w tych samych stadiach rozwoju, tzn. na początku i pod koniec 5-go okresu, syntetyczny hormon juwenilny /10% roztwór w ilości 5 µl/osobnika/ wywołuje oprócz stwierdzonych poprzednio deformacji tkanek i narządów również zaburzenia w procesie melanizacji i sklerotyzacji katikuli u poczwarek. Analiza hydrolizatów kutikuli wykazała znaczne różnice w stężeniu fenyloalaniny, oraz ogólny spadek stężenia wolnych aminokwasów

w hemolimfie po injekcji hormonu juwenilnego w okresie największej wagi gąsiennicy.

Przemiany tyrozyny w ciele tłuszczowym gąsienic śledzono po injekcji ^{14}C-tyrozyny. Na początku 5-go okresu rozwoju wykazano tylko niewielkie piętno w tyrozynie, natomiast pod koniec 5-go okresu u gąsienic o wzmożonej ruchliwości injekcja izotopu pozwala odnaleźć radioaktywność w peptydzie, dopa i dopaminie, przy czym stężenie znakowanego peptydu w ciele tłuszczowym jest 2 razy wyższe od stężenia peptydu w hemolimfie w tym samym okresie. Prawdopodobnie zmniejszenie stężenia peptydu w hemolimfie związane jest z przeniesieniem peptydu do ciała tłuszczowego, do którego przeniesiona zostaje także dopa. Z różnicy w czasie występowania maximum syntezy radioaktywnej dopa i dopaminy, 4 godz. i 8 godz., wynika że dopamina powstaje w ciele tłuszczowym z dopa.

2. Enzymy metabolizmu cyklicznych 3', 5'-nukleotydów purynowych

Kontynuując badania nad metabolizmem cyklicznych nukleotydów u szarańczy /Hemimetabola/ wykazano, że występowanie aktywnej fosfodwuesterazy w różnych tkankach larw i osobników dojrzałych płciowo świadczy, że cAMP bierze udział w wielu procesach zachodzących w czasie cyklu rozwojowego, szczególnie w okresie polinkowym i w połowie okresu życia imago, gdy aktywność enzymu osiąga wartości najwyższe. Zmiany aktywności enzymu w supernatantach ciała tłuszczowego samic i samców szarańczy związane są prawdopodobnie z różną funkcją tej tkanki,

która u samic spełnia dodatkową rolę magazynu białek, tłuszczów i węglowodanów dla rozwijających się jaj. Możliwe, że wzrost aktywności fosfodwuesterazy w tej tkance towarzyszy uruchomieniu procesów prowadzących do wykorzystania rezerw energetycznych.

Badania porównawcze przeprowadzono u gąsienic i poczwarek motyla /Holometabola/, ponieważ motyle różnią się od szarańczaków fizjologią rozwoju i typem metamorfozy. U motyla Celerio euphorbiae ustalono, że:

a/ u poczwarek, którym skrócono diapauzę aktywność fosfodwuesterazy cAMP i cGMP w hemolimfie i ciele tłuszczowym narasta gwałtownie przed linieniem imago, ale dodatkowa injekcja cAMP nie daje żadnych zmian w rozwoju diapauzujących poczwarek, tylko aktywność enzymu przekracza znacznie wartości uzyskane dla grupy kontrolnej,

b/ u poczwarek doraźnych po injekcji cAMP, ekdysteronu i hormonu juwenilnego jedynie ekdysteron wpływał na rozwój poczwarek i przyspieszał rozwój motyli o kilka dni, motyle takie ginęły jednak przed wylęgiem, a aktywność enzymu w ciele tłuszczowym po injekcji ekdysteronu była znacznie niższa w ciągu całego rozwoju, począwszy od 1,5 godz. po podaniu hormonu w porównaniu z pozostałymi grupami. U poczwarek traktowanych cAMP oraz hormonem juwenilnym po początkowym niewielkim spadku, aktywność fosfodwuesterazy przekraczała wartości uzyskane dla kontroli, przy czym we wszystkich grupach aktywność enzymu była znacznie wyższa w stosunku do cGMP, niż do cAMP jako substratu,

c/ podczas transformacji gąsienica-poczwarka najwyższa aktywność cyklazy adenylowej wystąpiła u poczwarki o jasnej i miękkiej kutikuli w kilka godzin po przeobrażeniu,

d/ izolowane białka wiążące cykliczne nukleotydy z ciała tłuszczowego poczwarek i gąsienic przy niskim wiązaniu cGMP nie wykazują dużych różnic w aktywności tych białek w czasie rozwoju, przy czym w tkance poczwarek wiązanie jest nieco wyższe niż u gąsienic. W białkach wiążących cAMP niewielki spadek aktywności występuje w poczwarce o jasnej kutikuli, a najwyższa aktywność w ciele tłuszczowym poczwarki w okresie poprzedzającym apolizę.

Uzyskane wyniki zgodne są z nielicznymi danymi dostępnymi w literaturze na temat gwałtownego wzrostu aktywności enżymów związanych z metabolizmem cyklicznych nukleotydów w czasie przeobrażenia gąsienica-poczwarka i poczwarga-imago, oraz potwierdzają hipotezę o hamującym wpływie ekdysteronu na aktywność fosfodwuesterazy cyklicznych nukleotydów in vivo.

Temat C1/10 - "Badania nad przemianą pochodnych choliny u owadów

Kierownik: prof. Zofia Lassota

Dobrano i przystosowano do badanego materiału /jaja Bombyx mori i poczwarki Celerio euphorbiae /metodę otrzymywania polisomów. Preparaty polisomowe charakteryzowano w 12-36% liniowym gradiencie sacharozy, badając też zmiany profilu pod wpływem trawienia RNA-azą trzustkową i działania KCl. W RNA polisomów oznaczono zawartość poli/A/-RNA przezwiązanie na kolumnie z poli/U/-Sepharose 4B. Ruchliwość elektroforetyczną RNA badano w żelu poliakrylamidowym.

Wykazano, że w czasie diapauzy /w spoczynku/ tkanki owadzie zawierają układy polisomowe, heterogenne w gradiencie sacharozy, wrażliwe na niskie stężenia RNA-azy i wysokie stężenia KCl. Jednakże ilościowo polisomy w tkance spoczywającej /w przeliczeniu na 1 g tkanki/ stanowią zaledwie 30% polisomów izolowanych z tejże tkanki w czasie rozwoju. Obecność dezoksycholanu nie zmienia wydajności ani profilu polisomów izolowanych z tkanek owadzich czy to w spoczynku, czy w rozwoju, co potwierdza obserwacja innych /Kuwajewa, 1966 i Tsiapalis, 1967/ i wskazuje na odmienność retikulum endoplazmatycznego owadów w porównaniu z innymi zwierzętami.

Zbadano też znakowane ^{3}H-urydyną RNA, oddysocjowane z polisomów poczwarek Celerio euphorbiae działaniem EDTA i SDS. Polisomy izolowane z poczwarek krótko przed lub tuż po szczycie aktywności acetylocholinesterazy w tkankach odwłoka, który to fenomen sygnalizuje początki podiapauzalnej wznowy rozwoju. Okazało się, że conajmniej 10% RNA polisomów zawiera odcinki poli/A/. Znaczna część poli/A/ RNA zdjętego z polisomów jest w postaci RNP, na co wskazuje wzrost ruchliwości elektroforetycznej po wyczerpującym odbiałczeniu. Są wstępne dane o niewielkiej ruchliwości /ok. 4S/ elektroforetycznej i małej heterogenności poli/A/RNA poczwarek w tym okresie.

Temat C1/11 - "Przemiany związków purynowych u bezkręgowców

Kierownik: Doc. Monika Jeżewska

W badaniach nad enzymami biorącymi udział w przemianie purynowej u ślimaka Helix pomatia zajęto się właściwościami aminohydrolazy adenozyny, występującej u zwierząt w 4 formach różniących się ciężarem cząsteczkowym. Dotychczas nie ma żadnych danych o tym enzymie u Gastropoda. Enzym z wątrobotrzuski H. pomatia dezaminuje adenozynę i dezoksyadenozynę najszybciej w pH 3,6, bardzo niskim w porównaniu z aminohydrolazami z innych źródeł. Jest termostabilny, a energia aktywacji dla obu substratów jest taka sama. Stała Michaelisa dla adenozyny jest 5-krotnie wyższa od K_m dla dezoksyadenozyny, natomiast dla enzymu ssaków te wartości są zbliżone. Stosunek szybkości maksymalnych V_{dAr}/V_{Ar} wynosi 0.60, co sugerowałoby występowanie formy A lub C enzymu.

W dalszym ciągu badano układy enzymatyczne mogące reutylizować wolne puryny. Równolegle do badań nad włączeniem ^{14}C-urydyny do RNA w gruczole mlecznym myszy, prowadzonych w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu, oznaczono poziom fosforybozylotransferaz bipoksantynoguaninowej /HGPRT/ i adeninowej /APRT/ oraz fosforylazy nukleozydu purynowego. W okresie ciąży wzrost poziomu badanych enzymów wyprzedzał wzrost syntezy RNA, a w okresie laktacji poziom enzymów spadał równolegle ze zmniejszaniem się syntezy RNA. Zwiększone zapotrzebowanie na nukleotydy w gruczole mlecznym w okresie poprzedzającym laktację mogłoby zatem być pokrywane przez reutylizację puryn, a nie

drogą biosyntezy de novo.

Równoległy wzrost i spadek poziomu fosforybolotransferaz i fosforylazy nukleozydu purynowego w gruczole mlecznym myszy nasunął myśl o zbadaniu poziomu fosforylazy w fibroblastach nie zawierających HGPRT, opornych na 8-azaguaninę. Fibroblasty otrzymano z Instytutu Psychoneurologicznego w Warszawie. W fibroblastach dzieci z normalnym poziomem HGPRT i APRT poziom fosforylazy nukleozydu purynowego był znacznie wyższy niż w fibroblastach pacjenta z Zespołem Lesch-Nyhana /niedobór HGPRT/. Również fibroblasty myszy, oporne na 8-azaguaninę, miały niższy poziom fosforylazy niż fibroblasty z normalną aktywnością HGPRT. Wskazuje to na sprzężoną regulację aktywności różnych enzymów uczestniczących w przemianie purynowej.

Temat C1/12 - "Badanie struktury i centrum aktywnego enzymów na przykładzie arginazy z wątroby szczura

Kierownik: Dr Grażyna Kuszyńska

Oczyszczanie arginazy z wątroby szczura jak i dowody homogenności enzymu przedstawiono w poprzednim sprawozdaniu. Celem niniejszej pracy było zastosowanie selektywnych chemicznych modyfikacji do określenia reaktywnych ugrupowań na powierzchni arginazy.

1/ Odczynniki specyficzne na grupy SH /p-chloromerkurobenzoesan oraz N-etyloimid kwasu maleinowego /nie powodowały zmian w aktywności arginazy.

2/ Reszty tyrozylowe arginazy nitrowano czteronitrometanem, następnie nitro-enzym redukowano do amino formy poprzez

działanie podsiarczynu sodowego. Modyfikacji czterech reszt tyryzolowych towarzyszył niewielki spadek aktywności arginazy.

3/ Modyfikację tryptofanu przeprowadzono N-bromobursztynyloimidem /NBS/ oraz 2-hydroksy- 5-nitrobenzylo bromkiem /HNBB/. NBS utleniał 6 moli tryptofanu natomiast HNBB modyfikował 5 moli tryptofanu w cząsteczce arginazy. Modyfikacja tryptofanu powodowała obniżenie aktywności arginazy do 10-15%. Wynik ten pozwala sugerować udział tryptofanu w katalitycznej funkcji arginazy.

Druga część pracy dotyczyła tworzenia niedopuszczalnej formy enzymu.

1/ Arginaza z wątroby szczura była związana /poprzez grupy ε-aminowe/ z aktywowaną bromocyjanem Sepharozą 4-B.

2/ Specyficzna aktywność nierozpuszczalnej formy enzymu wynosiła około 70% aktywności wolnej arginazy.

3/ Unieruchomienie arginazy nie zmieniało optimum i profilu pH, przy trzykrotnym zmniejszaniu powinowactwa enzymu do substratu.

TEMATY ZLECONE PRZEZ INSTYTUT PRZEMYSŁU FERMENTACYJNEGO W RAMACH PRAC PRZYGOTOWAWCZYCH DO REALIZACJI RZADOWEGO PROGRAMU BADAWCZO-ROZWOJOWEGO

pt. "OPTYMALIZACJA PRODUKCJI I SPOŻYCIA BIAŁKA"

Temat 01.05.b. - "Zastosowanie biostymulatorów wzrostu drobnoustrojów przy wykorzystaniu odpadów przemysłu farmaceutycznego

Wykonawca: Prof. T. Kłopotowski

Celem tych badań było zorientowanie się w możliwościach znalezienia taniego źródła D-biotyny, potrzebnej dla podniesienia wydajności produkcji przemysłu drożdżowego.

Zbadano kilkanaście produktów odpadowych przemysłu farmaceutycznego, lecz żaden z nich nie rokował opłacalności jako źródło biotyny.

Sprawdzono zdolność do wytwarzania biotyny przez kilkadziesiąt szczepów bakterii i grzybów. Stwierdzono, że szczepy Citrobacter oraz Streptomyces aerofaciens są względnie wydajnymi producentami biotyny na tanich, minimalnych podłożach.

Przy użyciu dehydrobiotyny wyselekcjonowano serię mutantów Escherichia coli i Salmonella typhimurium o 10-krotnie zwiększonej zdolności wytwarzania biotyny.

We wnioskach wskazano zleceniodawcy kierunki dalszych poszukiwań.

Temat 01.06.b.- "Genetyczna regulacja biosyntezy metioniny u drożdży

Wykonawca: Dr A. Paszewski

Celem pracy było rozeznanie co do zawartości metioniny i innych aminokwasów siarkowych w różnych rodzajach i gatun-

kach drożdży paszowych oraz opracowanie metod uzyskiwania na drodze modyfikacji genetycznej szczepów o podwyższonej zawartości metioniny. Uzasadnieniem pracy jest niedobór tego aminokwasu w drożdżach jako paszy dla zwierząt, co powoduje, że nie jest to pasza pełnowartościowa.

W pracy badano różne szczepy należące do rodzaju Saccharomycopsis i Candida. Stwierdzono, że u wszystkich badanych drożdży istnieje podobna droga biosyntezy metioniny oraz genetyczna regulacja tego procesu jak to ma miejsce u Saccharomyces cerevisisae. Stwierdzono także, że różne szczepy drożdży paszowych charakteryzują się podobną zawartością metioniny i innych aminokwasów siarkowych. Uzyskane wyniki dotyczące regulacji pozwoliły na wybór skutecznej metody uzyskiwania mutantów o podwyższonej zawartości metioniny przy zastosowaniu analogów tego aminokwasu, przede wszystkim etioniny.

Wykazaliśmy, że otrzymane u S. lipolytica mutanty oporne na etioninę i zawierające zwiększoną ilość metioniny są mutentami regulacyjnymi. Główną trudność w otrzymywaniu tego typu mutantów stanowi fakt oporności wielu szczepów na analogii metioniny. W związku z tym opracowano oryginalną metodę pozwalającą na drodze dwustopniowej mutacji uzyskać mutanty regulacyjne o podwyższonej zawartości metioniny. Zaletą tej metody, która stanowi główne osiągnięcie tej pracy, jest pozytywna selekcja mutantów o poszukiwanych własnościach.

Temat 01.08. - "Badania nad otrzymywaniem przemysłowych kultur drożdży paszowych o korzystniejszych cechach technologicznych i wyższej zawartości białka

Wykonawca: Dr T. Biliński

Badania te były objęte planem koordynacyjnym prac badawczych przygotowujących realizację Programu Rządowego pt. "Optymalizacja spożycia i wykorzystania białka". W ich zakres wchodziło kilka niezależnych tematów badawczych od badań nad biologią drożdży, przez analizę procesu technologicznego w fabrykach do izolowania i charakterystyki szczepów drożdży występujących w drożdżowniach. Wyniki tych badań dostarczyły informacji na temat kierunku dalszych badań w ramach Programu Rządowego - których celem jest podniesienie produkcji białka z drożdży pod koniec przyszłej pięciolatki.

Dostarczono Instytutowi Przemysłu Fermentacyjnego 5 szczepów pochodzących z produkcji dla dalszych badań technologicznych. Przeprowadzono też wstępną charakterystykę kilku szczepów o szeregu zalet technologicznych. Z pracy tej wynika szereg wniosków stanowiących bezpośrednio wskazówkę co do kierunku zmian w technologii produkcji drożdży w celu zwiększenia ich wartości pokarmowej.

Temat 01.11.c - "Określenie łańcucha oddechowego u Pseudomonas species zdolnego do wykorzystania metanolu jako jedynego źródła węgla

Wykonawca: - Dr Alicja Drabikowska

Pseudononas PŁ-1-14/6 wykorzystujący metanol jako jedyne źródło węgla syntetyzuje bardzo duże ilości cytochromu typu c i małe ilości cytochromu b. Obecności cytochromów typu a nie udało się wykazań. Wśród cytochromów c występuje cytochrom c_{550} związany mocno z błoną komórkową i cytochrom $c_{552,5}$ stosunkowo łatwo uwalniany z błony komórkowej. Komórki Pseudomonas zawierają tylko jeden rodzaj cytochromu b - cytochrom b_{562}.

Cytochromy c i cytochrom b ulegają zmianom oksydoredukcyjnym co świadczy o ich udziale w procesach utleniania. Lipidowym składnikiem oksydoredukcyjnym łańcucha oddechowego biorącym udział w procesach utleniania jest ubichinon o ośmiu jednostkach izoprenowych. Około 60% ubichinonu bierze udział w procesach utleniania. Pozostała część pełni być może inne funkcje lub jest niedostępna dla enzymów łańcucha oddechowego.

1. KSZTAŁCENIE KADR
2. WSPÓŁPRACA NAUKOWA Z ZAGRANICĄ
3. KONSULTACJE NAUKOWE I PRACE USŁUGOWE
4. KURSY, KONFERENCJE ORAZ SEMINARIA SPECJALISTYCZNE I SZKOLENIOWE
5. PRACOWNIA ULTRAWIROWEK
6. WARSZTATY
7. SPIS PUBLIKACJI

KSZTAŁCENIE I DOSKONALENIE KADR

I. Ilość stopni i tytułów naukowych uzyskanych w roku 1975 :

1. 4 doktorów / nauk przyrodniczych /, w tym 2 pracowników IBB
2. 2 doktorów habilitowanych, w tym 1 pracownik IBB
3. 1 tytuł profesora nadzwyczajnego / prof. M.Bagdasarian /
4. 1 tytuł profesora zwyczajnego / prof. P.Szafrański /

II. Ilość stypendiów doktorskich i habilitacyjnych :

1. doktorskich 5
2. habilitacyjnych 5

III. Staże naukowe

Liczba osób nie zatrudnionych w IBB odbywających w Instytucie staż naukowy - 8

Liczba studentów szkół wyższych, którzy odbyli praktyki w Instytucie - 13

Studium Doktoranckie / Kierownik: Prof. dr J.W.Szarkowski /

W okresie sprawozdawczym kontynuowano zajęcia na Studium Doktoranckim stacjonarnym / II turnus /, którego okres szkoleniowy został przedłużony o dwa semestry, t.j. do 31 stycznia 1976 r. Zakończono z dniem 31 stycznia 1975 r. VIII-y semstr Studium Doktoranckiego dla pracujących i tym samym czteroletni okres szkoleniowy.

Badania stanowiące podstawę rozpraw doktorskich, prowadzone na Studium stacjonarnym były tematycznie powiązane z kierunkami badawczymi reprezentowanymi w problemie węzłowym 09.3.1 lub z kierunkami badań własnych Instytutu / problem C 1/8 /. Obejmowały one zagadnienia wiążące się z mechanizmami przekazywania informacji genetycznej i biosyntezy białka oraz zagadnienia biochemii i biofizyki kwasów nukleinowych i lipidów.

W Studium stacjonarnym uczestniczyło 11 osób. W okresie sprawozdawczyn otwarto 1 przewód doktorski.

Studium dla pracujących ukończyło 6 osób, w tym5osób uzyskało doktoraty. W roku sprawozdawczym zakończono 1 przewód doktorski przeprowadzony w Instytucie Przemysłu Fermentacyjnego, którego pracownikiem był doktorant.

Przeprowadzono rekrutację i egzaminy wstępne na Studium Doktoranckie stacjonarne / III-i turnus /, rozpoczynające zajęcia 1 lutego 1976 r.. Uzyskano rozszerzenie zakresu szkoleniowego o tematykę genetyczną.

WSPÓŁPRACA NAUKOWA Z ZAGRANICĄ

Działalność naukowo-organizacyjna

Instytut działał jako koordynator międzynarodowy w problemie " Genetyka Molekularna Drobnoustrojów " / Podkomisja w ramach współpracy wielostronnej Akademii Nauk Krajów Socjalistycznych w dziedzinie biologii molekularnej /.

Instytut działał jako koordynator krajowy w problemach : " Chemia i Biochemia Kwasów Nukleinowych " oraz " Białka i Enzymy " / odpowiednie Podkomisje w ramach współpracy wielostronnej Akademii Nauk Krajów Socjalistycznych w dziedzinie biologii molekularnej /.

Również jako koordynator krajowy Instytut działał w problemach: " Badania w Dziedzinie Biofizyki " i " Chemia i Biochemia Węglowodanów " w ramach współpracy naukowej prowadzonej przez Radę Wzajemnej Pomocy Gospodarczej.

Instytut uczestniczył we współpracy prowadzonej w ramach umów PAN - CNRS /Francja/ oraz PAN - CNR /Włochy/.

Przyjazdy z zagranicy

Do Instytutu przyjechało w 1975 r. 28 osób / po 5 osób z ZSRR i W.Brytanii, po 3 z R.F.N. i U.S.A, po 2 z Belgii, Francji i Węgier, oraz po 1 osobie z Berlina Zachodniego, Bułgarii, Czechosłowacji, Kanady i N.R.D. / na zaproszenie Instytutu,w ramach wymiany objętej umowami oraz na koszt własny.

Goście nasi wygłaszali referaty z prac własnych oraz uczestniczyli w dyskusjach naukowych. Ponadto trzy osoby / z N.R.D., Węgier

i ZSRR / wykonywało u nas podczas swego pobytu prace eksperymentalne.

Wyjazdy zagranicę pracowników Instytutu

a/ Staże długoterminowe / Anglia, Australia, Belgia, Kanada, Szwecja, USA i ZSRR / - 12 osób

b/ Staże krótkoterminowe / Anglia, Francja, N.R.D., R.F.N., USA i ZSRR / - 13 osób

c/ Kursy szkoleniowe i Szkoły / Anglia, Belgia, Grecja, Holandia, Węgry i ZSRR / - 11 osób

d/ Kongresy, sympozja i konferencje / Anglia, Austria, Bułgaria, Czechosłowacja, Dania, Francja, Holandia, Węgry, USA i ZSRR / - 26 osób

W tym trzy osoby wzięły udział w Międzynarodowym Kongresie Biofizycznym w Kopenhadze, 2 osoby w X-ym Zjeździe FEBS w Paryżu, oraz 1 osoba / prof. W.Gajewski / wzięła udział w organizowanej przez Narodową Akademię Nauk USA Konferencji poświęconej rekombinowanym cząsteczkom DNA i ich potencjalnemu niebezpieczeństwu dla ludzi.

e/ Konferencje naukowo-organizacyjne / Bułgaria, Mongolia, N.R.D. Węgry i ZSRR / - 13 osób

f/ Kursy językowe / N.R.D. i W.Brytania/ - 2 osoby

Realizacja prac w ramach porozumienia polsko-amerykańskiego

W ramach porozumienia polsko-amerykańskiego o współpracy naukowej Instytut realizował następujące tematy :

1. Badania nad rolą kwasów nukleinowych, nukleotydów i naturalnych inhibitorów w procesie kiełkowania roślin - kierownik: prof. J.Buchowicz / 5-o letnia umowa z U.S.D.A., ARS, zakończona 30.XI.1975 r./.

2. Regulacja cyklu życiowego u bakterii - kierownik: prof. M.Bagdasarian / 3-y letnia umowa z U.S.G.D.H.E.W., NIH, zakończona 31.III.1975 r./.

3. Synteza i badanie fizykochemiczne i biologiczne właściwości nowych analogów pochodnych kwasu nukleinowego - - kierownik: prof. D.Shugar / 5-o letnia umowa z U.S.D.A., A.R.S., kontynuacja /.

4. Poliprenole / poliprenole i witaminy A i K / jako koenzymy dla biosyntezy polisacharydów w systemach enzymatycznych mikroorganizmów, ssaków i roślin - kierownik: prof. T.Chojnacki / 5-oletnia umowa z U.S.D.A., ARS, kontynuacja /.

5. Molekularne mechanizmy w biosyntezie białka - kierownik: prof. P.Szafrański / 5-o letnia umowa z U.S.D.A., ARS, kontynuacja /.

6. Genetyka grzybów - kierownik: prof. W.Gajewski / 3-y letnia umowa z U.S.G.D.H.E.W., NIH, kontynuacja /

W ramach w/w umów zrealizowano dwa krótkoterminowe wyjazdy / do USA oraz do USA i W.Brytanii /

Problematyka wszystkich umów mieści się w planach naukowych Zakładów Instytutu, realizujących umowy. Umowy te zostały włączone do planu dochodów i kosztów. Z tego tytułu wymienione zespoły badawcze realizowały szereg dodatkowych zadań szczegółowych, rozszerzających i przyśpieszających realizację planów.

Konsultacje naukowe i prace usługowe

Lp.	Określenie	Odbiorca	Charakter
1.	Technika pomiarów, eksploatacja, możliwości, wyposażenie dodatkowe spektrofotometru Cary 118	Instytut Towaroznawstwa WSE,Poznań	Konsultacja jednorazowa
2.	Przeprowadzenie ćwiczeń w ramach Szkoły Luminescencji	Instytut Chemii Fizycznej PAN w Warszawie	jednorazowo
3.	Wykonanie pomiarów osmometrycznych /oznaczanie ciężaru cząsteczkowego związków dwuazoniowych/	Instytut Poligrafii Politechniki Warszawskiej	jednorazowo
4.	Techniki pomiarowe epektroskopii w nadfiolecie i podczerwieni	WSR,Olsztyn	przeszkolenie /1 miesiąc/
5.	Techniki pomiarowe spektroskopii w podczerwieni, obsługa i wyposażenie spektrofotometru UR-20	Zakład Biofizyki IFD Uniwersytetu Warszawskiego	przeszkolenie /2 dni/
6.	Wykonanie widm w pastylkach KBr związków pochodzenia naturalnego	Instytut Genetyki i Hodowli Roślin AR w Warszawie	jednorazowo

Lp.	Określenie	Odbiorca	Charakter
7.	Badanie wpływu asocjacji warstwowych pomiędzy zasadą Y i adenozyną na własności fluorescencyjne zasady Y	Instytut Chemii U.A.M. w Poznaniu	współpraca okresowa
8.	Wykonanie widm w nadfiolecie na spektrofotometrze Cary 118	Instytut Chemii Fizycznej PAN w Warszawie	wielokrotnie
9.	Wykonanie widm w nadfiolecie na spektrofotometrze Cary 118	Instytut Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego	jednorazowo
10.	Wykonanie widm w nadfiolecie na spektrofotometrze Cary 118	Instytut Niskich Temperatur PAN we Wrocławiu	jednorazowo
11.	Pomiary widm w nadfiolecie w niskich temperaturach przy użyciu kriostatu "Spectrim"	Instytut Chemii Fizycznej PAN, Instytut Niskich Temperatur	jednorazowo
12.	Spektrofluorymetryczne oznaczenie dopaminy i noradrenaliny	Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, Jabłonna k/W-wy	jednorazowo

Lp.	Określenie	Odbiorca	Charakter
13.	Badanie specyficzności nukleaz ludzkich	Instytut Matki i Dziecka w Warszawie	Konsultacja stała i pomoc w oznaczaniu
14.	Badania nad fotodermatozami	Instytut Dermatologii AM w Warszawie	konsultacja stała
15.	Pobieranie DNA przez bakterie	Instytut Biostruktury AM w Warszawie	Konsultacja i pomoc w wykonawstwie /2 miesiące/
16.	Badania nad strukturą nukleotydów	Katedra Biofizyki Uniwersytetu Warszawskiego	konsultacje periodyczne
17.	Badania nad odwrotną transkryptazą	Instytut Onkologii w Warszawie	konsultacja stała
18.	Badania nad strukturą kwasów nukleinowych	Instytut Chemii Orfanicznej UAM, Poznań	konsultacja stała
19.	Metody frakcjowania i oznaczania RNA u roślin	AR, Olsztyn	Przeszkolenie / 1 miesiąc/
20.	Metody izolowania polisomów z roślin i oznaczania poli/A/-RNA	AR-SGGW, Warszawa	przeszkolenie /3 miesiące/

Lp.	Określenie	Odbiorca	Charakter
21.	Oznaczanie składu aminokwasowego w próbkach roślinnych na analizatorze	Instytut Fizjologii i Cytologii Uniwersytetu Łódzkiego	wielokrotnie
22.	Oznaczanie poziomu fosforybozylotransferaz hipoksantyno-gwaninowej i -adeninowej w kulturach fibroblastów i krwinkach chorych z Zespołem Lesch-Nyhana	Instytut Psychoneurologiczny w Warszawie	wielokrotnie
23.	Zastosowanie elektroforezy w żelach do rozdziału RNA	II Klinika Chorób Wewn. AM w Warszawie	jednorazowo
24.	Izolacja struktur podkomórkowych	Instytut Leków, Warszawa i AR-SGGW w Warszawie	jednorazowo
25.	Diagnostyka galaktozemii	Instytut Matki i Dziecka w Warszawie	konsultacja stała i pomoc w wykonawstwie
26.	Analityka izoprenoidów	Instytut Biochemii Uniwersytetu Warszawskiego	konsultacja periodyczna

Lp.	Określenie	Odbiorca	Charakter
27.	Techniki chromatograficzne rozdziału mieszanin węglowodorów	Instytut Przemysłu Mięsnego w Warszawie	jednorazowa
28.	Metody badania mutantów z blokami biosyntezy cysteiny oraz oznaczania enzymów tego szlaku	Instytut Biochemii i Mikrobiologii UMCS w Lublinie	jednorazowa
29.	Metody oznaczania enzymów biosyntezy O-antygenu bakterii gram-ujemnych	Instytut Biochemii i Mikrobiologii w Lublinie	przeszkolenie / 1 miesiąc/
30.	Ultrawirowania analityczne, równowagowe w CsCl, preparatywne	AM w Łodzi, AM w Warszawie Instytut Gruźlicy w Warszawie, AR-SGGW w Warszawie, Instytut Biologii Dośw.PAN w Warszawie	razem około 200 godzin

Lp.	Określenie	Odbiorca	Charakter
31.	Otrzymywanie nadproducentów proteaz u A. niger	I.P.F.	konsultacje / 10 godz./
32.	Badania dotyczące kriofilności drożdży winiarskich	Politechnika Łódzka	konsultacje / 10 godz./
33.	Izolacja i rozdzielanie aminokwasów siarkowych	AR-SGGW, Warszawa	konsultacje / 10 godz./
34.	Regulacja syntezy hydroksylazy lupaniny u Ps.lupanini	AR-SGGW, Warszawa	konsultacja stała /2 mies.
35.	Utrwalanie drożdży do mikroskopii elektronowej	Uniwersytet Wrocławski	konsultacje / 3 godz. /
36.	Cytogenetyka aberacji chromosomowych	Uniwersytet Łódzki	konsultacja jednorazowa
37.	Zdrożdżowywanie odpadów płynnych przy produkcji mączki rybnej	Politechnika Gdańska	konsultacje / 5 godz./
38.	Wykłady z genetyki ogólnej dla studentów biofizyki	Uniwersytet Warszawski	20 godz.
39.	Wykłady monograficzne : "Dziedziczenie pozajądrowe"	Uniwersytet Warszawski	15 godz.
40.	Izolacja i charakterystyka lipidów roztoczy	AR-SGGW, Warszawa	konsultacje i eksperyment wielokrotnie

Kursy, konferencje oraz seminaria specjalistyczne i szkoleniowe

Lp.	Temat kursu, konferencji lub seminarium	Liczba uczestników ogółem	w tym spoza PAN	z zagranicy
1.	II Zimowa Szkoła Biofizyczna nt. Transportu przez Błony Komórkowe Górzyniec k/ Szklarskiej Poręby 5-14 lutego /wspólnie z Instytutem Biologii i Biofizyki AR Wrocław/	105	51	45
2.	Kurs Metod Ultrawirowania organizowany przy współudziale firmy Beckman / 23-24.IV./	150	100	2 wykładowców
3.	Sympozjum naukowe "Genetyka plazmidów" organizowane w ramach Współpracy Wielostronnej Między Akademiami Krajów Socjalistycznych podkomisji "Molekularna Genetyka Drobnoustrojów" w Trzebieszowie 15-18.X. /wspólnie z Instytutem Mikrobiologii UWr./	40	26	13

Lp.	Temat kursu, konferencji lub seminarium	Liczba uczestników		
		Ogółem	w tym: spoza PAN	z zagranicy
4.	Sympozja sprawozdawcze grup tematycznych i zespołów problemowych w problemie 09.3.1.	190	130	-
	- "Regulacja procesów biosyntetycznych i podziału komórkowego" - "Uzyskiwanie nowych cech i ich przekazywanie między szczepami" - "Produkcyjność mikroorganizmów"			
5.	Posiedzenia Zespołu Koordynacyjnego grupy tematycznej 09.3.1.1.	15	8	-
6.	Posiedzenia Zespołów Oceniających wyniki IV etapu badań	35	15	-
7.	Plenarne posiedzenia Zespołu Koordynacyjnego Problemu 09.	30	7	-

Pracownia Ultrawirówek /Kierownik: mgr J. Żórawski/

Sprawozdanie z działalności w roku 1975

Pracownia powstała w III kwartale 1974 r. Wyposażenie Pracowni stanowiły: jedna ultrawirówka analityczna Beckman model E, jedna ultrawirówka preparatywno-analityczna Beckman L-2 65B z przystawką analityczną /scanner/, jedna ultrawirówka preparatywna Beckman L-2, trzy ultrawirówki preparatywne MSE-65, jedna MSE-50, jedna VAC Janetzki. Razem osiem ultrawirówek i mikrodensytometr służący do odczytywania klisz fotograficznych z ultrawirówki analitycznej Beckman model E.

W roku 1975 firma Beckman wymieniła wirówkę L-2 65B na nowy model L-5 na własny koszt z powodu częstych awarii urządzenia.

Spośród wymienionych ultrawirówek najnowocześniejszą pod względem technicznym jest Beckman L-5 75. Pomijając najnowsze rozwiązania np. sterowanie elektroniczne, wyposażona jest ona w przystawkę analityczną /prep. UV scanner/ umożliwiającą wirowania analityczne trzech równocześnie próbek a w przypadku posiadania rotora 6-cio miejscowego - pięciu próbek, oraz rejestrację absorpcji światła ultrafioletowego wzdłuż kuwet.

W minionym roku wirówki pracowały na ogół sprawnie, w czym duża zasługa naszych konserwatorów oraz serwisu Beckmana. Wyjątkiem była wirówka MSE-65, której prawie roczny przestój spowodowany został przez firmę serwisową Meraserw w Poznaniu.

Nadzór nad eksploatacją ultrawirówek sprawował kierownik

Pracowni, za konserwację i nadzór nad stanem technicznym odpowiedzialny był inż. Z. Witkowski.

Warsztaty /Kierownik: inż. Z. Witkowski/

Sprawozdanie z działalności w roku 1975

W roku 1975 warsztaty IBB wykonały około 600 zleceń dotyczących wykonawstwa pomiarowej aparatury laboratoryjnej oraz napraw i adaptacji aparatury. Ponadto wdrożona została w całej rozciągłości systematyczna konserwacja dwu grup aparatury, tj. ultrawirówek i sprektrofortometrów polegająca na comiesięcznym wykonywaniu określonych zabiegów konserwacyjnych i przeprowadzaniu odpowiednich testów.
Do roku 1975 konserwacja tych przyrządów była wykonywana fragmentarycznie z uwagi na warunki lokalowe /brak odpowiedniego dostępu - iltrawirówki/ lub brak specjalnych urządzeń do testowania.

W drugiej części działalności, tj. prowadzenia prac doświadczalnych wykonane zostały w całości lub częściowo następujące tematy:

1. zakończenie i przekazanie do eksploatacji układu do pomiarów metodą cyfrową widm fluorescencji,
2. Opracowanie modelu zasilacza lampy HBO 200 ze stabilizacją strumienia świetlnego lampy,
3. Przebadanie modelu zestawu do pomiarów czasów życia fluorescencji metodą jednofotonową, przygotowanie założeń do udoskonalonej wersji zestawu opartego na modułowych blokach funkcjonalnych systemu Camac,
4. Wykonanie w około 50% układu próbnego interface'u spektrofotometr - drukarka,
5. Wykonanie modeli aparatów do elektroforezy na słupkach żelowych oraz aparatu do sączenia, metodą tłoczenia z tworzyw sztucznych.

POLSKA AKADEMIA NAUK

INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI

Publikacje z roku 1975

Kolejne numery stanowią dalszy ciąg numeracji publikacji z roku 1974

1327. P. Szafrański
Molekularne Podstawy Biosyntezy Białka.
Wrocław 1974 Zakład Narodowy im. Ossolińskich, 73 s.

1328. Z. Świetlińska, D. Zaborowska and J. Żuk
Effect of caffeine and cycloheximide on chromosome aberrations induced by ionizing radiation in Vicia faba.
Genetica Polonica 15, 223-230, 1974.

1329. Z. Grzelczak and J. Buchowicz
Purine and pyrimidine bases and nucleosides of germinating Triticum aestivum seeds.
Phytochemistry 14, 329-331, 1975

1330. H. Baranowska, W. Prażmo and A. Putrament
A search for Saccharomyces cerevisiae mutants with an increased sensitivity to nitrous acid.
Acta Microbiol. Polon. Ser. A, 7, 25-32, 1975

1331. J. Rytka
Positive selection of general amino acid permease mutants in Saccharomyces cerevisiae.
J. Bacteriol. 121, 562-570, 1975.

1332. Z. Cieśla, K. Mardarowicz and T. Kłopotowski
Inhibition of DNA synthesis and cell division in Salmonella typhimurium by azide.
Molec. gen. Genet. 135, 339-348, 1974.

1333. J. Wild and T. Kłopotowski
Insensitivity of D-amino acid dehydrogenase synthesis to catabolic repression in dad mutants of Salmonella typhimurium.
Molec. gen. Genet. 136, 63-73, 1975.

1334. L. Zagórska, J. Chroboczek and W. Zagórski
Template acitivity of complexes formed between bacteriophage f2 RNA and coat protein.
J. Virol. 15, 509-514, 1975.

1335. P. Szafrański, W. Zagórski, W. Filipowicz, A. Wodnar-Filipowicz and J. Chroboczek
Regulatory elements in intiation of phage f2 RNA translation.
Acta Biol. Med. Germ. 33, 885-897, 1974.

1336. W. Jachymczyk
Rola kompleksów mRNA z białkiem w regulacji procesu translacji
Post. Biochem. 21, 119-147, 1975.

1337. M. Tomaszewski and J. Buchowicz
Specific template activity of ribonucleoprotein particles isolated from germinating Triticum aestivum embryo.
Phytochemistry 14, 633-636, 1975.

1338. M. Bielińska and M.J. Piechowska
Changes in activity of phosphodiesterase of cyclic adenosine 3', 5'- monophosphate and cyclic guanosine 3',5'- monophosphate during larval development of locust Schistocerca gregaria /Forsk./ /Orthoptera/.
Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 23, 1-5, 1975.

1339. A. Wodnar-Filipowicz, W. Filipowicz and P. Szafrański
Preparation and characteristics of the structure of methoxyamine - modified f2 RNA.
Acta Biochim. Polon. 22, 11-24, 1975.

1340. W. Jankowski, T. Mańkowski and T. Chojnacki
Undecaprenol phosphate, the endogenous acceptor of glucose from UDP glucose in Shigella flexneri.
Acta Biochim. Polon. 22, 67-75, 1975.

1341. J. Ciziewicz and D. Shugar
Preparative enzymic synthesis of neoleoside-5'-phosphates.
Acta Biochim Polon. 22, 87-98, 1975.

1342. M. Piechowska, A. Sołtyk and D. Shugar
Fate of heterologous deoxyribonucleic acid in Bacillus subtilis.
J. Bacteriol. 122, 610-622, 1975.

1343. Z. Proba and K.L. Wierzchowski
Synthesis and properties of some 2-, 4- and 5-aminopyrimidines. Effect of $-NH_2$ and ortho-C methylation on protolytic equilibria and electronic absorption spectra.
Acta Biochim. Polon. 22, 131-142, 1975.

1344. A.K. Drabikowska
Oxidation processes and ubiquinone localization in the branched respiratory system of mi-1 mutant of Neurospora crassa.
Acta Biochim. Polon. 22, 169-178, 1975.

1345. E. Krajewska and D. Shugar
Alkylated cytosine nucleosides: substrate and inhibitor properties in enzymatic deamination.
Acta Biochim. Polon. 22, 185-194, 1975.

1346. P. Szafrański, W. Zagórski, J. Chroboczek i L. Zagórska
Otnošenie belka oboločki k RNK bakteriofaga f2 v transljacionnom repressornom komplekse.
Mol. Biol. 9, 78-85, 1975.

1347. J. Żuk, D. Zaborowska, J. Litwińska, E. Chlebowicz and T. Biliński

Macromolecular synthesis during conjugation in yeast.
Acta Microbiol. Polon. Ser. A 7, 67-75, 1975.

1348. A. Radomińska-Pyrek, Z. Dąbrowiecki, T. Chojnacki and L.A. Horrocks
Biosynthesis of ether lipids in the microsomal fraction of rabbit harderian gland.
XVIII Intern. Conference on the Biochemistry of Lipids , Graz /Austria/ 1975, Absts, 24.

1349. J. Strosznajder, A. Radomińska-Pyrek, J. Łazarewicz and L.A. Horrocks
Synthesis of ether lipids by ethanolamine phosphotransferase /EC.2.7.8.1/ and choline phosphotransferases /EC.2.7.8.2/ from neuronal and glial cell fractions from rabbit brain.
XVIII Intern. Conference on the Biochemistry of Lipids, Graz /Austria/ 1975, Absts, 26.

1350. B. Wielgat, L.D. Wasilewska and K. Kleczkowski
RNA synthesis in germinating maize seeds under hormonal control.
In: "Plant Growth Substances 1973". Proceed. of the 8th Intern. Conference on Plant Growth Substances held in Tokyo, Japan, Aug. 26-Spt. 1, 1973.
Tokyo 1974 Hirokawa Publ. Comp., 593-598.

1351. K.L. Wierzchowski
Działalność Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w ostatnim dziesięcioleciu.
Nauka Polska R. 23, Nr 4, 38-54, 1975.

1352. E. Popowska and C. Janion
The metabolism of N^4 - hydroxycytidine - a mutagen for Salmonella typhimurium.
Nucleic Acids Res. 2, 1143-1152, 1975.

1353. T. Mańkowski, W. Sasak and T. Chojnacki
Hydrogenated polyprenol phosphates - exogenous lipid acceptors of glucose from UDP glucose in rat liver microsomes.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 65, 1292-1297, 1975.

1354. Mirosława Bagdasarian, M. Hryniewicz, N. Zdzienicka and M. Bagdasarian
Integrative suppression of a dnaA mutation in Salmonella typhimurium.
Molec. gen. Genet. 139, 213-231, 1975.

1355. W. Sasak i T. Mańkowski
Glikozylacja prenolofosforanów pochodzenia roślinnego u bakterii i zwierząt.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 19-20.

1356. K. Chlebowicz, W. Jachymczyk, J. Żuk i Z. Świetlińska
Reperacja uszkodzeń DNA u drożdży wywołanych działaniem MMS.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 66.

1357. M. Tomaszewski
Wstępna charakterystyka białek izolowanych z informosomów pszenicy.
XIII Zjazd Polski. Tow. Biochem., Toruń 1975, 72-73.

1358. T. Sawicka i M. Bagdasarian
Temperaturowrażliwe wbudowywanie radioaktywnej galaktozy przez mutanta Salmonella typhimurium.
XIII Zjazd Pols. Tow. Biochem., Toruń 1975, 83-84.

1359. E. Morzycka, D. Sawnor-Korszyńska, A. Paszewski, J. Grabski i K. Raczyńska-Bojanowska
Biosynteza metioniny przez Saccharomycopsis lipolitica.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 91.

1360. M. Bielińska i M.J. Piechowska
Aktywność fosfodwuesterazy cAMP i cGMP w budzonych poczwarkach Celerio euphorbiae L. /Lepidoptera/.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 104-105.

1361. G. Muszyńska
Otrzymywanie i charakterystyka nierozpuszczalnej formy arginazy z wątroby szczura.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 109.

1362. E. Ber i G. Muszyńska
Chemiczne modyfikacje arginazy z wątroby szczura.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 109-110.

1363. T. Gołaszewski, M. Rytel, J. Rogoziński i J.W. Szarkowski
Zmiany aktywności plastydialnej kinazy tymidynowej w czasie wzrostu kiełków żyta.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 133.

1364. G. Palamarczyk i F.W. Hemming
Biosynteza dolicholopirofosfodwu- i trójsacharydów w układzie endoplazmatycznego retikulum z wątroby świni.
XIII Zjazd Polsk. Tow. Biochem., Toruń 1975, 184-185.

1365. J. Buchowicz, T. Brodniewicz and M. Dobrzańska
Activation of RNA polymerases and induction of RNA synthesis in germinating wheat embryo.
X FEBS, Paris 1975, Absts, No. 298.

1366. P. Szafrański, A. Szkopińska, W. Zagórski and L. Zagórska
Recognition of initiation codons in modified f2 RNA by Escherichia coli ribosomes.
X FEBS, Paris 1975, Absts, No. 453.

1367. E. Tarantowicz-Marek, J. Braloszyk and K. Kleczkowski
The RNA synthesis in isolated maize seedlings nuclei. Effect of GA_3 and cAMP.
Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 23, 227-232, 1975.

1368. E. Kolanowska and M.J. Piechowska
The effect of ecdysterone on ^{3}H-uridine incorporation into fat body RNA in caterpillars of Celerio euphorbiae L. /Lepidoptera/.
Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 23, 239-242, 1975.

1369. Z. Lassota, B. Olszańska and E. Grąbczewska
Phenol-induced thermal aggregation of avian rRNA.
Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol. 23, 365-369, 1975.

1370. J. Chroboczek and W. Zagórski
Hexamer of bacteriophage f2 coat protein as a repressor of bacteriophage RNA polymerase synthesis.
J. Virol. 16, 228-236, 1975.

1371. A. Paszewski and J. Grabski
Homolanthionine in fungi: accumulation in the methionine - requiring mutants of Aspergillus nidulans.
Acta Biochim. Polon. 22, 263-268, 1975.

1372. C. Janion and E. Popowska
The reduction of N^4-hydrodycytidine to cytidine by Salmonella typhimurium cells.
III Symp. on the Chemistry of Nucleic Acids Components, Liblice Castle, Czechoslovakia, October 8-12, 1975.
Nucl. Acid Res. Special Publication No. 1, s159-s163, 1975.

1373. D. Hulanicka
Biosynteza metioniny i jej regulacja w komórce bakteryjnej.
Post. Mikrobiol. 14, 7-19, 1975.

1374. J. Barankiewicz and M.M. Jeżewska
Purine phosphoribosyltransferases in the hepatopancreas of Helix pomatia /Gastropoda/.
Comp. Biochem. Physiol. 52B, 239-244, 1975.

1375. I. Pietrzykowska, K. Lewandowska and D. Shugar
Liquid-holding recovery of bromouracil-induced lesions in DNA of Escherichia coli CR-34 and its possible relation to dark-repair mechanisms.
Mutation Res. 30, 21-31, 1975.

1376. J. Smagowicz, K. Berens and K.L. Wierzchowski
A.1.2. Unique properties of the lowest excited singlet state of 4-dialkylaminopyrimidines.
In: "Excited States of Biological Molecules".
Ed. by J.B. Birks.
London 1975 J. Wiley, 24-27.

1377. A. Putrament, H. Baranowska, A. Ejchart and W. Prażmo
Manganese mutagenesis in yeast.
A practical application of manganese for the induction of mitochondrial antibiotic-resistant mutations.
J. Gen. Microbiol. 90, 265-270, 1975.

1378. A. Putrament, H. Baranowska, A. Ejchart and W. Prażmo
Manganese mutagenesis in yeast.
IV. The effects of magnesium, protein synthesis inhibitors and hydroxyurea on Ant^R induction in mitochondrial DNA.
Molec. gen. Genet. 140, 339-347, 1975.

1379. I. Kułakowska, M. Geller, B. Lesyng, K. Bolewska and K.L. Wierzchowski
Barrier to rotation and conformation of the $-NR_2$ group in cytosine and its derivatives. Part II. Experimental and theoretical dipole moments of methylated cytosines.
Biochim. Biophys. Acta 407, 420-429, 1975.

1380. K. Grzelak, M. Szyszko and Z. Lassota
Effect of hormone on acetylcholonesterase activity and RNA synthesis in diapausing Celerio euphorbiae pupae.
Insect Biochem. 5, 409-420, 1975.

1381. D. Zaborowska, T. Biliński, Z. Świetlińska and J. Żuk
Ultrastructural changes in zygote formation and autoradiographic study of DNA replication during conjugation in Saccharomyces cerevisiae.
Acta Microbiol. Polon. Ser. B, 161-167, 1975

1382. T. Gołaszewski, M. Rytel, J. Rogoziński and J.W. Szarkowski
Thymidine kinase activity in rye chloroplasts.
FEBS Letters 58, 370-373, 1975.

1383. A. Bierzyński and K.L. Wierzchowski
Fluorescence method of investigation of stacking fenomena.
V Intern. Biophysics Congress, Copenhagen 1975, Abstr. 604.

1384. A. Paszewski
Biosynteza aminokwasów siarkowych i jej regulacja u grzybów.
Post. Mikrobiol. 14, 21-36, 1975.

1385. T. Mojica-A
Transduction by phage P1CM clr-100 in Salmonella typhimurium.
Molec. gen. Genet. 138, 113-126, 1975.

1386. I. Pietrzykowska and D. Shugar
Repair replication in Escherichia coli [illegible]-34 cells inactivated by 5-bromouracil incorporation.

Lunteren Lectures on Molecular Genetics 1975, Symp. on "The Cell Cycle in Bacteria".
Book of Abstracts, Sec. II, 1, Lunteren 1975.

1387. Z. Cieśla, M. Filutowicz, M. Szwacka and T. Kłopotowski
Interference of azide with chromosome replication in gram-negative bacteria.
Lunteren Lectures on Molecular Genetics 1975, Symp. on "The Cycle in Bacteria".
Book of Abstracts, Sec. II, 3, Lunteren 1975.

1388. M. Hryniewicz, Mirosława Bagdasarian, M. Zdzienicka and M. Bagdasarian
Suppression of a dnaA mutant in Salmonella typhimurium.
Lunteren Lectures on Molecular Genetics 1975, Symp. on "The Cell Cycle in Bacteria".
Book of Abstracts, Sec. III, 1, Lunteren 1975.

1389. H. Rybicka and L.S. Jankiewicz
Purine compounds in root exudate from apple trees.
Biochem. Physiol. Pflanzen 168, 327-332, 1975.

1390. J. Jankowski, B. Wielgat and K. Kleczkowski
Effect of GA_3 on rRNA synthesis in maize seed scutellum.
XII Intern. Botanical Congress, Leningrad 1975, 294.

1391. T. Biliński, J. Litwińska, J. Żuk and W. Gajewski
Synchronous zygote formation in yeasts.
In: "Methods in Cell Biology". Vol. 11.
Ed. by David M. Prescott.
New York 1975 Academic Press, 89-96.

1392. W. Prażmo, E. Balbin, M. Baranowska, A. Bjchart and A. Putrament
Manganese Mutagenesis in yeast.
II. Conditions of induction and characteristics of mitochondrial respiratory deficient Saccharomyces cerevisiae mutants induced with manganese and cobalt.
Genetical Res. /w druku/

1393. L. Wilińska and M.J. Piechowska
Metabolism of free tyrosine in haemolymph and fat body of caterpillar of Celerio euphorbiae L. /Lepidoptera/.
Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Biol. /w druku/

1394. M. Bielińska
Hydrolysis of cyclic guanosine 3-5'-monophosphate in tissues of Schistocerca gregaria /Forsk./ /Orthoptera/.
Life Sci. /w druku/

1395. M. Bielińska and M.J. Piechowska
Metabolism of exogenous cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in tissues of Schistocerca gregaria.
Insect Biochem. /w druku/

1396. T. Chojnacki, W. Jankowski, T. Mańkowski and W. Sasak
Preparative separation of naturally occuring mixtures of polyprenols on hydroksyalkoksypropyl Sephadex.
Anal. Biochem. /w druku/

1397. K. Krajewska and D. Shugar
Pyrimidine nucleoside analogues as inducers of pyrimidine nucleoside catabolizing enzymes in Salmonella typhimurium.
Mol. Biol. Reports /w druku/

1398. J. Żuk, D. Zaborowska and Z. Swietlińska
Effect of caffeine on recovery from deb-induced cell inactivation in UV-sensitive mutants of Saccharomyces cerevisiae.
Mutation Res. /w druku/

1399. A. Sołtyk, D. Shugar and M. Piechowska
Heterologous DNA uptake and complexing with cellular constituents in competent Bacillus subtilis.
J. Bacteriol. /w druku/

1400. P. Cegłowski, P.G. Fuchs and A. Sołtyk
Competitive inhibition of transformation in group H Streptococcus strain Challis by heterologous deoxyribonucleic acid.
J. Bacteriol. /w druku/

1401. J. Barankiewicz and J. Jeżewska
Inosine-guanosine and adenosine phosphorylase activities in hepatopancreas of Helix pomatia /Gastropoda/.
Comp. Biochem. Physiol. /w druku/ 51 B, 239-242 (1976)

1402. J. Barankiewicz and M.M. Jeżewska
Purine salvage in mammary glands of mice.
FEBS Letters /w druku/ 60, 384 - 387 (1975)

1403. G. Muszyńska
Immubilization of rat liver arginase.
In: "Protides of the Biological Fluids."
XXIII Colloguium. /w druku/

1404. E. Plesiewicz, E. Stępień, K. Bolewska and K.L. Wierzchowski
Osmometric studies on self-association of pyrimidines in aqueous solutions: evidence for involvement of hydrophobic interactions.
Biophys. Chem. /w druku/

1405. J. Jankowski, B. Wielgat and K. Kleczkowski
Gibberellin-affected methylation and synthesis of ribosomal RNA isolated maize seed scutellum.
Plant Sci. Lett. /w druku/

1406. E. Tarantowicz-Marek and K. Kleczkowski
Effect of cAMP on pattern of RNA synthesis in protoplasts isolated from gibberellin sensitive maize seedlings.
Plant Sci. Lett. /w druku/

1407. D.H. Davies and A. Habozenko
Assignment and conformational properties of the exocyclic 5'-CH_2OH group of nucleoside by -NMR spectroscopy.
J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, /w druku/

1408. A. Paszewski and J. Grabski
Enzymis lesions in methionine mutants of Aspergillus nidulans: role and regulation of an alternative pathway for cysteine and methionine synthesis.
J. Bacteriol. /w druku/

Tytuły rozpraw habilitacyjnych

1409. B. Czochralska
Investigations on the mechanism of electroreduction of nucleic acid derivatives. Presented on October 21th, 1975.

1410. M. Fikus

Physical, chemical and biological properties of some analogues of purine mono- and polynucleotides. Presented on October 21th, 1975.

Tytuły prac doktorskich

1411. T. Kurył

Protein biosynthesis in a cell-free system from mammary gland, 62 pp. Presented on June 10th, 1975.

1412. M. Przygońska-Ombach

Deffect of cell division in Salmonella typhimurium mutant divA1, 74 pp. Presented on June 10th, 1975.

1413. S. Perzyński

Interaction of mRNA with Escherichia coli ribosomes, 94 pp. Presented on July 9th, 1975.

1414. M. Dobrzańska-Wiernikowska

Early transcription products in germinating wheat seed, 62 pp. Presented on October 21th, 1975.

1415. M. Hryniewicz

Suppression of the initiation mutation dnaA by integrating plasmids in Salmonella typhimurium, 91 pp. Presented on October 21th, 1975.

Prace pracowników Instytutu wykonane w innych laboratoriach krajowych i zagranicznych

68/75. E. De Clercq and D. Shugar

Antiviral activity of 5-ethyl pyrimidine deoxynucleosides.

Biochem. Pharmacol. 24, 1073-1078, 1975.

69/75. G. Palamarczyk and F.W. Hemming

The formation of mono-N-acetylhexosamine derivatives of dolichol diphosphate by pig liver microsomal fractions.

Biochem. J. 148, 245-251, 1975.

70/75. B. Ely and Z. Cieśla

Internal promotor P2 of the histidine operon of Salmonella typhimurium.

J. Bacteriol. 120, 984-986, 1975.

71/75. Z. Cieśla, F. Salvatore, J.R. Broach, S.W. Artz and B.N. Ames

Histidine regulation in Salmonella typhimurium. XVI. A sensitive radiochemical assay for histidinol dehydrogenase.

Anal. Biochem. 63, 44-55, 1975.

72/75. B. Dujon, A. Kruszewska, P.P. Słonimski, M. Bolotin-Fukuhara, D. Coen, J. Deutsch, P. Netter and L. Weill

Mitochondrial genetics X: Effect of UV irradiation on transmission and recombination

of mitochondrial genes in Saccharomyces cerevisiae.
Molec. gen. Genet. 137, 29-72, 1975.

73/75. K.L. Wierzchowski, K. Berens and A.G. Szabo
Triplet-triplet absorption studies of the intersystem crossing mechanism of 2-amino-purines.
J. Luminescence 10, 331-343, 1975.

74/75. K. Jankowski and A. Rabczenko
Application of an optically active nuclear magnetic resonanse shift reagent to configurational problems.
J. Org. Chem. 40, 960-961, 1975.

75/75. E. Darżynkiewicz, M. Remin, A. Dworak and D. Shugar
Conformation in alkaline medium of arabinosyl nucleosides with an intramolecular hydrogen bond between the pentose 5'-O and 2'-O.
Cancer Biochem. Biophys. 1, 85-88, 1975.

76/75. M. Zan-Kowalczewska and J.S. Roth
On the similarity between ribonuclease inhibitor and β-estradiol receptor protein.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 65, 833-837, 1975.

77/75. N.M. Kredich, L.J. Foote and M.D. Hulanicka
Studies on the mechanism of inhibition of Salmonella typhimurium by 1,2,4-triazole.
J. Biol. Chem. 250, 7324-7331, 1975.

78/75. P. Trigalo, W. Jachymczyk, J.C. Young and L. Szabó
Phosphorylated sugars. Part XV. Syntheses of 3-deoxy-D-erythro- and 3-deoxy-D-threo-hexulosonic acid 6- /dihydrogen phosphates/.
J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 593-598, 1975.

79/75. S.R. Panny, A. Heil, B. Mazuś, P. Palm, W. Zillig, S.Z. Mindlin, T.S. Ilyina and R.B. Khesin
A temperature sensitive mutation of the -subunit of DNA-dependent RNA polymerase from Escherichia coli T 16.
FEBS Letters 48, 241-245, 1974.

80/75. J. Giziewicz, E. De Clercq, M. Luczak and D. Shugar
Antiviral and antimetabolic activities of formycin and its N_1-, N_2-, 2'-O- and 3'-O-methylated derivatives.
Biochem. Pharmac. 24, 1813-1817, 1975.

81/75. M. Jarząbek-Chorzelska, Z. Zarębska, H. Wolska and G. Rzęsa
Immunological phenomena induced by UV-rays.
Acta Dermatovener 55 /w druku/

82/75. T. Kulikowski and F.W. Lichtenthaler
Synthesis of 1-/2,6-dideoxy-D-arabino-hexopyranosyl/ cytosine, the nucleoside moiety of oxyamicetin.
J. Org. Chem. /w druku/

...roe kv. 2 nasze [illegible] 2,5%
...zegr.

Janion	Żuk	Putr.	Bagd.	Buch.	Pich.	Dr.	Lass.
+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+		+	+		+
	+	+			+		
	+	+			+		
	+	+					
	+						