

Wydawnictwo

POLSKA AKADEMIA NAUK
INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI

S P R A W O Z D A N I E
Z DZIAŁALNOŚCI INSTYTUTU W 1991 r.

POLSKA AKADEMIA NAUK
INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI

SPRAWOZDANIE
Z DZIAŁALNOŚCI INSTYTUTU W 1991 r.

SPIS TRESCI

1. Część ogólna	2
2. Działalność jednostek administracyjnych Instytutu	5
3. Biblioteka	11
4. Kształcenie kadr, dydaktyka	13
5. Sekretariat Naukowy	15
6. Ogólnoinstytutowe seminaria naukowe	16
7. Nagrody	18
8. Najważniejsze osiągnięcia badawcze	19
9. Wyniki badań poszczególnych zespołów	23
10. Prace i izotopów	55
11. Współpraca z krajowymi placówkami naukowymi	56
12. Współpraca naukowa z zagranicą	56
13. Udział w międzynarodowych imprezach naukowych	62
14. Udział w krajowych imprezach naukowych, szkolenia	63
15. Wymiana osobowa, imprezy naukowe i szkoleniowe	64
16. Pracownia ultrawiówek	65
17. Pożywkarnia, Warsztaty	66
18. Lista publikacji	67

C Z Ę S C O G Ó L N A

1. Instytut Biochemii i Biofizyki PAN mieści się na terenie gmachu Ministerstwa Przemysłu Spożywczego w Warszawie przy ul. Rakowieckiej 36.
2. Władze Instytutu
 Dyrektor Naczelny - prof. dr hab. Włodzimierz Zagórski-Ostoja
 Z-ca Dyrektora d/s Naukowych - doc. dr hab. Grażyna Muszyńska
 Z-ca Dyrektora d/s Ogólnych - doc. dr hab. Bernard Wielgat
 Z-ca Dyrektora d/s Ekonomiczno-Administracyjnych - mgr inż. Ignacy Kosior
 Główny Księgowy - Lucyna Andruszczenko
3. Rada Naukowa
 Przewodniczący - prof. dr hab. Wacław Gajewski
 Wiceprzewodniczący - prof. dr hab. Zofia Lassota
 Wiceprzewodniczący - prof. dr hab. Jan W. Szarkowski
 Sekretarz - prof. dr hab. Irena Pietrzykowska

Komisje powołane przy Radzie Naukowej:

Komisja d/s przewodów doktorskich

- prof. dr hab. Jan Szarkowski - przewodniczący
 prof. dr hab. Jerzy Buchowicz
 prof. dr hab. Magdalena Fikus
 prof. dr hab. Maria D. Hulanicka
 prof. dr hab. Witold Jachymczyk
 prof. dr hab. Maria M. Jeżewska

Komisja ds. Studium Doktoranckiego

prof. dr hab. Witold Jachymczyk - przewodniczący

prof. dr hab. Jerzy Buchowicz

prof. dr hab. Zygmunt Cieśla

prof. dr hab. Magdalena Fikus

mgr Marek Skoczniński

prof. dr hab. Kazimierz L. Wierzbowski

Komisja Kwalifikacyjna Stypendialna

prof. dr hab. Maria H. Jędruska

prof. dr hab. Witold Jachymczyk

prof. dr hab. Joanna Rytko

doc. dr hab. Grażyna Muszyńska

dr Wiesław J. Smagowicz

prof. dr hab. Kazimierz Toczko

Komisja ds. nagród i odznaczeń

prof. dr hab. Maria D. Hulanicka

doc. dr hab. Andrzej Bierzynski

prof. dr hab. Maria M. Jezewska

prof. dr hab. Joanna Rytko

Prezydium Rady Naukowej IBB PAN

Prezydium Rady składa się z zespołu Rady (p. 3) oraz z Kierowników poszczególnych Komisji. W roku sprawozdawczym Rada Naukowa zebrała się 3-krotnie, nadała stopień naukowy doktora 3 osobom, doktora habilitowanego - 1 osobie, zakończyła i postępowanie o nadanie tytułu naukowego profesora.

4. Zaangażowanie

wg stanu na dzień 20.11.1991r.

Pełnozatrudnieni

w tym:

samodzielni pracownicy naukowo-badawczy - 27 osób

pomocniczy pracownicy naukowo-badawczy - 63 osoby

- 180 osób

pracownicy inżyniero-techniczni - 43 osoby
pracownicy obsługi - 11 osób
biblioteka - 2 osoby
warsztaty - 7 osób
administracja - 27 osób

Niepełnozatrudnieni - 19 osób

Razem: - 199 osób

na stypendiach zagranicznych przebywa - 13 osób
na urlopach wychowawczych - 3 osoby
na urlopach bezpłatnych - 5 osób

Razem: 21 osób

W 1991 roku przyjęto 26 osób

w tym:

- powroty z zagranicy - 1 osoba
- z urlopów wychowawczych - 3 osoby
- po przejściu na emeryturę - 3 osoby

Odeszło 29 osób

w tym:

- stypendia zagraniczne - 3 osoby
- emerytury i renty - 6 osób
- urlopy wychowawcze - 1 osoba
- urlopy bezpłatne - 1 osoba

5. Majątek Instytutu

Przewiduje się, że stan majątku Instytutu na dzień 31.XII.1991r. będzie wynosił (w mln. zł):

1. Budynki i budowle 1.204

2. Środki trwałe 20.000

3. Przedmioty nietrwale	650
4. Księgozbiory	400
5. Materiały	300

Razem: 22.554

5. Finanse

Przewiduje się następujące wykonanie kosztów na dzień 31.XII.1991r.:

1. Amortyzacja	960
2. Osobowy fundusz płac	5.726
3. Nieosobowy fundusz płac	8
4. Fundusz honorariów	2
5. Składki ZUS	2.400
6. Podatek od funduszu płac	1.148
7. Podróże służbowe	360
8. Usługi materialne	1.430
9. Usługi niematerialne	1.757
10. Materiały i przedmioty nietrwale	4.000
11. Aparatura specjalna	2.046
12. Odpis na zakładowy fundusz socjalny	65
13. Odpis na zakładowy fundusz mieszkaniowy	31
14. Odpis na zakładowy fundusz nagród	472

Razem: 20.405

DZIAŁALNOŚĆ JEDNOSTEK ADMINISTRACYJNYCH INSTYTUTU

1. Nowa siedziba IBB PAN

Rok 1991 był rokiem przełomowym w budowie nowej siedziby Instytutu. Dzięki poparciu władz PAN, a przede wszystkim dzięki niezmiennie istotnemu, terminowemu dopływowi środków na budowę, zapewnionemu w sposób optymalny przez Komitet Badań Naukowych, wykonano głównie prace przy budowie pawilonu A o pow. 3600 m² i rozpoczęto budowę pawilonów B i C o łącznej pow. ok. 5000 m². Zakończenie budowy pawilonu A przewidywano na grudzień 1991 r. Ze względu na dodatkową kondygnację powstało szereg problemów

technicznych, których rozwiązanie spowodowało niewielkie opóźnienie. W budynku A wykonane są wszystkie wewnętrzne instalacje i trwają prace wykończeniowe tj. malowanie i układanie podłóg. Ukończenie montażu urządzeń chłodniczych, termostatowych, dygestoriów i stołów laboratoryjnych nastąpi do marca-kwietnia 1992 r.

W okresie kwietnia-maja 1992 r. nastąpi wprowadzenie części pracowników Instytutu do nowego gmachu.

W końcu kwietnia 1991 r. zostały wykonane przez Biuro Projektów Założenia Techniczno-Ekonomiczne (ZTE) docelowej zabudowy IBB. W maju przystąpiono do wykonania Projektu Technicznego (PT) budynków B i C oraz łącznika E /połączenie pawilonu A z B i C/, budynku fititronu (F) z małą szklarnią doświadczalną (G). W budynku F przeznaczono jedną kondygnację na 10 pokoi gościnnych. W lipcu od władz miejskich uzyskano pozwolenie na budowę, a w sierpniu przystąpiono do budowy pawilonów B i C. Wykonano tzw. stan "0" tj. piwnice budynków. Prace budowlane są kontynuowane a ich postęp w okresie zimowym uzależniony będzie od warunków atmosferycznych. Przy zapewnieniu płynnego finansowania w 1992 r. możliwe będzie ukończenie budowy w grudniu lub w I-szym kwartale 1993 r., a ukończenie całości prac, łącznie z budynkiem F, G, magazynem odczynników oraz położeniem dróg i uporządkowaniem terenu, przewiduje się do końca 1993 r. Budowę ostatniego pawilonu D przewiduje się w okresie późniejszym.

W 1991 r. otrzymano z KBN 26 mld zł. Dla zabezpieczenia ciągłości prac w I-ym kwartale 1992 r. pozostało ok. 5 mld zł. Zgromadzone materiały pozwolą na ukończenie pawilonu A i prowadzenie budowy budynków B i C do końca I-go kwartału 1992 r.

W obecnej sytuacji Instytutu najpoważniejszym problemem jest skrócenie okresu między zasiedleniem pawilonu A a wprowadzeniem pozostałej części pracowników IBB do budynku B i C. Przewidzenie tego okresu będzie niezmiernie kosztowne, spowoduje duże zakłócenia w organizacji działalności placówki, co wpłynie niekorzystnie na wyniki działalności naukowej Instytutu oraz rozwijającą się współpracę z Uniwersytetem Warszawskim i placówkami zagranicznymi, a zwłaszcza na organizowanie Instytutu polsko-francuskiego. Działania Dyrekcji, Rady Naukowej i władz PAN będą zmierzały do zapewnienia płynnego

finansowania budowy, co w efekcie może skrócić okres podziału organizacyjnego naszego Instytutu do ok. 6-10 miesięcy.

2. Konserwacje, remonty, prace różne

- wykonanie 6 szt. nowych skrzyń na suchy lód
- naprawy komputerów i drukarek
- wymiana pionów rur od wody zimnej i ciepłej
- wykonanie instalacji elektrycznej i montaż podgrzewacza wody "Atmor" w zmywalni Z-du Genetyki
- naprawy i kalibracja urządzeń dozymetrycznych
- remonty i bieżące naprawy agregatów w komorach chłodniczych
- remont pomieszczeń laboratoryjnych w Z-dzie Biochemii Roślin pok. 246 i w Z-dzie Biosyntezy Białka pok. 156 polegający na malowaniu, wykonaniu nowych szafek i zabudów regałów ściennych
- malowanie pomieszczeń administracyjnych i holu IIP.
- remont po pożarze zmywalni na parterze w Z-dzie Biologii Molekularnej i Biofizyki
- wykonanie krat okiennych w Warsztatach Elektrycznych pok. 45
- zabezpieczenie przeciwwłamaniowe drzwi pomieszczeń wyposażonych w cenną aparaturę naukową i komputerową
- uzupełnienie brakujących szyb na terenie n/Instytutu
- mycie szyb okiennych w pomieszczeniach Instytutu
- wykonanie okresowych dezynsekcji
- czyszczenie odstożników i wymiana kamieni neutralizujących ścieki
- dwukrotne badanie poziomu stężenia ścieków w odstożnikach
- wykonanie obowiązujących pomiarów poziomów i zerowania instalacji elektrycznej w pomieszczeniach IBB zgodnie z zaleceniami Inspektora p. poż
- bieżące naprawy i konserwacja urządzeń i sprzętu technicznego, laboratoryjnego znajdującego się w pracowniach IBB
- bieżące naprawy i usługi doradne w zakresie prac instalacyjnych, hydraulicznych, elektrycznych np. wymiany świetlówek, żarówek, żądów drutowych i okiennych, itp.
- prace porządkowe polegające na wywozie makulatury i złomu
- utrzymanie w ciągłej sprawności samochodu służbowego

- wykonanie zabudów szafami ściennymi i wnękowymi w pomieszczeniach administracyjnych
- adaptacja pomieszczenia laboratoryjnego na IIP na Sekretariat Naukowy
- ciągła ewidencja środków trwałych i przedmiotów nietrwałych jako majątku IBB, polegająca na prowadzeniu ksiąg inwentarzowych, nadawaniu numerów, likwidacjach i zmianach miejsc użytkowania
- montaż filtrów do oczyszczania wody w poszczególnych zakładach
- wymiana zlewów z winiduru na nowe w pok. 156 i pok. 147 Czmywalnia IIP.) oraz spowodowanie i dozór wykonania
- czyszczenie i konserwacja mikroskopów
- modernizacja układu elektronicznego i naprawa klimatyzatora w komorze hodowli roślin Z-du Biochemii Roślin
- wykonanie tablic i stojaków oraz obsługa techniczna Sympozjum Instytutowego
- uruchomienie nowych chłodziń na terenie nowej siedziby n/Instytutu

3. Zaopatrzenie

Dokonano następujących zakupów:

- spektrofotometr AVIV 62 SD
- syntetyzator DNA
- aparat do sekwencjonowania z wyposażeniem
- zasilacz Multidrive XL
- suszarka do żeli
- kolektor frakcji z wyposażeniem
- wyrząsarka z wyposażeniem
- spektrofotometr Cary-3
- densytometr laserowy Ultrascan XL
- kontroler do monitora UV
- rejestrator REC-102
- kolektor frakcji FRAC-200 z wyposażeniem
- zasilacz XL
- fitotron
- kontroler do chromatografii ciśnieniowej
- spektrofotometr UVIKON 860

- aparat do elektroforezy
- kolektor frakcji z wyposażeniem 2 szt.
- aparat do elektroforezy
- aparat BIO-DOT
- spektrofotometr ULTRA SPEC PLUS
- licznik scyntylacyjny
- wytrząsarka
- kolektor frakcji z wyposażeniem
- konduktometr z wyposażeniem
- pompa perystaltyczna
- monitor UV Uvicord
- rejestrator REC-102
- spektrofotometr ULTRA-SPEC-PLUS
- rejestrator REC-102
- szafa chłodnicza z wyposażeniem
- pH-metr z wyposażeniem
- zasilacz XL
- filtron
- komora laminarna
- zestaw do chromatografii wysokociśnieniowej
- system analityki pomiarowej
- automatyczny dozownik do próbek
- kolektor frakcji z wyposażeniem
- aparat do oczyszczania wody
- liofilizator MODULA 4K
- łaźnia wodna z chłodzeniem
- wirówka BECKMAN
- spektrofotometr NMR Gemini 200
- aparatura pomiarowa
- kamera CCD typ: MTV 1801CD
- monitor TUM M-6-II
- aparat do elektroforezy pionowej
- tokarka TSB-20
- aparat do elektroforezy GNA-100
- aparat do sekwencjonowania z wyposażeniem

- aparat do sekwencjonowania
 - suszarka do żeli
 - kuchnia mikrofalowa 2 szt.
 - miernik pH
 - podświetlacz UV/220V z wentylatorem
 - mieszadło 115V z transformatorem
 - sprzęt komputerowy /stacja komputerowa, zestawy komputerowe, komputery, drukarki, streamery, dyski twarde i inne wyposażenie/
 - drobny sprzęt - import
- Ogółem na sprzęt i aparaturę wydatkowano 9.535.067.863 zł
- odczynniki zakupione za granicą - wydatkowano ok. 500.000.000 zł zrealizowano w 97,5%
 - izotopy zakupione za granicą - wydatkowano ok. 160.000.000 zł zrealizowano w 93,75 %
 - odczynniki krajowe wg zamówień zrealizowano w 34,8%
 - Instytut otrzymał jako dar z Fundacji Aleksandra Humbolda komputer "IRYS" wraz z wyposażeniem o wartości 346.257.600 zł
- W związku z przekwalifikowaniem wcześniej zakupionej Aparatury Specjalnej Instytut uzyskał następujące środki trwałe na ogólną sumę 978.172.725 zł
- zestaw do chromatografii wysokociśnieniowej
 - komputer PC/AT 286/12
 - drukarka EPSON LQ 1050
 - kolektor frakcji z wyposażeniem
 - aparat do elektroforezy GNA 100
 - aparat do elektroforezy UNIT
 - ultrawirówka CENTRICON-2080
 - wytrząsarka
 - homogenizator
 - wirówka HP
 - zestaw komputerowy
 - zestaw komputerowy VARIAN
 - spektrofotometr CARY-3
 - zasilacz XL MULTIDRIVE
 - system komputerowy

- spektrofotometr ULTRA PLUS
- wyrzaskarka z wyposażeniem
- spektrofotometr
- komputer PC/AT
- drukarka STAR LC 15

B I B L I O T E K A

1. Księgozbiór Biblioteki

a) wydawnictwa zwarte!

stan na 31.XII.1990 - 7.663 vol.
 przybyło w 1991 - 96 vol.
 stan na 30.XI.1991r. - 7.761

b) wydawnictwa ciągłe: p r e n u m e r a t a

czasopisma zagraniczne - 82 tyt.
 czasopisma polskie - 48 tyt. / w tym
 przekazywanych do Z-dów 21
 Razem - 130 tyt.

Z prenumerowanych 82 tyt. czasopism zagranicznych w roku bieżącym do zbiorów Biblioteki nie wpłynęły 4 tyt.

c) wymiana ORWN PAN

czasopisma zagraniczne - 18 tyt.

d) wymiana bezpośrednia /własna/

Biblioteka prowadzi wymianę bezpośrednią z 46 kontrahentami zagranicznymi i 3 polskimi w zamian wysyłamy 74 egz. czasopism polskich /7 tyt./.

W wyniku tej wymiany otrzymujemy!

czasopism zagranicznych - 30 tyt.
 czasopism polskich - 3 tyt.
 Razem - 33 tyt.

Wydary

czasopisma zagraniczne - 6 tyt.

Łącznie w zbiorach Biblioteki znajduje się 187 tyt. czasopism na bieżąco.

2. Czytelnicy

Ogółem w roku sprawozdawczym /do 20.XI.1991 r./ odwiedziło Bibliotekę 8.105 czytelników.

3. Udostępnianie zbiorów /do 20.XI./

a) wypożyczenia na zewnątrz

książki - 481 vol.
 czasopisma - 4.834 egz.
 zbiory specjalne - 7 vol.

b) wykorzystano na miejscu!

książki - 933 vol.
 czasopisma - 4.624 egz.
 zbiory specjalne - 7 vol.

c) wypożyczenia międzybiblioteczne

- do innych bibliotek

książki - 52 vol.
 czasopisma - 574 egz.

- z innych bibliotek

książki - 43 vol.
 czasopisma - 142 egz.

4. Gromadzenie wydawnictw, informacja oraz inne prace biblioteczne

- gromadzenie wydawnictw zwartych i ciągłych /prenumerata, zakup, wymiana/
- opracowywanie wpływających wydawnictw
- udzielenie informacji bibliograficznych i bibliotecznych
- prowadzenie wymiany własnej i poprzez ORWN PAN
- prowadzenie wypożyczeń międzybibliotecznych
- wysyłanie odbitek w odpowiedzi na indywidualne prośby pracowników Instytutu oraz prośby ze spisu publikacji
- współpraca z Komisją Biblioteczną w zakresie gromadzenia zbiorów /MTK, zamówienia fiskalne, bieżące zakupy/ i w zakresie zbiorów /klasyfikacja książek do katalogu rzeczowego/
- opracowywanie spisu publikacji z rok 1990 i wysyła wg. rozdzielnika
- współpraca z Ośrodkiem Informacji Naukowej PAN w Rembertowie

- udostępnianie czasopism w celach reprodukcyjnych

- opracowywanie kart katalogowych wydawnictw ciągłych i zwartych do Katalogu Centralnego Biblioteki Narodowej oraz wydawnictw dla Biblioteki PAN

5. Zatrudnienie

Biblioteka zatrudnia 2 osoby na pełnym etacie i 1 na pół etatu.

KSZTAŁCENIE KADR, DYDAKTYKA

Studium doktoranckie

W 1991 roku w Studium Doktorskim uczestniczyło 9 osób! w trakcie roku dwie osoby zrezygnowały ze studiów, a dwie zakończyły pobieranie stypendium. W ciągu roku na Studium były dwie osoby - 4 rok, dwie osoby - 2 rok i trzy osoby - 1 rok. Wszyscy studenci złożyli roczne sprawozdania, potwierdzone przez opiekunów (promotorów) prac. We wrześniu b.r. PAN zawiadomiła o zaprzestaniu finansowania zewnętrznego Studium, zamykając nabór nowych studentów.

W ciągu roku wszyscy studenci ukończyli kurs obsługi komputerów typu PC, a także mieli możliwość uczęszczania na wykłady monograficzne prowadzone na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego.

Praktyki i staże naukowe w IBB PAN

Dydaktyka

Wykłady poza IBB PAN prowadzili:

1. Prof. K.L. Wierzbowski poprowadził wykład pt. "Daleko-zasięgowy transfer elektronu w białkach i peptydach", Oddział PAN we Wrocławiu.
2. Dr W.J. Smagowicz poprowadził wykład monograficzny pt. "Molekularne mechanizmy transkrypcji" dla studentów studiów biologicznych UW (Spec. genetyka).
3. Doc. T. Kulikowski prowadził wykłady w Zakładzie Biofizyki UW nt. "Biochemia kwasów nukleinowych" - 10 godzin.
4. Mgr Piotr Pawłowski, opiekun ćwiczeń dla studentów IV roku UW,

specjalizacja fizjologia roślin. Cwiczenie! Efekty elektrobiologiczne, elektrodestrukcja komórek.

5. Prof. dr Magdalena Fikus. Opieka nad pracą magisterską studentki IFD, Zakładu Fizyki Medycznej, Ireny Szutowicz, praca: "Reologia błony komórkowej N. crassa w warunkach niszczących".

6. Prof. dr Magdalena Fikus. Wykład "Inżynieria genetyczna" 30 godzin, seminarium studenckie - 30 godzin. Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UMCS, IV rok specjalizacji "Biotechnologia"

7. Prof. dr Magdalena Fikus. Wykład "Inżynieria genetyczna w naukach medycznych" - 4 godziny, II rok Akademii Medycznej, Warszawa, w cyklu wykładów z biochemii.

8. Prof. dr Magdalena Fikus. Wykład "Podstawy współczesnej biotechnologii" 20 godzin. Wyższa Szkoła Pedagogiczna i Rolnicza w Siedlcach, Poddyplomowe Studium Pedagogiczne.

9. Prof. D. Shugar prowadził wykłady w Zakładzie Biofizyki UW nt. Genetyka molekularna" - 30 godzin i seminarium z biofizyki - 15 godzin.

Konsultacje i ekspertyzy

1. Prof. M. Fikus jest konsultantem w Instytucie Elektrotechniki (Warszawa) w zakresie efektów pól elektrycznych na żywe komórki.

2. Prof. L. D. Wasilewska opracowała recenzję dwóch raportów CPBP 04.12.1.4 oraz CPBP 04.12.1.5, recenzję 1 rozprawy doktorskiej, 1 artykułu przeglądowego i 3 prac eksperymentalnych.

3. Doc. G. Muszyńska opracowała recenzję pracy habilitacyjnej (pracownika Zakładu Biochemii SGGW-AR) nt. "Izoenzymy syntazy glutaminowej z sievek pszenżyta (na przykładzie odmiany Malno)".

4. Prof. M. Jeżewska wykonała ekspertyzę dot. oznaczenia aktywności fosforybozylotransferaz adeninowej i hipoksantyno-guaninowej w hemolizacie krwinek czerwonych pacjentów podejrzanych o Zespół Lesch-Nyhana dla Centrum Zdrowia Dziecka.

5. Prof. M. Jeżewska opracowała dla KBNu recenzję dwóch grantów dotyczących przemiany purynowej.

6. Dr T. Sawicka wykonała ekspertyzę dot. oznaczania aktywności β -galaktozydazy w liściach rzepaku dla Zdu Fizjologii Roślin UW.

7. Dr T. Sawicka opracowała recenzję projektu grantu dla KBNu.

8. Prof. C. Janion opracowała recenzję projektu badawczego dla KBNu.

SEKRETARIAT NAUKOWY

W I-szym kwartale 1991 r. Sekretariat Naukowy opracował sprawozdanie za okres 1986-90 z realizacji CPBR 3.13 (część merytoryczną opracował Kierownik Programu Prof. dr K.L. Wierzbowski). Następnie 29.03. zorganizował posiedzenie na którym oceniano i przyjęło w/w program. Sporządzono również sprawozdanie instytutowe dla Rady Naukowej i PAN, oraz szereg innych zestawień tabelarycznych i finansowych dla Komitetu Badań Naukowych z zakresu realizowanego Programu. Do końca stycznia br. Sekretariat zakończył akcję przygotowywania i opracowywania 20 projektów badawczych (grantów), które w dniu 2.02. br. złożono w KBN oraz korektę planu o działalność statutową na 1991 r.. W kwietniu br. opracowano wnioski o finansowanie współpracy naukowej z zagranicą w ramach umów międzyrządowych, wnioski o finansowanie działalności ogólnotechnicznej na 1991 r. - wielokrotnie korygowane w związku z ujawnieniem się nowych możliwości finansowych.

Ponadto opracowano i złożono w KBN bezpośrednio bądź za pośrednictwem Akademii wnioski o współpracę z zagranicą i wnioski o DOT, wnioski o działalność statutową IBB PAN, o inwestycje aparaturowe i inwestycje budowlane na 1992 r., dodatkowe wnioski o projekty badawcze. Zorganizowano 2 sympozja naukowe i 1 ogólnopolskie w Jachrance z udziałem ok. 35 osób i 1 instytutowe z udziałem 140 uczestników. Współpracowano przy przygotowaniu wydawnictwa z materiałów sympozjalnych IBB PAN. Obsługa Rady Naukowej oraz przygotowywanie sprawozdania IBB dla Rady Naukowej. Dopilnowywanie spraw finansowania Instytutu w KBN. Sprawowanie pieczy nad regularnością spływu zaliczek na działalność statutową i innych spraw finansowych w IBB PAN. Prowadzenie umów o prace zlecane i honoraria w IBB PAN oraz zawieranie umów i porozumień z innymi placówkami o prace naukowe i inne, czuwanie nad merytoryczną prawidłowością treści umów. Sprawowanie opieki i inżynierskiej sekretarek zakładowych w zakresie ich zakresów obowiązków.

Przygotowywanie materiałów i opracowań dla Kontrolera NIKu w

zakresie CPBR 3.13 w okresie 1-31 sierpnia br. oraz 22 IX do 15 X br. Prowadzenie bieżącej działalności Sekretariatu Naukowego.

Ogólnoinstytutowe seminaria naukowe

1. Mutacje w genach regulatorowych *Aspergillus nidulans* umożliwiające funkcjonowanie alternatywnej drogi biosyntezy metioniny - mgr R. Natorff, IBB PAN /8.I.1991/.
2. Badanie przestrzennej struktury RNA nukleazami roślinnymi - dr A. Przykorska, IBB PAN /22.I.1991/.
3. Wpływ struktury II-go rzędowego tyrozynowego pre - tRNA na splicing i modyfikacje pseudourydyny w pozycji 35 - dr Z. Szwejkowska - Kulińska, UAM Poznań /5.II.1991/.
4. Mechanizm transkrypcji eukariotycznych genów tRNA - dr W.J. Smagowicz, IBB PAN /12.II.1991/.
5. Struktura 5S RNA - doc. dr J. Barciszewski, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN /26.II.1991/.
6. Sekwencja wiodąca w genie MOD5, odpowiedzialna za transport izopentylotransferazy do mitochondriów - dr M. Boguta, IBB PAN /5.III.1991/.
7. Molekularna analiza genomu yellow w super niestabilnych mutantach *Drosophila melanogaster* - mgr B. Kroczyńska, IBB PAN /19. III.1991/.
8. HIV resistance forward AZT - mgr M. Jung, CERVI Hospital Salpetriere /10. V.1991/.
9. Medical challenges in antiviral chemotherapy - prof. J.M. Huraux, CERVI Hospital Salpetriere /10. V.1991/.
10. Dywergencja właściwości funkcji i struktury oksydoreduktaz ksantynowych kręgowców - prof. M. Jeżewska, IBB PAN /16. IV.1991/.
11. Termination of replication of the *E. coli* chromosome! possible involvements of homologous recombination - prof. Jean-Michel Louarn /29. IV.1991/.
12. Molecular regulation of cellulase formation in *Trichoderma* - prof. Ch. P. Kubicek /29. IV.1991/.
13. Fruktozamina w nasieniu ludzkim i buchajów - prof. L. Tomaszewski, AM.

Warszawa /30. IV.1991/.

14. The molecular biology of plasmid replication, partitioning and conjugative transfer: The coordinated control of gene involved in replication, partitioning and conjugative transfer of broad host range plasmids - dr Christopher Thomas /7.V.1991/.
15. Genetic toxicology of singlet oxygen - dr Hans Joenje, Uniwersytet w Amsterdamie /7.V.1991/.
16. Nucleotides modifications in transfer RNA - dr H.Grosjean, CNRS Francja /15.V.1991/.
17. Mutacje w genie kodującym dekarboksylazę uroporfirynogenu III w *S.cerevisiae* odpowiedzialne za efekty analogiczne do ludzkiej porfirii PCT - mgr A. Chelstowska, IBB PAN /17.V.1991/.
18. Structure and function of the transcription apparatus in Prokaryotes - prof.R.Glass, Uniwersytet w Nottingham /20.V.1991/.
19. Wiązanie jonów metali przez peptydy modelujące fragmenty calmoduliny - mgr J.Góral, IBB PAN /29.V.1991/.
20. Struktural organisation of chromatin from transcriptionally active and inactive cells - prof.W.I. Vorobyev, Instytut Cytologii AN ZSRR w Leningradzie /3.VI.1991/.
21. Sekwencje powodujące zagłębienie struktury B DNA i ich rola w regulacji inicjacji transkrypcji u *E.coli* - mgr T.Łoziński, IBB PAN /11.VI.1991/.
22. Mutanty V 79 chomika chińskiego jako modele chorób ludzkich z uszkodzonym procesem reperacji DNA - dr M.Zdziennicka, Uniwersytet Leiden-Holandia, /11.VI.1991/.
23. Klonowanie DNA w drożdżach - prof.F. Lacroute, CGM Gif-sur-Yvette, /17.VI.1991/.
24. Homologiczne rekombinacje wysokopowtarzalnego genomowego DNA z roślin - dr J.Paszowski, Instytut Biologii Roślin ETH-Zentrum Zurich /17.VII.1991/.
25. Synteza cysteiny u drożdży *Saccharomyces Cerevisiae* - dr Bun-ichiro Ono, Okoyama University /12.VIII.1991/.
26. Mobile genetic elements in mitochondrial DNA of yeast *S.cerevisiae* - prof.Ronald A.Butow, University of Texas /12.IX.1991/.
27. General aspects of protein structure. - Elucidation of protein

structure by crystallographic methods. Results of protein crystallography combined with genetic engineering.
- The structure and functional mechanism of the enzyme ribonuclease II.

- FIS, the factor for inversion stimulation and its involvement in DNA bending. - prof. Wolfram Saenger, Freie Universität /17.IX.1991/.

28. Strategies in cloning of dolichyl,phosphate mannose gene from Trichoderma - dr Robert Meroner, Technical University Vienna, /1X.1991/.

29. Biologia molekularna genu wirusów - dr B.Gronenborn, CNRS Francja /7.XI.1991/.

30. Capsid size determination in the P2 and P4 bacteriophage system by a morphopoetic switch mechanism - dr Bjorn H.Lindquist /12.XI.1991/.

31. Klonowanie genów kodujących glikozylotransferazy zależne od dolicholu - doc.G.Palamarczyk, IBB PAN /10.XII.1991/.

N A G R O D Y - R O K 1991

Nagroda Sekretarza Wydziału II:

Zespół prof.M.Jeżewskiej za badania nad enzymami biorącymi udział w przetwarzaniu purynowej.

Wyrocznienie Sekretarza Wydziału II:

Zespół prof.D.Hulanickiej za prace nad metabolizmem siarczanowego u *Eterobacteriaceae*.

Zespół prof.A.Paszewskiego za prace nad metabolizmem siarki u grzybów.

Zespół prof.C.Janion za prace dotyczące mutagenyzy u *E.coli*.

Nagrody IBB PAN otrzymali:

Nagroda I-sza za cykl trzech prac:

1. A.Sirko, M.Hryniewicz, D.Hulanicka and A.Bock. Sulfate and thiosulfate transport in *Escherichia coli* K-12: nucleotide sequence

- and expression of the cys TWAM gene cluster. J. Bact. 1990, 172, 3361-3367.
2. M. Hryniewicz, A. Sirko, A. Palucha, A. Bock and D. Hulanicka. Sulfate and thiosulfate transport in *Escherichia coli* K-12: Identification of a gene encoding a novel protein involved in thiosulfate binding. J. Bact. 1990, 172, 3358-3366.
 3. M. Hryniewicz, A. Sirko and D. Hulanicka. Identification and mapping of the sulphate permease promoter region in *Escherichia coli*. Acta Bioch. Polon. 1989, 36, 353-363.
- Nagroda II-ga za cykl czterech prac!
1. W. J. Jankowski, G. Palamarczyk, I. Krajewska and T. Vogtman. Specificity of cellular processes and enzymes towards polyisoprenoids of different structure. Chem. and Physics of Lipids. 1989, 51, 249-259
 2. A. Szkopińska. Factors affecting oxygen-induced changes in the activity of CTP-dependent lipid kinases in yeast. Acta Bioch. Polon. 1990, 37, 81-84.
 3. E. Świeżewska and T. Chojnacki. The occurrence of unique, long-chain polyisoprenoids in the leaves of *Potentilla* species. Acta Bioch. Polon. 1989, 36, 143-158.
 4. W. Jankowski, A. Szkopińska and E. Kula-Świeżewska. Subcellular compartmentation of dolichol taken up by mouse leukemia cells. Acta Bioch. Polon. 1989, 36, 93-103.

Nagroda III-cia!

H. Trembacz and M. Jeżewska. The route of non-enzymatic and enzymic breakdown of 5-phosphoribosyl 1-pyrophosphate to ribose 1-phosphate. Biochem. J. 1990, 271, 621-625.

NAJWAŻNIEJSZE OSIĄGNIĘCIA BADAWCZE

Genetyka drobnoustrojów

Obiektem badań były bakterie *Escherichia coli*.

Na mapie restrykcyjnej chromosomu zlokalizowano gen *rcsD* uczestniczący w temperaturowej regulacji metabolizmu i skonstruowano

odpowiedni plazmid służący do ustalania nukleotydowej sekwencji tego genu (temat 22).

Sklonowano gen *cysX E. coli*, kodujący białko wiążące siarczany (temat 25).

Wykazano, że zwiększone wewnątrzkomórkowe stężenie białka UmuC niezbędnego do indukowalnej mutagenyzy, jest toksyczne dla mutantów z defensywną podjednostką epsylon polimerazy III DNA (temat 26).

Zbadano wpływ sulfonylacji metanometylowego (MMS) na ada-zależną odpowiedź adaptacyjną (temat 27).

Scharakteryzowano nową mutację związaną z indukacją systemu SOS (temat 28).

Genetyka i regulacja metabolizmu i niższych eukariotów

Obiektem badań były grzyby: *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus nidulans* *Trichoderma reesei*.

Kinaza tymidylanowa jest konieczna zarówno dla epizomalnej jak i integracyjnej transformacji u drożdży (temat 30).

Sulfhydrylaza O-acetylohomoseryny u grzybów

podlega metabolicznej represji siarkowej. Sklonowano gen *cys A* u *Aspergillus nidulans* (temat 24).

Z mitochondriów drożdży wyizolowano syntetazę leucylo-tRNA - produkt genu *NAM2*. Ustalono ciężar cząsteczkowy syntetazy i sekwencję N-końcowych aminokwasów oraz zbadano rolę tego enzymu w składaniu pre-mRNA w mitochondriach (temat 7).

Wykazano, że tlen i hem są niezależnymi od siebie czynnikami regulującymi syntezę enzymów peroksyzomalnych, katalazy A i oksydazy acylo-CoA w drożdżach *S. cerevisiae*. Opracowano metodę pozytywną selekcji supresorów inicjacji translacji w *S. cerevisiae*. Wyizolowano grupę nowych spontanicznych mutacji supresorowych (temat 23).

Stwierdzono, że aktywność syntazy dolichylofosfomannozy w komórkach *Trichoderma reesei* jest regulowana przez c-AMP zależną kinazę białkową (temat 21).

Biochemia i biotechnologia roślin

Obiektem badań były zboża (pszenica, żyto, kukurydza) i ziemniaki.

Jądrowy DNA endospermy dojrzalego ziarna pszenicy różni się od jądrowego DNA zarodków pszenicy brakiem sekwencji nukleotydowej o długości kilku tysięcy par zasad (temat 11).

Nukleaza z jąder zarodków żyta jest czuła i precyzyjną sondą do badania drugo- i trzeciorzędowej struktury RNA. Otrzymano homogeny preparat nukleazy I ze stromy chloroplastów pszenicy specyficznej do jednoniciowych struktur kwasów nukleinowych (temat 18).

Z ekspresyjnego banku klonów cDNA kukurydzy wyizolowano metodą immunodekacji 4 klonów zawierające szczególnie długie inserty (cod 1.2 - 1.7 Kb) kodujące kinazę adenylanową (temat 12).

W siewkach kukurydzy stwierdzono obecność kinazy białkowej zależnej od Ca^{2+} i fosfolipidów. Jedną z trzech kinaz kazeinowych występujących w siewkach kukurydzy jest wolną podjednostką katalityczną znanej kinazy kazeinowej typu 2 (temat 15).

Uzyskano transformację międzywielzi ziemniaka z hodowli *in vitro* binarnym szczepem *Agrobacterium tumefaciens* (temat 19).

Biochemia porównawcza

Stwierdzono bliższe pokrewieństwo mitochondrialnego białka drożdżowego NAMG z białkami bakterii i chloroplastów niż z cytoplazmatycznymi białkami niższych eukariontów (temat 20).

Wykazano powazne występowanie w rodzinie Rosaceae skomplikowanej mieszaniny dwóch rodzin długich i superdługich poliprenoli (temat 13).

Badano przebieg ekspresji genów dla białek 24 kD i 30 kD w gruczole przednim *Galleria mellonella* w ostatnim okresie larwalnym oraz charakter czynnika mózgowego wpływającego na transkrypcję w tym gruczole (temat 5).

Określono właściwości kinetyczne dehydrogenazy ksantynowej z nerki kury (temat 14).

Struktura makrocząsteczek

Określono parametry i drogi wewnątrzcząsteczkowego przenoszenia elektronu między centrami rodnikowymi Tyr/O⁻ i Trp/N⁻ w lizozymie i modelowych peptydach Trp-(Pro)_n-Tyr (temat 4.2D).

Izolowane fragmenty białek wiążące wapń ulegają dimeryzacji, przy czym struktura dimerów jest zbliżona do fragmentów natywnego białka (temat 4).

Na podstawie teoretycznej analizy sekwencji i struktur białek globularnych wykazano istotną rolę reszt prolinowych i glicynowych tworzących "zakręty" dla procesu związania się białka (temat 4.5D).

Opracowano model centrum aktywnego fosfodiesterazy z bulwy ziemniaka (temat 16).

W oparciu o przeprowadzoną pełną analizę naprężeń mechanicznych w błonie cytoplazmicznej *Neurospora crassa* w zmiennym polu elektrycznym wyznaczono doświadczalne warunki elektrodstrukcji błony w funkcji częstotliwości pola w zakresie $10^3 - 5 \times 10^5$ Hz (temat 26).

Badnia aplikacyjne

Syntetyzowano dwie pary anomerycznych pirymidynowych 2'-deoksy-5-fluoro-2-tionukleozydów o wysokiej *in vitro* aktywności przeciwnowotworowej (temat 1).

Zbadano oporność niektórych szczepów HIV na AZT (temat 10).

Wykazano, że w leczniczym działaniu PUVA (psoralen + ultrafiolet UV-A) na łuszczykę u ludzi biorą udział limfocyty krwi obwodowej (temat 2).

- Przygotowanie wektorów

Sklonowano syntetyczny gen kodujących inhibitor proteaz serynowych, CPTI II w sekwencyjnych wektorach *S. cerevisiae* pYSV5 i pJK6 i uzyskano jego ekspresję (temat 4.4).

Sklonowano w plazmidzie pDS3 szereg promotorów cechujących się różną długością sekwencji zaginających osł heliksu DNA (temat 4.3D).

Konstrukcja binarnych plazmidów zawierających gen białka piaszcza wirusa liściozwoju ziemniaka (temat 8D).

Temat 1: Synteza, badanie właściwości fizykochemicznych, biologicznych oraz badania przedkliniczne nowych nukleozydów o działaniu przeciwnowotworowym i/lub przeciwwirusowym

Zespół: doc. dr hab. T. Kulikowski, prof. dr D. Shugar, doc. dr hab. A. Drabikowska, mgr K. Felczak, mgr M. Bretner, techn. G. Guzik

Kontynuowano poszukiwania nowych środków przeciwnowotworowych o zwiększonej lipofilowości z grupy pirymidynowych 5-fluoro-2-tio-2'-deoksy-rybonukleozydów. Optymalizowano metody syntezy w.wym. nukleozydów oparte na katalizowanej przez różne kwasy Lewisa kondensacji nukleozydowej di-TMS pochodnych 5-fluoro-2-tiouracylu i 5-fluoro-2-tiouracylu i 5-fluoro-2-tiocytosyny z alfa-chlorkiem 3,5-di-O-p-toluilo-3-deoksy-D-rybozy. Otrzymane mieszaniny alfa- i beta-anomerów 5-fluoro-2-tio-2-deoksurydyny oraz 5-fluoro-2-tio-2'-deoksycytyny, po rozdzieleniu i odblokowaniu zbadano na aktywność przeciwnowotworową w hodowli komórkowej białaczki mysiej L5178Y.

Obydwa beta-nukleozydy okazały się dobrymi inhibitorami tych komórek CD₅₀ odpowiednio 2×10^{-6} M oraz $0,8 \times 10^{-6}$ M, natomiast alfa-anomery wykazywały aktywność o rząd wielkości mniejszą.

Kontynuowano badania nad inhibitorami fosforylasy urydynowej (URPazy), związkami zapobiegającymi fosforylitycznemu rozszczepieniu stosowanych w chemioterapii przeciwnowotworowej uracylowych 5-fluoro-nukleozydów. Syntetyzowano 3 serie anhydrourydyn, nukleozydów o zafiksowanej konformacji "syn". 2,2'-anhydrourydyny otrzymano cyklizując odpowiednio urydyny dwufenylogwęglanem w DMF, natomiast 2,5'-anhydro-urydyny sytetyzowano stosując zmodyfikowaną procedurę Mitsunobu. Spośród zbadanych anhydrourydyn najlepszym inhibitorem URPazy izolowanej z *E. coli* i z nabłonka jelita cienkiego szczura, okazała się 2,3'-anhydro-urydyna wykazując Ki odpowiednio 75 μ M i 7 μ M. Powyższe dane wskazują na różnice strukturalne w budowie enzymu bakteryjnego i ssaczego.

Kontynuowano badania uprzednio otrzymanych 3'-podstawionych 2',3'-

dideoksy-5-hydroksymetylourydyn - inhibitorów retrowirusa HIV. Zbadano konformację w roztworze w.wym. związków przy użyciu wysoko-rozdzielczego protonowego rezonansu jądrowego oraz dichroizmu kołowego. W warunkach fizjologicznych 3'-fluoronukleozydy wykazywały 100%, a 3'-azydonukleozydy 40% konformacji "G".

Publikacje: 2762, 2774, 534/AC + J, 535/A, 536/A, 541/A

Temat 2 Molekularne podstawy powstawania i leczenia łuszczycy u ludzi

Zespół: Doc. dr Z. Zarębska, dr D. Barszcz

Opracowano syntezę 5-letnich badań nad zachwianiem równowagi pomiędzy poziomem proteinaz w neutrofilach a ich inhibitorem osoczowym alfa-1-proteinase inhibitor (A-1-PI) w łuszczycy. Znaczący postęp prac osiągnięto przez wprowadzenie badań porównawczych poziomu enzymów i inhibitora u tego samego pacjenta. Potwierdziły one nasze poprzednie badania na rozległym materiale z pacjentów, badanych w różnych stadiach chorobowych. Stwierdzono, że u chorych z łuszczycą bezobjawową równowaga między enzymami a inhibitorem ustala się na niższym poziomie niż u ludzi zdrowych. Badania nad termolabilnością A-1-PI ostrzych stanach chorobowych. Badania nad termolabilnością A-1-PI pozwoliły na stwierdzenie, że u chorych z rozległymi zmianami skóry, obejmującymi ponad 40% powierzchni ciała stwierdza się obecność bardziej termolabilnych izoform A-1-PI. Wysłunięto hipotezę, że w leczniczym działaniu PUVA (psoralen + ultrafiolet UV-A) na organizm ludzki biorą aktywny udział limfocyty krwi obwodowej. Przypuszcza się, że zmniejszona odpowiedź immunologiczna (supresja) limfocytów krwi obwodowej wspomaga lecznicze działanie PUVA na komórki skóry.

Kontynuowano badania fotochemiczne nad białą limfocytą jako siedliskiem receptorów biorących udział w reakcjach immunologicznych. Limfocyty nasświetlano poza urządzeniem letalną dawką PUVA: 20 μ g/ml psoralenu + 21 J/cm² UV-A (320-400 nm). Białe limfocyty wydzielano standardowymi metodami biochemicznymi a następnie ekstrahowano z nich

warstwę lipidową. Analiza ekstraktu organicznego za pomocą HPLC, nmr i widm absorpcji ujawniła powstawanie fotoadduktów psoralenu oraz 8-metoksypsoralenu (8-MOP) do nienasyconych kwasów tłuszczowych. Adduktem fizjologicznie ważnym wydaje się być fotoaddukt 8-MOP do kwasu linoleninowego /18C, 3=/. (We współpracy z Instytutem Nauk Farmaceutycznych w Padwie).

Publikacje: 2783, 565/A, 2752

Temat 3: Badanie właściwości kodujących eteroguaniny w matrycach poli(A)

Zespół: doc.dr J. Kuśmierek, mgr M. Mroczkowska

Chemiczne podstawy mutagenyzy. Badanie właściwości kodujących N^2 ,3-etenoguaniny w matrycach poli(A).

Badano właściwości kodujące N^2 ,3-etanoguaniny /EG/ w matrycach poli(A) w układzie odwrotnej transkryptyazy. Stwierdzono, że w przeciwieństwie do matrycy poli(C,EG), gdzie obserwowana jest inkorporacja C i T w matrycach poli(A,EG) EG powoduje wyłącznie inkorporację T /528/A; Sympozjum IBB 1991, Abstr. 52/.

Badano właściwości fizykochemiczne EG: właściwości kwasowo-zasadowe, tautomerię, oddziaływanie stackingowe oraz oddziaływanie z jonami metali /2775/WZ/.

Badano inkorporację 5'-trójfosforanu N^2 ,3-etenodezoksyguanozyny przez różne polimerazy DNA naprzeciwko C lub T w zdefiniowanych miejscach matrycy dezoksypolinukleotydowych. Stwierdzono we wszystkich przypadkach zdolność EG do tworzenia par zarówno z C jak i T /2776/WZ/.

Syntetyzowano 1, N^2 -etenodezoksyguanozynę /izomer badanej dotychczas pochodnej N^2 ,3-etano/ oraz wykryto, że pochodna ta tworzy się w reakcji DNA z aldehydem chlorooctowym in vitro /Symposium IBB 1991, Abstr. 53/.

Publikacje: 2768, 2775/+, 2776/+, 528/A

Temat: 4 Molekularne i termodynamiczne podstawy biologicznej specyficzności cząsteczek białek i kwasów nukleinowych

Temat 4.1 Fragmenty białek wiążących wapń

Zespół: Doc.dr A. Bierzynski, mgr M. Dadlez, dr J. Wójcik, mgr J. Góral, mgr K. Pawłowski, mgr H. Kozłowska, mgr Ł. Jaroszewski

W roku 1991 postęp prac przedstawiał się następująco:

Zostały ukończone prace doświadczalne mające na celu pomiar energii swobodnej oddziaływania pomiędzy dipolem helisy a jonem usytuowanym w pobliżu jej końca C. Prace te zostały uwieńczone sukcesem i stanowią część rozprawy doktorskiej mgra M. Dadleza. Jej obrona przewidziana jest w styczniu 92 r.

Po zakończeniu, do końca grudnia br., obliczeń teoretycznych całość wyników zostanie wysłana do publikacji.

Kontynuowano badania nad kooperatywnością wiązania jonów wapnia i terbu do peptydów modelujących domeny białek z rodziny troponiny C. Uzyskano istotny postęp w tym zakresie.

Uzyskano przekonujące dowody na to, że izolowane pętle wiążące jony wapnia ulegają dimeryzacji, przy czym konformacja dimerów jest zbliżona do struktury odpowiednich fragmentów natywnego białka. Otwiera to nowe możliwości badania mechanizmu wiązania jonów przez białka z rodziny troponiny C.

Wyzolowano białko S100 z mózgu wołowego i opracowano metodę jego oczyszczania oraz rozdziału podjednostek, z których składa się białko.

Publikacje: 2747

Temat: 4.2 Transport elektronów między rodnikowymi centrami w modelowych peptydach i białkach

Zespół: prof. dr hab. K. L. Wierzbowski, dr hab. K. Bobrowski, mgr J. Poznański

Kontynuowane były badania daleko-zasięgowego przenoszenia elektronu (LRET) w lizozymie (białko jaja kury), towarzyszącego przemianie rodnikowej Trp/N-Tyr/O indukowanej przez rodniki N_3 metodą pulsowej radiolizy (współpraca z dr J. Holcmanem, Riso National Laboratory, Dania). Wczesniejsze nasze badania kinetyki tego procesu w funkcji temperatury wykazały, że uczestniczy w nim głównie jedna para Trp/Tyr zlokalizowana w domenie wiążącej substrat (Free Rad. Res. Comm. 6 /1989/ 2353). W celu jej identyfikacji wykonane zostały pomiary wydajności radiochemicznej i kinetyki przemiany rodnikowej w C10 lizozymie z selektywnie utlenioną O_3 do N-formyloksynureniny resztą Trp-62, oraz w C10 kompleksie natywnego lizozymu z inhibitorem: N, N', N''-trójacetylotiotriozą. W obu układach stwierdzono znacznie niższą wartość początkowej wydajności powstawania rodnika Trp/N' w porównaniu z natywnym, wolnym białkiem, a w kompleksie lizozym-inhibitor brak jego przemiany tego rodnika w rodnik Tyr/O'. Wyniki te dowodzą, że w obserwowanej przemianie rodnikowej uczestniczy Trp-62, ponieważ znajduje się on na powierzchni cząsteczki białka w domenie wiążącej substrat a w kompleksie osłaniany jest przed atakiem rodników N_3 przez N, N', N''-trójacetylotiotriozę. Tworzy on najprawdopodobniej parę redoks z odległą ok. 1.3 nm Tyr-53, ponieważ przy tego rzędu odległości między resztami Trp i Tyr w peptydzie Trp-CPro $_3$ -Tyr obserwowany był wydajny proces LRET.

Zakończono pomiary kinetyki LRET w peptydach z serii Trp-CPro $_n$ -Tyr wyznaczając kinetyczne i termodynamiczne parametry wewnątrzcząsteczkowej przemiany Trp/N' $\rightarrow$ Tyr/O' w peptydach z n=4 i n=5. Parametry te zinterpretowano łącznie z otrzymanymi wcześniej dla krótszych peptydów (Int. J. Radiat. Biol. 57 [1990] 919) w powiązaniu z właściwościami konformacyjnymi całej serii (n=0-5). Te ostatnie zostały określone metodą spektroskopii 1H i ^{13}C NMR oraz na drodze teoretycznego modelowania stabilnych konformacji peptydów. Wykazano, że zaobserwowany doświadczalnie, zgodny z teorią, wykładniczy spadek stałej szybkości LRET wraz z rosnącą średnią odległością między centrami reakcji, można wyjaśnić jako kombinację przeniesienia elektronu C10 wzdłuż wiązań szkieletu peptydowego oraz C10 przez "przestrzeń" t.j. poprzez bezpośredni kontakt pierścieni aromatycznych

łańcuchów bocznych Trp i Tyr (w przypadku peptydów z n=0-2) i z udziałem znajdujących się między nimi cząsteczek H_2O . Interpretacja danych kinetycznych dla rodnikowej przemiany: Met/Br. Br $\rightarrow$ Tyr/O' w peptydach Tyr-(Pro) $_n$ -Met, n=0-3) doprowadziła do podobnych ogólnych wniosków.

Publikacje: 2753 , 2759 , 2760 , 2761 , 2773, 526/A, 557/A, 558/A, 559/A

Temat 4.3 Mechanizm inicjacji transkrypcji genów prokariotycznych i prostych genów eukariotycznych (tRNA), U6 snRNA)

Zespół: Prof. dr K. L. Wierzbowski, dr W. J. Smagowicz, dr P. Szafranski, dr T. Kozinski

4.3.1. Kontynuowano badania dotyczące wpływu sekwencji $A_n T_n$ zaginających osi heliksu DNA na moc nieregulowanego promotora E. coli i strukturę inicjacyjnego kompleksu transkrypcyjnego. W związku z wykazaną poprzednio zmianą struktury in vitro i obniżeniem mocy in vivo pod wpływem obecności traktu T_5 (-37...-34) w niekodującej nici DNA, syntetyzowano (współpraca z zespołem doc. W. Markiewicza, I. Ch. Bloorg, PAN, i z Pracownią Syntezy DNA IBB PAN) i sklonowano w plazmidzie pDS3 szereg nowych promotorów cechujących się różną długością ciągu T_n w tym rejonie oraz promotor zawierający ciąg T_5 (-37...-41), położony tuż powyżej heksameru -35. Ponieważ ciągi T_n w niekodującej nici DNA powodują w kompleksie DNA-białko odchylenie osi heliksu DNA od powierzchni białka, syntetyzowano również odpowiednie promotory z sekwencjami $A_5 G_8$ w niekodującej nici w rejonie -35 i w rejonie łącznika między heksamerami -35 i -10. Sekwencje te powinny wyginać osi DNA ku powierzchni białka. Porównawcze pomiary mocy nowych promotorów in vivo powinny przyczynić się do pełniejszego wyjaśnienia związku między kierunkiem lokalnego zagięcia osi DNA i siłą promotora.

Publikacje: 2791 oraz praca doktorska T. Kozinskiego (IBB PAN).

4.3.2 Analiza zależności szybkości powstawania transkrypcyjnego kompleksu inicjacyjnego na genie trNA^{Tyr} z udziałem drożdżowej polimerazy III i homologicznych białkowych czynników: TFIIB i TFIIC wykazała, że (i) długość obserwowanej na krzywych kinetycznych fazy opóźnienia reakcji zależy liniowo od odwrotności stężenia jonów Mg²⁺ oraz, że (ii) logarytm równowagowego stężenia kompleksu jest wprost proporcjonalny (współcz. proporcj. $0.9 + 0.1$) do ujemnego logarytmu stężenia Mg²⁺. Zgodnie z teorią oddziaływania ligandów z biopolimerami, zależności te wskazują, że do związania czynnika TFIIB do kompleksu preinicjacyjnego TFIIC-tDNA^{Tyr} niezbędne jest związanie 1 jonu Mg²⁺.

Określono również względne powinowactwo trójfosforanów nukleotydów oraz wybranych ich analogów do centrum katalitycznego drożdżowej polimerazy III w kompleksie transkrypcyjnym, pozbawionym aktywności fosfatazowej przez filtrację na Bio-Gelu. Okazało się, że jest ono bardzo zbliżone do powinowactwa substratów do polimerazy RNA E. coli w kompleksie transkrypcyjnym, wskazując na bliskie podobieństwo budowy centrów katalitycznych obu enzymów. (Praca wysłana do publikacji w Z. Naturforsch.).

Publikacje: 2780

Temat 4.4 Klonowanie genów i ekspresja białek dla badań nad mechanizmem powstawania natywnych struktur o potencjalnym znaczeniu leczniczym

a. Czynniki wzrostu naskórka człowieka (hEGF)

Zespół: dr K. Bolewska, mgr J. Topczewska, T. Rak

Kontynuowano prace nad konstrukcją drożdżowego ekspresyjnego i sekrecyjnego wektora. Uzyskano plazmid pYET1, który zawiera elementy niezbędne do replikacji w E. coli (ori Col E1) i w S. cerevisiae (DNA 2u), markery selekcyjne Ap^R oraz Ura 3 i Leu2-d. Wektor posiada poza tym indukowany kwasem olejowym promotor katalazy A. S. cerevisiae (P_{CTA}) oraz syntetyczną sekwencję kodującą sygnałny peptyd wyprawiający

killer toksyny K. lactis.

W wektorze pYET1 sklonowano syntetyczny gen hEGF. Po indukcji ekspresji tego genu w drożdżach w płynie hodowlanym stwierdzono obecność białka o masie cząsteczkowej zbliżonej do masy hEGF.

Kontynuowano również prace umożliwiające sklonowanie genu hEGF i prawidłowe procesowanie białka po ekspresji w alternatywnych wektorach drożdżowych pYSVS i pJK6 z wyprawiającą sekwencją czynnika alfa.

b. Inhibitor proteaz serynowych z roślin dyniowatych

Zespół: Prof. dr hab. M. Fikus, Mgr B. Rempola, T. Rak

Otrzymano uprzednio syntetyczny gen kodujący inhibitor proteaz serynowych, CPTI II, o sekwencji nukleotydowej odpowiadającej najczęściej używanym kodonom w E. coli wklonowano do bakteryjnych wektorów ekspresyjnych pT218 i pKK 223-3. We wstępnych doświadczeniach nie udało się wykryć ekspresji genu w obu układach, oznaczanego na podstawie aktywności biologicznej. Drugi gen CPTI II, którego sekwencja nukleotydowa odpowiada kodonom używanym przez S. cerevisiae, wklonowano do ekspresyjnych, sekrecyjnych wektorów drożdżowych pJK6 i pYSV 5. Przeprowadzono wstępne badania zmierzające do wykazania obecności białka CPTI II w nadszachu hodowlanym po indukcji ekspresji genu w drożdżach. Metoda jakościowego testu elektroforetycznego celektoforeza natywnego nadszachu w obecności substratu dla trypsyny, edestyny, pükanie żelu w roztworze trypsyny) wykazano obecność aktywności antytrypsynowej. W niezależnym teście ilościowym wykazano liniową zależność inhibicji trypsyny od ilości surowego ekstraktu podłoża hodowlanego.

Praca wykonywana we współpracy z Instytutem Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (Doc. dr hab. Wojciech Markiewicz) i z Instytutem Biochemii UW (Prof. dr hab. Tadeusz Wilusz).

Temat 4.5 Modelowanie struktury i funkcji białek

Zespół: Doc. dr hab. A. Rabczenko, dr D. Plochocka, dr P. Zielenkiewicz

Istnieje obecnie kilka hipotez próbujących wyjaśnić drogę, którą odbywa łańcuch poliptydowy białka od statystycznego kłębaka jakim jest zdenaturowane białko do ściśle zdefiniowanej struktury przestrzennej jaką jest białko natywne. Postulowana przez nas hipoteza zakłada, że początkiem tworzenia struktury są mikrodomeny hydrofobowe, które powstają wskutek oddziaływania aminokwasowych reszt należących do odległych sekwencyjnie części łańcucha. Następnie, pozostałe odcinki łańcucha poliptydowego formują najlepsze z punktu widzenia wzajemnych oddziaływań struktury drugorzędowe (alfa i beta).

Propozycja ta powstała wskutek porównania danych doświadczalnych kilku białek o znanej strukturze krystalograficznej. W efekcie dopasowania poszczególnych sekwencji oraz założeń, że struktura dla całej grupy białek jest identyczna, szukaliśmy (za pomocą metod komputerowych) obszarów, do których dostęp wody jest niemożliwy. Wynikiem było stwierdzenie, że fragmenty tak określone zawierają reszty aminokwasowe prawie identyczne dla całej grupy, a więc że spontaniczna mutacja w tym obszarze powoduje wypadnięcie takiego organizmu ze ścieżki ewolucyjnej. Wykazano także, że niektóre odcinki zawierające reszty glicynowe i prolinowe są również "oporne" na mutacje. Odcinkami tymi są w przeważającej większości segmenty tworzące "zakręty" łańcucha. Oznacza to, że białko musi mieć zachowane te aminokwasy, które umożliwiają mu giętkość w procesie związania.

Publikacje: 2766

Temat 5 Regulacja ekspresji genów białek jedwabiu u larw *Galleria mellonella*

Zespół: Prof. dr hab. Z. Lassota, dr K. Grzelak, dr J. Michalik, mgr E. Szolajska, inż. B. Kludkiewicz, techn. K. Gocman

Kontynuowano badania nad regulacją ekspresji genów kodujących niskocząsteczkowe białka jedwabiu *Galleria* o c. cz. 24 kD i 29-30 kD oraz wpływem czynnika pochodzenia mózgowego na poziom transkrypcji w gruczołach przednich. Niskocząsteczkowe białka jedwabiu syntetyzowane są

w tylnej części gruczołu przedniego z obficie występujących tam messengerów o długości około 1100 nukleotydów. W układzie *in vitro* stwierdzono, że synteza białka o c. cz. 24 kD zachodzi przed 20-24 godz. ostatniej (VII) linki larwalnej wyprzedzając syntezę białka 30 kD, pojawiającą się między 1 a 2 dniem tego okresu. 20-hydroxy-ekdyzon (C20-HE) w stężeniu 0.5 µg/ml powoduje w tylnej części gruczołu larw z 1 dnia VII stadium wzrost poziomu messengerów o długości ok. 1100 nukleotydów. Analiza elektroforetyczna znakowanych *in vitro* białek potwierdziła wcześniejsze doniesienia, że 20-HE w gruczołach larw z 1 dnia VII stadium indukuje syntezę białka o c. cz. 30 kD. Wykazano również, że w gruczołach larw z 2 dnia VII stadium 20-HE powoduje wzrost syntezy obu niskocząsteczkowych białek jedwabiu! 24 kD i 30 kD. Badając wpływ wyizolowanego mózgu lub ekstraktów tej tkanki na aktywność gruczołu przedniego w warunkach *in vitro* wykazano, że efekt stymulacji transkrypcji zależy od ilości ekstraktu mózgowego. Niewątpliwie czynnika pochodzenia mózgowego na podwyższoną temperaturę oraz wrażliwość na proteazy, sugerują jego peptydowy charakter.

Publikacje: 2777

Temat 6 Cięcie i składanie genomu PSTV

Zespół: Prof. dr P. Szafranski, mgr M. Milewski, mgr M. Loster-Ptasznik

W poprzednim roku wykazano, że oligomery (+) i (-) RNA wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTV) nie ulegają *in vitro* autokatalitycznym cięciom do monomerów PSTV. W okresie sprawozdawczym badano losy oligomerów PSTV wprowadzonych do komórek liści pomidorów za pomocą infiltracji i elektroporacji. Do doświadczeń stosowano oligomer RNA PSTV (-) znakowany α-[³²P] uzyskany w wyniku transkrypcji plazmidu pST5,4(+) zawierającego 5, 4 jednostek wiroidowego cDNA związanych ze sobą. Po inkubacji liści z oligomernym RNA PSTV, izolowano z nich RNA i rozdzielano na 3.5% denaturującym żelu

poliakrylamidowym. We wszystkich przypadkach wprowadzony do komórek RNA PSTV uległ niespecyficznnej degradacji.

Do dowiadzeń zastosowano następnie protoplasty otrzymane z liści pomidora i ziemniaka. Otrzymane rezultaty doprowadziły do wniosku, że do badania losów RNA PSTV w liściach może być zastosowana zawieszina komórkowa. Przy współpracy Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu uruchomiono hodowlę komórek ziemniaka. Do śledzenia RNA PSTV przystosowano bezizotopową metodę hybrydyzacji molekularnej *in situ*.

Publikacje: 564/A

Temat: 7 Synteza białek mitochondrialnych

Zespół: Prof. dr. W. Zagórski, mgr A. Migdalski, E. Nowak

Celem pracy jest analiza polipeptydów syntetyzowanych w mitochondriach drożdży *mit⁻* pod wpływem mutacji supresorowej *nam3-2*. Wyizolowano mitochondria z następujących mutantów mitochondrialnych *mit⁻*: V25 (mutacja typu nonsens w genie *coxII*), V44 (mutacja typu missens w genie *coxII*), V25 i V44 noszące jądrowy gen supresorowy *nam3-2* oraz ze szczepu CKO1 (typ dziki).

Następnie przeprowadzono translację w izolowanych mitochondriach stosując znakowaną [³⁵S] L-metioninę. Produkty translacji rozdzielono za pomocą dwukierunkowej elektroforezy. Żele barwiono srebrem, suszono i eksponowano wobec błon (max Amersham). Porównując autoradiogramy mutantów *mit⁻* i szczepu dzikiego zidentyfikowano plamę odpowiadającą białku *coxII* (brak u mutantów, obecna natomiast po supresji *nam3-2*). Wynikiem supresji, oprócz przywrócenia syntezy aktywnych białek u mutantów *mit⁻*, jest powstanie dodatkowego polipeptydu będącego prawdopodobnie przedłużoną formą białka *var* (białko mniejszej podjednostki mitoribosomu). Bezpośrednim na to dowodem może być porównanie sekwencji białka *var2* i genu kodującego białko *var*.

Otrzymano produkt genu *nam*, mitochondrialną syntetazę leucylo-tRNA (*mtLTS*) z mitochondriów drożdży *S. cerevisiae*. Oczyszczone białko wykazywało krzyżową reakcję z przeciwciałami dla produktu fuzji genów

Lac2/nam2 i przeciwciałami dla oczyszczonej syntetazy leucylo-tRNA z *E. coli*.

Testowano wpływ RNA intronów z wybranych genów mitochondriów drożdży na aktywność *mtLTS*. Stwierdzono, że aktywność ta jest swoiście hamowana. Wskazuje to, że *mtLTS* oddziałuje bezpośrednio a RNA intronowym.

Publikacje: 543/A

Temat 8 Ekspresja genetyczna wirusów roślinnych

Zespół: Prof. dr. W. Zagórski, prof. dr. M. D. Hulanicka, mgr A. Pałucha, mgr A. Kujawa

Kontynuując badania nad syntezą cDNA wirusa liściozwoju ziemniaka PLRV otrzymano szereg klonów zawierających fragmenty genomu PLRV.

W chwili obecnej ustalono sekwencję około 2/3 genomu PLRV. Opracowano metodę namnażania fragmentu genomu metodą PCR. cDNA genu białka płaszczka (CP) zostało przeklonowane na wektory binarne pBi21.1 i pROK2, stosowane w agroinfekcji. Skonstruowano kłony zawierające gen CP w "sense" i "antysense" orientacji.

Prace mające na celu ustalenie pełnej sekwencji genomu PLRV są w toku.

Publikacje: SSI/A, 562/A, 537/A, 2778, 2779

Temat 9 Detekcje wybranych wiroidów i wirusów roślinnych

Zespół: Prof. dr. P. Szafranski, prof. dr. W. Zagórski, mgr C. Żekanowski, mgr A. Chachulska, mgr A. Góra, mgr J. Pawłowicz

Przygotowano sondę molekularną wykrywającą zakażenie którymkolwiek z trzech najczęściej spotykanych w Polsce patogenów roślin ziemniaka. W tym celu do plazmidu pUC18 wprowadzono trzy wstawki:

- pełną kopię cDNA genomu wiroida PSTV (w miejsce BamHI)
- 0.7 kb odcinek cDNA wirusa PLRV (w miejsce SmaI)

- 1,8 kb odcinek cDNA wirusa PVY (w miejsce PsID).

Tak otrzymaną sondę wyznakowano następnie metodą nick-translacji i przeprowadzono hybrydyzację z przygotowanymi w sposób standardowy próbkami soków pochodzących z roślin ziemniaka zakażonych różnymi izolatami PSTV, PLRV, PVY, PVM, PVS oraz roślin zdrowych. Wszystkie patogeny wykrywano w rozcieńczeniu od $1/256$ PSTV^M, PLRV, PVY do $1/512$ CPSTV^S. Soki z roślin zdrowych i zakażonych wirusami PVS i PVM nie dawały sygnału pozytywnego. Czułość i specyficzność sondy jest więc taka sama jak sond zawierających pojedyncze wstawki.

Wszystkie trzy wstawki sekwencjonowano i porównywano ze znanymi sekwencjami PSTV, PLRV, PVY. Sekwencja nukleotydowa cDNA PSTV odpowiada sekwencji wiroida. Sekwencja cDNA PLRV odpowiada sekwencji ORF5 (ok. 4 510 - 4 800 nt). Otrzymana dotychczas sekwencja cDNA PVY odpowiada sekwencji części genu proteazy i genu białka płaszcza (od ok. 4 670 nt).

Dalsza praca polegać będzie na oznaczeniu pełnej sekwencji cDNA wirusa PVY.

Publikacje: 545/A, 556/A

Temat 10 Analiza zmienności genetycznej szczepów HIV (wirus AIDS) opornych na azotymidynotriofosforan (AZT)

Zespół: Prof. dr. W. Zagórski, mgr M. Jung

Temat ten jest przedmiotem współpracy z Hôpital Salpêtrière w Paryżu (grupa prof. Hureau)

Kontynuowano badania nad sekwencją regionu 5' różnych szczepów HIV wyizolowanych w końcu lat osiemdziesiątych w Afryce. Niektóre z tych szczepów wykazują odporność na AZT. Poznanie sekwencji 5' pozwoli zlokalizować mutacje znoszące wrażliwość na ten lek.

Temat 11 Udział chromosomowego i pozachromosomowego DNA w różnicowaniu komórek roślinnych

Zespół: Prof. dr. J. Buchowicz, dr M. Tomaszewski, dr M. Dobrzańska, dr

E. Kraszevska, mgr B. Szurmak, mgr B. Marciniak,
mgr B. Kroczyńska, mgr A. Konopińska

Zaobserwowano różnice strukturalne między jądrowym DNA komórek różnicujących się i zróżnicowanych. Segment o długości blisko 5000 par zasad, który w DNA zarodków pszenicy powtarza się wielokrotnie, w endospermowym DNA jest w ogóle niewykrywalny tymi samymi metodami. Segment ten, jak dowodzi hybrydyzacja typu "northern", jest transkrybowany w czasie kiełkowania zarodków. Próby ustalenia jego sekwencji są w toku.

Wykazano, że chromosomy DNA spoczynkowych zarodków pszenicy jest zubożały w sekwencje telomerowe i wzbogaca się w nie natychmiast po umieszczeniu zarodków w warunkach sprzyjających kiełkowaniu. Równocześnie obserwuje się intensywną syntezę pozachromosomowego DNA, silnie wzbogaconego w sekwencje telomerowe i różniące się od głównej frakcji jądrowego DNA gęstością pozorną. Wyjaśnienie związku tej syntezy z odbudową telomerów jest przedmiotem dalszych badań.

Ustalono sekwencję nukleotydową odcinka DNA o długości 371 par zasad, który powtarza się 7800 razy w genomie pszenicy i około 5000 razy w genomie żyta. Wykazano, że odcinek ten jest w podobny sposób rozproszony w obu genomach i zawiera elementy strukturalne autonomicznie replikujących się sekwencji.

Publikacje: 2742

Temat 12 Charakterystyka genów pozaplastydowych kodujących enzymy działające na terenie chloroplastów

Zespół: Prof. dr. L. D. Wasilewska, mgr B. A. Kwiatkowski, mgr A. G. Zielińska-Kwiatkowska, dr H. Rybicka

Skonstruowano 3 banki klonów cDNA w wektorze ekspresyjnym λ gt 11 dla grochu, szpinaku i kukurydzy w celu izolacji niektórych genów pozaplastydowych kodujących enzymy działające m.in. w obrębie chloroplastów. Wydajność poszczególnych banków klonów cDNA wynosiła odpowiednio: 1.1×10^7 klonów dla grochu, 5.2×10^6 klonów dla

szpinaku oraz 7.3×10^5 klonów dla kukurydzy. Ponadto zamówiono w firmie Stratagene bank klonów cDNA dla kukurydzy w wektorze λ UNI-ZAP (2.0×10^6 klonów), który podobnie jak pozostałe banki użyto dla izolacji metodą immunodetekcji klonów cDNA kodujących odpowiednie enzymy. Poliklonalne przeciwciała zastosowano dla izolacji następujących genów: kinazy adenylanowej z kukurydzy, reduktazy hydrokspirogironianowej i reduktazy gliksalanowej ze szpinaku i gfochu oraz reduktazy ferredoksyna - tioredoksyna ze szpinaku (podjednostki A i B) uzyskując od 1 do 5 pozytywnych klonów dla każdego z białek.

Analiza DNA wykazała, że wielkość insertów w różnych klonach wahała się od 0.3 do 1.7 Kb. Należy podkreślić, iż szczególnie długie inserty (1.2 - 1.7 Kb) wyizolowano w przypadku kinazy adenylanowej z banku klonów cDNA w λ UNI-ZAP. Analiza sekwencyjna tych klonów sugeruje, że otrzymano cały gen cDNA kodujący kinazą adenylanową działającą w chloroplastach kukurydzy. Badania nad pozostałymi klonami są w toku.

Publikacje: 566/A, 554/A

Temat 13 Występowanie i rola lipidów terpenoidowych w tkankach roślinnych. Badania struktury i biosyntezy.

Zespół: Prof. dr T. Chojnacki, dr W. Jankowski

W ponad rocznym okresie, który upłynął od czasu finalizowania badań prowadzonych w obrębie CPBP 3.13.1 - Molekularne podstawy biotechnologii pt. "Poliprenole, dolichole i ich pochodne - występowanie w przyrodzie, ich rola i metabolizm" oraz w CPBP 04.05 - Założenie narodowej kolekcji zagrożonych gatunków roślin ze szczególnym uwzględnieniem dzikich gatunków i form drzew i krzewów owocowych - pt. "Zbadanie występowania długołańcuchowych poliprenoli u roślin oraz możliwości ich wykorzystania dla wytwarzania preparatów lipidowych dla celów badawczych," znaczna część wysiłku poświęcona została na sformułowanie nowych projektów badawczych.

Jednym z nich jest badanie polizoprenoidów w tkankach dwu przedstawicieli Brassicaceae: rzepaku *Brassica napus* oraz Rzodkiewnika

pospolitego *Arabidopsis thaliana*. Dla realizacji tego projektu nawiązano współpracę z Inst. Hod. i Aklimatyzacji Roślin (Radzików i Poznań), Z-dem Gen. Roślin Uniwersytetu Śląskiego oraz Z-dem Fizj. Roślin UW. Z uzyskanego materiału wykonano wstępne analizy polizoprenoidów. Podobne tanki *Arabidopsis thaliana* zawierają je w niewielkich ilościach tak, że badania nad metabolizmem polizoprenoli u tego najważniejszego obiektu genetyki roślin wymagać będą bardzo sprawnej analityki. Nadmienić należy iż zarówno gradientowa chromatografia cienkowarstwowa jak i wysokociśnieniowa chromatografia kolumnowa zostały właśnie uruchomione w Z-dzie Fosfolipidów.

1. Wykazano powszechne występowanie w liściach niemalże wszystkich badanych gatunków rodzaju *Rosa* licznej, skomplikowanej, zgrupowanej w dwie rodziny mieszaniny poliprenoli o długości od 80 do 180 węgli z dominującymi izoprenologami C_{90} i C_{120} lub $C_{130-140}$. Jest to następna po rodzaju *Potentilla*, z kilku badanych taxonów bardzo różnicowanej rodziny *Rosaceae*, grupa roślin akumulująca unikalne wśród okrytozalążkowych długie i super długie poliprenole. Powiększono do ok. 250 gatunków lub odmian bank całkowitych ekstraktów lipidowych niezwykle różnicowanej rodziny *Rosaceae*. Analizując polizoprenoidy zawarte w liściach przedstawicieli rodzaju *Rosa* wykazano powszechne występowanie w tym taksonie skomplikowanej, licznej zgrupowanej w dwie rodziny mieszaniny poliprenoli. Wyekstrahowano i wstępnie zcharakteryzowano na zawartość polizoprenoidów całkowite ekstrakty lipidów prawie 50 roślin rodziny *Ericaceae*.

2. Wykazano, że charakterystycznym dla rodzaju *Capparis* jest akumulacja w liściach poliprenoli rzadko występujących u okrytonasiennych zbudowanych z od 60 do 75 węgli. W większości badanych gatunków występują ponadto niewielkie ilości C_{85} - C_{120} poliprenoli. W liściach *Capparis soriacea* znaleziono po raz pierwszy w tym organie zarówno poliprenole jak i dolichole.

3. Kontynuując wieloletnią owocną współpracę z Uniwersytetem i Instytutem Karolinskim ze Sztokholmu w dziedzinie będącej obecnie obszarem współdziałania tj. biosyntezy polizoprenoidów z użyciem odmiennych modeli badawczych oraz samodzielnie zsyntetyzowanych

niedostępnych handlowo radioaktywnych substratów wykazano:

- a. obecność conajmniej dwu cis-prenyl transferaz w mikrosomach wątroby szczura oraz determinowanie długości łańcucha dolicholi biosyntetyzowanych z udziałem tych enzymów obecnością w mieszaninie inkubacyjnej białkowego nośnika steroli /SCP₂/ zlokalizowanego w cytozolu homogenatu wątroby.
- b. brak akumulacji w komórkach *Rhodospirillum rubrum* poliprenolu pomimo istotnej zawartości fosforanu C₈₀ poliprenolu oraz wysokiej aczkolwiek zależnej od dostępnego w pożywie źródła węgla zawartości ubiquinonu i karotenoidów.

4. We współpracy z Instytutem Patologii Bułgarskiej Akademii Nauk wykazano niższą zawartość dolicholi w tkankach podczas pełnej aktywności fizjologicznej zwierząt hibernujących. Publikacja podsumowująca dotychczasowe badania dolicholi w tkankach fauny bałkańskiej ukazała się w 1991 r.

Publikacje: 2739, 2741, 2756, 2758, 2787, 2788, 560/A, 561/A, 562/A, 563/A, 539/A

Temat 14 Właściwości wybranych enzymów przemiany purynowej

Zespół: Prof. dr M. Jeżewska, dr Z. W. Kamiński, dr B. Zakrzewska,
mgr H. Trębacz, techn. G. Jewdoszuk

Badano wpływ zakażenia pasożytniczego przywrami na metabolizm purynowy organizmu gospodarzy pośrednich - ślimaków. Oznaczono aktywności enzymów katabolizujących i reutilizujących związki purynowe: fosforylasy adenozynowej i inozyno-guanozynowej, deaminazy adenozyny oraz fosforybozylotransferaz adeninowej i hipoksantyno-guaninowej w wątrobotrzustce ślimaków 7 gatunków z 5 rodzin systematycznych oraz w postaciach larwalnych przywr 2 gatunków. Zakażenia przywrami nie mają wyraźnego wpływu na poziom tych enzymów w wątrobotrzustce ślimaków. Fosforylaza adenozyny okazała się enzymem powszechnie występującym u przywr i ślimaków.

W celu ustalenia czy istnieje specyficzność tkankowa oksydo-

reduktaz ksantynowych wyodrębniono ten enzym z nerki kury i określono jego właściwości kinetyczne, wykrywając pewne różnice w porównaniu z enzymem z wątroby kury.

Kontynuowano pracę nad oczyszczaniem oksydoreduktaz ksantynowych za pomocą chromatografii powinowactwa. Opracowano modyfikację metody lokalizacji oksydoreduktaz ksantynowych na żelu poliakrylamidowym.

Publikacje: 2790

Temat 15 Izolacja i charakterystyka białek roślinnych uczestniczących w procesach fosforylacji i defosforylacji

Zespół: Doc. dr G. Muszyńska, dr G. Dobrowolska, mgr J. Szczegielniak,
mgr I. Jagiełło, mgr V. Lubńska

Upřednio wykazaliśmy, że młode siewki kukurydzy cechuje wysoka aktywność enzymów fosforylujących i defosforylujących kwasne i zasadowe domeny w białkach. Obserwacje te skłoniły nas do identyfikacji i dalszej charakterystyki kinaz i fosfataz białkowych. Jedną z trzech kinaz kazeinowych obecnych w siewkach kukurydzy (nazwana CK IIB) - kinaza o cechach funkcjonalnych podobnych do zwierzęcej oligomerycznej kinazy kazeinowej typu 2- jest enzymem manomerycznym o masie cząsteczkowej 37 kDa. Badania immunologiczne wykazały homologię enzymu roślinnego do katalitycznej podjednostki α/α' enzymu zwierzęcego. CK IIB jest pozbawiona zdolnej do fosforylacji regulatorowej podjednostki zwierzęcych kinaz kazeinowych typu 2. Inna kinaza białkowa obecna w siewkach kukurydzy, fosforylująca histon H1, została wstępnie oczyszczona poprzez chromatografię jonowymienną (DE-celulose) i chromatografię hydrofobową (Octyl - Sepharose). Aktywność tego enzymu, stymulowana przez specyficzne fosfolipidy i kwasy tłuszczowe, jest hamowana przez związki chelatujące jony wapnia (EGTA i EDTA). Powyższe właściwości pozwalają zaszerzować ten enzym roślinny do znanych dotychczas u zwierząt i drożdży kinaz białkowych C.

W siewkach kukurydzy obecne są trzy enzymy defosforylujące fosfokazeinę, z których dwa wykazują specyficzną substratową typową dla grupy fosfataz kwaśnych. Trzeci enzym natomiast, efektywnie defosforylujący fosfohiston H1 i hamowany przez kwas okadeinowy (z ang. okadaic acid) należy do grupy fosfataz fosfoproteinowych typu 2A, powszechnie występujących w świecie zwierzęcym.

Publikacje: 2738, 2745, 548 A*, 549 A.

Temat 16 Swoistość i lokalizacja enzymów nukleolitycznych

Zespół: Prof. dr H. Sierakowska, mgr J. Cieśla

Zbadano właściwości substratowe i inhibitorowe cyklicznych fosforanów następujących analogów nukleozydów: 9-(1,3-dihydrokso-2-propoksymetylo) guaniny (DHPG), 9-(3,4-dihydroksobutylo) guaniny (DHBG), 9-(2,3-dihydroksopropylo)guaniny (HPG), 9-(3-hydrokso-metylo-4-hydroksobutylo) guaniny (C-DHPG) i 9-(2-hydrokso-metylo 4-hydroksobutylo) guaniny (2HM-HBG), wobec fosfodiesterazy z mózgu wołu, fosfodiesterazy z serca wołu, fosfodiesterazy z jadu węża, RNAzy A, RNAzy T₁, RNAzy T₂, nukleazy P₁ i fosfodiesterazy z bulwy ziemniaka. Badane analogi nie są substratami dla większości użytych enzymów. Dwie fosfodiesterazy - z mózgu wołu i z jadu węża, oraz RNAzy A, T₁ i T₂ nie hydrolizowały żadnego z pięciu badanych cyklicznych fosforanów. Dla wymienionych enzymów badane analogi nie były też znaczącymi inhibitorami. Przy równomolowym stężeniu substratu i analogu aktywność enzymatyczna ulegała obniżeniu najwyżej o 30%. Jedynie RNAza T₂ hamowana była nieco silniej (o ok. 60%) przez HPG-cmp i 2HM-HBG-cmp. Pozostałe trzy enzymy hydrolizowały niektóre z badanych cyklicznych fosforanów analogów nukleozydów: fosfodiesteraza z serca wołu DHBG-cmp, nukleaza P₁ DHBG-cmp i HPG-cmp, fosfodiesteraza z bulwy ziemniaka DHPG-cmp, DHBG-cmp i HPG-cmp. Na podstawie otrzymanych wyników wysunięto sugestie dotyczące zależności pomiędzy strukturą związku a możliwością rozpoznania go przez enzym hydrolizujący pierścien fosforanowy. Przede wszystkim - o rozpoznaniu acyklicznego

analogu "górnej" lub "dolnej" części pierścienia rybozy (club deoksyrzybozy) decyduje obecność lub nieobecność atomu tlenu w pozycji związanej z atomem C^{1'}, odpowiadającego atomowi O⁴, w normalnej cząsteczce. Wynika z tego, że tylko DHPG-cmp jest rozpoznawany jako analog "górnej" części pierścienia cukrowego, a wszystkie pozostałe jako analogi "dolnej" części. Natomiast wielkość pierścienia fosforanowego: pięcio-, sześci- czy siedmioczłonowy wydaje się mieć nieco mniejsze znaczenie.

Ponadto, na podstawie badań kinetycznych i specyficzności substratowej opracowano model centrum aktywnego fosfodiesterazy z bulwy ziemniaka, oraz model zmian zachodzących w nim podczas wybiórczej inaktywacji.

Temat 17 Aktywność fosfataz izolowanych z kukurydzy

Kierownik: Dr hab. T. Sawicka

Siewki kukurydzy linii S-72 i F-7 hodowano w 8°C i 22°C. W korzeniach oznaczano aktywność kwaśnej fosfatazy i beta-galaktozydazy. Enzymy izolowano ze ścian komórkowych działając 0.5M NaCl w pH 5.1. Szybkość uwalniania p-nitrofenyliu z p-nitro fenylfosforanu i p-nitrofenylo-beta-D-galaktopyranozydu oznaczano spektrofotometrycznie. Stwierdzono, że aktywność kwaśnej fosfatazy jest zależna od temperatury w jakiej hodowano badane rośliny. W preparacie enzymatycznym z korzeni kukurydzy wrażliwej na chłód /linia S-72/ hodowanej w 8°C, aktywność kwaśnej fosfatazy była obniżona o 57% w porównaniu z kontrolą podczas gdy u roślin chłodo-odpornych /linia F-7/ aktywność obniżała się tylko o 36%. Zaobserwowano różnice w optimum kwaśnej fosfatazy w zależności od tego z jakiej linii i z jakich roślin pochodził enzym. Optimum temperatury dla enzymu z korzeni odmiany chłodo-wrażliwej z roślin poddanych działaniu chłodu było przesunięte w kierunku niskich temperatur /25-35°C/. U odmian chłodo-odpornych optimum temperatury było przesunięte w kierunku temperatur /50°C-60°C/. Wzrost korzeni w chłodzie spowodował

zwiększenie wrażliwości enzymu /mierzonej hamowaniem aktywności na działanie zarówno niskiej /40°C/ jak i wysokiej /60°C/ temperatury inkubacji.

Optimum temperatury beta-galaktozydazy niezależnie od chłodowrażliwości odmiany kukurydzy i temperatury wzrostu mieściła się w zakresie 55°C-60°C. Aktywność właściwa beta-galaktozydazy ulegała obniżeniu o 40% u roślin hodowanych w chłodzie niezależnie od chłodo-wrażliwości rośliny. Preparaty enzymatyczne kwaśnej fosfatazy uzyskane przez zadziaływanie na frakcję ścian komórkowych buforem o pH 7.5 lub buforem o pH 5.1 zawierającym 0.5M NaCl chromatografowano na kolumnach z Sephadexem G-200 i porównywano profil elucji.

Wnioski: Obniżenie aktywności kwaśnej fosfatazy w korzeniach roślin chłodo-wrażliwych rosnących w 8°C dowodzi chłodo-wrażliwości enzymu. Przesunięcie optimum temperatury dla aktywności kwaśnej fosfatazy w kierunku niskich temperatur u roślin chłodzonych sugeruje utworzenie nowej formy enzymu pod wpływem chłodu. Chromatografia na Sephadexie G-200 wykazała, że preparat kwaśnej fosfatazy izolowany z frakcji ścian komórkowych po zadziałyaniu 0.5 M NaCl w pH 5.1 składa się z dwu form enzymu z których jedna pochodzi z cytoplazmy. Optimum temperaturowe dla aktywności beta-galaktozydazy w korzeniach roślin rosnących tak w cieple jak i w chłodzie wynosi 55°C-60°C.

Temat 18 Enzymy nukleolityczne roślin wyższych

Zespół: Prof. dr J.W. Szarkowski, dr E. Kuligowska, dr M.A. Siwecka,
dr A. Przykorska, mgr M. Mońko, mgr J. Sadowska, techn. D. Kiar-
kowska

W celu dalszego określenia specyficzności dwóch nukleaz - nukleazy Rn z jąder zarodków żyta i nukleazy Wch z chloroplastów liści pszenicy zbadano aktywność tych enzymów wobec substratów o znanej strukturze trzeciorzędowej tj. wobec tRNA Phe i tRNA Asp z drożdży. Wykazano, że enzymy te rozpoznają w natywnej cząsteczce tRNA jednoniciowe fragmenty, które są przestrzennie wyeksponowane. Zniesienie

oddziaływan trzeciorzędowych /np. polowa tRNA Asp/ powoduje wprowadzenie cięć w miejscach, które w natywnej cząsteczce były niedostępne dla enzymu.

Rozpoczęto badania nad strukturą dwóch form SS rRNA wyizolowanych z ludzkiej tkanki nowotworowej /Myoma/ w celu porównania ich sekwencji i konformacji z rRNA tkanek prawidłowych.

Wyizolowano i oczyszczono nukleazę ze stromy chloroplastów liści pszenicy. Uzyskano 320-krotne zwiększenie aktywności wobec DNA zdenaturowanego i 70-krotne wobec RNA. Preparat enzymatyczny wykazuje jednorodność na żelu poliakrylamidowym. Optimum pH działania na zdenaturowane DNA znajduje się pomiędzy wartościami 5.5 - 9.0, natomiast w przypadku RNA przy pH 5.5. Ciężar oczyszczzonego enzymu wynosi około 28 kD. Enzym jest endonukleazą degradującą pojedynczonicowy DNA ok. dziesięciokrotnie szybciej niż DNA dwuniciowy, nie wymaga obecności dwuwartościowych jonów i katalizuje hydrolizę syntetycznych rybohomopolimerów z różną szybkością w kolejności: poliA>poliU>poliC>poliG. Badany enzym atakuje superspiralny DNA faga ok174, powodując powstawanie zrelaksowanej formy kołistej a następnie formy liniowej.

Zmodyfikowano procedurę oczyszczania enzymu hydrolizującego dwuniciowe RNA, związanego z rybosomami zarodków żyta. Zastosowanie chromatografii powinowactwa na Octyl-Sepharozie pozwoliło na uzyskanie preparatu o aktywności 3.5-krotnie wyższej od aktywności rybosomów wobec poliI:poliC, jednak o 15-krotnej preferencji wobec tego substratu. Jednocześnie preparat wykazywał znikomą aktywność wobec RNA i DNA, przy czym stosunek obu aktywności był równy 1.0. Świadczyło to, że enzym jest nukleazą.

Publikacje: 2785, 533/A, 540/A

Temat 19 Rola białek jądrowych w regulacji genomu roślinnego

Zespół: Doc. dr B. Wielgat, prof. dr K. Kleczkowski, dr A. Szerbakowa,
mgr M. Borkowska, mgr J. Pomorska, mgr B. Kłos

Badania modyfikacji białek jądrowych prowadzono na materiale z hodowli in vitro komórek i tkanek ziemniaka. Najwyższą aktywność poli-

stwierdzono w zawieszynie komórkowej z logarytmicznej fazy wzrostu. Intensywność fosforylacji białek jądrowych była 3-krotnie wyższa w liściach ziemniaka z hodowli in vitro w porównaniu do prób roślin z hodowli in vivo i zawiesziny komórkowej. Natomiast związana z chromatyną aktywność w syntezie polipeptydów była wysoka w liściach roślin zarówno z hodowli in vivo jak i in vitro. Wykazane różnice w aktywności niektórych enzymów uczestniczących w ekspresji genomu roślinnego mogą stanowić cenną informację w ocenie stopnia zmienności samoklonalnej pojawiającej się często w hodowli in vitro komórek i tkanek.

Kontynuowano pracę nad uzyskaniem optymalnych warunków do regeneracji roślin z zawiesziny komórkowej, pędów i liści ziemniaka. Rozpoczęto badania transformacji używając zawiesziny komórkowej, fragmentów liści i międzywęźli ziemniaka oraz liści tytoniu jako rośliny modelowej. Do transformacji użyto szczep *Agrobacterium tumefaciens* z rozbrojonym plazmidem pBI 121 zawierającym w T-DNA sekwencję kodującą genu fosfotransferazy neomycynowej II (NPT II) i genu reporterowego beta-glukuronidazy (GUS). Po przeprowadzeniu selekcji na pożywcze z kanamycyną uzyskano 4% roślin transgenicznych z międzywęźli ziemniaka i struktury embrioido-podobne z zawiesziny komórkowej. Ekspresję genu NPT II w roślinie potwierdzono autoradiograficznie po inkubacji z gamma-³²P-ATP, a GUS histochemicznie. Kontynuowana będzie regeneracja roślin z materiału hodowanego in vitro po transformacji *Agrobacterium* z wprowadzonymi "użytecznymi" genami.

Publikacje: N 2786, N 2763

Temat 20 Genetyka mitochondrialna drożdży

Zespół: Dr. M. Boguta, mgr B. Szczesniak, mgr A. Konopińska, mgr M. Murawski

Przeprowadzono komputerowe badania porównawcze sekwencji produktu genu NAM9 i innych znanych białek. Wyłoniono rodzinę 9-ciu białek rybosomalnych typu S4 z różnych organizmów: bakterii, chloroplastów

roślin wyższych oraz niższych eukariontów. Stwierdzono bliższe pokrewieństwo białka NAM9 z białkami bakterii i chloroplastów niż z cytoplazmatycznymi białkami niższych eukariontów, włączając drożdże. Badania przeprowadzono we współpracy z Centrum Genetyki Molekularnej w Gif sur Yvette, we Francji.

Rozpoczęto prace nad ekspresją genu NAM9. Metodą hybrydyzacji Northern zidentyfikowano transkrypt genu NAM9 o przybliżonej wielkości 1,5 kb. Praca nad regulacją transkrypcji jest w toku.

Gen NAM9 przeklonowano do wektora z promotorem T7 polimerazy RNA. Otrzymany plazmid służy jako matryca w systemie in vitro transkrypcji i translacji. Ustawienie tej metody w laboratorium jest ciągle w toku. Kontynuacją badań genetycznych jest próba identyfikacji genów, których produkty oddziałują z białkami NAM9. Wykorzystujemy własność termowrażliwości mutanta NAM9. Udało się stwierdzić, że mutacja NAM9 w chromosomie lub na plazmidzie blokuje powstawanie mitochondrialnych rewersji wtórnych. Wiąże się to z fenotypem gly⁻ w temperaturze restryktywnej szczepu NAM9 zawierającego dziki genom mitochondrialny mit⁺. Wniosek ten potwierdzono stosując metodę cytodukcji.

Zidentyfikowano wtórne rewertanty jądrowe cechy temperaturowrażliwości genu NAM9. Niestety wszystkie przetestowane mutacje prowadziły do degradacji mtDNA, co uniemożliwia ich klonowanie. Rozpoczęto alternatywne doświadczenia polegające na transformacji szczepu NAM9 bankiem genów drożdży i poszukiwaniu wstawki, która komplementuje fenotyp temperaturowrażliwości.

Temat 21 Molekularne regulacje syntezy glikokonugatów w komórkach drożdży i Trichodermy

Zespół: Doc. dr G. Palamarczyk, dr A. Szkopińska, dr J. Kruszevska, mgr E. Soszyńska, J. Hertel

W okresie sprawozdawczym prowadzono badania nad specyficznością substratów kinazy dolicholowej (DKK) i syntazy mannozylofosfo-dolicholu (MPDS) z mikrosomów szczura. Obydwa enzymy biorą udział w ciągu reakcji prowadzących do syntezy N-glikozyliowanych

białek. Stwierdzono, że kinaza dolicholowa fosforyluje dolichole o długości łańcucha poliprenolowego zawierającego od 11-32 reszt izoprenowych a także rozpoznaje cząsteczki o podobnej hydrofobowości ale zawierające nienasyconą resztę izoprenową (poliprenole). Drugi z enzymów, MPDS, okazał się bardziej specyficzny w stosunku do struktury lipidowego substratu, tj. przenosił resztę mannozy z GDPMan na generowane w reakcji z kinazą dolicholu, fosforany dolicholu o różnicowanej długości łańcucha (11-32 reszt izoprenowych) ale odpowiadające długością fosforany poliprenoli były dużo gorszymi akceptorami reszt mannozy.

Badano możliwość regulacji aktywności syntazy mannozylo-fosfo-dolicholu (MPDS) z Trichoderma reesei przez fosforylację kinazą białkową zależną od c-AMP. Sekwencjonowanie drożdżowego genu MPDS wykazało istnienie potencjalnego miejsca fosforylacji w cząsteczce enzymu. Stwierdziliśmy, że MPDS z białkami mikrośrodków Trichoderma reaguje na fosforylację kinazą białkową zależną od c-AMP trzykrotnym wzrostem aktywności w warunkach derepresji katabolicznej tego enzymu. Ponadto stwierdziliśmy, że zjawisku depresji towarzyszy wzrost poziomu c-AMP w komórkach Trichoderma. Sądymy, że istnieje możliwość regulacji syntazy MPD (mannozylo-fosfo-dolicholu), będącego donorem reszt mannozy w reakcji syntazy O-mannozylowanych białek, w tym enzymów cellulolitycznych produkowanych przez komórki Trichoderma na drodze fosforylacji i defosforylacji. Prace te są kontynuowane we współpracy z Politechniką w Wiedniu. Podjęto próbę sklonowania drożdżowego genu syntazy glukozylu-fosfo-dolicholu (GPDSD) na drodze komplementacji mutanta alg 5 pozbawionego aktywności a także białka, co stwierdzono wcześniej, syntazy. Mutanta alg 5 poddano transformacji drożdżowym bankiem genów szczepu dzikiego w epizomalnym wektorze wielokopiowym -YEP24. Ze względu na brak wyraźnych cech fenotypowych szczepu alg 5 poszukiwanie "pozytywnych" transformantów oparto na oznaczaniu aktywności enzymatycznej nabytej przez transformację. W tym celu opracowano metodę oznaczania aktywności syntazy in situ w rosnących koloniach drożdży. Prace te kontynuowano we współpracy z Uniwersytetem w Stony Brook (USA).

Publikacje: 2792, +2748, 546A*

Temat 22

Mechanizmy przystosowania metabolizmu E. coli do cyklicznych zmian środowiska

Zespół:

Prof. dr T. Kłopotowski, dr K. Krajewska-Grynkiewicz, mgr R. Gromadka, mgr J. Madej

Escherichia coli, jak i inne bakterie jelitowe cyklicznie zmieniają środowisko swej egzystencji: z beztlenowego, ciepłego i zawierającego obfitość substancji odżywczych - do środowiska tlenowego, chłodnego i skąpego w te substancje - lub odwrotnie.

Nasze obserwacje wskazują że regulon obejmujący geny struktury cps i geny regulatorowe rcs, a sterujący syntezą kwasu kolaninowego, substancji nadającej śluzowatość koloniom bakterii, może być dogodnym wskaźnikiem globalnych zmian metabolicznych indukowanych przez zmianę fazy cyklu życiowego.

W tym roku wykazaliśmy, że czynnikiem istotnym dla temperaturowej komponenty procesu adaptacyjnego jest produkt, wykrytego przez nas uprzednio genu rcsD. Jego brak powoduje, że przejście z niższej do wyższej temperatury wzrostu powoduje zamiast spadku transkrypcji operonu cps, jej zwiększenie. Nasze doświadczenia z mutantami o różnych kombinacjach alleli genów rcsC wskazały, że ich produkty nie są sensorami temperatury, a raczej należą do systemu transmisji informacji o temperaturze komórki do odpowiednich promotorów.

W pracach nad genem rcsD uzyskano serię jego mutantów metodą zlokalizowanej mutagenyzy, co pozwoliło niezależnie wnioskować o indywidualnych własności zmutowanych alleli. Zlokalizowano gen rcsD na mapie restrykcyjnej okolicy genów rcsD i fadR i potwierdzono kolejność rcsD-fadR-dadX. Przeniesiono gen rcsD na wektor pUC18 w celu ustalenia jego sekwencji nukleotydowej. Kontynuując prace nad tą okolicą chromosomu zsekwencjonowano region między operonem rcsD i genem fadR włącznie.

Publikacje: 560/A

Temat 23 Regulacja biosyntezy hemu i hemoproteidów w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*

Zespół: Prof. dr J. Rytko, dr T. Zolańek, dr A. Kurlandzka, mgr M. Skoneczny, mgr A. Chełstowska

W latach ubiegłych badano regulację biosyntezy hemoproteidów w drożdżach *S. cerevisiae* i ustalono, że katalaza A-modelowe białko, będące obiektem szczególnego zainteresowania, zlokalizowana jest w peroksisomach. Współdziała ona ze szlakiem peroksydacyjnej beta-oksydacji kwasów tłuszczowych i, podobnie jak enzymy tego szlaku, podlega indukcji przez kwasy tłuszczowe. Stwierdzenie współregulacji syntezy typowego hemoproteidu i innych, nie będących hemoproteidami, białek przez kwasy tłuszczowe spowodowało rozszerzenie prowadzonych badań i włączenie do nich zagadnień związanych z mechanizmem indukcji enzymów peroksydacyjnych i proliferacją peroksisomów. W ostatnim okresie wykazano, że tlen i hem są niezależnymi od siebie czynnikami regulującymi syntezę katalazy A i oksydazy acylo-CoA. W warunkach beztlenowych enzymy te są niewykrywalne. W warunkach bezhemowych poziom ich jest mniejszy, ale zachowana jest zdolność indukcji ich syntezy (w przypadku katalazy A - apoenzymu) przez kwas olejowy. Wykazano także, przy użyciu szczepu niosącego mutację cigl, powodującą syntezę enzymów peroksydacyjnych w warunkach represji glukozowej i w anaerobiozie, że w warunkach beztlenowych oksydaza acylo-CoA znajduje się we frakcji organeliarniej, co świadczy o zachowaniu w komórkach peroksyzomów. Podjęto próbę identyfikacji czynników uczestniczących w procesie indukcji proliferacji peroksyzomów. Założono, że było postulowane dla innych organizmów. Wykryto w cytoplazmie *S. cerevisiae* obecność takiego czynnika. Zająto się także porównaniem wzorów białek cytoplazmatycznych pochodzących z komórek drożdży hodowanych w obecności i bez kwasów tłuszczowych i stwierdzono liczne różnice w tych wzorach. Kontynuowano badania dotyczące ekspresji genu HEM12, kodującego dekarboksylazę uroporfirynogenu. Uprzednio stwierdzono, że w 5 spośród mutantów nagromadzających uroporfirynę i produkty jej dekarboksylacji w wyniku obniżenia aktywności UROD, nie ma żadnej

zmiany w części kodującej genu. Analiza genetyczna tych mutantów wykazała, że o akumulacji porfiryn decydują dwie mutacje nazwane dut (diminished UROD transcript) i ipa (increased porphyrin accumulation). Mutacja dut powoduje znaczne obniżenie ilości głównego transkryptu genu HEM12. Mniejszej ilości transkryptu towarzyszy mniejsza ilość immunologicznie wykrywanego białka i obniżona aktywność UROD. Występowanie mutacji dut nie prowadzi jednak do wyrażenia się fenotypu hem12 (akumulacja znacznych ilości porfiryn w komórkach), o ile nie występuje jednocześnie mutacja typu ipa. Wyizolowano trzy niealleliczne mutacje typu ipa, z których jedna, ipal, jest sprzężona z locus HEM12. Jeden z analizowanych zmutowanych alleli genu HEM12, niosący mutację zmieniającą kodon inicjacyjny AUG na AUA, został wykorzystany do opracowania metody pozytywnej selekcji supresorów inicjacji w *S. cerevisiae*. Zastosowanie tej metody pozwoliło na zidentyfikowanie grupy nowych spontanicznych mutacji supresorowych (dominujących i recesywnych) tego typu.

Publikacje: 542/A

Temat: 24 Genetyczna regulacja szlaków metabolicznych u grzybów

Zespół: Prof. dr A. Paszewski, dr M. Piotrowska, mgr R. Natorff, mgr J. Brzywczy, mgr J. Topczewski, mgr M. Sienko

Zakończono badania nad rolą fizjologiczną sulfhydrylasy O-acetylthioesteryny w *Kluyveromyces lactis*, *Yarrowia lipolytica*, *Schizosaccharomyces pombe* i *Trichosporon cutaneum*. Stwierdzono, że enzym ten podlega metabolicznej represji siarkowej we wszystkich badanych gatunkach, ale jest niezbędny do wzrostu na podłożu minimalnym tylko u *K. lactis*.

Sklonowano gen cys A nidulans, posługując się kosmidowym bankiem genów. Skrócono odcinek noszący ten gen do 7 kb. Trwa praca nad dalszym jego skróceniem w celu sekwencjonowania. W trakcie pracy opracowano metodę zwiększania efektywności protoplastyzacji przez dodawanie do pożywki wzrostowej lipidów. Skonstruowano szczep

A. nidulans do klonowania przez komplementację genów metG, sconB, sconC i sconD przy zastosowaniu banków mających jako gen selektywny argB i trpC.

Ubocznym tematem opracowywanym we współpracy z Instytutem Genetyki Roślin PAN było badanie komplementacji w heterokarionach szczepów patogena grzybowego Fusarium oxysporum i Fusarium redolens. Uzyskane dane świadczą, że są to różne rasy tego samego gatunku.

Publikacje: 2769, 544/A, 555/A, 2794

Temat 25 Regulacja metabolizmu siarczianowego u prokariotów

Zespół Prof. dr D. Hulanicka, mgr M. Zatyka, mgr E. Sadowy

Kontynuowano prace nad sklonowaniem i scharakteryzowaniem genu cysX, kodującego białko wiążące siarczany /SBP/ u Enterobacteriaceae. Gen cysX, bez sekwencji liderowej, został namierzony metodą PCR /ang. polymerase chain reaction/ stosując zdegradowane primery, których sekwencje zaprogramowano na podstawie sekwencji aminokwasowej SBP S. typhimurium. Namierzony fragment został sklonowany na plazmid i ustalono jego sekwencję. Ciągłość genu przerwano integrując kasotę kanamycynową a następnie tak zmutowany allel wprowadzono do chromosomu. Mutant cysX nie wykazywał zapotrzebowania na cysteinę. Natomiast podwójny mutant cysX cysP /cysP koduje białko wiążące tiosiarczany/ jest auxotrofenem cysteinowym. Stosując bibliotekę Kohary na fagu λ stwierdzono, że gen cysX mapuje się na 89' chromosomu. Z faga λ 540 /zawierającego region 89' chromosomu/ przeklonowano na plazmid gen cysX i ustalono pełną sekwencję tego genu.

Stwierdzono, że w tym systemie transportu dwa białka wiążące substrat /siarczany i tiosiarczany/, współdziałają z tymi samymi białkami membranowymi: CysT, CysW i CysA.

Publikacje: 552/A, 537/A 2778, 2779

Temat 26 Efekty pól elektrycznych na żywe komórki

Zespół Prof. dr M. Fikus, mgr P. Pawłowski

Opracowany w ubiegłym roku analityczny model elektromechaniczny komórki w zewnętrznym periodycznym polu elektrycznym zastosowano do analizy periodycznych naprężeń ściskająco-rozciągających w błonie komórkowej, osiągających maksymalną wartość na biegunach komórki. Doświadczalnie wyznaczono naprężenia krytyczne powodujące elektrodstrukcję komórek. Naprężenia te zmieniają się w funkcji częstotliwości pola elektrycznego i mogą być opisane wieloparametryczną funkcją uwzględniającą procesy tłumienia i rezonansu. Przeanalizowano zmiany zespolonych parametrów reologicznych: współczynników lepkości, sprężystości i czasu retardacji, w funkcji częstotliwości pola elektrycznego. Wykazano, iż na opisywane zależności ma wpływ integralność cytoszkieletu komórki.

Publikacje: 2746, 2749

Temat 27 Mutageniza, naprawa i ekspresja DNA

Zespół Prof. dr C. Janion, dr E. Śledzińska-Gójska, dr E. Grzesiuk, mgr A. Fabisiewicz, mgr A. Płachta

Dalsze badania nad specyficznością mutacji oznaczonej metodą pośredniego sekwencjonowania DNA poprzez analizę rewertantów argE3 $\rightarrow$ Arg⁺ wykazały, że: 1) Większość transkrypcji GC-AT indukowanych MNNG i hydroksylaminą (HA) zachodzi na nici transkrybowanej; stosunek mutacji zachodzących na nici transkrybowanej do nietranskrybowanej wynosi dla MNNG 2.511, dla HA- 911. 2) Mutacje GC $\rightarrow$ AT indukowane HA są wynikiem modyfikacji reszt cytozynowych znajdujących się w DNA, a nie w puli nukleozydowej. 3) HA, obok tranzykcji GC $\rightarrow$ AT, może indukować transwersje GCAT $\rightarrow$ TA. Stwierdzono również, że supresorowe tRNA gluTCSuUAA/G3 nie powoduje supresji

mutacji argE3, hisG4, ani thr-1. Ma to istotne znaczenie dla wiarygodności stosowanej metody.

Badania nad mutacjami i adaptacją komórek do czynników alkilujących potwierdziły wyniki Takahashi i wsp., że MMS indukuje "the adaptive response" poprzez bezpośrednią metylację cys69 białka Ada. Metylowane białko cys69Ada jest pozytywnym regulatorem transkrypcji białek regulonu "the adaptive response". Konsekwencją tego jest, że poziom mutacji indukowanych MMS w komórkach adaptowanych i nieadaptowanych jest podobny.

Badania nad wpływem szoku cieplnego na syntezę białek wykazały, że szok cieplny nie wpływa na ekspresję białek należących do regulonu "the adaptive response"; ekspresja białek regulonu SOS jest nieco podwyższona; natomiast drastycznie spada ekspresja genu lacZ. Spadek ekspresji nie jest jednak wynikiem indukcji białek szoku, a destrukcyjnym działaniem temperatury.

Publikacje: 2754, 2795, 529/A, 530/A, 531/A

Temat 28 Regulacja wierności replikacji DNA w komórkach bakteryjnych i komórkach drożdży

Zespół: Prof. dr Z. Cieśla, mgr M. Kanbus, mgr K. Stankiewicz

W poprzednich badaniach wykazano, że produkty genów umuDC *Escherichia coli* odwracają antymutatorowy efekt podjednostki epsilon polimerazy III DNA, kodowanej przez gen dnaO.1 posiadającej aktywność egzonukleazy korektorskiej. W toku obecnie prowadzonych prac stwierdzono, że mutant recA₄₄r lexA₇₁!!TnS dnaO₄₉ konstytutywnie wyrażający odpowiedź SOS i zawierający jednocześnie defektywną podjednostkę epsilon, nie jest zdolny do utrzymywania wysokokoplowego plazmidu nosącego operon umuDC. Szczep ten utrzymuje jednak plazmid nosący tylko proksymalny gen operonu, umuD. Wynik ten sugeruje, że zwiększone wewnątrzkomórkowe stężenie UmuC jest toksyczne dla tego mutantu oraz wskazuje na bezpośrednią interakcję tego białka z

replisomem. Ta niezdolność recA₄₄r lexA₇₁!!TnS dnaO₄₉ do utrzymywania plazmidu nosącego umuDC została wykorzystana do pozytywnej selekcji supresorowych mutacji znoszących ten efekt. Wyizolowano serię takich mutantów. Można je podzielić na dwie zasadnicze grupy: a) noszących mutacje w obrębie plazmidowego operonu umuD i b) noszących mutacje chromosomalne, które zmieniają własności replisomu. Obie klasy mutacji są obecnie przedmiotem szczegółowej analizy.

Temat 29 Mechanizmy mutagenyzy indukowanej przez promienie UV

Zespół: Prof. dr I. Pietrzykowska, mgr A. Bębenek

Kontynuowano badania nad rolą mutacji siba w mutageniezie zależnej od indukcyjnego systemu SOS u *E. coli*. Mutacja ta nadaje charakter antymutatorowy w UV-indukowanej mutageniezie jak i w mutageniezie "spontanicznej" w szczepie recA730, w którym proteolityczna aktywność białka RecA jest wyrażana konstytutywnie.

Uzyskano dalsze wyniki wskazujące, że efekt antymutatorowy siba związany jest z hamowaniem proteolitycznej aktywności białka Rec. Wykazano, że wprowadzanie plazmidu pGW 2423 nadprodukcującego białka UmuD UmuC całkowicie przywraca mutagenizę w szczepie recA730, natomiast plazmid pSE 117 nadprodukcujący białko UmuD tylko w nieznacznym stopniu. Białko UmuD jest aktywną w mutageniezie formą białka UmuD, którego aktywacja polega na proteolitycznym cięciu tego białka w pozycji cys₂₄-gly₂₅. Brak również efektywnego przywrócenia mutagenyzy przez wprowadzenie białka UmuD wskazuje, że mutacja siba powoduje hamowanie aktywności proteolitycznej białka RecA.

Wstępnie zmapowano położenie mutacji siba na mapie genetycznej *E. coli* i ustalono, że znajduje się ona w okolicach 85 min mapy między genami ilv i metE. Rozpoczęto próby klonowania mutacji siba metodą *in vivo* przy użyciu bakteriofaga miniMu.

Publikacje: 2771

Temat 30 Mechanizmy naprawy i rekombinacji DNA u drożdży

Zespół: Prof. dr J. Żuk, prof. dr W. Jachymczyk, dr Baranowska-Wyszomirska, dr Błęcka-Czernik, mgr D. Zaborowska, mgr W. Suszko

Badano rolę genu CDC8 w epizomalnej i integracyjnej transformacji u drożdży. Stwierdzono, że produkt genu CDC8 (kinaza tymidylanowa) bierze udział w procesie transformacji u drożdży. Termowrażliwy mutant cdc8-1 był transformowany epizomalnym pDQ8 i integracyjnym pDQ8-1 plazmidami. Oba plazmidy zawierały gen CDC8. Otrzymane wyniki sugerują, że kinaza tymidylanowa jest konieczna zarówno dla epizomalnej jak i integracyjnej transformacji u drożdży.

Stwierdzono, że szczerp defektywny w genie RAD6, który kontroluje naprawę "error prone" u drożdży nie wykazuje mutacji indukowanej UV w locus CDC8 zarówno po bezpośrednim przeniesieniu do warunków restryktywnych jak i wówczas gdy komórki indukowane UV są inkubowane przez pewien okres czasu w permissywnych warunkach. W tym czasie poziom mutacji spontanicznych wzrósł bardzo istotnie.

Publikacje: 2757, 2772

PRACOWNIA IZOTOPOWA

Kierownik: Dr L. Nowak

W okresie sprawozdawczym wprowadzono metodę syntezy (β ³²P) adenozynotrójfosforanu o spec. aktyw. 5000 Ci/mMol.

Jednocześnie syntetyzowano radioaktywne preparaty:

γ ³²P-ATP, γ ³²P-CTP, γ ³²P-GTP, α ³²P-ATP, α ³²P-dCTP, α ³²P-ATP, α ³²P-CTP i α ³²P-UTP o spec. aktyw. 5000 Ci/mMol.

WSPÓŁPRACA Z KRAJOWYMI PLACÓWKAMI NAUKOWYMI

Prof. K. L. Wierzchowski współpracuje z dr. M. Ciurakiem z Instytutu Chemii (Uniwersytet Gdański) w temacie "Synteza peptydów do badań nad przenoszeniem elektronu" oraz z doc. W. Markiewiczem z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN (Poznań) w temacie "Synteza fragmentów DNA do konstrukcji promotorów".

Prof. M. Fikus współpracuje z doc. W. Markiewiczem z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN (Poznań) oraz z prof. T. Wiluszem z Instytutu Biochemii (Uniwersytet Wrocławski).

Prof. T. Chojnacki w zakresie prowadzonych badań współpracuje z: Zakładem Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Instytutem Dendrologii PAN (Kórnik), Zakładami Genetyki Roślin SGGW, Uniwersytetem Śląskim (Katowice), Zakładem Fizjologii Roślin UW oraz z Instytutami Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (w Radzikowie i Poznaniu).

Prof. M. Jeżewska w zakresie prowadzonych w zespole badań nawiązała współpracę z prof. B. Kazubską z Instytutu Parazytologii PAN

Doc. Z. Zarębska współpracuje z Zespołem prof. W. Glińskiego z Kliniki Dermatologii AM w Warszawie w zakresie badań powstawania i leczenia łuszczycy u ludzi.

Dr T. Sawicka nawiązała współpracę z prof. A. Kacperską z Zakładu Fizjologii Roślin UW w temacie "Udział niskich temperatur w regulacji aktywności enzymów ściany komórki roślinnej"

WSPÓŁPRACA NAUKOWA Z ZAGRANICĄ

FRANCJA

Dr M. Tomaszewski przebywał na 3-miesięcznym stżu naukowym we Francji w Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej (Strasbourg), korzystając ze stypendium FEBS. Celem wyjazdu było opanowanie techniki hybrydyzacji typu "northern" w zastosowaniu do śledzenia transkrypcji wybranych genów.

Mgr A. Palucha przebywał 2 miesiące w Centrum Genetyki Molekularnej (Gif-sur-Yvette, Francja), prowadząc prace w ramach projektu sekwencjonowania genomu drożdżowego.

Mgr A. Kujała wyjeżdżała na 3 miesiące do Instytutu Jaques Monod (Francja) w celu prowadzenia prac nad klonowaniem i sekwencjonowaniem 3'OH końca genomu wirusa PLRV.

W zespole prof. Z. Lassoty kontynuowano wspólne badania z Uniwersytetem w Bordeaux (Université de Bordeaux, Laboratoire de Neuroendocrinologie) nad lokalizacją i funkcją neuropeptydów owadzych. Prowadzono identyfikację komórek neurosekrecyjnych w mózgu *Galleria* metodą immunohistologiczną.

Dr T. Żóładek w okresie sprawozdawczym przez 6 tygodni pracowała w Laboratorium Biochemii Porfiryń (Instytut J. Monod, Paryż, Francja), gdzie sekwencjonowała leżące poza kodonem STOP fragmenty zmutowanych alleli genu HEM12 oraz mapowała 3' koniec transkryptu tego genu.

Mgr A. Chełstowska miesiąc pracowała w Laboratorium Biochemii Porfiryń (Instytut J. Monod, Paryż, Francja). W czasie swojego pobytu mapowała start transkrypcji dla genu HEM12 oraz oznaczała ilość immunologicznie wykrywalnej dekarboksylazy uroporfirynogenu (białko kodowane przez gen HEM12) i jej aktywność w mutantach drożdżowych zaburzonych w biosyntezie hemu.

Zespół dr M. Boguty prowadzi współpracę z prof. P. Stonimskim z Centre de Genetique Moleculaire du CNRS (Gif-sur-Yvette, Francja). W ramach tej współpracy ustalono i przedyskutowano homologię sekencji białka NAMG do rybosomalnych białek S4 innych organizmów. Dr M. Boguta przebywała 1 tydzień w CGM w celu wspólnego przygotowania pracy do druku.

Mgr M. Murawski przebywał 6 tygodni w w/w placówce, gdzie wykonywał eksperymenty hybrydyzacji poli (A) RNA.

Dr A. Przykorska przebywała 3 tygodnie w Institut de Biologie Moleculaire et Cellulaire du CNRS (Strasbourg, Francja) oraz w Centre de Genetique Moleculaire (Gif-sur-Yvette, Francja), gdzie zajmowała się badaniem struktury tRNA przy użyciu nukleazy z jąder zarodków żyta.

Prof. W. Zagórski-Ostojka i mgr E. Grzybowska z Z-du Biosyntezy Białka prowadzą współpracę z Centrum Genetyki Molekularnej CNRS (Gif-sur-Yvette) dotyczącą badania mechanizmu składania RNA i biosyntezy białka w mitochondriach drożdży oraz sekwencjonowania RNA.

U S A

Doc. J. Kuśmerek przebywał 3 miesiące w pracowni prof. B. Singer, Donner Laboratory, University of California (Berkeley, USA), gdzie kontynuował badania nad molekularnymi mechanizmami mutagenезy i kancerogenезy wywołanymi przez chlorek winylu.

Dr M. Boguta prowadzi współpracę z prof. A. Hopper z Hershey Medical Center (Hershey, USA). W ramach tej współpracy przedyskutowano wspólny projekt grantu na temat "Poszukiwanie mutantów o zmienionym poziomie transportu białek do mitochondriów". Projekt ten został zaakceptowany w formie grantu w KBN.

Doc. G. Palamarczyk przebywała na 11 miesięcznym stażu naukowym na Uniwersytecie w Stony Brook (Wydział Biochemii i Biologii Komórki, prof. W. J. Lennarz, New York, USA). Efektem tego wyjazdu było wprowadzenie prac nad klonowaniem genów kodujących glikozylę - transferazy zależne od dolicholi do programu badawczego w IBB. Opracowanie wspólnego planu badań w tym zakresie z Uniwersytetem w Stony Brook, uzyskanie od partnera w USA zaopatrzenia w odczynniki niezbędne do wykonywania tematu.

Dr M. Boguta wyjeżdżała na 1 tydzień do Jerozolimy, gdzie prowadzi współpracę z prof. A. Loyterem z Hebrew University of Jerusalem. W ramach tej współpracy przedyskutowano i opracowano wspólny projekt grantu na temat "Overexpression of the plant S-rubisco and the yeast NAMG genes in transfected petunia: Effect on photosynthesis". Projekt został złożony do Agency for International Development, CRD program i oczekuje na akceptację.

Dr J. Hennig przebywa drugi rok w Rutgers University w New Brunswick (USA). Praca w tej placówce ułatwiła mu zmianę tematyki mikrobiologicznej na biologię molekularną wirusów roślinnych.

Dr M. Kłobocka przebywa w USA w ramach współpracy z National Institutes of Health (Bethesda). Tematyka pracy dotyczy wirusów

bakteryjnyh.

Doc. A. Bierzyński utrzymuje ścisłe kontakty naukowe z prof. P. S. Kiemem z Whitehead Institute (MIT, Cambridge, USA), który wykonał dla tematu kilka syntez peptydów.

JAPONIA

Zespół dr M. Boguty współpracuje z dr Bun-iciro Ono z Okayama University (Japonia). Wymieniono szczepy drożdży i przedyskutowano projekt doświadczeń, mających na celu ustalenie wpływu czynników cytoplazmatycznych na supresję genu NAM9. Ustalono wygłoszenie referatu przez dr M. Bogutę na konferencji "Supresory u grzybów" w Japonii w 1993 r.

SZWECJA

Prof. T. Chojnacki wyjeżdżał dwukrotnie do Szwecji w celu kontynuacji wieloletniej współpracy z Uniwersytetem i Instytutem Karolinskim w Sztokholmie w dziedzinie biosyntezy polizoprenoidów z użyciem odmennych modeli badawczych oraz samodzielnie zsyntetyzowanych radioaktywnych substratów.

Prof. dr D. Shugar przebywał 10 dni w Szwecji, w Karolinska Institutet oraz Medivir, Sztokholm (Szwecja) wygłaszając referaty na temat postępu w dziedzinie środków przeciwwirusowych.

Doc. G. Muszyńska przebywała 8 tygodni (z czego 2 tygodnie w ramach współpracy dwustronnej Królewskiej Szwedzkiej AN - PAN) w pracowni prof. L. Engströma (Zakład Chemii Medycznej Uniwersytetu w Uppsali, Szwecja), gdzie zajmowała się identyfikacją i charakterystyką zależnych od wapnia i fosfolipidów kinaz białkowych z siwek kukurydzy.

AUSTRIA

Zespół doc. G. Palamarczyk współpracuje z Politechniką w Wiedniu (Wydział Biochemii i Mikrobiologii, prof. C. P. Kubicek), realizując wspólny program badawczy w zakresie regulacji procesorów O-glikozylacji w komórkach Trichoderma. Strona austriacka finansuje zakup odczynników potrzebnych do pracy nad tym tematem.

Prof. J. Rytko wraz z zespołem kontynuuje wieloletnią współpracę z Zakładem Biochemii w Instytucie Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Wiedeńskiego.

SZWAJCARIA

Zespół prof. L. Wasilewskiej nawiązał nieformalną współpracę z Laboratoire de Biochimie Vegetale, Université de Neuchâtel Chemin Swajcaria), gdzie mgr B. Kwiatkowski i mgr A. Kwiatkowska przebywali na 2-miesięcznym stażu naukowym na zaproszenie strony szwajcarskiej.

DANIA

Dr K. Bobrowski dwukrotnie wyjeżdżał do dr. J. Holcmana w Riso National Laboratory (Dania). Współpraca polegała na udostępnieniu dr. K. Bobrowskiemu znajdującego się tam liniowego akceleratora elektronów do pomiarów kinetyki przemian rodnikowych. Efektem współpracy były 3 prace opublikowane w br. oraz nowe dane doświadczalne, które będą przedmiotem 3 dalszych prac przygotowywanych do druku.

NIEMCY

Zespół doc. A. Rabczyński prowadził współpracę z Instytutem Krystalografii (Freie Universität, Berlin). Wykorzystując opracowane w zespole metody wykazano możliwość zachodzenia procesów szybkiej asocjacji -, dysocjacji dla białka BPTI. Badano także usytuowanie cząsteczek wody w RNazie T1 i pokazano, że istnieją miejsca "konserwatywne" ułożenia tych cząsteczek, zatem mają one wpływ na stabilizację białka.

Prof. J. Rytko w lipcu br. przez 1 tydzień przebywała w Instytucie Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu w Bochum (Niemcy) na zaproszenie prof. W. Kunau. W trakcie pobytu ustalała projekt współpracy.

Dr G. Dobrowolska przebywała 3 miesiące w pracowni prof. O. G. Issingera (Instytut Genetyki Człowieka, Uniwersytet Saarlandu, Hamburg, Niemcy), gdzie sklonowała i zsekwencjonowała podjednostkę alfa kinazy kazeinowej z kukurydzy.

WŁOCHY

Prof. D. Shugar przebywał 14 dni we Włoszech na Uniwersytecie w Padwie i w Ferrarze wygłaszając referaty dotyczące inhibicji transkrypcji.

Doc. Z. Zarębska przebywała 8 tygodni we Włoszech w ramach współpracy z Instytutem Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu w Padwie, kontynuując badania fotochemiczne nad uszkodzeniami w błonach limfocytów traktowanych psoralenami i ultrafioletem A.

CZECHO-SŁOWACJA

Dr J. Michalik w czasie 4-dniowego pobytu w Instytucie Entomologii CSAV w Czeskich Budziejowicach zapoznała się ze stopniem zaawansowania badań nad klonowaniem i sekwencjonowaniem genomu *Galleria mellonella* oraz omówiła dalszą współpracę nad hormonalną regulacją syntezy białek jedwabiu.

BULGARIA

Zespół prof. T. Chojnackiego we współpracy z Instytutem Patologii BAN wykazał niższą zawartość dolicholi w tkankach podczas pełnej aktywności fizjologicznej zwierząt hibernujących. Publikacja podsumowująca dotychczasowe badania dolicholi w tkankach fauny bałkańskiej ukazała się w 1991 r.

ŁOTWA

W zespole prof. K. L. Wierżchowskiego prowadzono współpracę z dr. B. Vestermanem z Instytutu Syntezy Organicznej Łotewskiej AN w Rydze w zakresie konformacyjnej interpretacji kinetyki wewnątrz-cząsteczkowego przenoszenia elektronu w peptydach. Efektem tej współpracy, realizowanej w br. poprzez listowne kontakty, jest 1 praca opublikowana w *Biochim. Biophys. Acta* (1991).

ZSRR

Prof. L. D. Wasilewska kontynuuje współpracę dwustronną z Instytutem Biochemii im. A. N. Bacha (Moskwa) w zakresie utworzenia banków cDNA

roślin uprawnych.

UDZIAŁ W MIĘDZYNARODOWYCH IMPREZACH NAUKOWYCH

Dr K. Bobrowski wygłosił w br. następujące referaty:

- "Kinetics and mechanisms of H-atom abstraction by C-centered radicals". 3rd International Meeting on pulse investigations in physics, chemistry and biology, Puitusk.
- "Long-range intramolecular electron transfer between redox sites located on amino acids in proline bridged species", Miller Conference, Giens (Francja).

- "Intramolecular electron transfer between redox-centers on aromatic and sulphur amino acids in peptides with bridging prolines", Satellite symposium "Electron Transfer", VIIth International Congress of Quantum Chemistry, Sophia Antipolis (Francja).

Doc. G. Muszyńska wygłosiła referat "Chelated Fervic Ions: Prospects-Limitations" na Sympozjum "Jerker Porath 70", Uppsala (Szwecja).

Mgr J. Jagiełło przedstawiła plakat na kursie organizowanym przez EMBO-FEBS dotyczącym fosfataz białkowych, Leuven (Belgia).

Mgr M. Mroczkowska przedstawiła plakat na 21th Annual Meeting of EEMS, Praga (Czecho-Słowacja).

Mgr J. Poznański przedstawił komunikat plakatowy nt. "Modeling of conformational properties of Trp-(Pro)n-Tyr peptides". International Symposium: "Computer simulation of biomolecular systems and mechanisms", Menton (Francja).

Prof. T. Chojnacki wziął udział w dwóch imprezach:

- Satellite meeting to the 11th International Symposium on Glycoconjugates "Dolichol and other lipids related to glycoconjugate metabolism", Kimberly, Ontario (Kanada)
- 11th International Symposium on Glycoconjugates, Toronto, Ontario (Kanada).

Dr A. Kurlandzka uczestniczyła w konferencji "Molecular aspects of lipid in the cell" w Roscoff (Francja).

Prof. D. Hulanicka uczestniczyła w 15th International Congress

of Biochemistry, Jerusalem (Israel).

Doc. T. Kulikowski i mgr M. Bretnier przedstawili komunikat, a prof. D. Shugar wygłosił referat plenarny na 3rd International Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy w Gdańsku.

Mgr M. Bretnier i mgr K. Felczak przedstawili 3 komunikaty na 8th European Symposium on Carbohydrate Chemistry, Edinburgh (Szkocja).

Prof. M. Jeżewska wzięła udział w symposium nt. "Przemiana puryn i pirymidyn u człowieka", (Anglia).

Doc. Z. Zarębska uczestniczyła w symposium pt. "Fototerapia z zastosowaniem psoralenów i ultrafioletu" w Padwie (Włochy).

UDZIAŁ W KRAJOWYCH IMPREZACH NAUKOWYCH

Mgr M. Mroczkowska i doc. J. Kuśmerek wzięli udział w symposium nt. "Analiza adduktów DNA generowanych ekspozycją na mutageny środowiskowe" organizowane przez Zakład Genetyki Człowieka PAN (Poznań). Doc. J. Kuśmerek wygłosił referat nt. "Chemiczne aspekty mutagennego działania chloru winylu".

15 pracowników Instytutu uczestniczyło w Zjeździe Polskiego Towarzystwa Biochemicznego w Lublinie, gdzie przedstawiło plakaty.

Prof. M. Fikus wygłosiła referat a mgr P. Pawłowski i mgr P. Marszałek przedstawił plakat na VI Ogólnopolskim Symposium "Błony Biologiczne", (Łódź).

SZKOLENIA

Mgr Mgr A. Palucha wziął udział w kursie praktycznym transformacji roślin zorganizowanym przez EMBO (Zurich, Szwajcaria).

Mgr A. Chachulska, mgr A. Góra, mgr A. Migdalski uczestniczyli w kursie zorganizowanym przez FEBS nt. "Onkogeny i wzrost komórki" (Kijów, Ukraina).

Mgr A. Chachulska wzięła udział w kursie dotyczącym molekularnej hybrydyzacji i metody PCR oraz ich zastosowań.

zorganizowanym przez ICRO-UNESCO (Tunezja).

Mgr A. Góra uczestniczyła w kursie zorganizowanym przez FEBS nt. "Nowoczesne metody w biologii molekularnej". (Praga, Czecho-Słowacja).

WYMIANA OSOBOWA

W roku sprawozdawczym wyjeżdżało za granicę 35 osób w tym na sympozja i konferencje 29 osób na pobyty długoterminowe 3 osoby po długoterminowych stażach powróciła 1 osoba. Z zagranicy przyjechało 9 osób

IMPREZY NAUKOWE I SZKOLENIOWE ZORGANIZOWANE W 1991 r.

data, nazwa i temat imprezy	liczba uczestników ogółem w tym spoza PAN	liczba wygłoszonych referatów
29 marca		-
Posiedzenie Komisji Odbioru CPBRu 3.13	25	17
11-13 czerwca		
Jachranka, Badania struktur białkowych i konformacji peptydów	35	24
23		
4-6 listopada W-wa		
IBB PAN Sympozjum sprawozdawcze	130	7
27 referatów		80 plakatów

PRACOWNIA ULTRAWIÓWEK

Zespół: Inż. K. Zagórzyński, A. Kompanowski

Obecne wyposażenie Pracowni stanowią następujące wirówki:

- ultrawirówka preparatyczna F-my Beckman L-5-50
- ultrawirówka preparatyczna L-5-65
- ultrawirówka preparatowo-analityczna L-5-75
- ultrawirówka preparatyczna L-8-80M
- ultrawirówka preparatyczna F-my Kontron T-2080
- dwie ultrawirówki preparatyczne MSE-65
- wirówka przepływowa F-my Alfa-Level
- licznik scyntylacyjny z chłodzeniem F-my Packard
- licznik scyntylacyjny F-my Beckman LS-9000
- licznik scyntylacyjny F-my LKB-typ 1211 Rackbeta
- licznik scyntylacyjny F-my LKB typ 1208 Rackbeta
- fermentor z oprzyrządowaniem do dozowania i pomiaru pH oraz zawartości tlenu F-my New Brunswick Sci (USA)

Obecnie wyposażenie wirówek stanowi:

- 9 rotorów do ultrawirówek MSE
- 17 rotorów do ultrawirówek Beckman
- 2 rotory z wyposażeniem do wirowania analitycznego F-my Beckman
- 4 rotory do ultrawirówki Kontron
- 4 rotory do wirówki W 401 F-my Kontron

Poza Pracownią Ultrawirówek w IBB PAN znajdują się dodatkowe wirówki pozostające pod opieką pracowni są to:

- wirówka f-my Kontron H-401
- trzy wirówki f-my Beckman J-21-ME J2-21 J2-21
- dwie wirówki MSE 18

CENTRALNA POŻYWKARNIA

Zespół: W. Chabros, A. Zbroch, M. Szveda, A. Radziwonka

Pożywkarnia w ramach prac ciągłych wykonuje na bieżąco różnorodne podłoża stałe i płynne, roztwory buforów i soli, roztwory aminokwasów i puryn według zgłaszanych zamówień. Sterylizujemy pożywki i szkło laboratoryjne /płytki Petri'ego/ dostarczane przez poszczególne zakłady. Myjemy również szkło laboratoryjne, przede wszystkim na potrzeby własne pożywkarni.

W pożywkarni autoklawowane są zużyte płytki Petri'ego z wszystkich zakładów Instytutu /ok. 70 pojemników miesięcznie/. W sumie pożywkarnia obsługuje 5 autoklawów, trzy z nich używane są do sterylizacji podłoża, dwa natomiast do likwidacji materiału skażonego.

Do zakresu obowiązków Centralnej Pożywkarni należy również usuwanie agaru po umyciu płytek w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów. W bieżącym roku nie uległy poprawie warunki pracy w pożywkarni, jest bardzo duże nawilgocenie oraz brak odpowiedniej wentylacji.

W A R S Z A T Y

Warsztaty elektryczne - Zespół - J. Bartmański, M. Kołodziejczyk, A. Księżopolski, R. Rządca
 Warsztaty mechaniczne - Zespół - H. Ambroziak, J. Kowalski, K. Szewczyk, M. Waszkiewicz
 Pracownia szklarska - R. Tomasiak

W roku 1991 Warsztaty IBB wykonały następującą ilość zleceń:

Warsztaty elektryczne 400 zleceń w większości naprawy różnego rodzaju urządzeń.

Warsztaty mechaniczne 58 zleceń w tym średni remont tokarki TUB-32 i 35 drobnych konstrukcji, pozostałe to naprawy bieżące.

Pracownia szklarska 83 zlecenia, w tym 50 - to nowo wykonana galanteria laboratoryjna a pozostałe to naprawy.

POLSKA AKADEMIA NAUK
INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI
ul. Rakowiecka 36
02-532 Warszawa

PUBLIKACJE Z ROKU 1991

POLISH ACADEMY OF SCIENCES
INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS

ul. Rakowiecka 36
02-532 Warszawa
POLAND

LIST OF PUBLICATIONS IN 1991

- 2738 LUBIŃSKA V.K., MUSZYŃSKA G.
Use of metal chelate affinity chromatography for removal of zinc ions from alkaline phosphatase from *Escherichia coli*.
J.Chromatogr. 1990 522 171-177
- 2739 ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
Long-chain polyprenols from *Potentilla aurea*.
Phytochemistry 1991 30 267-270
- 2740 WESOŁOWSKI T.A., BOGUTA G., BIERZYŃSKI A.
Organization of polar groups of 9 kd calbindin around Ca^{2+} ions bound to the protein: a microdielectric study.
Protein Engineering 1990 4 121-124
- +2741 THELIN A., LÖW P., CHOJNACKI T., DALLNER G.
Covalent binding of dolichyl phosphate to proteins in rat liver.
Eur.J.Biochem. 1991 195 755-761

1

- 2742 TOMASZEWSKI M., DOBRZAŃSKA M., GOŹDZIKA-JÓZEPIAK A., MATERNY M., BUCHOWICZ J.
Detection of a DNA segment that occurs in wheat embryo but not in wheat endosperm cell nuclei.
Plant Sci. 1991 73 175-179
- 2743 WELNICKI M., SKRZECZKOWSKI J.L., ZAGÓRSKI W., SKRZECZKOWSKA S., KOWALSKA-NOORDAM A., WAŚ M., MARCZEWSKI W.
Detection of Potato Spindle Tuber Viroid by molecular hybridization and bioassay. A large-scale comparison.
Potato Research 1990 33 497-503
- +2744 ZAGÓRSKI W., CASTAING B., HERBERT C.J., LABOUESSE M., MARTIN R., SŁOŃIMSKI P.P.
Purification and characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* mitochondrial leucyl-tRNA synthetase.
J.Biol.Chem. 1991 266 2537-2541
- +2745 DOBROWOLSKA G., MUSZYŃSKA G., PORATH J.
Model studies on iron(III) ion affinity chromatography. Interaction of immobilized metal ions with nucleotides.
J.Chromatogr. 1991 541 333-339
- +2746 MARZALEK P., ZIELINSKY J.J., FIKUS M., TSONG T.Y.
Determination of electric parameters of cell membranes by a dielectrophoresis method.
Biophys.J. 1991 59 982-987
- 2747 DADLEZ M., GÓRAL J., BIERZYŃSKI A.
Luminescence of peptide-bound terbium ions. Determination of binding constants.
FEBS Lett. 1991 282 143-146
- 2748 KRUSZEWSKA J., PALAMARCZYK G., KUBICEK C.P.
Mannosyl-phospho-dolichol synthase from *Trichoderma reesei* is activated by protein kinase dependent phosphorylation in vitro.
FEMS Microbiol.Lett. 1991 80 81-86

2

- 2749 PAWLÓWSKI P., FIKUS M.
Shear deformation of the spherical shell acted on by an external alternating electric field: possible applications to cell deformation experiments.
Z.Naturforsch. 1991 46c 487-494
- 2750 EJCHART A.
Czasy relaksacji jądrowej w badaniach dynamiki cząsteczek organicznych.
Wiadomości Chemiczne 1989 43 819-828
- 2751 ŁOZIŃSKI T., ADRYCH-ROZEK K., MARKIEWICZ W.T., WIERZCHOWSKI K.L.
Effect of DNA bending in various regions of a consensus-like *Escherichia coli* promoter on its strength *in vivo* and structure of the open complex *in vitro*.
Nucl.Acids Res. 1991 19 2947-2953
- +2752 CAFFIERI S., ZAREBSKA Z., DALL'ACQUA F.
Membrane lymphocyte damage by 8-methoxypsoralen and UVA radiation.
Med.Biol.Environ. 1991 19 45-50
- +2753 BOBROWSKI K., SCHÖNEICH Ch., HOLCMAN J., ASMUS K.D.
•OH radical induced decarboxylation of methionine-containing peptides. Influence of peptide sequence and net charge.
J.Chem.Soc.Perkins Trans. 1991 2 353-362
- 2754 JANION C.
Naprawa niedopasowanych par zasad w DNA kierowana przez gen d a m.
Kosmos 1990 39 191-205
- 2755 JANION C.
Base pairing models to account for the mutagenicity and specificity of the purine analog 2-amino- N^6 -hydroxyadenine.
Mutation Res. 1991 253 17-20
- +2756 TOSHEVA R.T., JANKOWSKI W.A., STOKKOVA L.I., CHOJNACKI T.
Dolichols in the liver of some poikilothermic vertebrates and birds.
Comp.Biochem.Physiol 1991 98B 397-402
- 2757 ŁĘCKA-CZERNIK B., ŻUK J.
The *CDC8* gene product is required for transformation with episomal and integrative plasmids in *Saccharomyces cerevisiae*.
Curr.Genet. 1991 20 265-267
- 2758 JANKOWSKI W.J., CHOJNACKI T., OLSSON J.M., BARTKOWIAK-BRODA I.
Zawartość dolicholi w nasionach różnych odmian rzepaku (*Brassica napus*).
Zeszyty problemowe. Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. Radzików 1990. Rośliny Oleiste. Wyniki Badań za rok 1989 1 p.75-86
- +2759 BOBROWSKI K., SCHÖNEICH Ch., HOLCMAN J., ASMUS K.-D.
•OH radical induced decarboxylation of γ -glutamylmethionine and γ -alkylglutathione derivatives: Evidence for two different pathways involving C- and N-terminal decarboxylation.
J.Chem.Soc.Perkin Trans. 1991 2 975-980
- +2760 HOLCMAN J., BOBROWSKI K., SCHÖNEICH Ch., ASMUS K.-D.
OH-induced oxidation of cyclo-Met-Met. A search for complexed OH-radical.
Radiat.Phys.Chem. 1991 37 473-478
Int.J.Radiat.Appl.Instrum., Part C
- +2761 VESTERMAN B., BOBROWSKI K., BETINS J., NIKIFOROVICH G.V., WIERZCHOWSKI K.L.
Conformational interpretation of intramolecular electron transfer in Met⁵-enkephalins between Tyr and Met(S::Br) radical.
Biochim.Biophys.Acta 1991 1079 39-42
- 2762 SHUGAR D., KIERDASZUK B., STOLARSKI R.
Brief methodological survey of the photochemistry of nucleic acid constituents and analogues, and some biological applications, including photo-affinity labeling.
In: Photobiology. Ed. by E.Riklis, Plenum Press. New York 1991 115-133
- 2763 MARCINKOWSKA J., KŁOS B., SHCHERBAKOVA A.
Ascochitine production by fungi responsible for *Ascochyta* diseases of pea.
J.Phytopathology 1991 131 253-258

- +2764 KURLANDZKA A., ŻÓŁĄDEK I., RYTKA J., LABBE-BOIS R.
The alternative pathway of haem synthesis via dehydroisocoproporphyrinogen in mutants of *Saccharomyces cerevisiae* partially deficient in uroporphyrinogen decarboxylase activity.
Biochem. J. 1991 273 246-247
- +2765 KURLANDZKA A., ROSENZWEIG R.F., ADAMS J.
Identification of adaptive changes in an evolving population of *Escherichia coli*: The role of changes with regulatory and highly pleiotropic effects.
Mol. Biol. Evol. 1991 8 261-281
- +2766 MALIN R., ZIELENKIEWICZ P., SAENGER W.
Structurally conserved water molecules in ribonuclease T1.
J. Biol. Chem. 1991 266 4848-4852
- +2767 ERDMANN R., WIEBEL F.F., FLESSAU A., RYTKA J., BEYER A., FRÖHLICH K.-U., KUNAU W.-H.
PAS1, a yeast gene required for peroxisome biogenesis, encodes a member of a novel family of putative ATPases.
Cell 1991 64 499-510
- 2768 MROCZKOWSKA M.M., KUŚMIEREK J.I.
Miscoding potential of N², 3-ethenoguanine studied in *Escherichia coli* DNA-dependent RNA polymerase *in vitro* system and possible role of this adduct in vinyl chloride-induced mutagenesis.
Mutagenesis 1991 6 385-390
- 2769 RATAJ-GURANOWSKA M., PASZEWSKI A., WALKOWIAK I.
Fusarium oxysporum forms heterokaryons with *Fusarium redolens*.
J. Phytopathology 1991 132 294-302
- +2770 SZAFRAŃSKI P., GODSON C.N.
Hypersensitive mung bean nuclease cleavage sites in *Plasmidium knowlesi* DNA.
Gene 1990 88 141-147
- 2771 PIETRZYKOWSKA I., FELCZAK M.
Considerations on the mechanisms of UV-induced mutagenesis.
In: *Light in Biology and Medicine*. Vol. 2, ed. by R.H. Douglas et al. Plenum Press, New York 1991 pp. 485-494
- 2772 BARANOWSKA H., ŻUK J.
Mutation in the CDC8 gene is RAD6 dependent in *Saccharomyces cerevisiae*.
Bull. Polish Acad. Sci. Biol. Sci. 1991 39 147-152
- 2773 WIERZCHOWSKI K.L.
Dipole moments and related data.
In: *Landolt-Börnstein Numerical Data and Functional Relationships in Science and Technology*. New Series. Editor in Chief: O. Madelung Group VII: Biophysics, vol. 1. "Nucleic Acids" subvol. d, *Physical Data II. Theoretical Investigations*. Ed. W. Saenger, Springer-Verlag Berlin 1990 pp. 295-307
- 2774 SHUGAR D., PSODA A.
Tautomerism of purines and pyrimidines, their nucleosides and various analogues.
Ibidem: pp. 308-348
- +2775 GLEMAREC C., BESIDSKY Y., CHATTOPADHYAYA J., KUŚMIEREK J., LAHTI M., OIVANEN M., LÖNNBERG H.
N², 3-ethenoguanosine and IA-Metamorphosine: ¹⁵N NMR spectroscopy and elucidation of physico-chemical properties by kinetic and equilibrium measurements.
Tetrahedron 1991 47 6689-6704
- +2776 SINGER B., KUŚMIEREK J.I., FOLKMAN W., CHAVEZ F., DOSANJH M.K.
Evidence for the mutagenic potential of the vinyl chloride induced adduct, N², 3-etheno-deoxyguanosine, using a site-directed kinetic assay.
Carcinogenesis 1991 12 745-747

- 2777 KŁUDKIEWICZ B., GRZELAK K., SZOLAJSKA E., MICHALIK J.
Hormonal regulation of protein synthesis in the silk gland of *Galleria mellonella*.
Acta Biochim. Polon. 1991 38 53-59
- +2778 MONROE R.S., OSTROWSKI J., HRYNIEWICZ M.M., KREDICH N.M.
In vitro interactions of Cys8 protein with the cysK and cysJH promoter regions of *Salmonella typhimurium*.
J.Bacteriol. 1990 172 6919-6929
- +2779 HRYNIEWICZ M.M., KREDICH N.M.
The cysP promoter of *Salmonella typhimurium*: characterization of two binding sites for Cys8 protein, studies of *in vivo* transcription initiation, and demonstration of the anti-inducer effects of thiosulfate.
J.Bacteriol. 1991 173 5876-5886
- 2780 SZAFRAŃSKI P., ŚMAGOWICZ W.J.
Role of metal ions in the assembly and decay of the transcription initiation complex on trnA gene in yeast extracts.
FEBS Lett. 1991 293 42-44
- +2781 TIAN G.-L., MACADRE C., KRUSZEWSKA A., SZCZEŚNIAK B., RAGNINI A., GRISANTII P., RINALDI I., PALLESCI C., FRONTALI L., SKONIMSKI P.P., LAZOWSKA J.
Incipient mitochondrial evolution in yeasts. I. The physical map and gene order of *Saccharomyces douglasii* mitochondrial DNA discloses a translocation of a segment of 15,000 base-pairs and the presence of new introns in comparison with *Saccharomyces cerevisiae*.
J.Mol.Biol. 1991 218 735-746
- 2782 DMOCHOWSKA A., BOGUTA M., GARGOURI A., WRÓBEL K., SZCZEŚNIAK B., KRUSZEWSKA A.
Antagonistic effects of two closely linked nuclear mutations (NAM9 and SN11) on mitochondrial mit^- mutants in yeast: molecular cloning and sequencing of the NAM9 suppressor gene.
In: Genetics of Respiratory Enzymes in Yeast. Wrocław University Press, 1990, ed: T.M.Lachowicz
- 2783 GLIŃSKI W., JARZĄBEK-CHORZEWSKA M., BARSZCZ D., KULIGOWSKI M., PIETROŹYŃSKA-DUBOWSKA M., GLIŃSKA-FERENZ M.
The role of skin and inflammatory cell neutral proteinases in psoriasis. In: Dermatology in Europe. Proceedings of the 1st Congress of the European Academy of Dermatology and Venerology. Ed: E.Panconesi, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1991 pp.291-298
- 2784 PAWŁOWSKI P., DUSZYK M., DOROSZEWSKI J.
Intercellular adhesion force measured by the flow method. In: "Hemorheologie et Agregation Erythrocytaire" vol. 3; Theorie et Applications Cliniques; Septime Congres International de Biorheologie, Nancy, juin 1989; Ed.: J.F.Stoltz, M.Donner, A.L.Copley; Technique et Documentation- Lavoisier 1991 p. 3-6
- 2785 PRZYKORSKA A., NALASKOWSKA M., KULIGOWSKA E., SZARKOWSKI J.W., BARCISZEWSKI J.
Application of a nuclease from rye nucleus for structural studies of plant ribonucleic acids.
Phytochemistry 1991 30 1749-1752
- 2786 KLECZKOWSKI K., KŁOS B., KWIATKOWSKI B.
Radioimmunologiczna metoda oznaczania kwasu abscyzynowego w materiale roślinnym.
Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo, 1990 34 67-75
- +2787 ERICSSON J., SCALLEN T.J., CHOJNACKI T., DALLNER G.
Involvement of sterol carrier protein-2 in dolichol biosynthesis. J.Biol.Chem. 1991 266 10602-10607
- 2788 JANKOWSKI W.J., CHOJNACKI T.
Long chain polyisoprenoid alcohols in leaves of *Capparis* species.
Acta Biochim.Polon. 1991 38 265-276

30 prac w JB
21 " z zagranic
51

++ Titles of dissertations presented for the degree of doctor habil.

2789 JOACHIMIAK Andrzej

Specyficzne rozpoznawanie białek i kwasów nukleinowych. (Specific recognition of protein and nucleic acids).

Presented on October 22, 1991 pp.68

Praca wykonana w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN, na Uniwersytecie Chicago i na Uniwersytecie Yale w latach 1979-1989

Publi.: Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1983 80, 668-672; J.Biol.Chem. 1983 208, 12641-12643; Nature 1985 317 782-786; J.Biol.Chem. 1987 262, 4917-4921; Nature 1987 327 591-597; J.Biol.Chem. 1987 262 4922-4927; Proteins 1988 3 18-31; J.Crystal Growth 1988 90, 201-208; Nature 1988 335, 321-329; 39 Mosbacher Kolloquium 369 p.202; IV Środlowiskowa Konferencja Chemików 1988, Poznań, 8-28; J.Mol.Biol. 1985 181, 93-102; Materiały Zjazdu P.T.Bioch. 1988, Poznań, A-II-25; 3rd Intern.Conf.on Crystallization of Biological.Macromol., Washington, D.C. 1989, p-16, 88;

Tytuły prac doktorskich

++ Titles of dissertations presented for doctor's degree (Ph.D.)

2790 ZAKRZEWSKA Barbara

Dwustopniowa hydrolizacja hipoksantyny katalizowana przez oksydoreduktazy ksantynowe z wybranych przedstawicieli kręgowców. (Two-step hypoxanthine hydroxylation catalysed by xanthine oxidoreductase from selected vertebrate species.)

Presented on January 29, 1991 pp.182

2791 ŁOZIŃSKI Tomasz

Wpływ budowy bakteryjnego promotora na termodynamiczne właściwości kompleksu promotor-polimeraza RNA *Escherichia coli*. (Effect of the procarvotic promoter structure on the thermodynamical properties of the complex of the promoter and RNA polymerase from *Escherichia coli*.)

Presented on October 22, 1991 pp.62

2792 KRUSZEWSKA Joanna

Syntaza dolichylofosfomannozy w komórkach *Trichoderma reesei* i jej udział w O-glikozylacji białek.

(Dolichylphosphomannose synthase and its participation in proteins O-glycosylation in cells of *Trichoderma reesei*.)

Presented on October 22, 1991 pp. 70

Tytuły prac magisterskich

++ Titles of dissertations presented for master degree (Ms.Sci.)

2793 KUBICZEK-PIETRUCZAK Paulina

Badanie właściwości kodujących N²,3-etenoguaniny w matrycach poli A, w układzie DNA-zależnej polimerazy RNA.

(Studies of miscoding properties of N²,3-ethenoguanine in poly A-templates in DNA-dependent RNA polymerase system.)

Presented on October 21, 1991

2794 JAGIELSKA Beata

Otrzymywanie mutantów w metabolizmie siarki u *Schizosaccharomyces pombe*.

(Isolation of mutants affecting sulphur metabolism in *Schizosaccharomyces pombe*.)

Presented on September 29, 1991 pp. 65

- 526/A WIERZCHOWSKI K.L., ECHART A., POZNAŃSKI J., BOBROWSKI K.
¹³C NMR investigations of cis-trans isomerization about
 proline peptide bond(s) in H-Irp-(Pro)_n-Iyr-OH peptides.
 10th Intern. Biophysics Congress, July 29-August 3 1990 Vancouver
 Canada p.150 P 2.2.30
- 527/A JANION C., GRZESIUK E., ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E., PŁACHTA A.
 Suppressor mutations.
 21st Annual Meeting of EEMS on Environmental Mutagens-Carcinogens.
 Prague, Czechoslovakia, August 25-31, 1991 abstr. P-1-23
- 528/A MROCZKOWSKA M., KUŚMIEREK J.T.
 Studies of polynucleotide templates containing N²,3-ethanoguanine
 in reverse transcriptase system.
 Ibidem: P-1-29
- 529/A ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E.
 The level of GC→AT transitions induced by methyl methanesulfonate
 is not affected by adaptive response.
 Ibidem: P-1-45
- 530/A GRZESIUK E., ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E., JANION C.
 Effect of DNA editing systems on EMS induced mutagenesis.
 Intern. Symp. on Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis
 Shanghai, China, May 27-29, 1991 abstr. p.54
- 531/A JANION C.
 Suppressor tRNA as a tool for testing mutational specificity.
 14th International tRNA Workshop, May 4-9, 1991, Rydzyna, Poland p.161
- 532/A KRASZEWSKA E., MARCINIAK B., KONOPIŃSKA A., GAWROŃSKA I., BARCISZEWSKI J.
 Plant methionine initiator transfer ribonucleic acid as a primer
 for putative wheat germ reverse transcriptase
 Ibidem: p. 175
- 533/A PRZYKORSKA A., NALASKOWSKA M., KULIGOWSKA E., SZARKOWSKI J.W.,
 BARCISZEWSKI J.
 New single-strand-specific nuclease from rye as a tool for
 structural studies of plant ribonucleic acids.
 Ibidem: p.204
- 534/A KULIKOWSKI T., POZNAŃSKI J., BALZARINI J., VAN AERSCHOT A., de CLERCQ E.
 Synthesis, solution conformations and biological properties of
 3',5'-substituted 2',3'-dideoxyuridines inhibitors of retrovirus HIV.
 6th European Symp. on Carbohydrate Chemistry, Heriot-Watt Univ.
 8-13 September 1991 abstr. C.37
- 535/A FELCZAK K., DRABIKOWSKA A., KULIKOWSKI T., SHUGAR D.
 Synthesis of several anhydrouridine analogues and their interactions
 with uridine phosphorylase.
 Ibidem: C.38
- 536/A BREITNER M., KULIKOWSKI T., BALIŃSKA M., RODE W., SHUGAR D.
 Synthesis and antitumor properties of pyrimidine 5-fluoro-2-thio-
 -2'-deoxynucleosides.
 Ibidem: B.72
- 537/A HULANICKA D., SIRKO A., ZATYKA M.
 The identification of the *cysX* gene coding for sulfate binding
 protein of *E. coli* and *S. typhimurium*.
 15th International Congress of Biochemistry, Jerusalem, Israel,
 August 4-8, 1991 p. 315
- 538/A SZKOPIŃSKA A., ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
 Specyficzność kinazy dolicholowej i syntetazy DolPMan w mikrosomo-
 mach wątroby szczura.
 XXVII Zjazd P.T.Bioch. Lublin 18-20 września 1991 p.367
- + 539/A CHOJNACKI T., ŚWIEŻEWSKA E., SZKOPIŃSKA A., PETERSON E., OLSSON J.,
 DALLNER G.
 On the specificity of dolichol kinase towards isoprenoid alcohols
 of different chain length and their possible involvement in glyco-
 sylation processes.
 Glycoconjugate J. 1991 8 p.265 15.21
- 540/A SIWECKA M.A., MATYSIAK Z., SZARKOWSKI J.W.
 Efekty działania inhibitorów na aktywności nukleazy związanej
 z rybosomami zarodków żyta.
 XXVII Zjazd P.T.Bioch. Lublin 18-20 września 1991 p.128 B-80

- 541/A DZIK J.M., BREITNER M., KULIKOWSKI T., ZIELIŃSKI Z., CIEŚLA J.,
RODE W., SHUGAR D.
Interaction of 2-thio-d-UMP and 2-thio-5-FdUMP with thymidylate
synthase.
3rd Internationale Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy
Gdańsk 19-21 June 1991 abstr. nr 37 p. 69
- 542/A KURLANDZKA A., RYTKA J.
The induction of β -oxidation pathway in *Saccharomyces cerevisiae* is accompanied by the appearance of A41 kD cytoplasmic protein.
Jacques Monod Conference: Molecular Aspects of Lipids Flow in the Cell. 16-20 September 1991 Roscoff France.
- 543/A ZAGÓRSKI W., MIGDAŁSKI A., NOWAK E.
Hamowanie aktywności mitochondrialnej syntetazy leucylo-tRNA
S.cerevisiae przez swoisty RNA intronowy.
XXVII Zjazd P.T.Bioch. Lublin 18-20 wrzesień 1991 D-13 p.257
- 544/A NATORFF R., PASZEWSKI A.
Sulfur metabolic repression in *Aspergillus nidulans*.
EMBO Workshop on Molecular Biology of Filamentous Fungi. Berlin
24-29 sierpnia 1991 plakat nr. B 32
- 545/A CHACHULSKA A.M., GÓRA A., PAWLÓWICZ J.M.
Badanie krajowych szczepów patogenów ziemniaka PSTV i PVY. Konstrukcja sond molekularnych i prace nad ustaleniem sekwencji DNA.
XXVII Zjazd P.T.Bioch. Lublin 18-20 wrzesnia 1991, B-77 p. 125
- 546/A KRUSZEWSKA J., KUBICEK C.P., PALAMARCZYK G.
Represja i derepresja kataboliczna a regulacja aktywności syntetazy Dol-P-Man u *Trichoderma reesei* QM 9414 przez fosforylację zależną od cAMP.
Ibidem: D-99 p.147
- 547/A JANKOWSKI W., HERTEL J., CHOJNACKI T., ZIELIŃSKI J., SINGH A.
Polyprenols longer than C_{150} occur in leaves of several species of *Rosa* spp.
Ibidem: R-78 p.366

- 548/A SZCZEGIELNIAK J., DOBROWOLSKA G., MEGGIO F., PINNA L.A., MUSZYŃSKA G.
Budowa enzymów roślinnych podobnych do typu -2 kinaz kazeinowych.
XXVII Zjazd P.T.Bioch. Lublin 18-20 września 1991 B-77 p.125
- 549/A JAGIELŁO I., SZCZEGIELNIAK J., MUSZYŃSKA G.
Fosfatazy fosfokazeinowe z siewek kukurydzy (*Zea mays*).
Ibidem: R-17 p. 304
- 550/A GROMADKA R., KŁOPOTOWSKI T., KRAJEWSKA K.
Otrzymanie mutanta *Escherichia coli* K12 w genie kodującym większą podjednostkę dehydrogenazy D-aminokwasowej.
Ibidem: B-95 p.143
- 551/A PALUCHA A., KUJAWA A., SKRZECZKOWSKI J., HULANICKA D.
Synteza i klonowanie cDNA genu białka płaszcza wirusa liściozwoju ziemniaka.
Ibidem: B-74 p.122
- 552/A ZATYKA M., SIRKO A., HULANICKA D.
Identyfikacja genu *cysX* kodującego białko wiążące siarczany
Enterobacteriaceae.
Ibidem: B-94 p.142
- 553/A KONOPIŃSKA A., KRASZEWSKA E., MARCINIAK B.
Wpływ jonów Ca^{+2} na aktywność polimerazy DNA z kiełkujących
zarodków pszenicy.
Ibidem: B-101 p.149
- 554/A GOŹDZIŃKA-JÓZEFIAK A., PORĘBA E., WASILEWSKA L.D., KĘDZIA H.
Czy dezoksytrybonukleazy ekstraktów *Chelidonium majus* mogą mieć znaczenie w terapii chorób indukowanych przez wirusy?
Ibidem: A-37 p.42
- 555/A KRÓLICZAK P., TOPCZEWSKI J., GRAJEK W., PASZEWSKI A., WALKOWIAK D.
Wpływ dodatku lipidów do pożywki na wydajność protoplastyzacji
grzybów *Aspergillus nidulans*.
Ibidem: B-38 p.86

556/A ŻEKANOWSKI C.

Zastosowanie hybrydyzacji molekularnej do szybkiego wykrywania zakazeń roślin ziemniaka.

XXVII Zjazd P.T.Bioch. Lublin 18-20 września 1991, B-75 p.123

557/A POZNAŃSKI J.

Modeling of Conformational properties of Trp-(Pro)_n-Tyr Peptides. International Symposium: Computer Simulation of Biomolecular Systems and Mechanisms: Menton (France), 27-29 June 1991: Abstr.p.24

558/A BOBROWSKI K., SIMIC M.G.

Kinetics and Mechanisms of H-atom Abstraction by C-centered Radicals.

3-rd Intern.Meeting of Pulse Investigations in Physics Chemistry and Biology PULS'91; Pułtusk, 15-20 April 1991 Abstr; p.33

559/A BOBROWSKI K., WIERZCHOWSKI K.L., POZNAŃSKI J., HOLCMAN J., CIURAK M.

Intramolecular Electron Transfer between Redox-Centres located on Aromatic and Sulphur Containing Aminoacids in Peptides with Bridging Prolines.

VIIth International Congress of Quantum Chemistry, Satellite "Electron Transfer"; Sophia Antipolis (France), June 26-29 1991 Abstr.p.33

560/A CHOJNACKI T.

Plant sources of long chain polyprenols.

XIXth Nobel Conference on Biosynthesis Regulation and Products of the Mevalonate Pathway.Sodergarn, Sweden 2-5 June, 1991

+ 561/A RUNQUIST M., ERICSSON J., CHOJNACKI T., DALLNER G.

Polyisoprenoid lipids in Rhodospirillum rubrum. Satellite meeting to the 11th International Symp. on Glycoconjugates Kimberley, Ontario, Canada, June 26-29, 1991, abstr. 35

+ 562/A ERICSSON J., CHOJNACKI T., DALLNER G.

Prenyl transferases in ubiquinone and dolichol biosynthesis. Ibidem: Abstr. 21

15

+ 563/A ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T., JANKOWSKI W., SINGH A.K., OLSSON J.

The occurrence of long chain polyprenols in plants of Rosaceae family and their isolation by time extended liquid chromatography.

Satellite meeting to the 11th International Symposium on Glycoconjugates, Kimberley, Ontario, Canada, June 26-29, 1991, Abstr. 9

564/A LOSTER-PTASZNIK M., MILEWSKI M.

Badania nad replikacją wirusa wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTV) XXVII Zjazd P.T.Bioch. Lublin, 18-20 września, 1991 abstr.B-76 p. 124

565/A BARSZCZ D., ZARĘBSKA Z., JABŁOŃSKA S., GLIŃSKI W.

Severity of psoriasis is associated with decreased stability of alpha-1-proteinase inhibitor.

5th International Psoriasis Symposium, San Francisco (U.S.A.), 1991, July 10-14

566/A GOZDZICKA-JÓZEFIK A., PORĘBA E., KĘDZIA H., WASILEWSKA L.D.

Properties of Chelidonium majus deoxyribonucleases. 15th International Congress of Biochemistry, Jerusalem, Israel, August 4-8, 1991 p.142

+ Papers describing results obtained by members of our staff in other domestic and foreign laboratories.

++ No reprints available. Original dissertations are in Polish.

16



