

INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

SPRAWOZDANIE Z DZIAŁALNOŚCI za 1993 rok

DYREKTOR: Prof. dr hab. Włodzimierz ZAGÓRSKI-OSTOJA

PRZEWODNICZACY RADY NAUKOWEJ: Prof. dr hab. Zofia LASSOTA

Instytut zatrudnia 220 pracowników, w tym 172 naukowych (w tym 51 inżynieryjno-technicznych).

W 1993 roku Rada Naukowa IBB PAN nadała 6 stopni naukowych doktora i 5 stopni doktora habilitowanego.

Stopnie naukowe nadane przez Radę Naukową IBB PAN w 1993 roku:

doktora - 6 w tym pracowników IBB - 6

doktora habilitowanego - 5 w tym pracowników IBB - 0

Liczba osób pobierających stypendia IBB:

doktorskie - 18

habilitacyjne - 6

magisterskie - 15

Studia doktoranckie PAN:

liczba uczestników - 3

Warszawska Szkoła Biologii Molekularnej przy IBB PAN:

liczba uczestników - 56

Opieka nad studentami:

liczba studentów odbywających praktyki w IBB - 15

UZUPEŁNIENIE

**do SPRAWOZDANIA IBB PAN za 1993 rok
dla Rady Naukowej Instytutu**

W S T Ę P

Strategia działania Instytutu w roku sprawozdawczym

Sprawozdanie tegoroczne zaczniemy od ogólnego omówienia działań Instytutu w 1993 roku, podkreślając w nim najistotniejsze - zdaniem Dyrekcji - elementy. Działania te są zgodne z ogólną strategią Instytutu odzwierciedlającą działania zespołów, Kolegium, Rady Naukowej i Dyrekcji.

Jest obowiązkiem Dyrekcji by na koniec roku sprawozdawczego wykazać, które z elementów owej strategii udało się zrealizować, a które efektywnie - podtrzymać.

I. Współpraca z Uniwersytetem Warszawskim

Zgodnie z założeniami dotyczącymi nowej wizji działania Instytutu podjęliśmy starania, by stworzyć więź między Uniwersytetem a Instytutem. Toteż w 1990 roku formalnie stowarzyszyliśmy IBB z Wydziałem Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Wybór partnera wynikał z założeń programowych; Instytut rozwija współpracę przede wszystkim z tymi zespołami uniwersyteckimi, które prowadzą badania w dziedzinie biologii molekularnej.

W rezultacie, podjęto wspólne wykłady z zespołami uniwersyteckimi i stworzono program ćwiczeniowy dla wybranych grup studentów w laboratoriach Instytutu. W 1993 roku prowadzono ćwiczenia (60 godzin) w ramach fakultetu "Biologia molekularna roślin". Uzgodniono sposób współdziałania zespołów instytutowych i uniwersyteckich w prowadzeniu prac magisterskich - mogą być one współkierowane przez pracowników UW i Instytutu. Utworzono fundusz stypendiów magisterskich (osiem rocznie). W 1993 r. trzynastu studentów prowadziło prace magisterskie - pod kierownictwem naukowców uniwersyteckich - realizowane w znacznej części w pracowniach Instytutu.

W porozumieniu z Uniwersytetem system studiów magisterskich próbujemy związać z systemami D.E.A. we Francji; dwoje pierwszych stypendystów rządu francuskiego - studentów Wydziału Biologii UW - ukończyło w 1993 r. tezy D.E.A. na XI Uniwersytecie Paryskim. Trwa nabór nowych studentów na studia we Francji.

W wyniku sformalizowania związku z Uniwersytetem Zakład Genetyki

UW wszedł (jako zakład stowarzyszony) w skład zespołów Instytutu - i w początku '94 roku uzyska pomieszczenia laboratoryjne w nowym gmachu IBB.

Liczymy na to, że wejście zakładu uniwersyteckiego na teren wspólnego budynku spowoduje organiczne zespolenie grup uniwersyteckich i akademickich i wyrazi się w ustrukturalizowaniu studium magisterskiego na sposób zbliżony do systemu francuskiego D.E.A. oraz zintensyfikowaniu systemu szkolenia zaawansowanego.

Zwiastunem obecności zespołów uniwersyteckich w strukturze Instytutu było udostępnienie w 1993 roku przez Zakład Biochemii powierzchni laboratoryjnej zespołowi prof. A. Jerzmanowskiego z Instytutu Fizjologii Roślin UW.

II. System kształcenia zaawansowanego

Zaawansowanie metodyczne zespołów Instytutu i Uniwersytetu pozwala na stworzenie odpowiedniego systemu kształcenia. System kształcenia obejmuje doktorantów, magistrantów i studentów lat starszych. Sądzymy że, po ostatecznym osadzeniu zespołów uniwersyteckich w nowym gmachu, będzie w Instytucie prowadzone 10-15 prac magisterskich rocznie. W 1993 roku została utworzona w IBB wspólnie z grupami UW Szkoła Biologii Molekularnej, której głównym zadaniem jest szkolenie młodych pracowników przygotowujących prace doktorskie. Liczba uczestników tej Szkoły wynosiła w grudniu 1993 roku 57 osób. Ta poważna liczbowo grupa młodzieży została przyjęta do Instytutu w ciągu ostatnich lat (13 osób w 1993 r.) - jej obecność jest wyrazem i rezultatem, jak również motorem, transformacji Instytutu. Decyzja o rozbudowie grupy doktorantów wynika z chęci odnowienia kadry i wyraża dążenie do przygotowania w Polsce grup młodych naukowców o mentalności zgodnej z wymogami czasu, zdolnych od początku kariery do działania w sferze międzynarodowej i w społeczeństwach otwartych.

Dlatego też poważna grupa młodych doktorantów szkolona będzie w systemie co-tutelle (ko-promocji) przy udziale wybranych zespołów francuskich. System ten od początku ubiegłego roku wspierany jest finansowo ze strony francuskiej przez Ministère de Recherche et Education Supérieure w ramach Réseau Formation Recherche en Biologie

Moléculaire, a ze strony polskiej - równoległym funduszem stypendiów doktorskich. Doktoranci objęci systemem (10-12 osób w ciągu 3 lat), pracując nad doktoratem, będą spędzać 6-10 miesięcy w wybranym zespole francuskim, a doktoraty będą promowane wspólnie.

Zgodnie z założeniem, doktoranci rozpoczynają studia w Polsce, po mniej więcej roku, następuje definicja zakresu doktoratu i nawiązane zostają kontakty z wybranym laboratorium francuskim (zwykle w ramach "związku bliźniaczego"). Po ustaleniu tematyki doktoratu część pracy wykonywana jest w Polsce, a część - we Francji. Pierwsze tego typu dwa wspólne doktoraty będą broniące w lutym '94 roku.

Wszyscy nasi doktoranci wysłuchują cykli wykładów w Warszawie - część wykładów prowadzona jest przez wykładowców francuskich. W 1993 roku doktoranci wysłuchali 36 wykładów wygłoszonych przez zaproszonych gości zagranicznych. Od października ub.r. uczestniczą również w serii wykładów (60 godzin) z dziedziny informatyki biologicznej prowadzonych przez pracowników Instytutu.

III. Grupa zaufania - fundusz "powrotów"

Jednym z czynników "rozkładowych" w działaniu Instytutu był stały odpływ za granicę młodych naukowców. Proces ten uległ przyspieszeniu po roku '81. W stanie wojennym wyjechała i nie wróciła do Instytutu grupa ponad 30 doktorów habilitowanych - obecnie znajdujących się w fazie najintensywniejszej pracy naukowej. Utrzymywaliśmy z nimi kontakty, które w 1989 roku, jeszcze przed zmianami politycznymi w Polsce, doprowadziły do zorganizowania sympozjum naszych byłych kolegów w Warszawie. W rezultacie tego w następnym roku postanowiliśmy powołać spośród naszych byłych kolegów - zajmujących samodzielne stanowiska w laboratoriach zachodnich - "grupe zaufania" (trustees). Jej członkowie co roku odwiedzają Instytut, prowadząc wykłady, w razie potrzeby obejmując swoją opieką naszą młodzież odbywającą staże post-doktorskie za granicą, podejmują wspólne programy badawcze z zespołami Instytutu.

Grupa zaufania składa się obecnie z 9 osób, prawdopodobnie wzrośnie do 12-15 w ciągu najbliższych lat. Członkowie grupy zaufania będą proszeni o udział w rozbudowie systemu ko-promocji doktorskich, zachęceni do podjęcia badań w Instytucie, kilku z nich ma zamiar

wkrótce habilitować się w Warszawie. System "trustees" stał się załącznikiem budowania programu powrotów do Instytutu młodej kadry z zagranicy. Części tej kadry proponujemy kierownictwo laboratoriów w nowym gmachu, przy czym uzupełniamy ich pensje ze specjalnie utworzonego funduszu powrotów, pozostającego w dyspozycji dyrekcji.

W 1992 roku w ramach działania funduszu wróciło do Warszawy czterech, a w 1993 r. - dwóch naukowców po długich stażach zagranicznych. Spodziewamy się, że w ciągu trzech-czterech lat ściągniemy z powrotem 10-12 osób, które odbyły staże w najlepszych placówkach zagranicznych i będą się habilitować w Warszawie. W ciągu kilku lat powinniśmy więc odtworzyć w Instytucie, straconą w latach osiemdziesiątych, kadrę w wieku średnim.

Właściwie działająca instytucja naukowa winna działać w środowisku międzynarodowym. Podjęliśmy więc poważne próby umiędzynarodowienia działalności Instytutu, wykraczające poza system grupy zaufania, przy czym staramy się zachować symetrię współpracy z partnerami z Europy Zachodniej i Wschodniej.

IV. Fundusz Stypendiów Europejskich

Współdziałanie z francuskimi organizacjami naukowymi pomogło nam w zapoczątkowaniu procesu transformacji Instytutu. Elementem istotnym było uzyskanie w CNRS wsparcia "związku bliźniaczego" (300000 FF rocznie), które zostało zużyte w zasadzie na opłatę pobytów naszych doktorantów w laboratoriach francuskich (staże 1-3-miesięczne). W uzgodnieniu z naszymi partnerami francuskimi zarezerwowaliśmy w naszym budżecie ekwiwalent (1 mld zł) sum uzyskanych w CNRS - tworząc fundusz stypendiów europejskich - przeznaczony na opłacanie pobytów w Instytucie i stowarzyszonych polskich instytucjach naukowych naszych kolegów z byłych krajów socjalistycznych.

Przydzielamy stypendia (20 stypendiów w 1993 r.) odpowiadające płacy polskich naukowców oraz staramy się o pokrycie przez instytucje zapraszające kosztów mieszkania stażysty. W komisji stypendialnej znajdują się przedstawiciele współpracujących z nami w ramach "związku bliźniaczego" placówek francuskich. Sądzymy, że podtrzymanie kontaktów z Europą Wschodnią odpowiada rozumieniu wymiaru międzynarodowego nauki i jest dla wielu naszych kolegów ze Wschodu - potrzebą chwili.

V. Utworzenie Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin

Umiedzynarodowienie Instytutu chcieliśmy wraz z naszymi partnerami francuskimi wyrazić poprzez formalne stworzenie Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin. Rozmowy o stworzeniu Centrum zostały zapoczątkowane w '89 roku; 25 marca '93 roku prof. F.Kourilsky - Dyrektor Generalny CNRS, min. J.K.Frąckowiak - Sekretarz KBN i prof. A.Wyczański - Sekretarz PAN podpisali porozumienie powołujące owe Centrum. Porozumienie to wyraża swoim programem działania całą strategię transformacji Instytutu. Centrum będzie wiązać warszawskie i poznańskie (IBB PAN, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN) zespoły Akademii i Uniwersytetu Warszawskiego, łącząc badania z procesem nauczania. Będzie elementem umiedzynarodowienia nauki, zespalałym badania zespołów polskich i francuskich. Mamy nadzieję, że będzie ośrodkiem rozwoju biologii molekularnej i jej zastosowań. Sądzymy, że przyciągnie do Polski część naukowców przebywających za granicą i że będzie promieniować na sąsiadujące z nami kraje.

VI. Inne kierunki współpracy międzynarodowej

Nie zaniedbujemy również kontaktów z innymi krajami. Kontynuujemy współpracę w ramach umów bezpośrednich naszego Instytutu z Whitehead Institute for Biomedical Research (USA) oraz Instytutem Chemii Biologicznej Uniwersytetu w Weronie (Włochy).

Ważnym elementem działania IBB jest programowa współpraca z laboratoriami szwedzkimi. Osiągnięciem Instytutu było zorganizowane w sierpniu '93 roku przez zespół prof. T.Chojnackiego międzynarodowe sympozjum "Dolichol and Related Lipids", w którym uczestniczyło ok. 130 osób. Materiały z tego sympozjum przedstawione są w opracowaniu wydanym drukiem przez IBB PAN.

VII. Struktura Instytutu

Instytut zatrudnia 220 osób, w tym 22 profesorów, 6 osób z tytułem doktora habilitowanego, 58 z tytułem doktorskim, 57 magistrów podejmujących prace nad doktoratami, 77 pracowników biblioteki, inżynierów technicznych, administracji, obsługi. W stowarzyszonym Zakładzie UW pracuje 12 osób w tym 3 profesorów, 4 doktorów, 5 magistrów.

Średnia wieku w Instytucie jest dość wysoka (40 lat), choć w okresie ostatnich dwóch lat obniżyła się aż o 5 lat. W skład Instytutu wchodzi 8 zakładów.

Zakład Biochemii Drobnoustrojów - kierowany przez prof. M.D. Hulanicką zatrudnia 24 osoby. Zespoły zakładu prowadzą badania nad mechanizmami replikacji u *E.coli*, ekspresją leków białkowych przez bakterie transgeniczne, genetyką przemian siarki u bakterii, genetyką molekularną, regulacją przemian aminokwasowych u bakterii. Zakład rozwija intensywne badania nad strukturą genomu wirusa liściozwoju ziemniaka.

Zakład Biochemii Lipidów - kierowany przez prof. T. Chojnackiego - zatrudniający 11 osób, pracuje nad strukturą i funkcją poliprenoli, ze szczególnym zwróceniem uwagi na funkcję dolicholi w procesach glukozylacji białek i patogenie roślin i zwierząt.

Zakład Biochemii Porównawczej - kierowany przez prof. J. Szarkowskiego zatrudnia 19 osób. Zespoły zajmują się zasadniczo metabolizmem kwasów nukleinowych i nukleotydów u filogenetycznie różnorodnych organizmów.

Zakład Biochemii Roślin, zatrudniający 29 osób, kierowany jest przez prof. J. Buchowicza. Tu grupy pracują nad funkcją kinaz białkowych w roślinach, poszukiwaniem białek wywołujących oporność roślin na patogeny, transformację roślin.

Zakład Biofizyki - kierowany przez prof. K.L. Wierzchowskiego zatrudnia 29 osób. Zespoły rozwijają badania nad strukturalnymi, konformacyjnymi i termodynamicznymi czynnikami wpływającymi na strukturę makrocząsteczek (białek i kwasów nukleinowych) czynnych biologicznie.

Zakład Biologii Molekularnej, zatrudniający 24 osób, kierowany jest przez prof. C. Janion. Tematyka zakładu jest zróżnicowana i dotyczy mechanizmów niosących modyfikowane zasady, mechanizmów działania psoralenu w leczeniu łuszczycy. Tradycyjnie ważnym punktem badań jest synteza pochodnych nukleotydów o potencjalnej czynności biologicznej.

Zakład Biosyntezy Białka, zatrudniający 16 osób, kierowany przez prof. P. Szafrąńskiego prowadzi badania nad strukturą i ekspresją genomów patogenów roślinnych. W zakładzie trwają też tradycyjnie prace

nad cięciem i składaniem genomowych RNA.

Zakład Genetyki - kierowany przez prof. A.Paszewskiego zatrudnia 25 osób. W zakładzie prowadzone są wspólnie z Zakładem Biosyntezy Białka, prace nad sekwencjonowaniem i funkcją genomu drożdży, genetyka przemian siarki u grzybów niższych, genetyką molekularną oddziaływań jądrowo-mitochondrialnych i mechanizmami naprawy DNA w systemach eukariotycznych.

Tematyka Instytutu koncentruje się wokół genetyki i biologii molekularnej bakterii, grzybów niższych i roślin. Nacisk kładziony jest na rozwój metod matematycznych i informatycznych w zastosowaniu do biologii molekularnej. Szczegółowe omówienie wszystkich programów badawczych Instytutu przekracza ramy sprawozdania, całość programu przedstawiona jest w aktualnym informatorze IBB, dostępnym w Sekretariacie Naukowym.

VIII. Rozwój metodyczny

Szczegółowe elementy rozwoju metod biologii molekularnej przedstawione są w części obrazującej działanie zespołów. Wymieniamy tu tylko te o charakterze integrującym, dotyczące całości czy większości zespołów Instytutu.

Na pierwszym miejscu należy wymienić uzbrojenie Instytutu w wysoko wydajny system informatyczny oparty na jednostce centralnej Challenge L oraz rozbudowanej sieci wewnątrzinstytutowej i połączeniu nowego gmachu IBB z instytutami węzła ochockiego systemem światłowodowym. Wartość tej inwestycji wynosi około 8 mld złotych.

System ma obsługiwać oprócz IBB PAN w równym stopniu Centrum Medycyny Doświadczalnej PAN, Instytut Biocybernetyki PAN, Instytut Biologii Doświadczalnej PAN oraz współpracować z Informatycznym Węzłem Ochockim. W systemie zainstalowano m.in. program CGC Wisconsin. Konfiguracja systemu odpowiada standardom EMBL.

Zespół Zakładu Biofizyki, zajmujący się systemem, sformułował program badawczy wspólnie z Instytutem Weizmanna w Izraelu.

Na drugim miejscu warto wspomnieć o intensyfikacji działań Laboratorium Sekwencjonowania Kwasów Nukleinowych i Syntezy Oligonukleotydów. W 1993 roku Laboratorium, wykorzystując już w 100% pojemność sekwentatora, dostarczyło danych wielu zespołom. Dane

Laboratorium są wykorzystywane w europejskim programie sekwencjonowania genomu drożdży.

Na trzecim miejscu - uzyskanie przez kilka zespołów IBB transformantów roślin wyższych, których cechy są w tej chwili przedmiotem badań.

IX. Stan zaawansowania budowy nowej siedziby Instytutu

Od 1991 roku intensywnie budujemy nową siedzibę Instytutu w Warszawie. Łącznie zostanie wybudowane (do 1995 roku) 11 000 m² nowoczesnie wyposażonych laboratoriów.

W 1992 roku otworzyliśmy pierwszy z kompleksu gmachów (3 600 m²) wyposażony w pracownie izotopowe, odpowiednie systemy wentylacyjne, kanalizacyjne, telekomunikacyjne itp., bibliotekę (prenumerata 200 czasopism, informatyka, 6000 tomów książek), syntetyzator i sekwentator kwasów nukleinowych, PCR, HPLC, FPLC, ultrawiórki itd. oraz laboratoria o odpowiednich standardach mikrobiologicznych i chemicznych. Tu właśnie pracuje duża grupa doktorantów i magistrantów oraz grupy (90 osób) zajmujące się genetyką molekularną i inżynierią genetyczną.

W końcu '93 roku ukończono budowę następnych dwóch gmachów (5 200 m²), gdzie w kwietniu-maju '94 zostaną zainstalowane: centrum informatyczne oraz pracownie NMR i CD, spektroskopii masowej, syntez organicznych, a przede wszystkim - Zakład Genetyki UW. Znajdą tu pomieszczenia sale laboratoryjne dla magistrantów i pewnych grup studentów wyższych lat biologii. Do gmachu tego przejdą grupy pracujące w starym budynku i cały Instytut znajdzie się pod wspólnym dachem.

Rozpoczęliśmy budowę czwartego gmachu przeznaczonego na pomieszczenia zespołów instytutowych i uniwersyteckich zajmujących się biologią molekularną roślin. Tu wyposażenie obejmie odpowiednie zestawy fitotronów. Laboratoria będą prowadzić badania nad transformacją roślin.

Warunki laboratoryjne odpowiadają standardom światowym, nowy gmach stanowi element przyciągający młodą kadrę z kraju i z zagranicy.

Ważnym elementem było uzyskanie w końcu '93 roku homologizacji laboratoriów IBB do europejskich norm bezpieczeństwa biologicznego.

Homologizacji dokonała komisja bezpieczeństwa biologicznego Ministère de Recherche et Education Supérieure Francji, działająca na podstawie umowy o powołaniu Centrum Polsko-Francuskiego.

X. Budżet Instytutu - ocena

Rok '93 zaczynaliśmy po raz kolejny w sytuacji finansowo złożonej. Przyznany początkowo budżet na działalność statutową reprezentował 103% budżetu roku '92 (23.565 mln zł); w wyniku starań wspieranych przez KBN i PAN wzrósł do 30.155 mln zł. Ponadto, w ciągu roku otrzymaliśmy dotację na zadania specjalne w wysokości 5 mld zł.

Zespoły Instytutu starały się aktywnie o różnorodne granty, co powiększyło budżet o dodatkowe 10%. Jeśli się uwzględni, że w wydatkach na działalność statutową składniki stałe (pensje, utrzymanie gmachu, ubezpieczenie, telekomunikacja itd.) sięgają 70%, to pieniądze pochodzące z grantów stanowią poważną część sumy pokrywającej koszty materiałowe prac zespołów Instytutu.

Sądzimy, że intensywne starania o granty powinny i w 1994 roku określać strategię Instytutu.

ZESTAWIENIE KOSZTÓW IBB PAN
poniesionych w okresie sprawozdawczym na dzień 31 grudnia 1993 r.
(w mln zł)

1. Amortyzacja	2.535
2. Wynagrodzenia	13.500
3. Składki ZUS	5.563
4. Podróże służbowe	677
5. Usługi materialne	2.499
6. Materiały i przedmioty nietrwałe	10.615
7. Aparatura specjalna	841

R a z e m : 36.230

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

Temat 1: "Synteza, badanie właściwości fizykochemicznych i biologicznych analogów nukleozydów pirymidynowych, potencjalnych substratów/inhibitorów biosyntezy kwasów nukleinowych".

Zespół: doc. Tadeusz Kulikowski, prof. David Shugar, doc. Alicja Drabikowska, mgr Krzysztof Felczak, mgr Maria Bretner, tech. Grzegorz Guzik

Kontynuowano poszukiwania tionowanych analogów fluoronukleozydów pirymidynowych, potencjalnych inhibitorów syntazy tymidyłanowej oraz odwrotnej transkryptazy. Stosując kondensację nukleozydową katalizowaną przez $TiCl_4$ oraz uprzednio przez nas opracowaną uniwersalną metodę selektywnego tionowania syntetyzowano 2,4-ditiopochodne dUrd, dUMP oraz ich fluorowane analogi. Selektywne aminowanie w.wym. nukleozydów dało 2-tio pochodne cytydyny, deoksycytydyny oraz 5-fluorodeoksycytydyny. Wykazano, że 2,4-ditio-5-fluoro-dUMP jest efektywnym inhibitorem syntazy tymidyłanowej oraz białaczki L5178Y, jednak znacznie słabszym od poprzednio zbadanych 4- i 2-tio pochodnych 5-fluoro-2'-deoksyurydyny (FdUrd) (współpraca z IBD PAN w ramach grantu G-10).

Zbadano zależność specyficzności inaktywacji syntazy tymidyłanowej izolowanej z komórek normalnych, nowotworowych oraz komórek tasiemca od usytuowania podstawników tionowych w reszcie pirymidynowej FdUMP. Wykazano, że 2-tiopochodna - analog o niższej od FdUMP aktywności - posiada niezróżnicowane spektrum specyficzności podobne do spektrum FdUMP, podczas gdy 4-tiopochodna wykazuje zróżnicowaną specyficzność w stosunku do enzymów z różnych źródeł. Pochodna ta jest najbardziej specyficzna w stosunku do enzymu z komórek białaczki L1210 odpornej na FdUrd (współpraca z IBD w ramach grantu G-10).

Kontynuowano poszukiwania nowych potencjalnych inhibitorów odwrotnej transkryptazy z HIV z grupy 3',5-podstawionych 2',3' dideoxyurydyn. Syntetyzowano nową metodą związki wyjściowe do kondensacji tych nukleozydów: 1,5-di-O-benzoilo-2,3-dideoksy-3-fluoro- rybozę oraz szereg 5-podstawionych 2-tiouracyli. Wstępne próby kondensacji

nukleozydowej tych składników w obecności SnCl_4 pozwoliły na otrzymanie potencjalnych inhibitorów HIV - 3-fluoro-2,3-dideoxy-2-tiourydyny oraz jej 5-podstawionego analogu (współpraca z Rega Institut, Katholieke Universiteit Leuven, Belgia w ramach grantu G-10).

Zbadano właściwości inhibitorowe acyklicznych analogów guanozyny w stosunku do fosforylasy nukleozydów purynowych (PNP) z dwóch źródeł: komórek raka płuca oraz komórek normalnych płuca. Spośród szeregu zbadanych acyklonukleozydów tylko 9-(4-hydroksybutylo)guanina wykazała wyższe powinowactwo do enzymu nowotworowego niż do enzymu z komórek normalnych (współpraca z Zakładem Biofizyki IFD UW).

Kontynuowano prace nad syntezą potencjalnych inhibitorów fosforylasy urydynowej z grupy anhydronukleozydów pirymidynowych. Opracowano metodę syntezy 3,0²-anhydro-5-etylourydyny, nowego analogu znanego silnego inhibitora fosforylasy urydynowej, 2,0²-anhydro-5-etylourydyny (I). 5-Etylourydynę, związek wyjściowy do syntezy anhydronukleozydu I otrzymano nową metodą opartą na kondensacji nukleozydowej katalizowanej przez TMS-nonaflan. Reakcja 5-etylourydyny z chlorkiem t-butyldimetylosililowym katalizowana przez sole srebra dała mieszaninę 5',2'- i 5',3'-di-O-t-butyldimetylosililo-5-etylourydyny w stosunku 9:1.

Pochodną 5,2'-poddano reakcji Mitsunobu w THF/DMF i odblokowano przy pomocy TBAF w THF.

Zbadano właściwości substratowe 2-tio-dCyd oraz 2-tio-5-fluoro-dCyd w stosunku do kinazy dezoksycytydynowej z białaczkowej śledziony człowieka. Wykazano, że aktywność substratowa 2-tio-dCyd zależy od stężenia tego związku, natomiast aktywność 2-tio-5-fluoro-dCyd nie zależy od stężenia.

Obydwa związki są fosforylowane wolniej od dCyd: szybkości względne wynoszą odpowiednio 30 i 10% (współpraca z Zakładem Biofizyki IFD UW).

PUBLIKACJE: 2869, +2874, 2875, 2876, 2881, 2882, +2887, +2892, 2895, 616/A, 617/A/ 618/A, 620/A, 621/A.

Temat 2: "Molekularne mechanizmy powstawania i leczenia łuszczycy"

Zespół: doc.dr hab. Zofia Zarebska, dr Daniela Barszcz, mgr Ewa Waszkowska

Kontynuowano badania nad mechanizmem uszkodzenia limfocytów w trakcie terapii PUVA, która polega na łącznym działaniu psoralenów i ultrafioletu UVA (365nm), i ma szerokie zastosowanie w leczeniu pacjentów z łuszczycą (współpraca z Kliniką Dermatologiczną AM).

Wyizolowano i zidentyfikowano fotoprodukty psoralenu powstające w nienasyconych kwasach tłuszczowych w fosfolipidach (+2618).

Na modelu miceli utworzonych z syntetycznej lecytyny, α -fosfatydylocholiny- β,γ -kwas-linolowy (PCd2) i 8-metoksypsoralenu (8-MOP) wykazano powstawanie dwóch typów produktów po naświetleniu: trans-izomerów kwasu linolowego (d2) oraz trzech izomerów adduktów 8-MOP $\diamond$ d2 (+619/A). Fotoaddukty cyklobutanowe powstają z wydajnością 0.015-0.04, co wskazuje, że fotoaddycja w fosfolipidach zachodzi z wydajnością zbliżoną do fotoaddycji 8-MOP do tymin w DNA.

Oczyszczone fotoaddukty, 8-MOP $\diamond$ d2, mają charakterystyczne maksima w widmie absorpcji, przy 258, 268 i 278nm: natomiast w widmie absorpcji lecytyny ujawniają się jako przegięcia około 260 i 280nm, w zależności od przewagi występowania adduktów pyranowych lub furanowych.

Część prac wykonano w ośrodku CNR w Instytucie Nauk Farmaceutycznych w Padwie, gdzie dr Zarebska przebywała 12 tygodni w okresie kwiecień-lipiec 1993r.

Badano fotolizę PCd2 w obecności 8-MOP w układzie podobnym do używanego w Warszawie. Układ ten był modelem działania fototerapii PUVA na błony komórkowe limfocytów w krążeniu.

Mieszaninę związków po naświetleniu rozdzielano na kolumnie w chromatografii cieczowej pod wysokim ciśnieniem (HPLC). 8-MOP znakowany trytem dopomógł w wyodrębnieniu głównych fotoadduktów: trans-izomerów d2 i adduktów cyklobutanowych 8-MOP $\diamond$ d2.

Stwierdzono, że trans-izomeryzacja zachodzi z wydajnością ponad 20%, podczas gdy fotoaddycja - poniżej 1%. Wykryto, że addukty trójmetylowych pochodnych psoralenu eluują się z kolumny HPLC z większym czasem retencji niż macierzysty d2, podczas gdy 8-MOP $\diamond$ d2

wycieka przed kwasem d2, co świadczy o malejącej hydrofobowości adduktu 8-MOP wobec kwasu.

Mieszaninę związków po fotolizie próbowano rozdzielić na płytkach TLC60, które w przeciwieństwie do HPLC nie wymagają uprzedniej metanolizy. W trakcie kwaśnej metanolizy mogą zachodzić niepożądane zmiany w fotoproduktach. Próby te są kontynuowane w Warszawie. Wyniki wspólnych badań zareprezentowała dr Zarebska na dorocznym zjeździe Towarzystwa Fotobiologów Włoch w Salice Terme (PV)(+619/A). Współpracę zamierza się kontynuować poprzez podpisanie 3-letniej umowy z CNR na lata 1994-1996.

Zapoczątkowano nowy cykl prac nad fosfolipazą A2 (PLA2) w limfocytach. PLA2 hydrolizuje fosfolipidy w pozycji *sn*-2, uwalniając kwasy tłuszczowe. Lipaza ta odgrywa istotną rolę w utrzymaniu natywnej struktury błon komórkowych oraz uczestniczy w regulacji cyklu komórkowego. Nasze badania zmierzają do odpowiedzi na pytania, czy kinetyka hydrolizy fosfolipidów poprzez PLA2 ulega zmianie w obecności adduktów 8-MOP $\leftrightarrow$ d2.

Powyższe badania zmierzają do poznania mechanizmu działania fototerapii PUVA na limfocyty pobrane od pacjentów z łuszczyką (P).
PUBLIKACJE: +2816, +619/A

Temat 3: "Chemiczne podstawy mutagenyzy"

Zespół: Doc.dr Jarosław Kuśmerek, dr Małgorzata Mroczkowska, mgr Agnieszka Bukowska, mgr Ewa Borys

Kontynuowano badania nad mutagennym działaniem CAA (metabolit kancerogenu chlorku winylu) w układzie faga M13glyU pozwalającym na selektywną detekcję tranzykcji C-T i stwierdzono, że:

- CAA indukuje tranzykcję C-T,
- indukcja systemu odpowiedzi adaptacyjnej w komórkach E.coli wydatnie obniża częstość fagowych tranzykcji C-T, co sugeruje, że glikozylaza II 3-metyloadenina-DNA usuwa addukty CAA do cytozyny.

Syntetyzowano potencjalne inhibitory glikoz: 3-propylo-, 3-butylo- i 3-benzyloadeninę oraz 3,N⁴-etenocytozynę i 1,N⁶-etenoadeninę. Rozpoczęto badania wpływu sąsiadujących zasad w matrycy na właściwości kodujące izoguaniny. Syntetyzowano izoguanozynę, jej

5-dwufosforan oraz serię matryc rybopolinukleotydowych zawierających izoguaninę.

Ukazały się dwie publikacje będące wynikiem współpracy Zespołu doc.J.Kuśmierka z laboratorium prof.B.Singer w Bereley - USA.

PUBLIKACJE: +2850, +2865, 2870, 2884

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

4.1: "Fragmenty białek wiążących wapń"

Zespół: doc.dr hab. Andrzej Bierzyński, dr Michał Dadleż*, dr Jacek Wójcik, dr Grażyna Goch, mgr. Jakub Góral, mgr. Łukasz Jaroszewski, mgr.inż. Hanna Kozłowska (* staż naukowy w Whitehead Institute, MIT, Cambridge, USA).

4.1.1: "Badania fluorescencji reszty tyrozynowej w izolowanej III pętli wapniowej kalmoduliny"

Obiektem badań był peptyd o następującej sekwencji:

Ac Asp Lys Asp Gly Asp Gly Tyr Ile Ser Ala Ala Glu NH₂ (peptyd K).

Wydajność kwantowa i czasy życia fluorescencji reszty Tyr₁₂ zmierzono w funkcji temperatury dla peptydu w formie apo oraz wysyconego jonami Ca²⁺, La³⁺, i Tb³⁺. Analiza uzyskanych wyników dokonana przy użyciu metod molekularnej dynamiki prowadzi do następujących wniosków:

1) złożony charakter zaniku fluorescencji jest zgodny z hipotezą, że konformery *g*(-), *g*(+) i *t* pierścienia tyrozyny charakteryzują się różnymi czasami fluorescencji a przejścia konformacyjne są wolne w porównaniu z czasem życia stanu wzbudzonego; 2) wszystkie trzy konformery występują w formie apo oraz w peptydzie wysyconym jonami wapnia, choć w tym ostatnim przypadku populacja konformeru *g*(+) jest znacznie niższa a *g*(-) wyższa niż w formie apo; w obu przypadkach populacja konformerów zależy od temperatury; 3) w peptydzie wysyconym jonami lantanowców (La³⁺ lub Tb³⁺) konformer *t* nie występuje a najsilniej populowany jest konformer *g*(+) [90%]; populacja obu konformerów nie zależy od temperatury, co świadczy, że są one izoenergetyczne i różnią się jedynie entropią. Obliczenia wykonane na podstawie powyższych

wyników wskazują na istotne różnice w konformacji peptydu wysyconego jonami Ca^{2+} i Ln^{3+} .

Praca została zakończona. Jej wyniki przedstawiono w formie plakatu na XI Międzynarodowym Kongresie Biofizycznym w Budapeszcie (25-30 lipca 1993 r.) oraz w formie komunikatu na I Polsko-Izraelskim Sympozjum pn. "Chemistry and Biology of Peptides" w Gdańsku (1-8 września 1993 r.). Publikacja w przygotowaniu.

PUBLIKACJE: 651/A

4.1.2: "Badanie asocjacji pętli wapniowych kalmoduliny"

Zakończono prowadzone od dwu lat badania asocjacji peptydu K. Na podstawie analizy szerokości sygnałów NMR protonów Tyr12 w zależności od stężenia i temperatury wyznaczono stałe równowagi oraz stałe szybkości dimeryzacji peptydu w funkcji temperatury. Wykazano, że dimery są stabilizowane poprzez oddziaływania hydrofobowe i obliczono wielkość kontaktujących się ze sobą powierzchni hydrofobowych. Na tej podstawie oraz na podstawie analizy przesunięć chemicznych sygnałów NMR zaproponowano strukturę dimeru, która jest analogiczna do struktury tworzonej przez pętle III i IV w natywnej kalmodulinie.

Wyniki pracy przedstawiono w formie plakatu na XI Międzynarodowym Kongresie Biofizycznym w Budapeszcie (25-30 lipca 1993 r.) oraz w formie komunikatu na I Polsko-Izraelskim Sympozjum pn. "Chemistry and Biology of Peptides" w Gdańsku (1-8 września 1993) i na III Krajowym Sympozjum pn. "Struktura białek i konformacja peptydów" w Zaborowie (29 kwietnia - 2 maja 1993 r.). Publikacja w przygotowaniu.

PUBLIKACJE: 650/A

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

Zespół: Prof.dr Kazimierz L. Wierzchowski, dr hab. Krzysztof Bobrowski*, mgr. Jarosław Poznański, mgr. Krystyna Majcher (staż naukowy w Radiation Laboratory, Notre Dame University, USA)

4.2.1: "Modelowanie kinetyki dalekozasięgowego przeniesienia elektronu (LRET) w liniowych i cyklicznych peptydach"

Opracowaliśmy wcześniej przez nas model kinetyki LRET między indolowym rodnikiem Trp a resztą fenylową Tyr w serii peptydów H-Trp-(Pro)_n-Tyr-OH (publik. 2852), oparty na założeniu występowania dwóch dróg przenoszenia elektronu - przez wiązania (TB) i przez przestrzeń (TS) - oraz udziału w tym procesie tylko stabilnych energetycznie konformerów, zastosowano z powodzeniem do interpretacji danych doświadczalnych DeFellipisa i współpr. (JACS 1990, 112, 5640) dla tej samej reakcji w peptydach o odwrotnej kolejności występowania końcowych aminokwasów: H-Tyr-(Pro)_n-Trp-OH. W tym celu metodą molekularnej mechaniki (AMBER 3.0) otrzymano niskoenerygetyczne konformery dla tej serii peptydów i obliczono odległości między aromatycznymi pierścieniami dla obu dróg transferu. Otrzymano bardzo dobrą zgodność między obliczonymi dla tych odległości (według teorii Marcusa) i doświadczalnymi stałymi szybkości przeniesienia elektronu. Wyniki te dezawuuują hipotezę DeFellipisa i inn., zgodnie z którą szybkość przeniesienia elektronu miałaby zależeć od jego kierunku wzdłuż łańcucha peptydowego. Dla obu serii peptydów zmieniono również parametryzację drogi TB obliczając odległość między aromatycznymi pierścieniami wzdłuż wiązań jako długość linii łamanej C^β [Trp]- (C^α [Pro])_n-C^β [Tyr] (w oryginalnym modelu jest to odległość między atomami C^β końcowych aminokwasów) otrzymując jeszcze lepszą zgodność między obliczonymi i doświadczalnymi danymi.

W celu weryfikacji słuszności założenia o przebiegu LRET głównie z udziałem stabilnych stanów konformacyjnych peptydów, metodą molekularnej dynamiki podjęte zostały symulacje dynamiki konformacyjnej wybranych peptydów z serii H-Trp-(Pro)_n-Tyr-OH w różnych temperaturach i przedziale czasowym do 5000 ps. Analiza wyników ujawniła możliwość występowania w czasie życia rodnika indolowego krótkotrwałych stanów konformacyjnych związanych z przejściem β → α kąta ψ(Pro), powodujących załamywanie się mostka -(Pro)_n- i znaczne skrócenie odległości

między aromatycznymi pierścieniami. Występowanie tych stanów zostanie uwzględnione w opracowywanym obecnie udoskonalonym modelu LRET, opartym na wynikach symulacji MM i MD oraz kwantowo-mechanicznym opisie prawdopodobieństwa przeniesienia elektronu między molekularnymi orbitalami obu aromatycznych pierścieni.

Przeprowadzono również modelowanie metodami MM i MD konformacji cyklicznego peptydu $\text{-Trp-Pro}_2\text{-Tyr-Gly}_2\text{-}$, w którym aromatyczne pierścienie nie mogą się z sobą kontaktować. Stosując parametryzację transferu przyjętą w modelu LRET dla liniowych peptydów, wyznaczono wartości stałych szybkości LRET dla konformerów otrzymanych w trakcie 5000 ps MD. Wyznaczona w ten sposób uśredniona stała szybkości LRET-TB okazała się zadawalająco bliska wartości doświadczalnej, otrzymanej metodą impulsowej radiolizy. Konieczna jest jednak lepsza parametryzacja modelu dla peptydów o cyklicznej budowie.

4.2.2: "Badanie konformacji peptydów $\text{H-X-(Pro)}_n\text{-Y-OH}$ ($\text{X} = \text{Trp, Tyr}$; $\text{Y} = \text{Tyr, Met}$, $n = 1-5$)"

Zakończone zostały pomiary widm kołowego dichroizmu w ultrafiolecie (CD) tytułowej grupy peptydów stosowanych w badaniach LRET, mające na celu określenie konformacji łańcucha głównego peptydów i jej trwałości termicznej. Analiza otrzymanych widm CD peptydów wszystkich 3 serii oraz elementów ich budowy: H-Trp-Pro-OH , H-Tyr-Pro-OH , H-Pro-Tyr-OH , H-Pro-Met-OH i $\text{H-(Pro)}_n\text{-OH}$ [$n = 2-4$], pozwoliła na przyporządkowanie pasm absorpcji określonym przejściom elektronowym. Na podstawie molowej eliptyczności pasma absorpcji, $[\theta]_{206}$, związanego z helikalną konformacją łańcucha głównego typu *trans*-poli-L-proliny II oraz jej temperaturowej zależności wykazano, że w serii peptydów $\text{H-Trp-(Pro)}_n\text{-Tyr-OH}$ [$n = 1-5$] konformacja ta powstaje przy $n \geq 3$, podczas gdy w seriach $\text{H-Trp-(Pro)}_n\text{-Met-OH}$ i $\text{Tyr-(Pro)}_n\text{-Met-OH}$ [$n = 1-3$] pojawienie jej obserwuje się już przy $n = 2$. W połączeniu z wynikami naszych badań metodą NMR oraz modelowania metodami MM i MD dane te dowodzą, że w ostatnich dwóch grupach peptydów N-końcowy peptyd tworzy wraz z resztami Pro konformację typu PLP II, natomiast w przypadku pierwszej grupy peptydów oddziaływanie aromatycznych pierścieni Trp i Tyr uniemożliwia reszcie Trp przyjęcie takiej konformacji.

PUBLIKACJE: 2863, 2872, 652/A, 5-8.

4.3: "Mechanizm inicjacji transkrypcji genów prokariotycznych i prostych genów eukariotycznych (tRNA)"

Zespół: Prof.dr Kazimierz L. Wierzchowski, dr W.J.Smagowicz, dr P.Szafrński II*, mgr. Iwona Kolasa i dr T. Łoziński **. (* do 1.IX.93; ** staż naukowy w Centrum Biologii Molekularnej Uniwersytetu, Heidelberg)

Kontynuowano badania otwartych kompleksów transkrypcyjnych utworzonych na promotorach zawierających sekwencje $A_n.T_n$ zaginające oś heliksu DNA (publ.2751). W związku ze stwierdzeniem w laboratorium M.T.Recorda Jr., że powstawanie otwartego kompleksu na promotorze λP_R wymaga stechiometrycznego związania 1 jonu Mg^{2+} w domenie jednoniciowego DNA, przeprowadziliśmy footprinting $KMnO_4$ otwartych kompleksów utworzonych na promotorach o różnym stopniu zagięcia osi DNA, w nieobecności i w obecności jonów Mg^{2+} w roztworze. Ilościowa analiza densytometryczna autoradiogramów wykazała, że niezależnie od sekwencyjnej budowy promotora jony te zmniejszają stopień jego otwarcia w obszarze poprzedzającym miejsce inicjacji nici RNA, zwiększając jednocześnie otwarcie DNA powyżej miejsca inicjacji. W kompleksach utworzonych w nieobecności jonów Mg^{2+} rozkład podatności na utlenienie przez $KMnO_4$ reszt tyminy w tym rejonie promotora okazał się zależny od położenia i wielkości zaginającej osi DNA sekwencji. Związanie jonu Mg^{2+} zmienia więc zasadniczo położenie i topologię budowy domeny jednoniciowego DNA w otwartym kompleksie transkrypcyjnym.

Przeprowadzono syntezę fluoryzującego analogu UTP: γ -ANS-UTP i opracowano fluorescencyjną metodę pomiaru kinetyki abortywnej inicjacji transkrypcji dla badanej grupy promotorów: $ApA + UTP \rightarrow ApApU$. Pozwala ona na znacznie precyzyjniejsze wyznaczanie parametrów kinetycznych i termodynamicznych tej reakcji.

PUBLIKACJE: 639/A

Poza planem naukowym Instytutu: prof.K.L.Wierzchowski

W ramach współpracy z Zakładem Kalorymetrii ICHF PAN kontynuowane były termochemiczne pomiary entalpii hydratacji i pozornych pojemności cieplnych roztworów 3- i 6-alkilouracyli, alkilowanych cytozyn i puryn w roztworach wodnych.

PUBLIKACJE: 9-12.

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

4.4.1: "Czynnik wzrostu naskorka człowieka (hEGF)"

Zespół: dr Krystyna Bolewska i Teresa Rak

Prowadzono prace nad klonowaniem i ekspresją skonstruowanych syntetycznych genów kodujących cztery białka: hEGF (działalność statutowa), S-100 alfa oraz dwa fragmenty S-100 α (grant G-1) w systemie *E.coli* wykorzystującym polimerazę RNA faga T7, z którym zapoznano się podczas pobytu dr K. Bolewskiej w pracowni dr P. Kima (Whitehead Institute, USA). W wektorze ekspresyjnym pMW172 (dar dr M. Waya) sklonowano gen hEGF. Po potwierdzeniu jego sekwencji nukleotydowej metodą dideoksy badano jego ekspresję w dwóch szczepach: BL21(DE3) pLys S i BL21(DE3) pLys E. Po indukcji IPTG, metodą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym w warunkach denaturujących stwierdzono obecność białka o masie cząsteczkowej hEGF. Wydajność ekspresji białka odpowiada ok. 1 mg/l hodowli. Ponieważ gen hEGF projektowano do ekspresji w drożdżach, w jego sekwencji nukleotydowej uwzględniono kodony wykorzystywane najczęściej w *Saccharomyces cerevisiae*. Wyjaśnia to niską wydajność produkcji białka w *E.coli*, gdzie częstotliwość występowania niektórych kodonów, np. argininy (trzy reszty w hEGF) jest krańcowo różna. Z tego powodu oraz ze względu na fakt otrzymania (od dr P. Kima) wektora ekspresyjnego pAED4, umożliwiającego zarówno ekspresję klonowanych genów w *E.coli* jak i ich mutagenezę kierowaną syntetycznymi oligonukleotydami metodą Kunkela, zdecydowano się na nową konstrukcję genu hEGF, którego sekwencja uwzględniałaby kodony najczęściej używane w *E.coli* i dostosowanego do tego wektora. Oligonukleotydy do konstrukcji genu zsyntetyzowano w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi. Trwają prace nad potwierdzeniem sklonowania genu hEGF w wektorze pAED4.

W wektorze pAED4 sklonowano geny kodujące białko S-100 alfa oraz jego dwa fragmenty a ich prawidłową sekwencję potwierdzono metodą dideoxy. Celem prawidłowego podłączenia tych genów przed klonowaniem zmieniono początki tych genów przy użyciu syntetycznych fragmentów

DNA. Wykazano ekspresję tych genów w szczepie BL21(DE3), pLysS po indukcji IPTG stosując metodą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym w warunkach denaturujących. Podjęto też prace nad izolacją i oczyszczaniem rekombinowanego białka S-100 alfa. Jego wydajność po oczyszczeniu na kolumnie Phenylo-Sepharose oszacowano ok. 60 mg/l hodowli (prace w ramach grantu G-1).

4.4.2: "Inhibitor proteaz serynowych z roślin dyniowatych"

Zespół: prof. dr Magdalena Fikus i mgr Bożenna Rempoła

Syntetyczny gen kodujący inhibitor przygotowany do klonowania w drożdżach włączono do wektora plazmidowego pYET (publ. Nr. 2880). W wektorze tym ekspresja genu jest regulowana przez indukowalny promotor *CTA1*, sekrecja białka jest pod kontrolą sekwencji wyprowadzającej toksyny killerowej z *K. lactis*, a sygnały terminujące transkrypcję pochodzą z końca 3' genu *FLP 2μ* DNA. Zrekombinowanym wektorem transformowano trzy szczepy *S. cerevisiae*. Sprawdzono testem jakościowym ekspresję genu we wszystkich. Inhibitor wydzielony przez szczep wykazujący najwyższy poziom ekspresji w zoptymalizowanych warunkach został wstępnie oczyszczony i oznaczony ilościowo. Uzyskano 0,8mg/l hodowli, co jest wartością ok.10-krotnie wyższą niż uzyskane w innych zrekombinowanych szczepach.

Syntetyczny gen kodujący inhibitor przygotowany do klonowania w *E. coli* wprowadzono do plazmidu pMW172 za promotorem faga 7 i tym konstruktem transformowano szczep *E. coli* niosący indukowalny gen polimerazy RNA T7. Badania ekstraktów komórkowych w różnych warunkach ekspresji nie wykazały obecności aktywnego inhibitora proteaz serynowych.

PUBLIKACJE: 2922, 2879, 2880, 2891.

Temat 4.5: "Modelowanie struktury i funkcji białek"

Zespół: dr Piotr Zielenkiewicz, dr Danuta Płochocka, mgr Tomasz Oszał.

W celu określenia, czy istnieje sekwencja DNA lub aminokwasowa "zabroniona" z punktu widzenia tworzenia natywnych struktur tych makrocząsteczek przeanalizowano występowanie trójek i czwórek aminokwasowych w bazie sekwencji (SWISSPROT). Stwierdzono, że

wszystkie możliwe trójki występują w bazie. Analiza tetrapeptydów wymaga uwzględnienia częstości występowania poszczególnych aminokwasów w bazie i znalezienia prawdopodobieństwa, że brak danej czwórki jest statystycznie istotny. Obliczenia są obecnie kontynuowane.

Przeanalizowano sekwencję białka VPg wirusa TVMV. Porównano wyniki przewidywań struktury drugorzędowej przy użyciu różnych metod. Określono profile hydrofobowości i potencjalne rejony zwiększonej giętkości łańcucha. Znaleziono wysoką homologię do 9 białek z bazy SWISSPROT, co pozwoliło na postulowanie istotnych ewolucyjnie miejsc w sekwencji. Znaleziono homologię (na 50-aminokwasowych odcinkach) do białek o znanej strukturze krystalograficznej, co umożliwi podjęcie dalszych prac nad modelowaniem struktury trzeciorzędowej białka VPg.

Stworzono własną bazę sekwencji intronowych wykorzystując sekwencje z banku EMBL a także bazę odpowiadających im sekwencji polipeptydowych dla trzech różnych ramek odczytu. Sekwencje te będą analizowane z punktu widzenia ich homologii z bazą sekwencji białkowych, częstości występowania aminokwasów i używanych kodonów.

Temat 5: "Regulacja ekspresji niektórych genów w rozwoju osobniczym owada"

Zespół: prof. Zofia Lassota, dr Krystyna Grzelak, dr Joanna Michalik, dr Barbara Kłudkiewicz, dr Ewa Szolajska, techn. Krystyna Gocman

We współpracy z Francją rozpoczęto prace nad skonstruowaniem transformanta bakulowirusa, który może być użyty jako bezpieczny ekologicznie insektycyd. Wprowadzenie sekwencji kodującej neurohormon lub toksynę o charakterze peptydu podnosi zwykle toksyczność bakulowirusa i skraca czas uzyskania efektu letalnego. Syntetyczny gen dla poneratoksyny (toksyny owadziej) wprowadzono do wektora Bac PAK8 celem użycia do kotransfekcji. Prawidłowa sekwencja i orientacja insertu umożliwi umieszczenie insertu w wektorze, zachowującym syntezę poliiedryny co gwarantuje uzyskanie transformantów bakulowirusa z zachowanym płaszczem białkowym.

W badaniach nad wpływem hormonu adypokinetycznego i jego analogów na syntezę ellogenin w ciele tłuszczowym samiec *T. molitor* stwierdzono efekt hamowania tego procesu w warunkach *in vitro* stężeniem hormonu

10^{-7} - 10^{-8} M.

W okresie objętym sprawozdaniem przyjęto do druku (Insect Biochem. Molec. Biol.) pracę, w której przedstawiono wyniki badań prowadzonych we współpracy z zespołem prof. A.K.Kumarana z Marquett University, Milwaukee USA. Badania te dotyczyły analizy strukturalnej genu kodującego białko - arylforynę o c.cz. 82kD. Ekspresja tego genu zachodzi podczas ostatniego stadium larwalnego *G.mellonella* i jest hamowana przez ekdysteroidy.

Od 1 listopada 1993 r. współpracuje z zespołem dr Halina Turkowska z Instytutu Biologii Molekularnej z Kijowa pobierająca 3-miesięczne stypendium EFS.

PUBLIKACJE: 2885, 2914, 655/A, 656/A

Temat 6: "Sekuencjonowanie genomów wybranych szczepów wiroidów i wirusów roślinnych oraz ich detekcja"

Zespół: prof. dr W. Zagórski, dr. M. Wełnicki, mgr A. Chachulska, mgr A. Góra, E. Nowak

Celem badań jest charakterystyka molekularna polskich izolatów wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTV) i wirusa ziemniaczanego Y (PVY).

Stosowano trzy szczepy PSTV pochodzące z kolekcji Instytutu Ziemniaka w Młochowie: łagodny (mPSTV), ostry (sPSTV XIII) i pośredni (iPSTV 818). Pełnej długości cDNA wymienionych szczepów PSTV otrzymano metodą PCR, sklonowano w wektorze plazmidowym pUC9 i zsekuencjonowano. Wyniki porównano z 17 sekuencjami opublikowanych izolatów PSTV. Stwierdzono kilkunukleotydowe zmiany w domenie P - regionie (VM) odpowiedzialnym za wirulencję wiroida. Wykazano, że szczepy ostry i pośredni złożone są z subpopulacji wariantów molekularnych. W szczepie ostrym dwa z tych wariantów mają sekuencję odpowiadającą wersji "pośredniej". Jedna z nich jest opisana w literaturze, a druga nowa. Sekuencje nukleotydowe trzeciego i czwartego wariantu odpowiadają nowym sekuencjom szczepu ostrego. W obrębie szczepu łagodnego zaobserwowano tylko jeden wariant o nowej sekuencji.

Do badania infekcyjności różnych wariantów molekularnych PSTV, skonstruowano plazmidy niosące monomeryczne wstawki cDNA PSTV, którymi

zakażano siewki pomidora odmiany Rutgers. Obserwowano objawy porażenia roślin o różnym nasileniu. Najsilniejsze objawy wystąpiły w przypadku ostrego wariantu sekwencyjnego s23 PSTV, nieco słabsze w przypadku i2 PSTV oraz i4 PSTV. Warianty i3 PSTV i s27 PSTV wykazały bardzo słabą infekcyjność. Analogiczne testy przeprowadzono na trzech odmianach ziemniaka: Jagna, Irys i Sokół. Obecność wiroida w badanym materiale roślinnym potwierdzono testami hybrydyzacyjnymi. Wykonano 350 testów na roślinach pomidora i 150 ziemniaka. Rozpoczęto doświadczenia nad wpływem domeny P na patogenność PSTV.

W badaniach nad PVY określono sekwencję nukleotydową genomów trzech izolatów tego wirusa: PVY_O Lipiński Wczesny, PVY_N Nysa i Wilga. Metodą PCR zamplifikowano dwa regiony genomów izolatów PVY - region niekodujący 5' wraz z genem białka P1 oraz gen białka płaszcza (CP). Fragmenty sekwencjonowane miały 1040 i 844 zasady. Uzyskane sekwencje porównano z innymi znanymi sekwencjami PVY. Stwierdzono wysoką homologię sekwencji genu białka płaszcza badanych izolatów. Region niekodujący 5' i gen białka P1 są znacznie bardziej zmienne. Sklonowano także inne regiony genomu PVY_N Nysa i rozpoczęto ich sekwencjonowanie. Prowadzone są badania nad konstrukcją wektora zawierającego fragment genomu PVY_N (ok. 1.2 kb) do transformacji roślin.

Badania były prowadzone przy współpracy Station de Pathologie Vegetale INRA, Bordeaux (Francja) i Laboratoire de Biologie Cellulaire INRA, Versailles (Francja).

PUBLIKACJE: 625/A 627/A 632/A 633/A 641/A 642/A

Temat 7: "Cięcie i składanie genomu wiroida PSTV."

Zespół: prof. dr P. Szafranski, mgr J. Pawłowicz, M. Wojcieszyn

W procesie replikacji wiroida PSTV powstają oligomeryczne formy tego wiroida, które jak przypuszcza się, są cięte w komórce roślinnej na monomery liniowe, z których powstają formy koliste PSTV. Celem pracy jest zbadanie możliwości autokatalitycznego cięcia oligomerów PSTV.

Oligomery RNA PSTV zsyntetyzowano za pomocą transkrypcji plazmidu pST 5.4(+) zawierającego pięć powtarzających się odcinków cDNA PSTV.

Do transkrypcji używano liniowe formy plazmidu pST 5.4(+) otrzymane po jego trawieniu Eco RI i Hind III oraz polimerazy SP6 i T7. W ten sposób, otrzymano pentameryczne formy RNA wiroida o polarność (+) i (-). Nie udało się jednak znaleźć warunków, w których oligomery RNA PSTV ulegałyby autokatalitycznemu cięciu.

Celem dokładniejszego zbadania możliwości tego procesu przeprowadzono transkrypcję cDNA wiroida mozaiki brzoskwini (PLMV), co do którego wiadomo, że produkty jego replikacji ulegają autokatalitycznemu cięciu.

Plazmid pBluescript II KS(+) zawierający w miejscu Pst I pełnej długości insert cDNA PLMV otrzymano z Instytutu Agrochemii i Technologii Żywności w Hiszpanii. Za pomocą Bam HI i transkrypcji polimerazą T3 uzyskano RNA PLMV(+), a stosując Eco RI i polimerazą T7 otrzymano nić (-). Elektroforetyczna analiza produktów transkrypcji cDNA PLMV wykazała, że pełnej długości nić (337 nukleotydów) RNA PLMV ulega podczas transkrypcji autokatalitycznemu cięciu. Czynione są próby znalezienia warunków, w których RNA PSTV ulegałyby podobnym procesom.

Temat 8: "Sekuencjonowanie genomu drożdży i synteza oligonukleotydów"

Zespół: prof. dr W. Zagórski, mgr M. Zagulski, mgr A. Migdalski,
mgr E. Grzybowska, mgr U. Zielenkiewicz, mgr J. Sulicka,
mgr J. Pawłowicz, mgr R. Gromadka, B. Sokołowska

Badania nad strukturą genomu drożdży *S.cerevisiae* są prowadzone przy współpracy Centrum Genetyki Molekularnej CNRS, w ramach programu EWG.

Zakończono sekwencjonowanie i częściowo analizę dwóch nowo odkrytych otwartych ramek odczytu (ORF) z kosmidu alfa-61 chromosomu II (YBR1007 i YBR1015).

Rozpoczęto prace nad klonowaniem i rozdzieleniem ORF-ów: YBR1005, YBR1006, YBR1013 i YBR1014.

Zakończono sekwencjonowanie fragmentu 10 kb z kosmidu alfa-20 chromosomu II. W obrębie ustalonej sekwencji znaleziono dwie nowe otwarte ramki odczytu (nazwano je HEL i A20ORF1) oraz 5 kb początkowy fragment genu IRA1. Analiza komputerowa ORF-u HEL wykazała wysoką

homologię z wieloma ATP-zależnymi helikazami RNA, natomiast porównanie z mapą genetyczną tego regionu sugeruje, że jest to gen Mak5. ORF A20ORF1 nie wykazuje żadnej istotnej homologii z sekwencjami genów z banku danych. W zsekwencjonowanym fragmencie genu IRA1 stwierdzono niezgodności z opublikowaną przez innych sekwencją. Nasze dane wskazują, że miejsce startu transkrypcji tego genu jest przesunięte z pozycji 565 do pozycji 141, wobec czego długość mRNA genu IRA1 zwiększa się o 424 nukleotydy.

Otrzymany od F. Galiberta, koordynatora odpowiedzialnego za sekwencjonowanie chromosomu X, kosmid 103 (sklonowany w pWE15) był poddany sonifikacji. Uzyskane fragmenty DNA wklonowano do pUC18 i zsekwencjonowano. Otrzymane sekwencje złożono przy użyciu programu "Sequence assembly program".

Zsekwencjonowano również część IV chromosomu drożdży między genami HEM12 i CDC34. Z plazmidu 11B zawierającego ten rejon subklonowano fragment KpnI (ok. 3 000 par zasad) i zachodzący na niego fragment SstI (ok. 5 800 par zasad) znajdujący się za genem HEM12. Wstępna analiza zsekwencjonowanych fragmentów IV chromosomu wykazała obecność 4 ramek odczytu: orf2, TPI, orf1 i DBF4.

Przeprowadzono również analizę nowo odkrytych ORF-ów chromosomu III *S.cerevisiae*.

Dodatkowo, w ramach współpracy z Uniwersytetem w Bratysławie wykonano klonowanie i sekwencjonowanie fragmentu genomu *S.cerevisiae* kodującego supresorowy tRNA^{Gln}_{CAG} zdolnego do częściowej supresji mutacji odg1.

Temat 9: "Konstrukcja sondy molekularnej do detekcji wirusa cytomegalii (HCMV)"

Wykonawca: dr M. Jastrzębska-Czubak

Wirus cytometrii (HCMV) powoduje uszkodzenie systemów obronnych organizmu i łatwo atakuje ludzi niezależnie od wieku populacji.

Dotychczasowe metody diagnostyczne HCMV oparte na reakcjach immunologicznych, są mało czułe i długotrwałe (kilka tygodni). Proponowana przez nas metoda jest oparta na hybrydyzacji znakowanej sondy molekularnej z DNA HCMV. Jest ona szybka (3 dni), swoista i

czuła.

Źródłem DNA do konstrukcji sondy genetycznej był szczep wirusa ad 169 kodowany na ludzkiej linii komórek zarodkowych. Otrzymano serię fragmentów DNA HCMV, z których wybrano dwa (6 kb i 3 kb) i wklonowano do wielokopiowego plazmidu pochodnego Col EI. Namnożono następnie plazmid w bakteriach *E.coli* i wyizolowano plazmidowy DNA. Otrzymana sonda nie dawała krzyżowej reakcji z DNA badanych innych niż HCMV wirusów grupy herpes. Próby diagnostyczne przeprowadzono przy współpracy Centrum Zdrowia Dziecka i Kliniki Pediatrii Szpitala Dziecięcego. Materiałem klinicznym do diagnostyki był mocz pacjentów zawierający cząstki wirusa i zakażone nim komórki nabłonkowe. Wyizolowany z moczu DNA badano za pomocą metody hybrydyzacji z zastosowaniem otrzymanej uprzednio sondy znakowanej digoxigeniną związaną z dUTP. Zbadano 38 próbek moczu, z czego w 14 wykryto wirus HCMV.

Doświadczenia nie są zakończone i wymagają zsekwencjonowania wklonowanych do plazmidu fragmentów DNA HCMV. Pracę przerwano z powodu odejścia wykonawcy.

Temat 10: "Udział chromosomowego i pozachromosomowego DNA w różnicowaniu komórek"

Zespół: prof. Jerzy Buchowicz, dr Marta Dobrzańska, dr Marek Tomaszewski, dr Elżbieta Kraszewska, mgr Barbara Kroczyńska, mgr Maria Bucholc, mgr Jolanta Zaim

Zidentyfikowano kolejny przykład powtarzających się sekwencji DNA, które występują w różnych ilościach kopii w chromosomowym DNA różnych komórek tego samego organizmu. Tym razem jest to sekwencja o długości 1545 pz występująca w około 370 kopiach, 100 kopiach i mniej niż 1 kopia/genom haploidalny, odpowiednio w jądrowym DNA zarodków, endospermy i ilości pszenicy (*Triticum aestivum*). Sekwencja jest umiarkowanie bogata w pary AT (56,7%) i nie wykazuje istotnej homologii z dotychczas znanymi sekwencjami DNA poza ruchomym elementem P z *Drosophila melanogaster* (52% identyczności). Jej ewentualny związek z różnicowaniem komórek lub wydarzeniami transpozycyjnymi jest godny uwagi. W Bibliotece Danych EMBL jest dostępna pod numerem

X76181.

Z puli jądrowego pozachromosomowego DNA (exDNA) spoczynkowych zarodków pszenicy wyodrębniono frakcję bogatą w sekwencje hybrydujące z sondą telomerową. Jeden z fragmentów (241 pz) sklonowano i zsekwencjonowano. Stwierdzono, że składa się on niemal wyłącznie z tandemowo powtarzających się bloków d(CCCTAAA) d(TTTAGGG), jak telomery *Arabidopsis thaliana*. Mimo szybkiej syntezy pozachromosomowych sekwencji telomerowych bezpośrednio po przerwaniu spoczynku zarodka, ich ogólny udział ilościowy w puli exDNA zmniejsza się. Równocześnie obserwuje się wzbogacenie chromosomowego DNA w sekwencje telomerowe. Badania w toku zmierzają do wyjaśnienia czy exDNA może służyć jako źródło sekwencji telomerowych dla chromosomów.

PUBLIKACJE: 2866, 2878, 640/A, 626/A

Temat 11: "Charakterystyka genów pozaplastydowych kodujących enzymy działające na terenie chloroplastów"

Zespół: prof. Lidia Danuta Wasilewska, dr Bogusław Kwiatkowski, mgr Anna Zielińska-Kwiatkowska

W okresie sprawozdawczym kontynuowano badania dotyczące sklonowanych sekwencji dla wybranych enzymów metabolizmu energetycznego roślin. W szczególności, skoncentrowano się nad bliższą analizą trzech klonów cDNA dla kinazy adenylanowej kukurydzy (klony AK2, AK3 i AK4) wyselekcjonowanych metodą immunodetekcji z banku klonów cDNA w ekspresyjnym wektorze lambda Uni-ZAP-XR, które mogą reprezentować mitochondrialne i cytozolowe izoformy tego enzymu u roślin typu C4.

Ponadto, w związku z natrafieniem wśród wyselekcjonowanych rekombinantów na sekwencje wykazujące bardzo wysoką homologię do DNA kodującego nowy rodzaj chaperonów molekularnych typu kalneksyny wykrytych ostatnio w tkankach zwierzęcych, przystąpiono do ich bardziej szczegółowej charakterystyki, zwłaszcza że byłaby to pierwsza poznana sekwencja cDNA tego białka u roślin.

W przypadku analizy trzech klonów cDNA dla kinazy adenylanowej kukurydzy (AK2, AK3 i AK4) przygotowano dla każdego z nich pełny zestaw mutantów delecyjnych do sekwencjonowania przy

zastosowaniu egzonukleazy EXO III i przeprowadzono zaawansowane sekwencjonowanie uzyskanych mutantów dla wyżej wymienionych trzech klonów cDNA. Do chwili obecnej poznano ok. 50% sekwencji obu nici cDNA tych trzech klonów i dalsze badania są w toku.

Niezależnie od powyższego, uzyskane ostatnio dane sekwencyjne pozwoliły na zidentyfikowanie wśród wyizolowanych rekombinantów z banku cDNA kukurydzy klonu wykazującego ponad 70% homologii do cDNA wykrytych niedawno w tkankach zwierzęcych chaperonów typu kalneksyny. Na podstawie analiz komputerowych można przypuszczać, iż zostało zsekwencjonowane około 60% cDNA od strony 3' końca nici kodującej kalneksynę z kukurydzy. Kolejne etapy sekwencjonowania są obecnie w toku. Ponieważ jest to pierwsza dostępna sekwencja tego typu chaperonów u roślin, dalsza analiza zidentyfikowanego klonu cDNA z kukurydzy wykazującego tak wysoką homologię do kalneksyny pochodzenia zwierzęcego będzie prowadzona w sposób priorytetowy, zmierzając do możliwie szybkiej rejestracji nowopoznanej sekwencji w EMBL Data Library.

30.VI.1993r obrona pracy doktorskiej mgr Bogusława A. Kwiatkowskiego pt. Klonowanie cDNA wybranych enzymów metabolizmu energetycznego roślin i ustalenie sekwencji cDNA kinazy adenylanowej.

Temat 12: "Występowanie i rola lipidów terpenoidowych w tkankach roślinnych. Badania struktury i biosyntezy"

Zespół: prof. Tadeusz Chojnacki dr Ewa Kula-Świeżewska, dr Wiesław Jankowski, mgr Elżbieta Soszyńska, mgr Elżbieta Skoczylas, Józefina Hertel

Przeprowadzono badania przesiewowe na obecność długołańcuchowych poliprenoli u wybranych gatunków roślin tropikalnych z naturalnych siedlisk Wietnamu i Indii. Wykryto poliprenole zbudowane z ponad 50 reszt izoprenowych u kilku gatunków słonorośli typu *mangrove* należących do rodziny *Combretaceae*. Potwierdzono powszechność występowania mieszanin długołańcuchowych poliprenoli o charakterystycznym, skomplikowanym składzie u większości (około 100) gatunków roślin należących do rodzaju *Pentstemon*. Wykryto akumulację poliprenoli zbudowanych z 13-14 reszt izoprenolowych u gatunków

należących do rodziny *Sapindaceae*. U roślin nagromadzających poliprenole zbudowane z 13-14 reszt izoprenowych stwierdzono trudną do scharakteryzowania metodami fizykochemicznymi heterogenność, nawet najczystszych preparatów. Wykonano preparatyki gramowych ilości poliprenoli zbudowanych z 12-14 reszt izoprenowych z należących do *Sapindaceae* dwu gatunków roślin: *Euphoria longean* i *Nephelium litchii*. Badania spektroskopowe (NMR i MS) zostaną przeprowadzone w przyszłym roku.

We współpracy z partnerem szwedzkim wykonano badania nad biosyntezą ubichinonu i plastochinonu w liściach szpinaku. Zlokalizowano miejsce syntezy i scharakteryzowano złożony proces powstania tych związków.

Współpraca z Narodowym Centrum Badań w Kairze: pobyt prof.El Ansari przez m-c w Z-dzie Biochemii Lipidów (konsultacje, zwiedzanie placówek fitochemicznych w Polsce organizowane przez Z-d Biochemii Lipidów IBB oraz udział w preparatykach lipidów *ingko biloba* prowadzonych w Z-dzie.

Współpraca z Narodowym Centrum Badań Naukowych w Wietnamie (pobyt T.Chojnackiego przez 2 tygodnie w Wietnamie, prowadzenie badań na materiale roślin tropikalnych).

Współpraca z Indiami - udział T.Chojnackiego w polsko- indyjskim sympozjum nt. biotechnologii. Wygłoszenie referatu - długo-łańcuchowe, kauczukopodobne alkohole poliizoprenoidowe roślin (Delhi 21-22.10.1993).

Współpraca z placówkami niemieckimi: wspólne badania prof.W.Fischera i dra W.Jankowskiego w Norymberdze nad baktoprenylofosforanem u *Str.pneumoniae*. Udział dra W.Jankowskiego na Kongresie Fizjologii Roślin w Karlsruhe (4-8 września 1993), na którym wygłosił referat.

Współpraca dr Ewy Świeżewskiej z Karolińskim Instytutem i Zakładem Biochemii Uniwersytetu w Sztokholmie. Wsólne badania nad biosyntezą ubichinonu i plastochinonu, nad prenylacją białek oraz nad znakowaniem izotopowym oligo- i poliizoprenoidów i ich pochodnych.

Współpraca z Belgią - prowadzenie wspólnych badań nad występowaniem poliprenoli u roślin i nad ich metabolizmem. Pobyt T.Chojnackiego i E.Skoczylas w Instytutach Biochemii Uniwersytetu w Antwerpii oraz w

Instytucie Fizjologii Roślin w Liege. Współpracujemy stale z ośrodkami w Louvain i Brukseli nad identyfikacją baktoprenylofosforanów bakteryjnych.

Najdonośniejszym wydarzeniem dotyczącym współpracy z zagranicą było zorganizowanie zjazdu naukowego - Dolichol and related Lipids w Zakopanem. W organizacji zjazdu brał udział cały zes 61.

PUBLIKACJE: 2848, 2864, 2926, 2927, 2928, 634/A, 635/A, 636/A, 667/A

Temat 13: "Właściwości wybranych enzymów przemiany purynowej"

Zespół: prof. dr Maria Jeżewska, dr Barbara Zakrzewska, mgr Halina Trembacz, techn. Grażyna Jewdoszuk

Opracowano wyniki badań nad oksydoreduktazą ksantynową z nerki kury. Stwierdzono, że enzym wyizolowany z różnych tkanek (nerka, wątroba kury i zarodka kury) wykazuje odmienne właściwości kinetyczne. Zmiany działania katalitycznego dotyczą centrum molibdenowego, w którym zachodzi hydroksylacja ksantyny i hipoksantyny. Działanie centrum zawierającego FAD, gdzie zachodzi redukcja NAD^+ (kosubstrat), pozostaje niezmienione.

Opracowano dane uzyskane w badaniach nad wpływem infekcji przez przywry na poziom enzymów katabolizujących i reutilizujących związki purynowe w wątrobotrzustce ślimaków - pośrednich żywicieli przywr (praca przyjęta do druku).

W homogenatach z dorosłej postaci przywry Fasciola hepatica oznaczono aktywności fosforybozylotransferaz hipoksantyny i adeniny, fosforylaz inozyny i adenozyiny oraz deaminazy adenozyiny. Za pomocą chromatografii kolumnowej oddzielono fosforylazę inozyny od fosforylasy adenozyiny uzyskując dwa piki białkowe o aktywności syntetyzującej adenozyinę z adeniny i rybozo-1-fosforanu. Oznaczono ciężar cząsteczkowy obydwu aktywnych białek i rozpoczęto badania kinetyczne.

PUBLIKACJE: 2871, 623/A, 687/A, 3.

Temat 14: "Izolacja i charakterystyka białek roślinnych uczestniczących w procesach fosforylacji"

Zespół: prof. Grażyna Muszyńska, mgr Jadwiga Szczegielniak, mgr Joanna

Guberska, mgr Bożena Marciniak (pozostali pracownicy zespołu są poza granicami kraju: G. Dobrowolska (USA), I. Jagiełło (Belgia))

Kontynuowano badania fosfataz białkowych z siewek kukurydzy. Chromatografia hydrofobowa i sączenie molekularne przy zastosowaniu wysokorozdzielczej chromatografii cieczowej (FPLC) pozwoliło na oczyszczenie i rozdział dwóch frakcji enzymatycznych różniących się ciężarem cząsteczkowym, hydrofobowością i wrażliwością na specyficzny inhibitor (kwas okadeinowy). Uzyskane wyniki pozwalają sugerować obecność w roślinach znanych w świecie zwierzęcym fosfataz białkowych typu I i II A.

Zwierzęce kinazy tyrozynowe uczestniczące we wzroście, różnicowaniu i transformacji nowotworowej komórki, są obiektem intensywnych badań, natomiast w roślinach pozostają nadal nieznane. Dlatego obecnie podjęto próbę izolacji i wstępnej charakterystyki kinaz tyrozynowych z siewek kukurydzy. Cytozolowe kinazy tyrozynowe wstępnie oczyszczono poprzez zastosowanie chromatografii jonowymiennej na P-celulozie. Kinazy te fosforylują tyrozinę w syntetycznym substracie poly (Glu Tyr). Podobnie jak u zwierząt jony manganowe efektywnie, stymulują aktywność roślinnych kinaz tyrozynowych. Analiza elektroforetyczna i autoradiografia wykazały, że we frakcji cytozolowej preferencyjnie fosforylowane są białka o Mr 42kDa i 58kDa. Ponadto, obecność fosfotyrozyny w cytozolowych białkach roślinnych stwierdzono w badaniach "in vivo" po inkubacji siewek kukurydzy z ^{32}P ortofosforanem. Niniejsze wyniki są pierwszymi dowodami świadczącymi o obecności roślinnych kinaz tyrozynowych. Podobnie jak u zwierząt, roślinne kinazy tyrozynowe mogą mieć kluczowe znaczenie podczas przenoszenia sygnałów i odpowiedzi kasadowej komórki. Część badań dotyczących kinaz tyrozynowych zrealizowano we współpracy z Instytutem Chemii Medycznej i Fizjologicznej Uniwersytetu w Uppsali, Szwecja.

PUBLIKACJE: +2905, +2906, 637/A, 643/A, 644/A, 645/A

Temat 15: "Aktywność fosfataz izolowanych z kukurydzy".

Zespół: dr Teresa Sawicka, student Radosław Tomaszewski /1.01.-1.10.93/

Dokonano oceny aktywności specyficznej i całkowitej kwaśnej fosfatazy w korzeniach odmian kukurydzy rosnących w cieple i chłodzie. Badano dwie formy enzymu: enzym cytoplazmatyczny i enzym związany ze ścianą komórkową. Stwierdzono, że aktywność całkowita badanego enzymu u odmiany mniej wrażliwej w wyniku działania chłodu nie zmienia się w ścianie komórkowej i rośnie na terenie protoplastu przy równoczesnym wzroście powinowactwa enzymu do substratu.

Badano aktywność B-galaktozydazy wyizolowanej z liści rzepaku aklimatyzowanego, następnie poddanego działaniu różnych temperatur. Aktywność specyficzną i całkowitą B-galaktozydazy oznaczano w ekstraktach ze ścian komórkowych oraz w surowych ekstraktach z liści wyizolowanych z liści roślin rosnących w cieple /20°C/, chłodzie /2°C/ oraz w warunkach mrozu i regeneracji. Stwierdzono zmiany aktywności B-galaktozydazy w badanych ekstraktach z liści roślin aklimatyzowanych w niskich temperaturach, poddanych działaniu mrozu a następnie regenerowanych. Prowadzono wspólne badania z Zakładem Fizjologii i Odporności Roślin Inst. Biologii Eksperymentalnej U.W.

PUBLIKACJE: 19.

Temat 16: "Enzymy nukleolityczne roślin wyższych"

Zespół: prof. Jan Szarkowski, dr Elżbieta Kuligowska, dr Anna Przykorska, dr Maria Agnieszka Siwecka, mgr Magdalena Mońko, mgr J. Sadowska, Danuta Klarkowska

Kontynuowano badania nad aktywnością nukleazy RN z zarodków żyta jako sondą do badania struktury kwasów nukleinowych. Enzym ten zastosowano do badania drugo- i trzeciorzędowej struktury transkryptu tRNA^{Sec} zaangażowanego w procesie wbudowywania selenocysteiny do selenoenzymów. Struktura przestrzenna tego kwasu jest unikalna w zestawieniu z innymi tRNA i pozwala na odczytywanie kodonu stop UGA.

Zastosowanie tego enzymu, który jest bardzo dobrą i czułą sondą enzymatyczną, pozwoliło ustalić doświadczalnie, którą z dwóch proponowanych struktur drugorzędowych przybiera tRNA^{Sec}. Ustalono, że transkrypt tRNA^{Sec} nie ma niesparowanego nukleotydu w pozycji C66, jak to zakładał model proponowany przez innych badaczy, a raczej przypomina tzw. "hand-folded" model. Jednocześnie szczegółowa analiza miejsc cięcia tRNA^{Sec} enzymem, pozwoliła na stwierdzenie szeregu unikalnych elementów w strukturze trzeciorzędowej tego kwasu. I tak, brak cięć pierwszorzędowych w pętli D, pozwala wnioskować, że pętla uwikłana jest w silne oddziaływania trzeciorzędowe. Jest to zgodne z wcześniej proponowanym nowym typem oddziaływania trzeciorzędowego pomiędzy A8, A14 i U21, które przy jednoczesnym sparowaniu zasad w pozycjach 20A-15 i 21-14, czynią tę pętlę niedostępną dla enzymu. Jednocześnie dobra dosęć ność ramienia dodatkowego dla nukleazy Rn potwierdza proponowany brak powszechnie występującego w innych tRNA wiązania 15-48, co powodowałoby uwolnienie ramienia dodatkowego w tRNA^{Sec} z reszty cząsteczki.

Badania nad transkrypcją tRNA^{Sec} wykonano we współpracy z Instytutem Biologii Molekularnej i Komórkowej w Strasbourgu (Francja).

Prowadzono dalsze badania specyficzności nukleazy ze stromy chloroplastów pszenicy specyficznej do jednonicowego DNA. Badano działanie nukleazy wobec plazmidu pBR322. Ustalono, że pierwszy etap reakcji - przekształcenie struktury superhelikalnej w zrelaksowaną formę kołową jest stosunkowo szybki. Po pół godzinnej inkubacji plazmidu z enzymem wśród produktów reakcji brak jest już formy superspiralnej.

Przedłużanie czasu inkubacji lub zwiększenie stężenia enzymu nie powoduje pojawiania się dalszych produktów degradacji. Obserwuje się jedynie powstawanie formy liniowej. Ten etap przebiega jednak bardzo powoli. Wysoką specyficzność enzymu do struktur jedno-niciowych potwierdzają również rezultaty otrzymane w wyniku hydrolizy dezoksyrybohomopolimerów. Tylko poly(dA) i poly(dT) są degradowane przez enzym, podczas gdy poly(dC) i poly(dG) pozostają nietknięte.

Opracowano 2-etapową metodę oczyszczania nukleazy zarodków żyta, związanej z rybosomami i degradującej dwuniciowe RNA. W wyniku

oczyszczenia na kolumnach wypełnionych Sephadex G-100 i Phenyl-Sepharose otrzymano frakcję enzymu wykazującą w elektroforezie dwa pasma białkowe, blisko siebie położone, z których pasmo mocniej zabarwione odpowiadało położeniu standardu- albuminie surowicy wołowej o masie cząsteczkowej 67.000 D. Otrzymany wynik wskazuje na dimeryczną budowę enzymu.

Badania realizowano z udziałem stypendystek EFS: dr M.Turiszczewej, dr L.Czumikiny z Instytutu im. Bacha w Moskwie.

W ramach współpracy z CNR prof. Massimo Libonati, dyrektor Instytutu Chemii Biologicznej Uniwersytetu w Weronie przebywał w Instytucie w okresie od 16.10. -28.10.1993.

PUBLIKACJE: 622/A, 658/A, 659/A, 660/A, 2923.

Temat 17: "Kultury tkankowe i komorkowe ziemniaka - patogeny oraz transformacja roślin

Zespół: doc. Bernard Wielgat, prof. Kazimierz Kleczkowski, dr Jacek Hennig, mgr Urszula Maciejewska, dr Anna Szczerbakowa, Maria Borkowska, dr Bogdan Kłos, mgr Magdalena Krzymowska, mgr Andrzej Talarczyk, Malik Fateh Muhammad Awan (doktorant)

Kontynuowano badania nad białkami hamującymi rozwój patogenów grzybowych (białka PR - pathogenesis related proteins). Białka izolowano i oczyszczano z roślin kontrolnych oraz infekowanych zawiesiną sporangiów z hodowli *Phytophthora infestans*. Jedną z frakcji białek, po eluzji z kolumny Phenyl-Sepharose CL-48 inkubowano sterylnie z zawiesiną sporangiów w 14°C przez 10 dni. Stwierdzono mikroskopowo słabe zahamowanie wzrostu przy 50 µg białka i 750 sporangiów w 0,3 ml pożywki. Przy 150 µg białka w w/w warunkach następowało całkowite zahamowanie kiełkownika sporangiów. W dalszym ciągu prowadzi się badania nad izolacją, oczyszczeniem oraz identyfikacją frakcji białkowej(wych) wykazujących hamowanie wzrostu patogena.

Część białek PR jest enzymami, których aktywność wzrasta w początkowej fazie infekcji tkanki roślinnej. Do tych białek należą:

chitynaza, i 1,3,beta glukanaza. Amoniakolizacja fenyloalaninowa (PAL) jakkolwiek nie należy do białek PR to jej aktywność również wzrasta w procesie infekcji roślin patogenem. Jest to enzym uczestniczący w fenylopropanoidowym szlaku metabolicznym na drodze syntezy fitoaleksyn. W związku z tym adoptowano i opanowano metody oznaczania aktywności w/w enzymów w tkance roślinnej oraz rozpoczęto wstępne śledzenie ich aktywności w okresie pierwszych 24 godzin od momentu infekcji tkanki roślinnej. Kwas arachidonowy - znany jako biotyczny elicytor - będący składnikiem ściany komórkowej *Phytophthora infestans*, wprowadzony egzogenicznie do komórek roślinnych wywołuje odpowiedź podobną jak przy infekcji roślin patogenem grzybowym. Zastosowanie kwasu arachidonowego w hodowlach zawiesin komórkowych ziemniaka (w fazie logarytmicznego wzrostu) powoduje indukcję aktywności chitynazy, 1,3,beta glukanazy oraz PAL. Wzrost aktywności obserwuje się w okresie pierwszych 24 godzin hodowli od momentu dodania elicytora. Traktowanie skrawków bulw ziemniaka kwasem arachidonowym wywołuje powstanie brązowych plam nekrotycznych, podobnych jak przy infekcji *Phytophthora infestans*.

W trakcie prac, stwierdzono również, że dodatek do podstawowej pożywki dla hodowli *Phytophthora infestans* cholesterolu zwiększa kilkakrotnie produkcję sporangii używanych do infekcji roślin.

W ostatnich trzech latach wykazano udział kwasu salicylowego (SA) w procesie indukcji genów kodujących białka PR. Ponieważ jeden z członków zespołu (dr J. Hennig) aktywnie uczestniczył w w/w badaniach, możliwe było wykorzystanie jego doświadczenia. W tym celu skonstruowano rośliny transgeniczne zawierające kasetę ekspresyjną PR2/GUS i rozpoczęto badania nad regulacją SA-zależnych elementów promotorów genu PR2d w procesie patogenezы roślin ziemniaka.

PUBLIKACJE: +2915, +2909, +2877, +2883, +647/A.

Temat 18: "Molekularne regulacje syntezy glikokoniugatów w komórkach drożdży *S.cerevisiae* i *Trichoderma*"

Zespół: prof. hab.Grażyna Palamarczyk dr Anna Szkopińska, dr Joanna Kruszevska, mgr Urszula Perlińska-Lenart, mgr Anna Chacińska
(od 1 października)

W okresie sprawozdawczym prowadzono następujące prace:

a) kontynuowano badania nad poziomem syntezy fosforanów dolicholi i ich glikozylowych pochodnych w komórkach drożdży. Modelem do badań były mutanty typu *erg* zaburzone w różnych etapach szlaku biosyntezy steroli. Celem pracy jest ustalenie mechanizmów regulacji syntezy fosforanu dolicholu i w konsekwencji poziomu dolicholozależnych glikozylacji w komórkach drożdży.

Dolichole i sterole są syntetyzowane ze wspólnych prekursorów (acetylo koenzymu A) w szlaku metabolicznym, którego centralnym intermediatem jest dwufosforan farnezyli, przy czym poziom steroli jest przynajmniej o rząd wielkości wyższy niż dolicholi. Dlatego też wyłączenie różnych etapów biosyntezy steroli, obserwowane w mutantach *erg*, ułatwia ustalenie zależności w wykorzystaniu wspólnych metabolitów w szlakach biosyntezy obu produktów końcowych. Otrzymane wyniki przedstawiono w publikacjach.

Praca jest częściowo finansowana przez KBN (grant nr 8).

b) solubilizacja i oczyszczanie syntazy steryloglukozydu z drożdży *S.cerevisiae*

Syntaza steryloglukozydu (SGS) obok syntazy glukozylfosfodolicholu (GPDS) katalizuje syntazę glukolipidów w komórkach drożdży. Wspólnym substratem dla obu enzymów jest UDPglukoza.

Podjęto próbę rozdzielenia obu aktywności enzymatycznych. W tym celu opracowano warunki solubilizacji SGS z frakcji błon komórkowych oraz metodę oczyszczania enzymu w oparciu o chromatografię hydrofobową. Praca ta jest kontynuowana, a jej ostatecznym celem jest identyfikacja białka enzymatycznego za pomocą światłowrażliwego analogu substratu znakowanego J¹²⁵.

c) izolacja i oczyszczanie syntazy mannozofosfodolicholu (MPDS) z komórek *Trichoderma*.

Opracowano metodę dwustopniowej solubilizacji enzymu z frakcji błon komórkowych *Trichoderma* oraz metodę oczyszczania enzymu chromatografią hydrofobową. Elektroforeza na żelu poliakrylamidowym frakcji zawierających aktywny enzym wykazała obecność pojedynczego prążka o

masie cząsteczkowej ok. 30kDa. W chwili obecnej badamy reaktywność oczyszczonego białka z przeciwciałami anty MPDS drożdży i MPDS z komórek wątroby.

Celem zadań opisanych w pkt. b i c jest charakterystyka enzymów katalizujących reakcje glikozylacji lipidów i ostatecznie klonowanie ich genów kodujących.

A. Zespół współpracuje z prof.F.Karstem (Zakład Biochemii i Genetyki Molekularnej z Uniwersytetu w Poitiers - Francja). Rezultatem tej współpracy jest wspólna publikacja i komunikaty zjazdowe. Opis otrzymanych wyników przedstawiono w sprawozdaniu z grantu G8. Wystąpiono o wspólny 3-letni grant NATO na finansowanie tej współpracy. W roku bieżącym współpraca nie miała skutków finansowych.

B. Współpraca z prof.Kubickiem (Politechnika w Wiedniu). Jej rezultatem są dwa komunikaty zjazdowe. Otrzymane wyniki przedstawiono w sprawozdaniu z grantu G11. W roku bieżącym współpraca nie miała skutków finansowych.

Ponadto występujemy o wspólny grant z prof.Lennarzem z Uniwersytetu Stony Brook - USA do Howard Hughes na finansowanie badań nad klonowaniem genów kodujących syntazy glukolipidów w drożdżach oraz na badania nad O-glikozylacją z prof.Benerjee z San Juan - Puerto-Rico.

PUBLIKACJE:2924, 2903, 2904, 2899, 666/A, 678/A, 679/A, 684/A

Temat 19: "Mechanizmy adaptacji bakterii do zmian środowiska: rola genów dnaK i rcs w reakcjach na czynniki zachowujące się odmiennie wewnątrz lub na zewnątrz organizmu zwierzęcego"

Zespół: prof. Tadeusz Kłopotowski, dr Krystyna Krajewska - Grynkiewicz, mgr Robert Gromadka, mgr Aldona Kielczyk

Sprawdzono wpływ mutacji, kodujących białka opiekuńcze - *dnaK* i *dnaJ* na transkrypcję operonu, którego produkty służą do syntezy kwasu kolaninowego, otoczkowego mukopolisacharydu M *Escherichia coli* K12. Stwierdzono, że u mutantów pozbawionych tych białek transkrypcja jest znacząco onizowana. Dotyczy to zarówno transkrypcji indukowanej brakiem funkcjonalnej ATP-zależnej proteazy (mutanty *Ion*), jak i brakiem błonowej komponenty tworzenia wiązań dwusiarczkowych białek peryplazmatycznych (mutanty *dsbB*). Nie stwierdzono jednak, by defekt

któregokolwiek z tych białek opiekuńczych w istotny sposób zmieniał reakcję bakterii na naturalne czynniki środowiskowe imitowane w hodowlach bakterii. Metodą rekombinacji DNA *in vitro* skonstruowano fuzję promotora *dsbB-P2* z genem *lacZ*.

Zastosowano zmodyfikowane transpozony do izolacji fuzji operonowych i genowych z genem reporterowym *lacZ*. Uzyskano wiele fuzji tego genu w operonie *cps* oraz w jednym z genów regulatorowych, *rcaA*. Pozwoliło to na stwierdzenie, że ekspresja genu *rcaA* obniża się ze wzrostem temperatury. Ulega też podwyższeniu u mutantów *Ion*, pozbawionych aktywności ATP-zależnej proteazy.

Rozpoczynając badania nad znaczeniem mukopolisacharydów otoczkowych dla patogenności *E.coli* zastosowano metodę bezpośredniego oznaczania kwasu kolaninowego i dostosowano ją do przyjętych warunków doświadczeń.

Kontynuując badania nad operonem *dad* i jego regulacją zastosowano system *in vitro* do pomiarów wiązania białka efektorowego represji katabolicznej CRP do uprzednio przez nas zidentyfikowanych miejsc potencjalnego wiązania tego białka. Okazało się, że wiązanie do sekwencji dalszej od punktu inicjacji transkrypcji jest ok. 10 razy silniejsza niż do sekwencji znajdującej się blisko punktu inicjacji. Nawiązano współpracę z Katedrą Genetyki Mikroorganizmów Białoruskiego Uniwersytetu Państwowego w Mińsku. Tematem współpracy jest "Regulacja syntezy mukopolisacharydów bakterii gram-ujemnych". W jej ramach rozpoczęli staże w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów Dr Anatolij Yevtuchenkov i Dr Igor Olekhovich.

Temat 20-1: "Genetyka mitochondrialna drożdży"

Zespół: dr Magdalena Boguta, mgr Barbara Szcześniak, mgr Agata Konopińska, mgr Marcin Murawski

Ekspresja genomu mitochondrialnego drożdży *S. cerevisiae* jest kontrolowana przez produkty genów jądrowych. Przedmiotem naszych badań są geny jądrowe odpowiedzialne za translację mitochondrialną. Metodą naszej pracy jest analiza supresorów jądrowych mutacji mitochondrialnych mit⁻. Od kilku lat zajmujemy się genem NAM9, który koduje białko rybosomów mitochondrialnych odpowiedzialne za poziom błędów w translacji. W ciągu ostatniego roku nasze badania były prowadzone w następujących kierunkach :

1. Precyzyjne określenie ilości transkryptu NAM9 w szczepach dzikich i zmutowanych

Wyizolowano RNA z dwóch izogenicznych szczepów drożdży, różniących się jedynie obecnością mutacji NAM9. Metodą hybrydyzacji Northern stwierdzono większą ilość transkryptu NAM9 w szczepie dzikim niż w szczepie zmutowanym. Ten sam wynik otrzymano porównując szczep transformowany plazmidami centromerycznymi zawierającymi dziką i zmutowaną kopię genu NAM9. Obecność dzikiej kopii genu NAM9 powodowała zwiększenie poziomu mRNA dla NAM9.

2. Identyfikacja innych genów, których produkty oddziałują z białkiem NAM9.

Szczep NAM9 jest termowrażliwy i wykazuje opóźnienie we wzroście na glicerolu także i w obecności dzikiego genomu mitochondrialnego. Szczep ten transformowano wielokopijnym bankiem genów drożdży i znaleziono 7 plazmidów zawierających wstawki, które komplementowały fenotyp NAM9. Stwierdzono, że 4 z nich przenoszą dziką kopię genu NAM9. Wstawki zawarte w czterech pozostałych plazmidach identyfikowano bądź przez częściowe sekwencjonowanie bądź metodą hybrydyzacji do zakupionych przez nas filtrów, na których utrwalono w porządku chromosomalnym fragmenty DNA drożdży pokrywające cały genom. Zidentyfikowano w ten sposób dwa znane geny: hsp104, kodujący białko szoku cieplnego, oraz pab1 kodujący białko wiążące się specyficznym do poli(A)⁺ mRNA. Dwie pozostałe wstawki zlokalizowano w genomie drożdży w

obszarach dotychczas niezsekwencjonowanych. Zajęliśmy się następnie funkcjonalnym oddziaływaniem NAM9 z hsp104 oraz z pab1. Metodą Northern blot stwierdziliśmy, że w szczepach zawierających zwiększoną dawkę genów hsp104 poziom mRNA NAM9 ulega zwiększeniu. Ten sam wynik otrzymano dla szczepu stransformowanego wielokopijnym plazmidem pab1. Wnioskiem z obu eksperymentów jest fakt, że komplementacja fenotypu NAM9 mit⁺ zachodzi poprzez podwyższenie poziomu mRNA genu NAM9. Interesujący jest związek funkcjonalny hsp104 z poziomem lub stabilnością mRNA. Białko hsp104 opisane jest w literaturze jako białko szoku cieplnego o wielu dodatkowych i niejednoznacznych funkcjach. Mamy nadzieję, że nasze wyniki pozwolą na wyjaśnienie dodatkowych interesujących aspektów roli białka hsp104.

3. Oczyszczanie przeciwciał specyficznych dla białka NAM9

Otrzymaliśmy od prof. Isono z Japonii mieszaninę przeciwciał specyficznych wobec białek mitorybosomalnych *S. cerevisiae*. Sprawdziliśmy, że przeciwciała te rozpoznają białka hybrydowe NAM9 β -galaktozydaza, które ulegają nadekspresji w *E. coli*. Fakt ten przyjęliśmy za punkt wyjścia w procedurze oczyszczania przeciwciał specyficznych do NAM9 poprzez Western blot. Przeciwciała związane przez bakteryjne białko hybrydowe zawierające antygen NAM9 odmywano z blotu i poddawano reakcji z ekstraktem białkowym z komórek drożdży. Niestety specyficzność oczyszczonych w ten sposób przeciwciał nie jest dostatecznie wysoka, co zmusza nas do zmiany metody. Obecnie oczyszczamy białko hybrydowe NAM9- β -galaktozydaza z *E. coli* i planujemy użyć je jako antygen do immunizacji królika.

4. Sekwencjonowanie DNA przed 5' końcem genu NAM9.

Istniało podejrzenie, że sekwencje przed genem NAM9 wpływają na jego ekspresję. Obszar bp poddano sekwencjonowaniu. Stwierdzono obecność krótkich ramek odczytu nie wykazujących znaczących homologii do znanych sekwencji. Nie stwierdzono obecności mRNA, który byłby wynikiem ekspresji zsekwencjonowanego odcinka DNA.

PUBLIKACJE: 664/A, 662/A

Temat 20-2: "Regulacja biosyntezy hemu i hemoproteidów w drożdżach
Saccharomyces cerevisiae"

Zespół: prof. Joanna Rytka, dr Anna Kurlandzka, dr Marek Skoneczny,
mgr Monika Góra, mgr Iwona Smaczyńska

Stosowany w pracy drożdżowy model badania mutacji prowadzących do zaburzeń w biosyntezie hemu pozwolił na wykazanie, że możliwe jest występowanie porfiryicznego fenotypu w wyniku obniżonej ekspresji genu HEM 12 (kodującego dekarboksylazę uroporfirynogenu) w wyniku równoczesnego występowania mutacji w dwóch genach różnych od HEM12. Fenotyp mutacji (udt 1, ipa 1) nie pozwala na sklonowanie genów regulacyjnych metodą komplementacji funkcjonalnej. Ponieważ analiza genetyczna wykazała, iż gen IPA 1 i HEM 12 są ściśle sprzężone postanowiono zidentyfikować gen IPA1 metodą "chromosome walking". Sklonowano fragment 4kb zawierający sekwencję kodującą HEM 12. Zsekwencjonowano odcinek 1,5 kb poprzedzający kodon AUG. Znalezione 4 otwarte ramki odczytu o nie znanej dotychczas funkcji. Spodziewamy się, że analiza funkcjonalna tych ramek pozwoli na identyfikację genu IPA 1.

Kontynuowano prace nad izolacją dominujących supresorów mutacji kodonu inicjacji translacji wykorzystując szczep hem 12-14 niosący mutację w kodonie inicjacyjnym (ATG->ATA).

Dla jednego z badanych mutantów wykazano, że mutacja supresorowa polega na powstaniu nowego kodonu ATG i wydłużeniu otwartej ramki odczytu tak, iż powstaje białko dłuższe o 26 aminokwasów.

Poza działalnością statutową wykonuję zadania grantowe - grant G4, grant G13.

Stała współpraca z Laboratorium Biochemii Porfiryn Instytut J. Monod - prof.R.Labbe-Bois.

PUBLIKACJE: 2899, 2901, 2902, 2924, 661/A, 663/A, 665/A

Temat 20-3: "Genetyczna kontrola szlaków metabolizmu siarkowego
u grzybów"

Zespół: prof. Andrzej Paszewski dr Maria Piotrowska, dr Renata Natorff,
dr Jerzy Brzywczy, mgr Marzena Sieńko, mgr Irmina
Lewandowska, mgr Jacek Topczewski

Kontynuowano prace nad molekularną charakterystyką genów kodujących syntazę cysteinową i syntazę homocysteinową *Aspergillus nidulans*. W sekwencjach DNA komplementujących mutacje w odpowiednich genach nie obserwuje się ciągłych otwartych ramek odczytu, co wskazuje na występowanie intronów. W tej sytuacji rozpoczęto prace nad cDNA dla interesujących nas genów, stąd najprawdopodobniej trzeba będzie wyjść od mRNA.

Rozpoczęto próby klonowania genów regulatorowych *scon* odpowiedzialnych za metaboliczną represję siarkową. Jedyna metoda selekcji transformantów polega na izolowaniu kolonii opornych na selen lub chromian w obecności metioniny (mutanty *scon* są w tych warunkach wrażliwe na oba analogi siarczanu, szczep dziki jest oporny). Niestety, pojawia się przy tym znaczna ilość mutantów w permeazie siarczanowej, które też są odporne, co utrudnia selekcję właściwych transformantów.

Badanie nad powiązaniem systemu regulacji metabolizmu siarkowego z metabolizmem folianów dostarczyły dalszych dowodów na indukujące działanie homocysteiny i represyjne metioniny na enzymy folianowe. Wskazuje to na to, że korelacja regulacji tych systemów metabolicznych odbywa się przez relacje stężeń homocysteiny i metioniny. Zidentyfikowano gen *methH/D*, którego produkt jest niezbędny do indukcji enzymów folianowych przez homocysteinę. Pracę tę częściowo wykonywano we współpracy z doc.M. Balińską z Instytutu Biologii Doświadczalnej w ramach grantu 2231/4/91.

Scharakteryzowano kilka rodzajów drożdży pod kątem występowania w nich syntazy cysteinowej i syntazy homocysteinowej, będących enzymami alternatywnych szlaków biosyntezy cysteiny. Pierwszego enzymu nie stwierdzono u *S.cerevisiae*, co potwierdza istnienie tylko jednej drogi u tego organizmu. U *S.pombe* występują dwie syntazy homocysteinowe w różnych proporcjach, zależnie od szczepu. Nie ma u nich natomiast szlaku odwrotnej transulfurylacji (brak możliwości metabolizowania metioniny do cysteiny). Świadczy to o tym, że *S.pombe* reprezentuje unikalny wariant metabolizmu siarkowego u grzybów.

Prace te wykonano częściowo w ramach grantu 40008910.

PUBLIKACJE: 2907, 2908, 2910, 2911, 2912, 2913.

Temat 20.4: "Rola polimerazy III DNA w mutagenezie u drożdży"

Zespół: prof. Jrzy Żuk, prof. Witold Jachymczuk, dr Halina Baranowska-Wyszomirska, Zofia Policińska, mgr Agnieszka Kwiatkowska

W celu zbadania roli polimerazy III DNA w mutagenezie u drożdży skonstruowano trzy diploidalne homoalleliczne szczepy:

HB 74 (cdc2-1/cdc2-1)

HB 79 (cdc2-1/cdc2-2)

HB 67 (cdc2-3/cdc2-3)

Indukowano w nich promieniami UV rewersje w genie polimerazy III DNA (gen CDC) w warunkach restrykcyjnych (temp.37), gdy brak jest aktywności tego genu i badano wpływ warunków permissyjnych (temp.23) na częstość rewersji, gdy polimeraza jest aktywna. Stwierdzono, że częstość występowania rewertantów cdc2 po preinkubacji w warunkach permissyjnych przez 4 godziny przed przeniesieniem do temperatury restrykcyjnej jest znacznie niższa niż po natychmiastowym przeniesieniu hodowli komórkowych do temperatury restrykcyjnej. Obserwowane zjawisko, że preinkubacja w temperaturze permissyjnej, kiedy polimeraza III jest aktywna, zmniejsza częstość rewertantów cdc świadczy, że mutacja cdc2 ma wpływ nie tylko na aktywność polimeryzacyjną, lecz także na aktywność 3'-5' egzonukleazy sprawdzającej polimerazy III DNA.

Rozpoczęto również badania nad udziałem polimerazy III DNA w procesie mutacji adaptatywnej poprzez pomiary rewersji w locus LYS2 u *S. cerevisiae*. Skonstruowano odpowiedni szczep diploidalny niosący mutację homoalleliczną cdc 2-1/cdc2-1 i mutację w gen2-1, a otrzymane dane świadczą o udziale polimerazy III DNA także w mechanizmie odpowiedzialnym za powstanie mutacji adaptatywnych w nierosnących komórkach drożdży.

W ramach projektu badawczego G-12 dotowanego przez KBN ustalono, że polimeraza III DNA jest bezpośrednio zaangażowana w procesy naprawy jądrowego DNA w komórkach drożdży (Curr. Genet 24, Nr 3, pp 200-204). Rozpoczęto także prace nad rolą polimerazy II DNA (gen POL2) w procesach reperacji i mutagenezy u drożdży. Sprowadzono od dr. Morrisona temperaturowrażliwe mutanty po12-9 i po12-18 i przeprowadzono ich charakterystykę. Intensywne badania otrzymanych u

nas podwójnych mutantów zawierających obok termowrażliwych mutacji w genach *po12* i *cdc2* dla polimeraz II i III, również mutacje w genie *rev3* kodującym polimerazę odpowiedzialną za naprawę mutagenną, doprowadziły do dosyć zaskakującego stwierdzenia, że oba procesy napraw - mutagenny i bezbłędny zachodzą niezależnie i nie wykazują współdziałania, muszą więc być niezależnie regulowane.

PUBLIKACJE: 2890

Temat 21.1: "Regulacja metabolizmu siarczanowego u prokariotów"

Zespół: prof. Danuta Hulanicka, dr Monika Hryniewicz, mgr Roksana Iwanicka

Przedmiotem badań grupy od szeregu lat są fizjologiczne i molekularne mechanizmy regulujące proces asymilacji nieorganicznej siarki przez komórki bakterii jelitowych. W procesie tym centralną rolę odgrywa regulon cysteinowy, stanowiący zespół szeregu genów, których produkty zaangażowane są w biosyntezie cysteiny z nieorganicznego siarczanu. Ekspresja tych genów regulowana jest na poziomie transkrypcji przez wspólny regulator białkowy CysB.

W ostatnim roku podjęto badania nad nowymi aspektami metabolizmu siarkowego *E.coli*, w których może uczestniczyć inny niż CysB regulator białkowy. Podstawą tych badań było stwierdzenie u *E.coli* obecności genu, kodującego białko różne lecz w wysokim stopniu homologiczne do CysB. Gen ten nazwany roboczo *cbl* (od *cysB*-like) został sklonowany i zsekwencjonowany. Analiza sekwencji odcinka promotorowego wykazuje podobieństwa strukturalne do promotora *cysB*. Obecnie w toku są prace mające na celu: 1. ustalenie wzajemnych relacji typu *in vivo* w ekspresji *cysB* i *cbl* oraz możliwości interakcji *cbl* z regulonem cysteinowym; 2. konstrukcję mutantów specyficznym pozbawionych funkcji *cbl* w celu dalszego badania roli tego genu w komórce.

Drugim projektem realizowanym przez tę grupę jest badanie ekspresji genu *cysB*, kodującego enzym niezbędny do syntezy O-acetylo-L-seryny, substratu dla syntezy cysteiny a jednocześnie induktora regulonu cysteinowego. Przedmiotem badań jest rola sekwencji palindromicznej w regionie liderowym genu *cysE*, konserwowanej pomiędzy gatunkami *E.coli* i *S.typhimurium*.

Stosując technikę PCR usunięto sekwencję palindromiczną z genu *cysE* *E.coli* sklonowanym na plazmidzie wielokopiowym. Prace mające na celu zbadanie wpływu braku palindromu na ekspresję genu *cysE* są w toku.

Temat 21.2: "Stabilność plazmidów pochodnych od pSM 19035 w *Bacillus subtilis*"

Zespół: dr Piotr Ceglowski, mgr Irena Kern, mgr Krystyna Leszczyńska,
mgr Renata Wolinowska

pSM 19035 jest dużym (27 kb), niskokopiowym plazmidem o szerokim zakresie gospodarzy wśród bakterii Gram-dodatnich o niskiej zawartości par GC. Plazmid ten jest stabilny strukturalnie i segregacyjnie oraz wykazuje intrygującą właściwość - 82 % jego genomu stanowi odwrócone powtórzenie.

Dotychczas wykazano, że wysoka stabilność segregacyjna pSM 19035 wynika z aktywności dwóch niezależnie działających systemów, pierwszego powodującego rozdzielnie plazmidowych oligomerów (Seg A) i drugiego (Seg B), którego mechanizm działania nie został wyjaśniony. W bieżącym roku kontynuowano badania genetyczne i biochemiczne nad różnymi pochodnymi plazmidu pSM 19035:

1. W komórkach *B.subtilis* pSM 19035 ulega replikacji wg mechanizmu theta. Replikacja DNA tego plazmidu zależy od produktów *dna B*, *dna C* i *dna I*, ale nie wymaga funkcji *dna A*. Elongacja DNA jest prowadzona przez polimerazę III DNA.
2. Seg A i SEG B funkcjonują w plazmidzie pHP 13, ulegającym replikacji wg mechanizmu sigma. Oznacza to, że aktywność obu systemów stabilności nie zależy od rodzaju replikonu.

Pracę przeprowadzono we współpracy z laboratorium prof. T.A.Trautnera (grupa dr J.C.Alonso) w ramach kooperacji pomiędzy naszym Instytutem i Max-Planck Institut für Molekulare Genetik, Berlin (RFN). Część pracy wykonano w ramach grantu Max-Planck Gesellschaft Grant No 547 11/0 12 03-01 przyznanego P.Ceglowskiemu.

PUBLIKACJE: + 2925, + 2931, 668/A, + 669/A

Temat 22: "Regulacja ekspresji genomu wirusa liściozwoju ziemniaka"

Zespół: prof. Danuta Hulanicka, mgr Andrzej Pałucha, mgr Alicja Kujawa, mgr Ewa Sadowy, mgr Marek Juszczuk

Prowadzono prace nad otrzymaniem transgeniczných roślin ziemniaka (odmiana Bzura) metodą agroinfekcji. Do doświadczenia używano *A. tumefaciens* zawierające binarne wektory z wintegrowanymi frgamentami cDNA wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV). Binarne wektory zawierały, w dwóch orientacjach "sensownej" oraz orientacji tzw. "antysensownej", następujące fragmenty cDNA wirusa liściozwoju:

- a) gen białka płaszcza (3588-4212 nt)
- b) gen białka płaszcza z fragmentem subgenomowego RNA (3450-4210 nt)
- c) gen białka płaszcza z pełną sekwencją liderową i fragmentem ORF3 kodujący replikazę (3160-5180).

Z pięciu niezależnych eksperymentów, w których transformowano skrawki liści ziemniaka metodą agroinfekcji otrzymano kilka roślin opornych na kanamycynę (użyty marker selekcyjny). Regenerujące, oporne na kanamycynę, rośliny uzyskano tylko dla konstruktów zawierających gen białka płaszcza wirusa w orientacji "antysense". Otrzymane rośliny hodowano w warunkach sterylnych "in vitro" na podłożach selekcyjnych, a następnie izolowano z nich chromosomalne DNA. DNA roślin trawiono odpowiednimi enzymami restrykcyjnymi a następnie sprawdzono obecność cDNA wirusa metodą hybrydyzacyjną - "Southerna". Jako sondy użyto znakowany fragment 2020 nukleotydów zawierających gen białka płaszcza wirusa z sekwencją liderową.

U wszystkich analizowanych DNA roślin potwierdzono obecność cDNA wirusa, hybrydującego z sondą. Wykazano też obecność "sygnału" we frakcji DNA wysokocząsteczkowego, co świadczy o integracji cDNA wirusa w genom rośliny.

W dalszych pracach planowane jest wykazanie ekspresji antysensownego RNA metodą hybrydyzacji "northerna" jak też analiza oporności transgeniczných roślin na infekcję wirusem PLRV.

Ponadto, przeprowadzone będą dalsze eksperymenty transformacji roślin konstruktami zawierającymi odpowiednie frgamenty genu białka płaszcza wirusa w orientacji "sense".

Zakończono prace związane z sekwencjonowaniem klonów cDNA polskiego izolanta wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV). Przeprowadzono anali-

z $\acute{e}$ otrzymanych sekwencji przy u $\acute{z}$ yciu programu komputerowego "GCG" i ustalono pe $\acute{n$ ą sekwencj $\acute{e}$ nukleotydow $\acute{a}$ genomu wirusa. Sekwencja nukleotydowa PLRV zosta $\acute{l}$ a zamieszczona w banku "EMBL Data Library" pod numerem Nr. X74789. Maszynopis pracy przygotowano do druku.

Rozpocz $\acute{e}$ to prace maj $\acute{a}$ c $\acute{e}$ na celu skonstruowanie plazmidu nios $\acute{a}$ c $\acute{e}$ go pe $\acute{n$ ą kopi $\acute{e}$ cDNA genomu PLRV. W tym celu z biblioteki cDNA wybrano odpowiednie klony i wykorzystuj $\acute{a}$ c unikalne miejsca restrykcyjne obecne w cDNA wirusa, wyizolowano fragmenty pokrywaj $\acute{a}$ c $\acute{e}$ ca $\acute{l$ y genom wirusa. Wyizolowane fragmenty zosta $\acute{l}$ y zligowane i przeklonowane na dwa plazmidy. Otrzyma $\acute{n}$ o nast $\acute{e}$ puj $\acute{a}$ c $\acute{e}$ klony:

1. klon pBM6 - zawiera sekwencj $\acute{e}$ od pierwszego do 3930 nukleotydu
2. klon pV19 - zawiera sekwencj $\acute{e}$ wirusa od nukleotydu 3336 do ostatniego (pozycja 5882).

Prawid $\acute{l}$ owo $\acute{s}$ c $\acute{e}$ otrzymanych klon $\acute{o}$ w sprawdzono analiz $\acute{a}$ restrykcyj $\acute{n}$ ą.

Otrzyma $\acute{n}$ e fragmenty cDNA zostan $\acute{a}$ nast $\acute{e}$ pnie po $\acute{l}$ acz $\acute{o}$ ne ze sob $\acute{a}$ wykorzystuj $\acute{a}$ c unikalne miejsca restrykcyjne PflMI obecne w cDNA wirusa w pozycji 3350.

Celem badania ekspresji gen $\acute{o}$ w zlokalizowanych w subgenomowym RNA (sgRNA), w systemie *in vitro* i *in vivo*, skonstruowano plazmid (psgRNA) nios $\acute{a}$ c $\acute{y}$ pe $\acute{n$ ą kopi $\acute{e}$ sgRNA pod kontrol $\acute{a}$ promotora faga T7.

PUBLIKACJE: +2919, +2920, 625/A, 642/A, 657/A

Temat 23: "Efekty p $\acute{o$ l elektrycznych na $\acute{z}$ ywe kom $\acute{o}$ rki"

Zesp $\acute{o}$ l: prof.dr Magdalena Fikus i mgr Piotr Pa $\acute{w}$ lowski

W do $\acute{s$ wiadczeniach pilotowych mierzono stabilno $\acute{s}$ c $\acute{e}$ b $\acute{l$ on transformowanych linii ludzkich kom $\acute{o}$ rek w zmiennym polu elektrycznym. W standardowych warunkach, prowadz $\acute{a}$ c $\acute{y}$ ch do destrukcji kom $\acute{o}$ rek, transformowane kom $\acute{o}$ rki (*N. crassa*) nie ulega $\acute{l}$ y destrukcji.

Reologiczny model opisuj $\acute{a}$ c $\acute{y}$ stabilno $\acute{s}$ c $\acute{e}$ b $\acute{l$ ony cytoplazmatycznej poddanej napr $\acute{e}$ żeniom ekstensywnym zastosowano z wynikiem pozytywnym do opisu do $\acute{s$ wiadcze $\acute{n}$ nad elektroporacj $\acute{a}$ i elektrodestrukcj $\acute{a}$ sferoplast $\acute{o}$ w *N. crassa*. Obserwacje fluorescencji jodku propidyny, przenikaj $\acute{a}$ c $\acute{e}$ go do kom $\acute{o}$ rek dzi $\acute{e}$ k $\acute{i}$ elektroporacji prowadzono w laboratorium Instytutu Elektrotechniki. Wyniki s $\acute{a}$ opracowywane do druku.

Opracowano jednolity model generacji napr $\acute{e}$ żeń w b $\acute{l$ onie kom $\acute{o}$ rkowej

pod wpływem zewnętrznego, zmiennego pola elektrycznego.

PUBLIKACJE: 654/A, 653/A, 2893, 2894

Temat 24: "Mutogeneza, naprawa i ekspresja DNA"

Zespół: prof.dr Celina Janion, dr Elżbieta Grzesiuk, dr Barbara Tudek
mgr Anna Fabisiewicz

Opracowano wyniki nad specyficznością mutacji indukowanych EMS (sulfonian etano-metylowy) w *E.coli* w szczepach *mutS* gdy, system naprawy niedopasowanych par zasad w DNA jest uszkodzony. Powstające wtedy transwersje AT->TA zależą od ekspresji operonu *umuDC*.

Wcześniejsze nasze badania nad mutagenizacją indukowaną MMS (sulfonian metano-metylowy) wykazały, że *umuDC*-zależne transwersje AT->TA są głównymi zmianami mutacyjnymi w szczepach *mutS*⁺. Badania nad rolą białek UmuDC w procesach mutagenyzy indukowanych alkilami są kontynuowane. Szczególną uwagę zwraca się na chemiczne podłoże mutacji: powiązania między uszkodzeniami premutagennymi, modyfikacją i naprawą tych uszkodzeń a końcowym efektem biologicznym, indukcją transwersji AT->TA.

W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się mutacjom, których chemicznym podłożem jest modyfikacja reszt guaniny G->8-oksyG (7,8-dihydro-8-oksyguanina). Reakcja taka zachodzi w wyniku nagromadzania się ubocznych produktów metabolizmu tlenu, w toku przebiegu normalnych procesów komórkowych. Mutacjom zapobiegają systemy obronne w komórkach.

Nasze badania sugerują (współpraca z Dr Laval - Instytut Gustava (Francja), że mutacje w fagach M13mp18, które powstają pod wpływem błękitu metylowego + światło widzialne, są indukowane obecnością w DNA 8-oksyG. Jednym z głównych produktów procesów metylacji zasad w DNA jest N⁷-metyloguanina. Zasada ta tolerowana przez komórkę, nie jest promutagenna, ale jak wynika to z naszych badań nad jednonicowym fagiem M13mp18, N⁷meG po rozpadzie pierścienia imidazolowego jest uszkodzeniem letalnym a w reakcji zależnej od *umuDC* może powodować indukcję transwersji G->C i G->T.

PUBLIKACJE: 2891, 2898, +2896, +2897, +629/A, 630/A

Temat 25: "Regulacja wierności replikacji w komórkach bakteryjnych i komórkach drożdży"

Zespół: prof. Zygmunt Cieśla, dr Ewa Śledziwska-Gójska, dr Piotr Jończyk (od 1.09.1993), mgr Magdalena Kanabus, mgr Adrianna Nowicka

W badaniach nad molekularnym mechanizmem mutagenyzy indukowanej promieniami UV w komórkach *Escherichia coli*, poddano analizie szereg wyizolowanych w naszej pracowni plazmidowych mutantów genu *umuC*. Obecność dwóch z nich, *pumuC61* i *pumuC95*, pozwala w szczepie z nieaktywnym chromosomalnym genem *umuC*, na częściową mutagenezę indukowaną promieniami UV. Co ciekawe, w obecności *pumuC61* lub *umuC95* dramatycznemu obniżeniu ulega częstość mutacji typu tranzycji GC do AT, natomiast częstość transwersji typu AT do TA nie ulega obniżeniu. Tak więc obie mutacje zmieniają specyficzność mutagenyzy indukowanej promieniami UV. Analiza sekwencji DNA genów *umuC61* i *umuC95* wykazała, że oba allele niosą mutacje "frameshift" w tym samym trakcie adenin (*umuC61* posiada delecję jednej adeniny, a *umuC95* insercję jednej adeniny). Wykazano, że obie te mutacje są częściowo suprymowane, co pozwala na rezydualną syntezę białka UmuC o pełnej długości. Na podstawie tych danych wysunięto hipotezę, że różne typy uszkodzeń premutacyjnych posiadają różne wymagania co do białka UmuC.

Inne badania (objęte finansowym wsparciem przez grant KBN Nr 0406/P2.) dotyczyły mechanizmu antymutatorowego działania podjednostki ϵ polimerazy III DNA w indukowalnej mutagenyzie. Skonstruowano kilka plazmidów niosących gen kodujący ϵ , *dnaQ*, z którego usunięto dystalne części genu. Okazało się, że usunięcie jednej z dwóch domen warunkujących aktywność edytorską egzonukleazy 3' - 5', nie znosi w całości antymutatorowego efektu ϵ . Dotyczy to mutagenyzy indukowanej promieniami UV, a w szczególności spontanicznej mutagenyzy w szczepie *recA441*. Antymutatorowy efekt defektywnej podjednostki ϵ jest całkowicie znoszony przez nadmiar białek UmuD i UmuC. Zaproponowano model tłumaczący ten antagonizm w działaniu podjednostki ϵ i białek UmuD, C, w czasie replikacji uszkodzonej matrycy.

W badaniach nad reperacją DNA w komórkach *S.cerevisiae* podjęto

próbę izolacji genów, które są indukowalne przez uszkodzenia w DNA. Do tego celu użyto plazmidu pSZ211, który choć niesie strukturalny gen B-galaktozydazy, *lacZ*, nie posiada jednak swojego naturalnego promotora. Plazmid ten pozwala więc na izolację fuzji genowych umożliwiających ekspresję genu reporterowego, *lacZ*. Wyizolowano dotychczas trzy niezależne fuzje genowe, w których ekspresja *lacZ* jest w różnym stopniu indukowana przez naświetlenie promieniami UV lub traktowanie MMS. Wstępna analiza sekwencji DNA pierwszej z otrzymanych fuzji wskazuje, że wyizolowano dotychczas nieznany gen indukowany przez obecność uszkodzeń w DNA.

PUBLIKACJE: 2873

Temat 26: "Mechanizmy mutagenyzy indukowanej przez promienie UV"

Zespół: prof. Irena Pietrzykowska, mgr Anna Bębenek, mgr Anna Czajkowska

Kontynuowano badania nad wyjaśnieniem antymutatorowego działania mutacji *sjbA* w komórkach *E. coli*. Mutacja ta powoduje zahamowanie zjawisk kontrolowanych przez system SOS poprzez hamowanie aktywności coproteazy RecA. Badano efekt wprowadzenia do komórek *sjbA* plazmidów nadprodukcyjnych białka UmuD' i C. Nadprodukcje białka UmuD' częściowo znosi efekt antymutatorowy mutacji *sjbA* i przywraca oporność na promienie UV. Natomiast jednoczesna nadprodukcja obu białek UmuD' i C powoduje zwiększenie wrażliwości na UV.

Nadmiar białka UmuC uwrażliwia komórki *sjbA* *uvrA*.

Określono dokładne położenie mutacji *sjbA* na chromosomie *E. coli* przy pomocy klonów Kohary.

Klon 553 integrowany w regionie *sjbA* znosi efekt tej mutacji. Utworzono mini bibliotekę klonu 553 na wysoko i nisko kopiowych plazmidach. Żaden nie znosił efektu mutacji *sjbA*, świadczy to o dominującym charakterze mutacji.

Wznowiono badania nad mechanizmem UV-indukowanej mutagenyzy faga λ sus O_g w warunkach nie permissywnych dla replikacji DNA faga. Poznanie mechanizmu mutagenyzy nie zależy od replikacji może przyczynić się do zrozumienia powstawania mutacji w komórkach niedzieliących się. Może to mieć istotne znaczenie dla wyjaśnienia inicjacji procesu nowotworowego w komórkach somatycznych.

Badano rolę UmuD' i C w procesie UV-mutagenезy niezależnej od replikacji. Białka UmuD' i C lub samo UmuD' mają większy wpływ na proces UV-mutagenезy niezależnej od replikacji DNA niż związanej z replikacją. Fakt, że samo białko UmuD' powoduje wysoki poziom mutagenезy świadczy o jego szczególnej roli w mutagenезie niezależnej od replikacji DNA. Skonstruowano szczepy z delecją w genach *umuD* i C do dalszych badań nad rolą białka UmuD' w mutagenезie.

PUBLIKACJE: 628/A

SPRAWOZDANIE Z DZIAŁALNOŚCI LABORATORIUM SEKWENCJONOWANIA KWAŚÓW NUKLEINOWYCH I SYNTEZY OLIGONUKLEOTYDÓW

W 1993 r. przeprowadzono syntezę 103 oligonukleotydów przeznaczonych do sekwencjonowania, do amplifikacji DNA i cDNA oraz mutagenезы ukierunkowanej, a także na sondy molekularne do hybrydyzacji i do syntezy krótkich odcinków DNA. Syntezę prowadzono na zamówienie zakładów IBB:

Genetyki	- 29 oligonukleotydów
Biologii Molekularnej	- 9 oligonukleotydów
Biochemii Drobnoustrojów	- 4 oligonukleotydy
Biochemii Roślin	- 3 oligonukleotydy
Biochemii Porównawczej	- 2 oligonukleotydy
Biosyntezy Białka	- 21 oligonukleotydów (w tym 10 o długości 50 nukleotydów)

Pracowni Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów

- 25 oligonukleotydów (w tym 2 o długości 60 nukleotydów oraz 20 znakowanych fluoresceiną)

oraz:

Genetyki UW	- 2 oligonukleotydy
Akademii Medycznej	- 8 oligonukleotydów (tzw "antysensownych" ze zmodyfikowanymi nukleotydami)

Dodatkowo oczyszczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (FPLC) 25 oligonukleotydów.

I. Sekwencjonowanie genomu drożdżowego w ramach współpracy polsko-francuskiej w programie EWG

Sekwencjonowanie Chromosomu II drożdży *S.cerevisiae*.

Przy współpracy z zespołem kierowanym przez prof. P.P. Slonimskiego, dyrektora centrum Genetyki Molekularnej CNRS we Francji, zakończono (poprzez podanie consensusu do bazy danych MIPS) sekwencjonowanie i częściowo analizę dwóch nowo odkrytych otwartych ramek odczytu z kosmidu alfa-61 (YBR1007 i YBR1015)

- "Yeast Sequencing Reports: Chromosome II - The Sequence of 29.7 Kb of the cosmid α -61, from the Right Arm of Chromosome II Reveals 13 Complete Open Reading Frames of which 10 correspond to new genes"
- ostateczna wersja artykułu zaakceptowana do druku w "YEAST" (termin przyjęcia do druku 15.X.93)

oraz

- "An analysis of the sequence of part of the right arm of chromosome II of *S.cerevisiae* reveals new genes encoding an amino acid permease and a carboxypeptidase" - wstępna wersja artykułu wysłanego do "CURRENT GENETICS" w końcu listopada '93

Rozpoczęto prace nad klonowaniem i dysrupcją ORF'ów: YBR1005, YBR1006, YBR1013, YBR1014.

Zakończono sekwencjonowanie fragmentu 10 kb (ab. dna) z kosmidu α -20 z chromosomu II. W obrębie ustalonej sekwencji znaleziono dwie nowe otwarte ramki odczytu (ORF) (robocze nazwy HEL i A20ORF1) oraz ok. 5 kb początkowy fragment genu IRA 1.

Analiza komputerowa ORF-u HEL wykazała bardzo wysoką homologię z wieloma ATP-zależnymi helikazami RNA, natomiast porównanie z mapą genetyczną regionu sugeruje, że jest to gen Mak5 odpowiedzialny za utrzymanie dwuniciowych wirusów RNA (ang. Killer Factor). Prowadzone prace nad dysrupcją tego ORF-u są na ukończeniu.

II. Prace prowadzone w ramach projektu analizy funkcjonalnej nowo odkrytych ORF-ów chromosomu III *S.cerevisiae*

1. Otrzymane z CGM fagi III-3E4, III-3G2, III-3H8 (EMBL4 1 - wektory, namnażane w *E.coli* - LE392) zawierające fragmenty banku chromosomu III *S.cerevisiae* niosące ORF-y przeznaczone do analizy zostały wyizolowane i namnożone. Posługując się poprawioną wersją sekwencji Chromosomu III przygotowano dokładną mapę restrykcyjną interesujących nas fragmentów i posługując się mapą sprawdziliśmy fragmenty poprzez analizę restrykcyjną. Na podstawie analizy restrykcyjnej stwierdzono, że fag III-3H8 był identyczny z III-3G2. W tym momencie dysponujemy już oryginalnym III-3H8 (przysłanym powtórnie), którego wzór restrykcyjny jest zgodny z oczekiwanym. Wykryto różnice pomiędzy teoretyczną i uzyskaną eksperymentalnie mapą restrykcyjną. Po pierwsze wielkość

fragmentów niesionych przez fagi tylko w przybliżeniu odpowiada wyliczonej na podstawie dokumentacji przesłanej z CGM. W III-3E4 znaleziono dwa dodatkowe miejsca BamH1, w II-3H8 jedno miejsce BamH1 nie istnieje, w III-3G2 ORF-24W nie jest kompletny.

Do dalszej analizy wybrano fragmenty DNA z miejscami restrykcyjnymi i wielkością jak najbardziej zbliżoną do źródłowej sekwencji. Dla upewnienia się, co do prawidłowości wyboru jeszcze raz zsekwencjonowano 330 bp Kpn-Eco fragment z III-E4 w regionie 73C—>71C ORF. Stwierdzono, że w rzeczywistości 73C i 71C są jednym ORF-em. Potwierdzeniem powyższego rezultatu są wyniki analizy komputerowej wyżej wymienionych ORF-ów wskazujące ich przypuszczalne miejsce lokalizacji w błonie komórkowej. W tym momencie sklonowano do pUC18 YCLO69W i YCLO28W, klonowanie oraz powtórne zsekwencjonowanie pozostałych ORF-ów postępuje.

A20ORF1 nie wykazuje żadnej istotnej homologii z zsekwencjonowanymi genami z banków danych (EMBL, PIR).

Rozpoczęto prace nad dysrupcją tego genu (pierwszy etap analizy funkcjonalnej).

W zsekwencjonowanym fragmencie genu IRA1 stwierdzono niezgodność z opublikowaną sekwencją. Najpoważniejsza z nich dotyczy błędnie zsekwencjonowanego dodatkowego T w pozycji 165-173 (patrz ref. 1). Według naszej sekwencji w regionie tym występuje 8 a nie 9 T. W konsekwencji miejsce startu transkrypcji genu zostanie przesunięte z pozycji 565 do pozycji 141, wobec czego długość mRNA genu IRA1 zwiększy się o 424 nukleotydy.

Szczegółowe opracowanie wyników analizy zsekwencjonowanego fragmentu znajdzie się w aktualnie pisanym Yeast Sequencing Reports: Chromosome II "The Sequencing of 13 kb of the Cosmid α -20, from the Right Arm of Chromosome II", przeznaczonym do opublikowania w "YEAST" w roku 1994.

2. Sekwencjonowanie X chromosomu drożdży *S.cerevisiae*

Otrzymał of F. Galibert'a koordynatora odpowiedzialnego za sekwencjonowanie chromosomu X w ramach projektu EWG kosmid 103 (fragment sklonowany na pWE15) był poddany sonifikacji w celu otrzymania losowych powtórzeń sklonowanych na pUC18 do sekwencjonowania. Eliminacja klonów zawierających kosmid lub DNA chromosomu X należące do kosmidu

136 (zachodzącego na kosmid 103) została dokonana przez hybrydyzację kolonijną z sondą 136 i 103 (samą wstawką). Klony hybrydujące tylko z sondą 103 zostały użyte do sekwencjonowania z użyciem standardowych primerów (M13 reverse i universal). Z przewidywanych teoretycznie 600 klonów niezbędnych do uzyskania 25 KB consensusu w chwili obecnej zsekwencjonowano 320.

Otrzymane już sekwencje zostały poddane składaniu przy użyciu programu "Sequence assembly program" z pakietu STADEN PACKAGE.

3. Sekwencjonowanie IV chromosomu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (rejon między genami HEM12 i CDC34)

Z plazmidu 11B (Yep24 zawierający obszar między HEM12 i CDC34) subklonowano fragment KpnI (ok 3000 par zasad) i zachodzący na niego fragment SstI (ok 5800 par zasad) pokrywające łącznie rejon 7500 par zasad bezpośrednio za genem HEM12. Fragmenty te poddano jednokierunkowemu trawieniu egzonukleazą III (double stranded Nested Deletion Kit, Pharmacia), a uzyskane skrócone klony zsekwencjonowano metodą Sangera przy użyciu automatu do sekwencjonowania A.L.F. DNA Sequencer (Pharmacia). Z fragmentu KpnI zsekwencjonowano obie nici, z fragmentu SstI jedną nić (druga nić w trakcie sekwencjonowania).

Wstępna analiza zsekwencjonowanego fragmentu IV chromosomu drożdży *S.cerevisiae* (rejon między genami HEM12 i CDC34) ujawniła w badanym rejonie obecność 4 ramek odczytu (kolejno wg położenia za HEM12):

- orf2 - kodująca białko o długości 632 aminokwasów, posiadające pojedynczy motyw "palca cynkowego", nie wykazujące homologii do już poznanych białek
- TPI - kodująca białko izomerazy triozofosforanów (enzym cyklu glikolitycznego dotychczas nie zmapowany u *S.cerevisiae*)
- orf1 - kodująca białko o długości 334 aminokwasów, nie wykazujące homologii do znanych białek (wymaga potwierdzenia przez sekwencjonowanie drugiej nici DNA)
- DBF4' - fragment genu DBF4 (podjednostka kinazy białkowej kodowanej przez gen CDC7)

Rozpoczęto prace nad dysrupcją ramek orf1 i orf2, jest to pierwszy etap w celu określenia ich funkcji fizjologicznej.

Łącznie w roku kalendarzowym 1993 w ramach współpracy polsko-francuskiej w ramach projektu EWG zsekwencjonowano około 170 000 nukleotydów i zsyntetyzowano 25 oligonukleotydów w tym 20 fluorescencyjnych i 2 o długości 60 nukleotydów.

III. Sekwencjonowanie w ramach działalności usługowej na rzecz IBB

W 1993 roku zsekwencjonowano na potrzeby następujących osób:

A. Chachulska	ZBB	79 matryc
A. Góra	ZBB	63 matryce
A. Kujawa	ZBD	14 matryc
A. Pałucha	ZBD	6 matryc
B. Kroczyńska	ZBR	100 matryc
B. Kwiatkowski	ZBR	4 matryce
E. Sadowy	ZBD	8 matryc
M. Kanabus	ZBD	3 matryce
J. Topczewski	ZG	6 matryc
M. Sienko	ZG	70 matryc
A. Konopińska	ZG	8 matryc
M. Wełnicki	ZBB	45 matryc
M. Buhole	ZBR	48 matryc
M. Tomaszewski	ZBR	14 matryc
M. Wojcieszyn	ZBB	2 matryce
E. Grzybowska	ZBB	13 matryc
R. Gromadka	ZBB	19 matryc
U. Zielenkiewicz	ZBB	21 matryc
B. Tudek	ZB	3 matryce
B. Rempoła	ZB	14 matryc
A. Dmochowska	UW	24 matryce
P. Stępień	UW	3 matryce
M. Prymakowska	ZBD	12 matryc
M. Góra	ZG	29 matryc
K. Pluta	ZG	11 matryc
A. Chacińska	ZG	36 matryc
M. Juszczyk	ZBD	26 matryc

M. Hryniewicz	ZBD	10 matryc
M. Boguta	ZG	4 matryce
M. Murawski	ZG	24 matryce
J. Szczegielniak	ZBD	16 matryc
B. Szurmak	ZBD	2 matryce

Przy średniej długości odczytu sekwencji - 350 b, daje ok. 250 000 zsekwencjonowanych nukleotydów. Dodając zsekwencjonowane w tym roku w ramach Projektu Sekwencjonowania Genomu Drożdżowego daje w sumie ok. 410 zsekwencjonowanych nukleotydów.

Łącznie w 1993 r., w ramach związku bliźniaczego, w ramach projektu EWG, zsekwencjonowano około 170 000 nukleotydów, 25 oligonukleotydów, w tym 20 fluorescencyjnych i dwa o długości 60 nukleotydów.

PUBLIKACJE: 2900, 2918+

WYKAZ WAŻNIEJSZYCH OPRACOWANYCH METOD BADAWCZYCH

ZAKŁAD BIOFIZYKI

Metoda pomiaru względnej zawartości reszt Trp, Tyr i Phe w polipeptydach poprzez analizę drugiej i czwartej pochodnej widm UV.

Autor: mgr Ł.Jaroszewski

ZAKŁAD BIOLOGII MOLEKULARNEJ

Metoda badania mutacji powodowanych modyfikacją reszt guaniny i cytozyny w układzie faga M13 glyU.

Autorzy: mgr E.Borys, mgr M.Mroczkowska, dr. J.Kuśmerek i prof. Z.Cieśla.

Metoda właściwości kodujących modyfikowanych zasad w układzie odwrotnej transkrypcji.

Autorzy: mgr A.Bukowska, dr. M.Mroczkowska i doc. J.Kuśmerek.

NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

NAGRODY IBB PAN

Dr M. Boguta, mgr B. Szcześniak - I nagroda za pracę :

- NAM9 nuclear suppressors of Mitochondrial ochre Mutations in *Saccharomyces cerevisiae* Codes for a Protein Homologous to S4 Ribosomal Proteins from Chloroplasts, Bacteria and Eucariotes. *Molecular and Cellular Biology* (January 1992), 402 - 412.

Dr A. Chełstowska, dr T. Żołądek I nagroda za pracę :

- Identification of amino acid changes affecting yeast uroporphyrinogen decarboxylase activity by sequence analysis of hem12 mutant alleles. *Biochem. J.* 288, 753, 1992

Dr A. Chełstowska druga praca:

- Uroporphyrinogen decarboxylase i *Saccharomyces cerevisiae* hem12 gene sequence and evidence for two conserved glycines essential for enzymatic activity. *Eur. J. Biochem.* 205, 1011, 1992

Dr G. Dobrowolska - II nagroda IBB PAN dla pracowników nauki za zespół trzech prac:

- Purification and characterization of maize seedling casein kinase IIB, a monomeric enzyme immunologically related to the α subunit of animal casein kinase-2. *Eur. J. Biochem.* (1992), 204, 293-303.
- Benzimidazole nucleoside analogues as inhibitors of plant (maize seedling) casein kinases. *Biochimica et Biophysica Acta* (1991), 1080, 221-226.
- Cloning and sequencing of the casein kinase 2 α subunit from *Zea mays*. *Biochimica et Biophysica Acta* (1991), 1129, 139-140.

Mgr J. Szczegielniak - II nagroda za współautorstwo pracy:

- Purification and characterization of maize seedling casein kinase IIB, a monomeric enzyme immunologically related to the α subunit of animal casein kinase-2. *Eur. J. Biochem.* (1992), 204, 293-303.

Mgr M. Bucholc - III nagroda za pracę:

- Synthesis of extrachromosomal DNA and telomere-related sequences in germinating wheat embryos. Seed Sci Res. 2, 141-146 (1992).

Mgr J. Poznański, mgr P. Pawłowski - III nagroda za pracę:

- Bioelectrorheological model of cell. 3. Viscoelastic shear deformation of the membrane. Biophys. J. 61, 612-620, 1992

Dr A. Przykorska - III nagroda za pracę:

- Structural specificity of Rn nuclease I as probed on yeast tRNA^{Phe} and tRNA^{Asp}. Nucleic Acids Research, 20, 659-663, 1992

NAGRODY WYDZIAŁU II NAUK BIOLOGICZNYCH PAN

- Zespół w składzie: prof. C. Janion, dr E. Grzesiuk, dr E. Śledziwska-Gójska, mgr A. Fabisiwicz, mgr A. Płachta otrzymał nagrodę naukową za badania nad mechanizmami mutagenезy i naprawy DNA u *Escherichia coli*.

Publikacje:

Śledziwska-Gójska E., Grzesiuk E., Płachta A., Janion C.

- Mutagenesis of *Escherichia coli*: a method for determining mutagenic specificity by analysis of tRNA suppressors. Mutagenesis (1992), 7, 41-46

Grzesiuk E., Janion C.

- Some aspects of EMS-induced mutagenesis in *Escherichia coli*. Mut. Res. (1993), 297, 313-321

Płachta A. Janion C.

- Is the tRNA ochre suppressor *supX* derived from *gltT*? Acta Biochim. Polon. (1992), 39, 265-269

Janion C.

- DNA repair enzymes: UvrABC-endonuclease of *Escherichia coli*. Post. Biochim. (1992), 38, 55-58

Grzesiuk E.

- SOS system: Mutagenic response to DNA damage. Post. Biochim. (1992), 38, 59-63

Fabisiewicz A., Janion C.

- Effect of heat shock ekspression of proteins not involved in the heat-shock regulon. Eur.J.Biochem.(1992), 209, 549-553

SEMINARIA INSTYTUTOWE

- 12.01.1993r. Błony komórkowe - miejsce działania terapii PUVA (psoralen + UNA) - doc.dr Z. Zarębska, IBB PAN
- 19.01.1993r. Biosynteza ubichinonu i plastochinonu w komórkach roślinnych - dr E. Kula-Świeżewska, IBB PAN
- 19.01.1993r. Zastosowanie magnetycznego rezonansu jądrowego w badaniach struktury białek - dr J. Wójcik, IBB PAN
- 16.03.1993r. Struktura przestrzenna serynowych i leucynowych tRNA - dr A. Przykorska, IBB PAN
- 24.03.1993r. GCG - Genetic computer group package. DNA and protein sequence analysys program - L. Esterman, Weizmann Institute of Science, Izrael
- 29.03.1993r. Regulation of larval hemolymph protein genes in Waxmoths- prof. A.K. Kumaran, Department of Biology, marquette University, USA
- 30.03.1993r. Rozproszone powtarzające się sekwencje DNA pszenicy i żyta - mgr B. Szurmak, IBB PAN
- 30.03.1993r. Synteza pozachromosomowego DNA i sekwencji telomerowych w kiełkujących zarodkach pszenicy - mgr M.Bucholc, IBB PAN
- 15.04.1993r. DNA - Protein intractions at a replication origin controlling plasmid replication - Prof. Donald Heliński Uniwersytet Kalifornijski w San Diego, USA
- 24.04.1993r. The regulation of arginine metabolism in yeast *S.cerevisiae* - Prof. Francine Messenguy, Belgia
- 24.04.1993r. *Bacillus subtilis* Rec R protein recognizes damaged DNA - dr Juan C. Alonso, Instytut Max-Planck, Berlin
- 11.05.1993r. Właściwości konformacyjne peptydów wiążących jony wapnia - doc. dr A. Bierzyński, IBB PAN
- 11.05.1993r. Badania struktury białka S 100 - mgr. P. Pawłowski, IBB PAN

- 25.05.1993r. Specific and pleiotropic factors regulating the arginine metabolism in yeast - dr Francine Messenguy, Universit Librede Bruxelles
- 31.05.1993r. Symbiosys and molecular evolution - Prof. Michel Solignac, Laboratoire de Biologie et Genetique Evolutive, Francja
- 15.06.1993r. Nowa mutacja w E.coli wpływająca na obniżenie mutagenazy SOS - mgr A. Bębenek, IBB PAN
- 15.06.1993r. Szok termiczny u E.coli - mgr A. Fabisiewicz, IBB PAN
- 23.06.1993r. Metody analizy ewolucji na poziomie molekularnym (na przykładzie Microspora) - Prof. Norman Pieniążek, Center for Disease Control, USA
- 29.06.1993r. Struktura i funkcja neuropeptydów owadzych - dr J. Michalik, IBB PAN
- 6.08.1993r. Zastosowanie "video-imaging" i barwników jonowych do badania transportu jonów w morskich roślinach planktonowych na przykładzie okrzemka - mgr G. Tokarczyk, badania realizowano w Dalhousie University, Department of Oceanography, Halifax, Kanada
- 24.08.1993r. Rola miejsca składowania 5' w procesie powstawania spliceosomu - dr M. Konarska, The Rockefeller University, USA
- 10.09.1993r. Cairnsian mutagenesis - dr Colin Clarke, University of East Anglia, Norwich, Anglia
- 14.09.1993r. Physiological approaches to the transcriptional regulation by heme and oxygene in the yeast S.cerevisiae - Prof. Rosine Labbe-Bois, Instytut J. Monod, Paryż
- 30.09.1993r. Izolacja i charakterystyka mutantów zmieniających poziom transportu białek do mitochondriów S.cerevisiae - dr T. Żołądek, IBB PAN
- 12.10.1993r. Badania molekularne w mukowiscydozie - dr J. Bal, Instytut Matki i Dziecka
- 12.10.1993r. Zależność struktura - aktywność biologiczna nukleozydów pirymidynowych i purynowych o właściwościach

- przeciwherpesowych - doc. dr hab. T. Kulikowski, IBB PAN
- 14.10.1993r. Mitochondrial approaches to biodiversity - prof. J.C. Mounolou, Centre de Genetique Moleculaire -CNRS, Francja
- 19.10.1993r. Revisiting the enzymatic degradation of double - stranded RNA - prof. Massimo Libonati, Instytut Chemii Biologicznej Uniwersytetu w Weronie, Włochy
- 9.11.1993r. Funkcja biologiczna polimerazy DNA - dr J. Siedlecki, Centrum Onkologii - Instytut
- 16.11.1993r. 1. Epigenetic control of mouse early development.
2. Interplay between microtubules and cell cycle control during mouse meiotic maturation and early development - prof. B. Maro, Institut Jacques Monod CNRS - Universit Paris VII, Francja
- 22.11.1993r. Expression of PLRV genes: basic and applied aspects - Prof. Wolfgang Rohde, Max Planck Institut, Niemcy
- 23.11.1993r. Kwas salicylowy - lek i hormon - dr J.Henning, IBB PAN
- 23.11.1993r. Regulacja amplifikacji genów w komórkach normalnych i nowotworowych - dr P. Jończyk, IBB PAN
- 7.12.1993r. Rybosomalne nukleazy zarodków żyta: oczyszczanie, właściwości, aktywatory i inhibitory - dr M.A. Siwecka, IBB PAN
- 7.12.1993r. Ekspresja genów wirusa liściozwoju ziemniaka w układach in vitro - mgr A. Kujawa, IBB PAN
- 13.12.1993r. Niskocząsteczkowe jądrowe RNA (snRNA) kodowane przez introny - prof. W. Filipowicz, Instytut Friedrich Miescher, Bazyleja
- 20.12.1993r. Meiotic Chromosome Behaviour in Hybrids - dr G. Jenkins, University of Wales

SEMINARIA ZAKŁADOWE

Zakład Biochemii Roślin:

- 20.01.1993r. Sprawozdanie z Międzynarodowej Konferencji IUB/EMBO
"Aparat Translacyjny" (31.10- 6.11.1992r., Berlin - dr
M.Tomaszewski
- 17.02.1993r. "Występowanie sekwencji telomerowych w DNA zarodków
pszenicy" - mgr M.Bucholc
- 24.02.1993r. "Sekwencje powtarzających się DNA pszenicy i żyta" -
mgr B.Szurmak
- 7.04.1993r. "NAM9 - jądrowy supresor mutacji mitochondrialnych u
S.cerevisiae" - mgr M.Krzymowska
- 21.04.1993r. "Kinaza białkowa z siewek kukurydzy" - mgr
J.Szczegielniak
- 5.05.1993r. "Regulacja odpowiedzi przyrannej /"Wounding response"/
u roślin" - dr J.Hennig
- 19.05.1993r. "Kinazy tyrozynowe w siewkach kukurydzy" - mgr
J.Trojanek
- 2.06.1993r. "Odpowiedź roślin na stres nieskiej temperatury" - dr
U.Maciejewska
- 16.06.1993r. "Oczyszczenie i charakterystyka niektórych fosfataz
białkowych z siewek kukurydzy" - mgr B.Marciniak
- 11.10.1993r. Sprawozdanie z udziału w kursie EMBO, Kolonia 1993 r -
mgr M.Krzymowska
- 18.10.1993r. "Synteza sekwencji telomerowych w kiełkujących
zarodkach pszenicy" - mgr M.Bucholc
- 25.10.1993r. "Macierz jądrowa komórki roślinnej" - prof. J.Buchowicz
- 8.11.1993r. "Cloning of the gene coding for ornithine transminase
in Aspergillus niger" - mgr A.Talarczyk
- 15.11.1993r. "Ontogenic variations in nodulation and nitrogen -
assimilation in lentil" - Avena Malik
- 29.11.1993r. "Histone H1 in transcriptional regulation" - prof.
A.Jerzmanowski
- 6.12.1993r. "Histon H1 sekwencje bogate w AT" - mgr J.Iwkiewicz

Zakład Biochemii Porównawczej:

- 8.01.1993r. "Enzymy katabolizujące i reutilizujące związki purynowe u przyrw i ślimaków - ich żywicieli pośrednich", Warszawskie Towarzystwo Parazytologiczne (7.12.1993r.) - mgr H.Trembacz
- 5.02.1993r. "Organizacja genomu chloroplastu" - dr M.Turiszczewa
- 12.03.1993r. "Kontrola syntezy białek w ciele tłuszczowym owada" - dr J.Michalik
- 7.05.1993r. "Białka szoku cieplnego u roślin" - doc. N.Gumilewska
- 28.05.1993r. "Odpowiedź immunologiczna u owada" - dr E.Szołajska
- "Kompleks "receptor hormonów sterydowych-DNA" i charakterystyka metody izolacji" - dr K.Grzelak

Zakład Biochemii Drobnoustrojów:

- 15.02.1993r. "Splicing białek" - dr E.Śledziowska-Gójska
- 22.02.1993 "Mechanizmy supresji mutacji framshift" - prof.Z.Cieśła
- 15.03.1993r. "ERCCG - związek z synchromem Cockayne i preferencyjna reperacja genów aktywnych"- mgr M.Kanabus
- 22.03.1993r. "Rozprzestrzenianie się wirusów roślinnych" - mgr E.Sadowy
- 29.03.1993r. "Kontrola komórkowego matabolizmu żelaza" - mgr A.Pałucha
- 5.04.1993r. "Wpływ topologii ("supercolling") DNA na ekspresję genu prokariotycznego" - dr M.Hryniewicz
- 26.04.1993r Tlenowa regulacja ekspresji genów prokariotycznych" - mgr R.Iwanicka
- 16.05.1993r. "Regulacja cykli podziałowych drożdży"- mgr R.Gromadka
- 16.06.1993r. "Globalny system regulacyjny LRP E.coli" - prof. T.Kłopotowski
- 6.09.1993r. "Systemy sekrecji białek u bakterii G" - mgr I.Kern
- 20.09.1993r. "Genetyka czynników wirulencji u bakterii" - mgr R.Wolinowska
- 6.10.1993r. "Stan badań nad regulacją syntezy kwasu kolaninowego u E.coli" - prof. T.Kłopotowski
- 11.10.1993r. "Apoptoza - jedyny pewnik" - mgr A.Nowicka

- 18.10.1993r. "Szlaki dopływu informacji do komórki" - mgr A.Nowicka
 8.11.1993r. "Przejście fazy G2-M w cyklu komórkowym *C.cerevisiae*" -
 P.Mieczkowski
 22.11.1993r. "Niekonwencjonalne strategie walki z infekcjami
 wirusowymi" - prof. D.Hulanicka
 1.12.1993r. "Kataliza powstawania wiązań dwusiarczkowych białek
 sekrecyjnych *E.coli*" - prof. T.Kłopotowski

Zakład Genetyki Ogólnej:

- 4.01.1993r. "Rola genu p^{53} w rozwoju ssaków i ontogenezie" -
 mgr K.Pluta
 11.01.1993r. "Mitotyczna rekombinacja u drożdży" - prof. J.Żuk
 8.02.1993r. "Dynamiczne mutacje u człowieka" - mgr I.Smaczyńska
 "Regulator biosyntezy i degradacji kwasów tłuszczowych
E.coli" - dr A.Kurlandzka
 8.03.1993r. "Transport RNA do mitochondriów" -
 15.03.1993r. "Mutacje adaptatywne u drożdży" - dr H.Baranowska-
 Wyszomirska
 22.03.1993r. "Udział drożdżowych polimeraz DNA w procesach
 replikacji i naprawy DNA" - prof. W.Jachymczyk
 27.04.1993r. Replikacja i naprawa DNA w komórkach eukariontów" -
 prof. W.Jachymczyk
 10.05.1993r. "Molekularny mechanizm biologicznej śmierci komórki" -
 mgr M.Góra
 4.10.1993r. "Białko hsp104 i jego związek z ekspresją genu NAM9 -
 Omówienie wyników otrzymanych w pracowni. - M. Boguta
 25.10.1993r. "Źródła węgla indukujące podziały komórek drożdży po
 osiągnięciu fazy stacjonarnej u drożdży" - dr
 M.Skoneczny
 22.11.1993r. "Eukariotyczne polimerazy DNA" - mgr A.Krzymowska
 6.12.1993r. "Mechanizmy edytowania RNA" -
 16.12.1993r. "Pieśni godowe *D.melanogaster* i *D.simulans*" -
 mgr. A.Kwiatkowska

Zakład Biochemii Lipidów:

- 15.01.1993r. "Biosynteza ubichinonu i plastochinonu w komórkach roślinnych" - dr E.Kula-Świeżewska
- 04, 06. 93r. Dwa seminaria poświęcone przygotowaniu do Zjazdu "Dolichol and Related Lipids"
- 17.05.1993r. "Modyfikacje białek polegające na podstawieniu reszt prenylowych" - dr A.Szkopińska
- 24.05.1993r. "Potranslacyjne modyfikacje białek"- prof.G.Palamarczyk
- 6.06.1993r. "Brefeldyna powodująca zaburzenia w sekwencji białek" - dr J.Kruszewska

Zakład Biosyntezy Białka

- 28.01.1993r. "Replikacja wiroidów" - M. Wojcieszyn
- 4.02.1993r. "Składanie tRNA" - M.Swianiewicz
- 11.03.1993r. "Analiza sekwencji polskich szczepów wirusa PVY" - mgr A. Chachulska
- 1.04.1993r. "Nieradioaktywne sondy molekularne" - dr M.Wełnicki
- 6.05.1993r. "Sekwencjonowanie polskich izolatów wiroida PSTV" - mgrA.Góra

Zakład Biologii Molekularnej

- 20.01.1993r. "Metabolizm znanego środka antynowotworowego 5-fluorouracylu" - mgr M.Bretner
- 3.01.1993r. "Udział białek umu CD w mutagenzie indukowanej EMS" - E.Grzesiuk
- 17.02.1993r. "Angiogenina po raz drugi" - dr D.Barszcz
- 3.03.1993r. "Terapia PUVA - błony czy jądro - doc. Z.Zarębska
- 7.04.1993r. "Biochemia benzimidazolu i jego pochodnych" - mgr L.Chlebicka
- 21.04.1993r. "Nowa generacja leków przeciwwirusowych" - doc. T.Kulikowski
- 5.05.1993r. "Kontrowersje wokół mutacji ukierunkowanych (directed mutation)" - mgr A.Bukowska
- 19.05.1993r. "Co nowego na temat szoku termicznego" - mgr A.Fabisiewicz

- 2.06.1993r. "Plazmidy bakterii *Thiobacillus versutus*" - A.Czajkowska
- 16.06.1993r. "Węglowodany - słowa przekreślające specyficzność biologiczną komórki" - doc. A.Drabikowska
- 23.06.1993r. "Badanie tranzycji C-T indukowanych CAA w układzie faga M13glyU" - mgr E.Borys
- 6.10.1993r. Sprawozdanie z 23 Annual Meeting of EEMS 27.09. - 2.10.1993 (Barcelona) - prof. C.Janion
- 20.10.1993r. "8-oksydoguanina - właściwości mutagenne i naprawa" - dr B.Tudek
- 17.11.1993r. "Specyficzność fosforylasy urydynowej w różnych organizmach: Implikacje dla chemoterapii" - doc. A.Drabikowska
- 18.11.1993r. "Wpływ mutacji *sjbA* na indukcję SOS" - mgr A.Bębenek
- 21.11.1993r. "Biologiczne właściwości reszt N⁷-metyloguaniny z otwartym pierścieniem imidazolowym (FAPY)" - dr B.Tudek
- 2.12.1993r. "5-modyfikowane inhibitory ludzkiej kinazy dezoksycytydynowej" - mgr K.Krawiec
- 15.12.1993r. "Odpowiedź adaptatywna bakterii na środki alkilujące" - mgr E.Borys

Laboratorium Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów

- "Lokalizacja i działanie genów odpowiedzialnych za typ koniugacji u drożdży" - R. Gromadka
- "Białka zaangażowane w regulację przełączania kasety w *locus MAT*" - R.Gromadka
- "Regulacja cichych kaset w *locus HML α* i *HMRa*" - R. Gromadka
- 15.10.1993r. "Transpozon drożdżowy Ty1" - A. Migdalski
- 20.05.1993r. "Elementy ruchome w DNA Eukaryota ze szczególnym uwzględnieniem rodziny transpozonów drożdżowych Ty" - U. Zielenkiewicz
- "Cykl życiowy drożdży *S.cerevisiae*" - J.Sulicka

UDZIAŁ W KRAJOWYCH IMPREZACH NAUKOWYCH

Zakład Biofizyki:

1. Organizacja i uczestnictwo w IV Krajowym Sympozjum p.n. "Struktura białek i konformacja peptydów" (29.04 - 2.05.1993 r., Zaborów). W imprezie uczestniczyły 42 osoby w tym 10 z IBB PAN.
2. XXIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (15-17.09.1993 r., Wrocław)- doc. A.Bierzyński.
3. V Ogólnopolska Konferencja Biologii Komórki (lipiec 1993, Wrocław)- prof. M.Fikus, mgr P.Pawłowski.
4. Ogólnopolska Konferencja Polskiego Towarzystwa Zastosowań Elektromagnetyzmu (wrzesień 1993 r., Zaborów)- prof. M.Fikus, mgr P.Pawłowski.

Zakład Biochemii Roślin:

1. Ogólnopolska Konferencja Biotechnologii Roślin (27-28.09.1993 r., Warszawa) - dr M.Dobrzańska, dr E.Kraszewska.
2. XXIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (15-17.09.1993 r., Wrocław) - dr M.Tomaszewski, mgr J. Guberska.
3. Ogólnopolska Konferencja Biologii Komórki (2-4.07.1993 r., Wrocław) - prof. K.Kleczkowski, mgr M.Borkowska.
4. Sesja n.t. "Program PONT 1992 w Naukach Biologicznych" (23-24.03.1993 r., Poznań).
5. Sympozjum P.T. Bot. (17.12.1993 r.) - dr J.Hennig.
6. I Warsztaty z Fizjologii i Biochemii Roślin (15-16.03.1993 r., Toruń) - mgr U.Maciejewska.

Zakład Biochemii Porównawczej:

1. Sympozjum n.t. "Nowe kierunki poszukiwań bioracjonalnych, ekologicznie akceptowalnych metod zwalczania szkodliwych stawonogów" (2-3.12.1993r., Warszawa) - dr J.Michalik, dr E.Szołajska.

Zakład Biochemii Drobnoustrojów:

1. I Ogólnopolska Konferencja Biotechnologii Roślin i Przetwórstwa Żywności (27-28.09.1993 r., Warszawa) - prof. D.Hulanicka.

Zakład Genetyki Ogólnej:

1. Konferencja n.t. "Nowe Oblicze Biotechnologii" (październik 1993r., Poznań) - dr M.Boguta.

Zakład Biochemii Lipidów:

1. XXIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (15-17.09.1993r., Wrocław) - prof. T.Chojnacki, dr E.Kula-Świeżewska, mgr E.Skoczylas.

Prof. G.Palamarczyk - wykład w ramach sympozjum Struktura i Funkcja Białek n.t. "Posttranslacyjne modyfikacje białek - glikozylacja".

2. Glycobiology Workshop Białystok '93, organizowany przez Oxford Glyco System, Oxford University i Akademię Medyczną w Białymstoku (22-28 sierpnia b.r.) - prof. G.Palamarczyk (wygłosiła referat "Biosynthesis of glycoconjugates"), dr A.Szkopińska, dr J.Kruszewska.

UDZIAŁ W MIĘDZYNARODOWYCH IMPREZACH NAUKOWYCH

Zakład Biofizyki

Konferencja: "Metody teoretyczne w opisie procesów krystalizacji białek", (29.01.1993), Berlin, Freie Universität - dr P. Zielenkiewicz, referat własny - "Protein docking".

Konferencja: "XI Międzynarodowy Kongres Biofizyki", (25-30.07.1993.), Budapeszt - dr A. Bierzyński, mgr J. Góral, mgr J. Poznański, mgr Ł. Jaroszewski, mgr K. Pawłowski, mgr J. Wójcik.

Zorganizowane w kraju I Polsko-Izraelskie Sympozjum pn. "Chemistry and Biology of Peptides" (5-8.09.1993 r., Gdańsk) - doc. A.Bierzyński.

Zakład Biochemii Porównawczej

Konferencja: "15th International tRNA WORKSHOP", badanie struktury RNA przy użyciu nukleaz pochodzenia roślinnego, (26.05.-17.06.1993), Francja, Institut de Biologie Moleculaire et Cellulaire - dr A. Przykorska.

Konferencja: "The Fourth International Conference on Insert Neurochemistry and Neurophysiology", (1.04.-4.04.1993), Czechy - dr J. Michalik, referat współautorski - "Neuropeptide from *Galleria mellonella* (Lepidoptera) stimulating gland activity".

Symposium: "4th Symposium of European Society for the Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man", (1.09-4.09.1993), Holandia - prof. M. Jeżewska.

Zakład Genetyki

Konferencja: "XV International Botanical Congress", (28.08-5.09.1993), Japonia - dr M. Boguta, referaty zamawiane - "Mitochondrial protein NAM9 from *S. cerevisiae*", "Suppressor mutations".

Zakład Biochemii Lipidów

Organizacja i udział całego zespołu Zakładu Biochemii Lipidów w: "Dolichol and Related Lipids. A satellite Meeting to the XIIth International Symposium on Glycoconjugates" (10-15.08.1993r, Zakopane).

Symposium: "Pflanzlipide '93", (wrzesień 1993), Niemcy, Uniwersytet w Karlsruhe - dr W. Jankowski, referat własny - "Occurrence of Polyprenoids and Dolichols in Plants".

Konferencja: "Biosynteza lipidów izoprenoidowych", (4.09-9.04.1993), Sztokholm - dr E. Świeżewska.

Zakład Biochemii Drobnoustojków

Konferencja: "Cell cycle checkpoints, DNA repair and Replication strategies", (27.09-3.10.1993), Anglia, Cambridge - dr P. Jończyk.

Konferencja: FEBS, (18.05-23.05.1993), Irlandia - mgr A. Kujawa.

Konferencja: "Molecular Genetics of Bacteriophages and their Viruses", (12.05-18.05.1993), Holandia, University of Groningen - dr P. Ceglowski, referat własny - "Characterization of the effectors required for stable inheritance of pSM-19035 derived plasmids in *B. subtilis*".

Konferencja: 23 Doroczny Zjazd Europejskiego Towarzystwa Mutagenezy Środowiskowej "Mutageneza Środowiskowa", (26.09.-3.10.1993), Hiszpania, Barcelona - dr E. Śledziewska-Gójska, referat własny - "SNZ Alkylating Agents inactivate O⁶ metylguanina-DNA-metyltransferase in vivo".

"XI International Symposium on Glycoconjugates" (15-20.08.1993 Kraków) - dr J.Hennig.

Zakład Biologii Molekularnej

Prof.D.Shugar i doc.T.Kulikowski organizowali i brali udział w "4th International Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy" w Gdańsku (23-25.06.1993r., Gdańsk).

Sympozjum: "14th International Congress of Heterocyclic Chemistry", (1.08.-6.08.1993), Belgia, University of Antwerp - mgr K. Felczak, mgr M. Bretner.

Konferencja: "Cell cycle Checkpoint, DNA Repair and DNA replication strategies", (27.09.-1.10.1993), Anglia, Cambridge - prof. I. Pietrzkowska.

Sympozjum: "IV Symposium of the European Society for the study of Purine and Pyrimide Metabolism in Man", (31.08.-3.09.1993), Nijmegen - doc. T.Kulikowski, referat własny - "Structure activity Relationships and Conformational Features of Anti-harpetic Pyrimidine and Purine Nucleoside Analogues".

Sympozjum: "IX Symposium on the Chemistry of Nucleic Acid Components", (11.09.-18.09.1993), Czechy, - doc. T.Kulikowski, referat zamawiany - "Synthesis, conformation and anti-HIV activity of 3'-substitued 2',3'-olideoxy-5-hydrxymethylurilines".

Zakład Biochemii Roślin

Konferencja: "Protein Phosphatases in Cellular Regulation", (19.09.-24.09.1993), Włochy, Padwa - mgr B.Marciniak.

Konferencja: 12-te Roczne Sympozjum Uniwersytetu w Missouri "Plant Protein Phosphorylation, Plant Protein Kinases and Phosphatases, Plant G-Proteins", (29.03.-10.04.1993), USA, University of Missouri Columbia - prof. G. Muszyńska.

Laboratorium Sekwencjonowania Kwasów Nukleinowych i Syntezy
Oligonukleotydów

Konferencja sprawozdawcza Projektu Sekwencjonowania Genomu
Drożdżowego" (Monachium, NRF) - mgr M.Zagulski

DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA

ZAKŁAD BIOFIZYKI

Prof. M. Fikus: UMCS, Lublin - wykład dla IV roku kierunku Biotechnologia p.t. "Inżynieria genetyczna" (30 g.); prowadzenie seminarium magisterskiego, kierunek Biotechnologia (45 g.); UW, Warszawa - wykład monograficzny na Wydziale Biologii p.t. "Biotechnologia dla medycyny" (15 g.); SGGW, Warszawa - wykład w Z-dzie Mikrobiologii Przemysłowej p.t. "Wstęp do inżynierii genetycznej" (15 g.); AM, Warszawa - wykład dla studentów II roku p.t. "Inżynieria genetyczna w medycynie" (8 g.); WSRiP, Siedlce - wykład w ramach Studium Podyplomowego Nauczycieli p.t. "Wstęp do biotechnologii" (15 g.); wykład w Wiosennej Szkole Krajowego Funduszu na Rzecz Dzieci (Jabłonna, kwiecień 1993 r.) p.t. "Sekwencjonowanie DNA i co dalej?". Konsultacja uczestnika Międzynarodowej Olimpiady Biologicznej, stypendysty Krajowego Funduszu na rzecz Dzieci.

Prof. M. Fikus, mgr P. Pawłowski: UW, Warszawa - prowadzenie i opieka nad pracą magisterską I. Szutowicz, studentki IFD, "Elektroreologia komórek w warunkach niszczących". Praca obroniona na Wydziale Fizyki z wynikiem b. dobrym.

Dr B. Rempoła: opieka i prowadzenie miesięcznej praktyki zawodowej dwojga studentów Wydziału Biologii UW; przeprowadzenie pokazowego ćwiczenia o sekwencjonowaniu manualnym DNA dla studentów III r. (6 g.).

Doc. A. Bierzyński: wykład monograficzny dla studentów III roku Wydziału Biologii UW p.t. "Struktura białek globularnych" (10 g.).

Dr P. Zielenkiewicz: organizacja kursu szkoleniowego dla doktorantów i pracowników IBB PAN p.t. "Podstawy systemu operacyjnego UNIX i wykorzystanie sieci komputerowych".

ZAKŁAD BIOCHEMII ROŚLIN

Mgr B. Szurmak: ćwiczenia z biochemii roślin dla studentów III roku Wydziału Biologii UW n.t. "Analiza restrykcyjna powtarzających się sekwencji nukleotydowych genomu pszenicy" (16 g.)

Prof. D. Wasilewska i mgr B. Kwiatkowski: ćwiczenia z biochemii roślin dla studentów III roku Wydziału Biologii U.W. n.t. "Detekcja pozytywnych klonów z ekspresyjnych bibliotek cDNA metodą

immunoscreeningu".

ZAKŁAD BIOCHEMII DROBNOUSTROJÓW

- Zakład Biochemii Drobnoustrojów prowadził w semestrze zimowym ćwiczenia z biologii molekularnej dla studentów III roku Wydziału Biologii UW;
- Przeprowadzono szkolenie z technik inżynierii genetycznej dla dwóch studentek V roku mikrobiologii oraz stażystki pracowni Biochemii Roślin;
- Praca magisterska pt. "Synteza, klonowanie i sekwencjonowanie polskiego izolanta wirusa liściozwoju ziemniaka (Wydział Biologii UW).

ZAKŁAD BIOCHEMII PORÓWNAWCZEJ

Studentka IV roku Wydziału Biologii UW odbywa w Z-dzie pracę specjalistyczną.

Dr T. Sawicka współuczestniczyła w prowadzeniu pracy magisterskiej studenta U.W.

ZAKŁAD GENETYKI OGÓLNEJ

W Zakładzie odbyli praktyki studenci Wydziału Biologii UW (A. Kwiatkowska i R. Kałetek). Kierowanie pracą magisterską A. Kwiatkowskiej p.t. "Rola polimerazy II DNA w procesach mutagenety i naprawy DNA u drożdży".

W Zakładzie Genetyki wykonały pracę magisterską następujące osoby: K. Pluta - "Izolacja i charakterystyka super procesów inicjacji translacji w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*" - A. Chacińska - "Izolacja i charakterystyka mutantów *Saccharomyces cerevisiae* zaburzonych w ostatnim etapie szlaku biosyntezy hemu".

Przeprowadzono ośmiogodzinne ćwiczenia z genetyki molekularnej grzybów dla 10 studentów i pracowników naukowych UW.

Praktykę studencką odbyła studentka UW K. Domańska - (15.06.1993 do 15.05.1993).

Roczny staż podoktorski odbył pracownik Zakładu Genetyki Zwierząt SGGW.

ZAKŁAD BIOLOGII MOLEKULARNEJ

Doc. J.Kuśmierek: prowadzenie i opieka nad pracą magisterską studentki Wydziału Biologii UW E.Borys nt. "Badanie aldehydem chlorooctowym w układzie fage M13glyU".

Prof. I.Pietrzykowska: wykłady na temat mechanizmów naprawy DNA dla studentów Akademii Medycznej w Warszawie.

Doc. T.Kulikowski w roku akademickim 1992/93 prowadził wykład kursowy pt."Biochemia kwasów nukleinowych" dla IV roku studiów Biofizyki UW (10 g.).

Prof. D.Shugar w roku akademickim 1992/93 prowadził wykład kursowy pt." Genetyka molekularna" dla studentów Biofizyki UW (30 g.); wykład specjalistyczny pt."Biofizyka" dla V roku studiów Biofizyki UW (8 g.) oraz seminarium dla V roku studiów Biofizyki UW.

WYKAZ EKSPERTYZ, OPINII I OCEN NAUKOWYCH

Prof. K.L.Wierzchowski: ekspertyza dla Komitetu Biotechnologii PAN nt. stanu finansowania badań z zakresu molekularnych podstaw biotechnologii;
opracowanie 10 opinii o projektach badawczych dla KBNu; 5 opinii o nadaniu stopni lub tytułów naukowych dla CK d/s Stopni i Tytułu naukowego; 2 opinie dotyczące tytułu naukowego dla Rad Naukowych.

Prof. M.Jeżewska: ocena 2 projektów badawczych dla KBNu.

Prof. C.Janion: 2 oceny merytoryczne celowości zakupu aparatury dla Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej;
recenzja projektu badawczego dla KBNu; ocena pracy habilitacyjnej na zlecenie RN Akademii Medycznej;

Doc. T.Kulikowski: 4 recenzje dla KBNu; 2 recenzje dla międzynarodowego pisma "Biochemical Pharmacology".

Prof. I.Pietrzykowska: opracowanie 3 recenzji.

Prof. G. Muszyńska: ocena projektów badawczych do KBN, recenzje prac nadsyłanych do "Acta Biochimica Polonica" i "Journal of Chromatography"

WYKAZ PROJEKTÓW BADAWCZYCH REALIZOWANYCH W IBB PAN:

Projekt badawczy G-1

Kierownik projektu: Doc. Andrzej Bierzyński
Tytuł projektu: Badania struktury białka S100 i procesu zwijania
się białek hEGF i CPTI-II w strukturę natywną

Projekt badawczy G-2

Kierownik projektu: Dr Magdalena Boguta
Tytuł projektu: Transport białek do mitochondriów drożdży

Projekt badawczy G-3

Kierownik projektu: Prof. Maria Danuta Hulanicka
Tytuł projektu: Konstrukcja plazmidów zawierających DNA wirusa
liściozwoju ziemniaka

Projekt badawczy G-4

Kierownik projektu: Dr Anna Kurlandzka
Tytuł projektu: Udział białka wiążącego kwasy tłuszczowe w indukcji
enzymów szlaku peroksyzomalnej beta-oksydacji w *Saccharomyces
cerevisiae*

Projekt badawczy G-5

Kierownik projektu: Prof. Andrzej Paszewski
Tytuł projektu: Rola i genetyka sulfhydrylaz O-acetylohomoseryno-
wych w grzybach

Komisje Rady Naukowej IBB PAN

w kadencji 1993-95

Komisja ds. przewodów doktorskich:

przewodniczący: prof.dr hab. Jerzy BUCHOWICZ
członkowie: prof.dr hab. Magdalena FIKUS
prof.dr hab. M. Danuta HULANICKA
prof.dr hab. Witold JACHYMCZYK
prof.dr hab. Celina JANION
prof.dr hab. Jan W. SZARKOWSKI

Komisja Kwalifikacyjno-Stypendialna:

przewodniczący: prof.dr hab. M.Monika JEZEWSKA
członkowie: prof.dr hab. Jarosław KUŚMIEREK
prof.dr hab. Grażyna MUSZYŃSKA
prof.dr hab. Joanna RYTKA
dr Ewa KULA-SWIEZEWSKA

Komisja ds. nagród:

przewodniczący: prof.dr hab. Tadeusz CHOJNACKI
członkowie: prof.dr hab. Magdalena FIKUS
prof.dr hab. Witold JACHYMCZYK
prof.dr hab. M.Monika JEZEWSKA
prof.dr hab. Tadeusz KŁOPOTOWSKI
prof.dr hab. L.Danuta WASILEWSKA

Komisja ds. Europejskiego Funduszu Stypendialnego:

przewodniczący: prof.dr hab. Przemysław SZAFRAŃSKI
członkowie: prof.dr hab. Tadeusz KŁOPOTOWSKI
prof.dr hab. Andrzej PASZEWSKI
prof.dr hab. David SHUGAR
prof.dr hab. Piotr SŁONIMSKI
prof.dr hab. Włodzimierz ZAGÓRSKI

Komisja ds. kształcenia:

przewodniczący: prof.dr hab. Magdalena FIKUS
członkowie: prof.dr hab. Przemysław SZAFRAŃSKI
prof.dr hab. Piotr STĘPIEN
mgr Jacek TOPCZEWSKI

Projekt badawczy G-6

Kierownik projektu: Prof. Włodzimierz Zagórski

Tytuł projektu: Konstrukcja plazmidów niosących kopie genomów wiroidów i wirusów ziemniaczanych – struktura i biosynteza tych patogenów

Projekt badawczy G-7

Kierownik projektu: Dr Piotr Cegłowski

Tytuł projektu: Badania nad ekspresją genu streptokinazy w bakteri-
ryjnych systemach homo- i heterologicznych

Projekt badawczy G-8

Kierownik projektu: Prof. Grażyna Palamarczyk

Tytuł projektu: Regulacja syntezy dolicholu i jego glikozylowych
pochodnych w komórkach drożdży *S.cerevisiae*

Projekt badawczy G-9

Kierownik projektu: Dr Piotr Zielenkiewicz

Tytuł projektu: Zwijanie i specyficzne rozpoznawanie białek

Projekt badawczy G-10

Kierownik projektu: Doc. Tadeusz Kulikowski

Tytuł projektu: Nowe analogi nukleozydowe o potencjalnych właści-
wościach przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych i przeciwpa-
sożytniczych. Synteza, właściwości fizykochemiczne i biologiczne

Projekt badawczy G-11

Kierownik projektu: dr Joanna Kruszewska

Tytuł projektu: Regulacja O-glikozylacji białek a sekrecja
enzymów celulolitycznych w komórkach *Trichoderma reesei*

Projekt badawczy G-12

Kierownik projektu: Prof. Witold Jachymczyk
Tytuł projektu: Identyfikacja jądrowych polimeraz DNA odpowiedzial-
nych za procesy naprawy DNA w komórkach drożdży *Saccharomyces*
cerevisiae

Projekt badawczy G-13

Kierownik projektu: Prof. Joanna Rytka
Tytuł projektu: Udział ferrochelazy w kontroli metabolizmu przez
hem. Izolacja i charakterystyka mutantów *Saccharomyces cerevisiae*
o zmiennej aktywności ferrochelatazowej

Projekt badawczy G-14

Kierownik projektu: Prof. Zygmunt Cieśla
Tytuł projektu: Analiza funkcji białek UmuDc i polimerazy III DNA
w indukowanej mutagenezie *Escherichia coli*

Projekt badawczy G-15

Kierownik projektu: Prof. Tadeusz Chojnacki
Tytuł projektu: Naturalne i syntetyczne alkohole poliizoprenoidowe;
poszukiwanie nowych koenzymów transglikozylacji

Projekt badawczy G-16

Kierownik projektu: Dr Ewa Kula-Swieżewska
Tytuł projektu: Grupy prenylowe w posttranslacyjnej modyfikacji
białek roślinnych

Projekt badawczy G-17

Kierownik projektu: Prof. Kazimierz Kleczkowski (do 19.10.93r. -
Doc. Bernard Wielgat)
Tytuł projektu: Transformacja ziemniaka

Projekt badawczy G-18

Kierownik projektu: Dr Marta Dobrzańska

Tytuł projektu: Próba konstrukcji sztucznych chromosomów przydatnych do transformacji roślin jednoliściennych

Projekt badawczy G-19

Kierownik projektu: Prof. Tadeusz Kłopotowski

Tytuł projektu: Regulacja metabolizmu enterobakterii przez temperaturę i jej aspekty biofizyczne i medyczne

LISTA PUBLIKACJI Z ROKU 1993

2869. FELCZAK K., BRETNER M., KULIKOWSKI T., SHUGAR D.
High-yield regioselective thiation of biologically important pyrimidinones, dihydropyrimidinones and their ribo, 2'-deoxyribo and 2',3'-dideoxyribo nucleosides.
Nucleosides and Nucleotides 1993 12 245 - 261
2870. MROCZKOWSKA M.M., KUSMIEREK J.T.
The effect of neighboring bases on miscoding properties of N², 3-ethenoguanine.
Z. Naturforsch. 1993 48c, 63 - 67
2871. TREMBACZ H., JEZEWSKA M.M.
Specific adenosine phosphorylase from hepatopancreas of gastropod *Helix pomatia*.
Comp. Biochem. Physiol. 1993 104B 481 - 487
2872. POZNAŃSKI J., EJCHART A., WIERZCHOWSKI K.L., CIURAK M.
¹H- and ¹³C-NMR Investigations on *cis-trans* isomerization of proline peptide bonds and conformation of aromatic side chains in H-Trp-(Pro)n-Tyr-OH peptides.
Biopolymers 1993 33 781 - 795
2873. SLEDZIEWSKA - GÓJSKA E.
The level of GC - AT transitions induced by MMS is not affected by the adaptive response in *Escherichia coli* K12.
Mutation Res., DNA Repair, 1993 294 1 - 8
- +2874. KIERDASZUK B., JOHANSSON CH., DRAKENBERG T., STOLARSKI R., SHUGAR D.
Mechanism of hydroxylamine mutagenesis: Role of tautomerism, conformation and proton exchange on base pairing between the promutagen N⁶-methoxyadenosine and uridine.
Biophys. Chem. 1993 46 207 - 215
2875. CIESŁA J.M., STOLARSKI R., SHUGAR D.
Cyclic phosphates of some antiviral acyclonucleosides: relationship between conformation and substrate/inhibitor properties in some enzyme systems.
Acta Biochim. Polon. 1993 40 251 - 260
2876. KAWCZYŃSKI W., CZOCHRAŁSKA B., SHUGAR D.
Electrochemical reduction products of azido nucleosides, including Zidovudine (AZT): mechanisms and relevance to their intracellular metabolism.
Acta Biochim. Polon. 1993 40 213 - 223

2877. GRYNKIEWICZ G., ACHMATOWICZ O., HENNIG J., INDULSKI J., KLESSIG D.F.
Synthesis and characterization of the salicylic acid β -D-glucopyranoside.
Polish J. Chem. 1993 67 1251 - 1254
2878. SZURMAK B., DOBRZAŃSKA M.
A large DNA repeat of the dispersion pattern common to wheat and rye genomes.
Plant Mol. Biol. 1993 21 919 - 921
2879. REMPOŁA B.
Trypsin inhibitor gene cloned and expressed in *Saccharomyces cerevisiae*.
Acta Biochim. Polon. 1993 40 8 - 11
2880. TOPCZEWSKA J., BOLEWSKA K.
Cloning and expression of the hEGF gene in *Saccharomyces cerevisiae*.
Acta Biochim. Polon. 1993 40 4 - 7
2881. ROSTKOWSKA H., NOWAK M.J., LAPIŃSKI L., BRETNER M., KULIKOWSKI T., LEŚ A., ADAMOWICZ L.
Infrared spectra of 2-thiocytosine and 5-fluoro-2-thiocytosine; experimental and *ab initio* studies
Spectrochim. Acta 1993 49A 551 - 565
2882. ROSTKOWSKA H., NOWAK M.J., LAPIŃSKI L., BRETNER M., KULIKOWSKI T., LEŚ A., ADAMOWICZ L.
Theoretical and matrix-isolation experimental studies on 2-thiocytosine and 5-fluoro-2-thiocytosine.
Biochim. Biophys. Acta 1993 1172 239 - 246
- +2883. KLESSIG F.D., MALAMY J., HENNIG J., CHEN Z., SANCHEZ-CASAS P., INDULSKI J., GRYNKIEWICZ G.
Induction, modification, and reception of the salicylic acid signal in plant defense
In: Mechanism of Plant Defense Responses, 185 - 195
eds. B.Fritig and M.Legrand. 1993 Kluwer Academic Publishers
2884. MROCZKOWSKA M.M., KOLASA I.K., KUŚMIEREK J.T.
Chloroacetaldehyde-induced mutagenesis in *Escherichia coli*: specificity of mutations and modulation by induction of the adaptive response to alkylating agents.
Mutagenesis 1993 8 341 - 348
2885. GRZELAK K., KŁUDKIEWICZ B., LASSOTA Z.
The effect of 20-hydroxyecdysone on expression of genes coding for low molecular weight silk proteins of *Galleria mellonella*.
Insect Biochem. Molec. Biol. 1993 23 211 - 216

- +2886. KOIVUNIEMI A., SWIEŻEWSKA E., ARO E.M., STYRING S., ANDERSSON B.
Reduced content of the quinone acceptor Q_A in photosystem II
complexes isolated from thylakoid membranes after prolonged
photoinhibition under anaerobic conditions.
Febs Lett. 1993 327 343 - 346
- +2887. KULIKOWSKI T., POZNAŃSKI J., BALZARINI J., VAN AERSCHOT A.,
DE CLERCO E.
Synthesis, conformation and anti-HIV activity of 3'-substituted
2',3'-dideoxy-5-hydroxymethyluridines.
Collect. Czech. Chem. Commun. 1993 58 Spec. Issue 44 - 46
- +2888. WÓJCIK J., DOMALEWSKI W., KAMIŃSKA-TRELA K., STEFANIAK L.,
VDOVIENKO S.I., GERUS I.I., GORBUNOVA M.G.
Conformational behaviour of some trifluoroenaminones by multi-
nuclear magnetic resonance.
Magn. Reson. in Chem. 1993 31 808 - 814
- +2889. TARASZEWSKA J., WÓJCIK J.
Complexation of inorganic anions by β -cyclodextrin studied by
polarography and ¹H NMR.
Supramol. Chem. 1993 2 337 - 343
2890. SUSZEK W., BARANOWSKA H., ŻUK J., JACHYMCZYK W.J.
DNA polymerase III is required for DNA repair in *Saccharomyces*
cerevisiae.
Curr. Genet. 1993 24 200 - 204
2891. GRZESIUK E., JANION C.
Some aspects of EMS-induced mutagenesis in *Escherichia coli*.
Mut. Res. 1993 297 313 - 321
- +2892. DZIK M.J., ZIELIŃSKI Z., CIEŚLA J., BRETNER M., KULIKOWSKI T.,
SHUGAR D., BERTINO J.R., RODE W.
Interaction of 2-thio-5-fluoro-dUMP and 4-thio-5-fluoro-dUMP
with mammalian normal and tumour and helminthic thymidylate
synthases: influence of C(4)-substituents on specificity for
enzyme inactivation.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993 195 1301 - 1308
2893. PAWŁOWSKI P., FIKUS M.
Bioelectrorheological model of the cell. 4. Analysis of the ex-
tensile deformation of cellular membrane in alternating electric
field.
Biophys. J. 1993 65 535 - 540
2894. PAWŁOWSKI P., SZUTOWICZ I., MARSZAŁEK P., FIKUS M.
Bioelectrorheological model of the cell. 5. Electrodestruction
of cellular membrane in alternating electric field.
Biophys. J. 1993 65 541 - 549

2895. BZOWSKA A., KULIKOWSKA E., SHUGAR D.
Linear free energy relationships for N(7)-substituted guanosines as substrates of calf spleen purine nucleoside phosphorylase. Possible role of N(7)-protonation as an intermediary in phosphorolysis.
Z. Naturforsch. 1993 49c 803 - 811
- +2896. TUDEK B., LAVAL J., BOITEUX S.
SOS-independent mutagenesis in *lacZ* induced by methylene blue plus visible light.
Mol. Gen. Genet. 1993 236 433 - 439
- +2897. TUDEK B., BOITEUX S., LAVAL J.
Biological properties of imidazole ring-opened N7-methylguanine in M13mp18 phage DNA.
Nucl. Acids Res. 1992 20 3079 - 3084
2898. TUDEK B.
Oxydation of purines - the origin of spontaneous mutations.
Post. Biochem. 1993 39 91 - 99
2899. RYTKA J., PALAMARCZYK G.
Yeast-model of eucaryotic organism in molecular biology.
Post. Biochem. 1993 39 152 - 155
2900. GRZYBOWSKA E.A., MIGDALSKI A., ZAGULSKI M.
Sequencing of the genome of yeast *Saccharomyces cerevisiae*.
Aims, strategies, results.
Ibidem: 156 - 164
2901. SMACZYŃSKA I., SKONECZNY M.
Function and biogenesis of peroxisomes in yeast *Saccharomyces cerevisiae*.
Ibidem: 165 - 173
2902. CHEŁSTOWSKA A., RYTKA J.
Heme biosynthesis in yeast *Saccharomyces cerevisiae*.
Ibidem: 173 - 185
2903. SZKOPIŃSKA A.
Yeast mutants as a tool in the investigations of common biosynthetic pathway of dolichols, sterols and ubiquinones.
Ibidem: 185 - 191
2904. PALAMARCZYK G., KRUSZEWSKA J.
Genetic regulation of N-glycosylation in yeast.
Ibidem: 192 - 199
- +2905. MUSZYŃSKA G., EKMAN P., ENGSTRÖM L.
Phospholipid - dependent and EGTA-inhibited protein kinase from maize seedlings.
Biochem. Mol. Biol. Internat. 1993 30 849 - 860

- +2906. BOLDYREFF B., MEGGIO F., DOBROWOLSKA G., PINNA L.A.,
ISSINGER O.- G.
Expression and characterization of a recombinant maize
CK-2 α subunit.
Biochim. Biophys. Acta 1993 1173 32 - 38
2907. NATORFF R., BALIŃSKA M., PASZEWSKI A.
At least four regulatory genes control sulphur metabolite
repression in *Aspergillus nidulans*.
Mol. Gen. Genet. 1993 238 185 - 192
2908. BALIŃSKA M., NATORFF R., PASZEWSKI A.
Regulation of folate metabolizing enzymes in fungus
Aspergillus nidulans.
Pteridines 1993 4 56 - 59
- +2909. HENNIG J., MALAMY J., GRYNKIEWICZ G., INDULSKI J.,
KLESSIG D.F.
Interconversion of the salicylic acid signal and its glucoside
in tobacco.
Plant J. 1993 4 593 - 600
2910. PIOTROWSKA M.
Candida valida - a yeast lacking the reverse transsulphuration
pathway.
Acta Microbiol. Polon. 1993 42 35 - 39
2911. BRZYWCZY J., YAMAGATA S., PASZEWSKI A.
Comparative studies on O-acetylhomoserine sulfhydrylase:
physiological role and characterization of the *Aspergillus*
nidulans enzyme.
Acta Biochim. Polon. 1993 40 421 - 428
2912. LEWANDOWSKA I., SIKORA E., SZABLEWSKA I., BALIŃSKA M.,
PASZEWSKI A.
Metabolism of folate glutamates in *Aspergillus nidulans*.
In: Chemistry and Biology of Pteridines and Folates.
Eds. J.E. Ayling, M. Gopal Nair and Ch.M. Baugh, Plenum
Press N.Y., London 1993 675 - 677
2913. PASZEWSKI A.
Sulfur amino acid metabolism and its regulation in fungi:
studies with *Aspergillus nidulans*.
Minireview.
Acta Biochim. Polon. 1993 40 445 - 449
2914. KLUDKIEWICZ B., GRZELAK K.
Silk proteins of *B. mori* - description, biosynthesis and regu-
lation of gene expression.
Post. Biochem. 1993 39 105 - 111

- +2915. HENNIG J., DEWEY R.E., CUTT J.R., KLESSIG D.F.
Pathogen, salicylic acid and developmental dependent expression
of a β -1,3-glucanase/GUS gene fusion in transgenic tobacco
plants.
Plant J. 1993 4 481 - 493
- +2916. SCHÖNEICH CH., BOBROWSKI K.
Intramolecular hydrogen transfer as the key step in the disso-
ciation of hydroxyl radical adducts of (alkylthio) ethanol
derivatives.
J. Am. Chem. Soc. 1993 115 6538 - 6547
- +2917. BOBROWSKI K., SCHÖNEICH CH.
Hydroxyl radical adducts at sulfur in substituted organic
sulfides stabilized by internal hydrogen bond.
J., Chem., Soc., Chem., Commun. 1993 9 795 - 797
- +2918. MOCKOV IAKOVA D., JANITOROVA V., ZIGOVA M., KACLIKOVA E.,
ZAGULSKI M., UBIK J.
The *ogd1* and *kgd1* mutants lacking 2-oxoglutarate dehydrogenase
activity in yeast are allelic and can be differentiated by the
cloned amber suppressor.
Curr. Genet. 1993 24 377 - 381
- +2919. KUJAWA A.B., DRUGEON G., HULANICKA D., HAENNI A.- L.
Structural requirements for efficient translational frameshift-
ing in the synthesis of the putative viral RNA-dependent RNA
polymerase of potato laefroll virus.
Nucl. Acids Res. 1993 21 2165 - 2171
- +2920. SIRKO A., ZEHELEIN E., FREUNDLICH M., SAWERS G.
Integration host factor is required for anaerobic pyruvate
induction of *pfl* operon expression in *Escherichia coli*.
J. Bacteriol. 1993 175 5769 - 5777
2921. TOPCZEWSKA J.
Ekspresja heterologicznych genów w *Saccharomyces cerevisiae*.
Biotechnologia 1993 3 184 - 195
2922. REMPOŁA B.
Secretion of heterologous proteins by *S. cerevisiae*.
Post. Biochem. 1993 39 111 - 117
- +2923. EL ADLOUNI C., KEITH G., DIRHEIMER G., SZARKOWSKI J.W.,
PRZYKORSKA A.
Rye nuclease I as a tool for structural studies of tRNAs with
large variable arms.
Nucl. Acids Res. 1993 21 941 - 947

2924. SZKOPIŃSKA A., RYTKA J., KARST F., PALAMARCZYK G.
The deficiency of sterol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* affects the synthesis of glycosyl derivatives of dolichyl phosphates.
FEMS Microbiol. Lett. 1993 112 325 - 328
- +2925. CEGŁOWSKI P., LURZ R., ALONSO J.C.
Functional analysis of pSM19035-derived replicons in *Bacillus subtilis*.
FEMS Microbiol. Lett. 1993 109 145 - 150
- +2926. SWIEŻEWSKA E., THELIN A., DALLNER G., ANDERSSON B., ERNSTER L.
Occurrence of prenylated proteins in plant cells.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993 192 161 - 166
- +2927. SAGAMI H., KURISAKI A., OGURA K., CHOJNACKI T.
Separation of dolichol from dehydrodolichol by a simple two-plate thin-layer chromatography.
J. Lipid Res. 1992 33 1857 - 1862
- +2928. ERICSSON J., RUNQUIST M., THELIN A., ANDERSSON M., CHOJNACKI T., DALLNER G.
Distribution of prenyltransferases in rat tissues. Evidence for a cytosolic all-*trans*-geranylgeranyl diphosphate synthase.
J. Biol. Chem. 1993 268 832 - 838
- +2929. JOŃCZYK P., WHITE A., LUM K., BARRETT J.C., TLSTY T.D.
Amplification potential in preneoplastic and neoplastic Syrian hamster embryo fibroblasts transformed by various carcinogens.
Cancer Res. 1993 53 3098 - 3102
- +2930. KOIVUNIEMI A., SWIEŻEWSKA E., ARO E.-M., STYRING S., ANDERSSON B.
Reduced content of the quinone acceptor Q_A in photosystem II complexes isolated from thylakoid membranes after prolonged photoinhibition under anaerobic conditions.
FEBS 1993 327 343 - 346
- +2931. CEGŁOWSKI P., BOITSOV A., KARAMYAN N., CHAI S., ALONSO J.C.
Characterization of the effectors required for stable inheritance of *Streptococcus pyogenes* pSM19035-derived plasmids in *Bacillus subtilis*.
Mol. Gen. Genet. 1993 241 579 - 585
2932. ŻEKANOWSKI C.
Redagowanie RNA.
Post. Biochem. 1992 38 156 - 163

TYTUŁY ROZPRAW HABILITACYJNYCH

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

2933. BAL JERZY

Badanie molekularne w mukowiscydozie.

Charakterystyka częstości występowania mutacji w genie CF w populacji polskiej.

(Molecular studies in cystic fibrosis. Characteristic of frequency occurrence of mutation in CF gene in Polish population.)

Presented on October 26, 1993

The work done in Department of Genetics, National Research Institute of Mother and Child (1987 - 1992)

Public.: Ped. Pol. 1987 3 192 - 199: Ped. Pol. 1989 45 81 - 87:

Hum. Genet. 19989 83 220 - 222: Hum. Genetic. 1991 86 329:

J. Med. Gen. 1991 28 715 - 717: Hum. Genet. 1991 87 457 - 461:

Mol. Cell. Probes 1992 6 9 - 11: Post. Biochem. 1991 37 153

- 158: Ped. Pol. 1992 66 111 - 113: Tygodnik Lekarski 1992 47

215 - 218: Acta Biochim. Polon. 1992 39 1 - 6

TYTUŁY PRAC DOKTORSKICH

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

2934. CHEŁSTOWSKA ANNA

Mutacje genu kodującego dekarboksylazę uroporfirynogenu III w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae* odpowiedzialne za efekty analogiczne do ludzkiej porfirii PCT. (The mutations in the gene encoding uroporphyrinogene III decarboxylase in yeast *Saccharomyces cerevisiae* responsible for the effects analogous to human porphyria PCT)

Presented on December 15, 1992 pp.147

The work done in Department of Genetics IBB PAS, 1992

2935. NATORFF RENATA

Geny regulatorowe *Aspergillus nidulans* kontrolujące metaboliczną represję siarkową. (Regulatory genes of *Aspergillus nidulans* controlling sulphur metabolite repression)

Presented on December 15, 1992 pp. 80

The work done in Department of Genetics IBB PAS, 1992

2936. MROCZKOWSKA MAŁGORZATA M.

Molekularne mechanizmy mutacji wywoływanych chlorkiem winylu.

Badanie właściwości mutagennych N², 3-etenoguaniny. (Molecular basis of vinyl chloride - induced mutagenesis. Miscoding properties of N², 3-ethenoguanine.)

Presented on February 16, 1993 pp. 97

The work done in Department of Biophysics IBB PAS, 1992

2937. BRZYWCZY JERZY
Rola i regulacja syntazy homocysteinowej w metabolizmie aminokwasów siarkowych u grzybów. (Role and regulation of homocysteine synthase in sulphur amino acid metabolism in fungi.)
Presented on February 16, 1993 pp. 83
The work done in Department of Genetics IBB PAS, 1992
2938. KROCZYŃSKA BARBARA
Udział ruchomego elementu *P* w rearanżacji genomu *Drosophila melanogaster* i możliwość wyspowiania pokrewnych mu sekwencji w DNA pszenicy. (Mobile *P*-element in *Drosophila melanogaster* gene rearrangements and possible occurrence of similar transposons in wheat DNA.)
Presented on March 31, 1993 pp. 72
The work done in Department of Plant Biochemistry IBB PAS, 1992
2939. KWIATKOWSKI BOGUSŁAW A.
Klonowanie cDNA wybranych enzymów metabolizmu energetycznego roślin i ustalenie sekwencji cDNA kinazy adenylanowej. (Cloning of cDNAs for some plant energy metabolism enzymes and sequence determination of cDNA encoding adenylate kinase.)
Presented on June 30, 1993 pp. 121
The work done in Department of Plant Biochemistry IBB PAS, 1992
2940. SKONECZNY MAREK
Regulacja biogenezy peroksysomów i biosyntezy enzymów peroksysomalnych w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*. (Regulation of biogenesis of peroxisomes and biosynthesis of peroxisomal enzymes in yeast *Saccharomyces cerevisiae*.)
Presented on June 30, 1993 pp. 147
The work done in Department of Genetics IBB PAS, 1993
2941. KLUDKIEWICZ BARBARA
Charakterystyka i hormonalna regulacja syntezy niskocząsteczkowych białek jedwabiu *Galleria mellonella*. (Characterization and hormonal regulation of low molecular weight silk proteins synthesis of *Galleria mellonella*)
Presented on October 10, 1993 pp. 81
The work done in Department of Comparative Biochemistry IBB PAS, 1993

TYTUŁY PRAC MAGISTERSKICH

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

2942. TOMASZEWSKI RADOSŁAW
Aktywność kwaśnych fosfataz w korzeniach dwóch odmian kukurydzy *Zea mays* L. o różnej chładowrażliwości. (Acid phosphatases in the roots of two variety of maize (*Zea mays* L.) with different cold - resistance)
Presented on October 16, 1993 pp 68
The work done in Department of Comparative Biochemistry IBB PAS and in Laboratory of Plant Resistance Physiology, Institute of Plant Experimental Biology UW

ABSTRACTS. MISCELLANEUS

- 615/A. MARIE-JEANNE V., CHACHULSKA A., FAKHFAKH H., GEBRE SELASSIE K., MARCHOUX G., ROBAGLIA C., ASTIER-MANIFACIER S.
 Comparaison des sequences nucleotidiques des regions 5' non codantes de plusieurs souches du virus de la pomme de terre (PVY/POTYVIRUS).
 Present : Quarti mes Rencontres de Virologie V g tale
 INRA - CNRS, 25 - 29 Janvier 1993, Aussois, France
- 616/A. SHUGAR D.
 Book reviews:
 The Biochemistry of Nucleic Acids (11th Edition) by Roger L.P. Adams, John T. Knowler and David P. Leader, Chapman and Hall; London and New York, 1992
 FEBS Lett. 1993 319 283
- 617/A. SHUGAR D.
 Book reviews:
 Numerical Computer Methods: Methods in Enzymology, vol.210 ed. by Ludwig Brand and Michel L. Johnson, Academic Press; New York 1992
 FEBS Lett. 1993 319 285
- 618/A. BRETNER M., FELCZAK K., KULIKOWSKI T., BALIŃSKA M., RODE W., SHUGAR D.
 Synthesis and biological activities of 4-thio-5-substituted-, 2,4 -dithio-, and 2,4,dithio-5-fluoro-2'-deoxyuridines.
 The Fourteen Intern. Congress of Hetrocyclic Chemistry, August 1 - 6, 1993 Univ. of Antwerp, RUCA Antwerp, Belgium
 P01 - 61
- +619/A. CAFFIERI S., ZAREBSKA Z., DALL'ACQUA F.
 Studies on photoreaction of psoralens with fatty acids.
 Societa'Italiana di Fotobiologia,booklet of abstracts, p.24M Salice Terine, 7 - 8 Giugno 1993. Sezione Nazionale della Association Internationale de Photobiologie.
- 620/A. DZIK J.M., ZIELIŃSKI Z., CIEŚLA J., RODE W., KULIKOWSKI T., BRETNER M., SHUGAR D.
 Influence of C(4)-substituents on the specificity of FdUMP as an inactivator of thymidylate synthase from different sources.
 4th Intern. Symp. on Molecular Aspects of Chemotherpay
 Gdańsk - Poland 23 - 25 June 1993 Abstracts p.70 nr 38
- 621/A. KULIKOWSKI T.
 Structure - activity relationships and conformational features of anti-herpetic pyrimidine and purine nucleoside analogues.
 4th Symp. of the European Society for the Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man. Nijmegen (the Netherlands), 31 August - 3 September 1993, Abstr.F14

- 622/A. SIWECKA M.A., TURISZCZEWA M., CZUMIKINA L.
Charakterystyka aktywności dezoksyrybonukleazowej i rybonukleazowej rybosomalnej nukleazy zarodków żyta.
XXIX Zjazd P.T.Bioch. 15 - 17 września 1993, Wrocław. Streszczenie referatów s.496, IX P 53
- 623/A. TREMBACZ H., JEŻEWSKA M.M.
Adenosine phosphorylase in the adult form of *Fasciola hepatica*.
4th Symp. Eur. Soc. for the Study of Purine and Pyrimidine in Man 31.08 - 03.09.1993 Nijmegen, the Netherlands
Pharmacol. World Science, 15(4), F28, poster
- 624/A. BARANKIEWICZ J., TREMBACZ H., ZWIERZCHOWSKI L.
Purine metabolism in lactogenic hormone activated mammary epithelial cells in mice.
4th Symp. Eur. Soc. for Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man 31.08 - 01.09.1993 Nijmegen, the Netherlands
Pharmacol. World Science, 15(4), F15 poster
- 625/A. PAŁUCHA A., KUJAWA A., ZAGÓRSKI W., HULANICKA D.
Construction of plant transforming vectors carrying fragments of PLRV genome.
I Ogólnopolska Konferencja Biotechnologii Roślin i Przetwórstwa Żywności, Warszawa 27 - 28 września 1993, p.46 - 48
- 626/A. DOBRZAŃSKA M., KRASZEWSKA E., BUCHOWICZ J.
Próba konstrukcji sztucznych chromosomów przydatnych do transformacji roślin jednoliściennych.
Ibidem: p.31 - 34
- 627/A. ZAGÓRSKI W.
Priorytety biotechnologiczne - ocena zespołów Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN.
Ibidem: p.117 - 119
- 628/A. PIETRZYKOWSKA I., CZAJKOWSKA A., FELCZAK M.
Role of UmuD and C proteins in UV-induced mutagenesis independent of DNA replication.
Cell Cycle Checkpoints, DNA Repair and DNA Replication Strategies.
St. John's College, Cambridge, England. 27 September - 1 October 1993, Abstr. 149
- +629/A. TUDEK B., JANION C., BOITEUX S., LAVAL J.
Imidazole ring-opened N-7-methylguanine induces G-C and G-T transversions in SOS-induced *E.coli* cells.
23rd Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society. Barcelona, Spain. 27 September- 2 October, 1993
Abstr. I. 16
- 630/A. GRZESIUŁ E., JANION C.
Role of *umu DC* in EMS-induced AT TA transversions.
Ibidem: II.30

- 631/A. BIERZYŃSKI A.
Co wiadomo obecnie na temat procesu zwijania się białek w strukturę natywną.
XXIX Zjazd P.T.Bioch. 15 - 17 września 1993, Wrocław, Streszczenia referatów komunikatów Zjazdowych s.45 - 47, II W 3
- 632/A. GÓRA A., CANDRESSE T., ZAGÓRSKI W.
Różnorodność genomu wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTV).
Ibidem: s.307, VI P 15
- 633/A. CHACHULSKA A.M., MARIE - JEANNE V., ROBAGLIA C., PAWŁOWICZ J.M.
Analiza zmienności wybranych regionów genomu wirusa Y ziemniaka (PVY).
XXIX Zjazd P.T.Bioch. 15 - 17 września 1993, Wrocław, Streszczenia referatów i komunikatów Zjazdowych s.308, VI P 16
- 634/A. CHOJNACKI T.
Lipidy a taksonomia roślin.
Ibidem: s.136, IV W 1
- 635/A. SKOCZYŁAS E., ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
Długołańcuchowe poliprenole u roślin z rodzaju *potentilla*.
Ibidem: s.157, IV P 7
- 636/A. ŚWIEŻEWSKA E., DALLNER G., ANDERSSON B., ERNSTER L.
Ubiquinone and plastoquinone biosynthesis in spinach leaves.
Ibidem: s.522, IX P 79
- 637/A. GUBERSKA J., EKMAN P., MUSZYŃSKA G.
Kinazy tyrozynowe w siewkach kukurydzy.
Ibidem: s.103, II P 35
- +638/A. SIRKO A., JAKOB B., FREUNDLICH M.
Integration Host Factor (IHF) as a global regulatory factor of gene expression in *E. coli*.
Ibidem: s.367, VI P 75
- 639/A. SMAGOWICZ J.
Jony Mg^{2+} w procesie transkrypcji.
Ibidem: s.285, VI W 7
- 640/A. TOMASZEWSKI M.
Ekspresja fragmentu jądrowego DNA zarodków nieobecnego w endospermie ziarna pszenicy.
Ibidem: s.293, VI P 1
- 641/A. WELNICKI M., HIRUKI C.
Non-radioactive digoxigenin-labelled cRNA probes for hybridization detection of potato viruses.
XXIX Zjazd P.T.Bioch. 15 - 17 września 1993, Wrocław, Streszczenia referatów i komunikatów Zjazdowych s.302, VI P 10

- 642/A. ZAGÓRSKI - OSTOJA W.
Pseudoszczepy RNA wirusów i wiroidów; warianty molekularne czy odrębne genomy?
Ibidem: s.277, VI W 3
- 643/A. MARCINIAK B., JAGIEŁŁO I., MUSZYŃSKA G.
Purification of two maize seedlings protein phosphatases inhibited by okadaic acid.
FEBS Advanced Course: Protein Phosphatases in Cellular Regulation, Bressanone / Brixen (Italy), September 19 - 24, 1993
abstr. A - 25
- +644/A. MUSZYŃSKA G., DOBROWOLSKA G.
Protein kinases and phosphatases of maize seedlings; similarities and differences to animal enzymes.
12th Annual Missouri Plant Biochemistry Molecular Biology and Physiology Symp., Plant Protein Phosphorylation Plant Protein Kinases and Phosphatases Plant G-Proteins.
March 31 - April 3, 1993 Univ. of Missouri abstr. p.124
- 645/A. MUSZYŃSKA G.
Recognition domains of plant protein kinases as compared to their animal counterparts.
10th Intern. Symp. on Biorecognition and Affinity Technology Gwatt/Thun, Switzerland, 17 - 23 October 1993
- 646/A. SHUGAR D.
Protein - DNA Interactions (Methods in Enzymology, vol. 208) ed. by Robert T. Sauer, Academic Press; San Diego CA 1991
FEBS Lett. 313, 320 1992
- +647/A. HENNIG J., MALAMY J., KLESSIG D.F., GRYNKIEWICZ G., INDULSKI J.
Is the salicylic Acid Glucoside bioactive.
12th Intern. Symp. on Glycoconjugates August 15 - 20, 1993, Kraków, Poland abstr. p.290, S10.12
- 648/A. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Termochemistry of alkylated uracils in aqueous solutions.
IUPAC International Conference on Thermodynamics of Solutions and Biological Systems, January 3 - 6, 1993 New Delhi, India
- 649/A. JAROSZEWSKI Ł., BIERZYŃSKI A.
Disulfide intermediates in folding of CMTI-I.
1-st Polish - Israel Symp. Chemistry and Biology of Peptides 1 - 8 September 1993 Gdańsk, Poland abstr. p.22 and 11 Intern. Biophys. Congr. July 25 - 30, 1993 Budapest Hungary p.61, A 4.3
- 650/A. WÓJCIK J., GÓRAL J., PAWŁOWSKI K., BIERZYŃSKI A.
Association of a metal cation binding peptide.
Ibidem: p.51a and 11th Intern. Biophys. Congress July 25 - 30, 1993 Budapest, abstr. p.61, A 3.15

- 651/A. GÓRAL J., PAWŁOWSKI K., BIERZYŃSKI A.
Fluorescence of tyrosine residue in a calcium binding peptide.
Ibidem: p.51b and 11th Intern. Biophys. Congr. July 25 - 30,
1993 Budapest, Hungary p.61, A 3.14
- 652/A. POZNAŃSKI J., BOBROWSKI K., WIERZCHOWSKI K.L.
Intramolecular electron transfer Y + W in cyclic peptide
(-WP₂YG₂-)
11th Intern. Biophys. Congress July 25 - 30, 1993 Budapest,
Hungary abstr. p.200, E 3.6
- 653/A. FIKUS M., PAWŁOWSKI P.
Deformacje błony cytoplazmatycznej w zmiennym polu elektrycz-
nym.
V Ogólnopolska Konferencja Biologii Komórki, Wrocław 2 - 4
lipiec 1993 abstr. p.26 - 27
- 654/A. PAWŁOWSKI P., SZUTOWICZ I., FIKUS M.
Błona cytoplazmatyczna w warunkach niszczących naprężeń mecha-
nicznych.
Ibidem: p.259
- 655/A. MICHALIK J., SZOŁAJSKA E.
Neuropeptyd pochodzenia mózgowego aktywujący transkrypcję
w gruczole przednym *Galleria mellonella*.
Symp. n.t.: "Nowe kierunki poszukiwań bioracjonalnych, ekolo-
gicznie akceptowalnych metod zwalczania szkodliwych stawonogów"
Komitet Ochrony Roślin PAN (Grupa robocza chemii pestycydów)
Instytut Przemysłu Organicznego, Warszawa 2 - 3 grudnia 1992
abstr. p.24
- 656/A. MICHALIK J., SZOŁAJSKA E.
Neuropeptide from *Galleria mellonella* (Lepidoptera) stimula-
ting silk gland activity.
4th International Conference on Insect Neurochemistry and
Neurophysiology, July 1 - 3, 1993 Mariánské Lázně, Czech.
Republic abstr. P-14
- 657/A. PAŁUCHA A., KUJAWA A., ZAGÓRSKI W., HULANICKA D.
Construction of plant transforming vectors carrying fragments
of PLRV genome.
I Ogólnopolska Konferencja Biotechnologii Roślin i Przetwórstwa
Żywności, Warszawa 27 - 28 września, 1993
- 658/A. PRZYKORSKA A., ADLUONI C.EL, DIRHEIMER G., SZARKOWSKI J.W.,
KEITH G.
Comparison of class I and class II tRNA using Rn nuclease I as
a structural probe.
15th International tRNA workshop in memoriam of Professor Jean
- Pierre Ebel, Cap d'Agde, May 30 - June 4, 1993 abstr p.359
F.4

- 659/A. PRZYKORSKA A.
Using plant nucleases for RNA structure searching.
2nd International Workshop on RNA Structure, Chemistry and Interactions with Proteins, November 18 - 20, 1993 Poznań, Poland session VIII
- 660/A. SIWECKA M.A.
Zjazd Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych w Dublinie (FEBS'92)
Post. Biochem. 1993 39 69 - 70
- 661/A. ŻOŁĄDEK T., HUNTER L., BOGUTA M., MARTIN N., HOPPER A.
Mutants altering the mitochondrial location of the MOD5 protein.
Yeast Genetics and Molecular Biology, Madison USA, 1993 p.71
- 662/A. KONOPIŃSKA A., DMOCHOWSKA A., BOGUTA M.
Mitoribosomal protein NAM9: interaction with other proteins.
Yeast Genetics and Molecular Biology, Madison USA, 1993 p.218
- 663/A. ŻOŁĄDEK T., HUNTER L.A., BOGUTA M., MARTIN N.C., HOPPER A.K.
Mutants altering the mitochondrial location of the MOD5 protein implicate a role of translation in mitochondrial import.
Yeast Cell Biology, Cold Spring Harbor, USA, 1993
- 664/A. KONOPIŃSKA A., DMOCHOWSKA A., BOGUTA M.
Mitoribosomal protein NAM9 from *S. cerevisiae*.
XV International Botanical Congress Yokohama, Japan, 1993 abstr. 7.7.2 - 4
- 665/A. ŻOŁĄDEK T., HUNTER L.A., BOGUTA M., MARTIN N.C., HOPPER A.K.
Mutants altering the mitochondrial location of the MOD5 protein.
Organelle Biogenesis, Arhem, Holandia 1993
- 666/A. SZKOPIŃSKA A., KARST F., PALAMARCZYK G.
Relationships in glycosylation of sterols and dolichols in yeast mutants auxotrophic for ergosterol.
22nd Annual Meeting of Society for Complex Carbohydrates Puerto Rico, November 17 - 20 1993, Glycobiology 3 p.533, 1993 15.01
- +667/A. JANKOWSKI W.J., SASAK W., SINGH A.K., ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
Occurrence of polyprenols and dolichols in plants.
104th Conf. of the Gesellschaft für Biologische Chemie,
9th Workshop on Plant Lipids, Biol. Chem. Hoppe - Seyler
1993 374 527
- 668/A. CEGŁOWSKI P.
Characterization of the effectors required for stable inheritance of pSM19035-derived plasmids in *Bacillus subtilis*.
Molecular Genetics of Bacilli and their Viruses.
Schiermonnikoog Holandia, 14 - 16 maja 1993

- +669/A. ALONSO J.C., CEGŁOWSKI P., ROJO F.
Genetic and biochemical analysis of plasmid pDB101. Towards the development of the stable cloning vehicle for Gram-positive bacteria.
Joint Workshop on Molecular Genetics in Modern Biotechnology, Cala Blava, Mallorca, Hiszpania, 2 - 6 października 1993
- 670/A. CIEŚLA Z., NOWICKA A., KANABUS M., ŚLEDZIEWSKA - GÓJSKA E.
Functional interaction of UmuC protein and DNA polymerase III in *E. coli* cells induced for SOS response.
Cell Cycle Checkpoints, DNA Repair and DNA Replication Strategies, St John's College, Cambridge, England, 27 September - 1 October 1993 abstr. 76
- 671/A. ŚLEDZIEWSKA - GÓJSKA E.
S_N2 alkylating agents inactivate O⁶ methylguanine-DNA-methyltransferase *in vivo*.
23rd Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society, Barcelona, Spain, 27 September - 2 October 1993, abstr. p.60 I.11
- +672/A. TLSTY T.D., HALL I., JOŃCZYK P., LIVANOS E., O'CONNOR A., ROELOFS H., SAGE M., SANCHEZ J., SCHAEFER D., WHITE A.
Genetic regulation of genomic fluidity in normal and neoplastic cells.
17th Annual Symposium "Loss of Genomic Integrity in Neoplasia" Chapel Hill, North Carolina April 21 - 23, 1993 abstr. p.20
- +673/A. TLSTY T.D., JOŃCZYK P., SCHAEFER D., WHITE A., SAGE M.
Genetic regulation of genomic rearrangements in normal and neoplastic cells.
6th ICEM Intern. Conf. on Environmental Mutagens
World Congress Centre Melbourne, Australia, February 21 - 26, 1993 p.13 abstr.470
- +674/A. TLSTY T.D., JOŃCZYK P., SCHAEFER D., WHITE A., SAGE M.
Genetic regulation of genomic fluidity in normal and neoplastic cells.
LVIII Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology. DNA and Chromosomes, June 2 - 9, 1993 abstr. p.135 - 136
- 675/A. JANAS T., CHOJNACKI T., JANAS T.
Effects of undecaprenol on the activation energy of ion transport across bilayer lipid membranes.
A Satellite Meeting to the XIIth International Symposium of Glycoconjugates "Dolichol and Related Lipids", Zakopane, Polska August 11 - 14, 1993 abstr. p.36
- 676/A. JANKOWSKI W., CHOJNACKI T.
Leaves of plants belonging to *Sapindaceae* family contain prenol -13 or -14 as the main components of polyprenol mixture.
Ibidem: p.37

- 677/A. JANKOWSKI W.J., FISHER W.
Bactoprenol phosphate consists as much as 1% of total lipids of *Streptococcus Pneumoniae*.
Ibidem: p.39
- 678/A. KRUSZEWSKA J., KUBICEK C.P., PALAMARCZYK G.
Modulation of mannosyl dolichol phosphoryl synthase and dolichol kinase activity in trichoderma related to the secretion of cellulases.
A Satellite Meeting to the XIIth Intern. Symp. of Glycoconjugates "Dolichol and Related Lipids", Zakopane, Polska August 11 - 14, 1993 abstr. p.44 - 45
- 679/A. KRUSZEWSKA J.S., MESSNER R., KUBICEK C.P., PALAMARCZYK G.
Expression of yeast mannosyl-phospho-dolichol synthase gene (DPM1) in *Trichoderma*.
Ibidem: p.46 - 47
- 680/A. SKOCZYLAS E., ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
Anusually long-chain, rubber-like polyprenols occur in leaves of tropical halophytes.
Ibidem: p.69 - 70
- 681/A. SKOCZYLAS E., ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
Long-chain polyprenols in plants of genus *Potentilla*.
Ibidem: p.71 - 72
- 682/A. ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T., SASAK W., JANKOWSKI W., VOGTMAN T., MAŃKOWSKI T.
The search for plant polyprenols.
Ibidem p.74 - 75
- +683/A. ŚWIEŻEWSKA E., THELIN A., DALLNER G., ANDERSSON B., ERNSTER L.
Occurrence of prenylated proteins in plant cells.
Ibidem: p.76
- 684/A. SZKOPIŃSKA A., LENART U., KARST F., PALAMARCZYK G.
The deficiency of sterol biosynthesis in *S. cerevisiae* affects the synthesis of glycosyl derivatives of dolichyl phosphates.
Ibidem: p.77
- +685/A. WOLUCKA B.A., McNEIL M.R., de HOFFMANN E., CHOJNACKI T., KALBE L., COCITO C., BRENNAN P.J.
Isolation and characterization of arabinosyl-1-monophosphodecaprenol from *Mycobacterium smegmatis*.
A Satellite Meeting to the XIIth Intern. Symp. of Glycoconjugates "Dolichol and Related Lipids", Zakopane, Polska August 11 - 14, 1993 abstr. p.90

686/A. PALAMARCZYK G.

Postranslacyjne modyfikacje białek: glikozylacja.

XXIX Zjazd P.T. Bioch. 15 - 17 września 1993, Wrocław abstr.
p.66.II W 12

LIST OF PUBLICATIONS IN PRESS

1. MONKO M., KULIGOWSKA E., SZARKOWSKI J.W.
Purification and characterization of single-strand-specific
nuclease from the fraction of wheat chloroplast stromal protein.
Phytochemistry 1994
2. KLECZKOWSKI K., SCHELL J.
Phytohormone conjugates: the nature and functions (a review).
Critical Reviews in Plant Sciences 1994
3. TREMBACZ H., JEŻEWSKA M.M.
Adenosine phosphorylase and other enzymes of purine salvage in
snails and trematodes.
Comp. Biochem. Physiol. 1994
4. THELIN A., RUNQUIST M., ERICSSON J., ŚWIEŻEWSKA E., DALLNER G.
Age - dependent changes in rat liver prenyltransferases.
Submitted for publication
5. BOBROWSKI K., POGOCKI D., SCH NEICH CH.
Mechanism of the OH radical induced decarboxylation of
2-(alkhlio)ethanoic acid derivatives.
J. Phys. Chem.
6. BOBROWSKI K., MARCINIAK B., HUG G.L.
A reinvestigation of the mechanism of photoreduction of benzo-
phenones by alkyl sulfides.
J. Photochem. Photobiol., Part A
7. BOBROWSKI K., HUG G.L., MARCINIAK B., KOZUBEK H.
4-carboxybenzophenone-sensitized photooxydation of sulfur-containg
amino acids in alkaline aqueous solutions. Secondary photo-
reactions kinetics.
J. Phys. Chem.
8. MARCINIAK B., BOBROWSKI K., HUG G.L.
Quenching of triplet states of aromatic ketones by sulfur-con-
taining amino acids in solution. Evidence for electron transfer.
J. Phys. Chem
9. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Thermochemistry of alkyled uracils in aqueous solutions. Enthal-

pies of hydration of 3-alkyluracils.
Pure Appl. Chem.

10. ZIELENKIEWICZ A., ROUX - DESGRANGES G., ROUX A.H.,
GROLIER J.-P.E., WIERZCHOWSKI K.L., ZIELENKIEWICZ W.
Apparent molar heat capacities and volumes of alkylated derivatives of cytosine and uracil in aqueous solutions in 25⁰C, their Van der Waals volumes and surface accessible areas.
J. Sol. Chem. 12 (1993)
11. ZIELENKIEWICZ A., ZIELENKIEWICZ W., WIERZCHOWSKI K.L.,
Apparent molar heat capacities of some alkyl derivatives of 2-aminopurine, adenine and guanine in dilute aqueous solution at 25⁰C.
Thermochimica Acta
12. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid bases VIII. Enthalpies of hydration of 6-alkyluracils.
J. Sol. Chem. 12 (1993)
13. HULANICKA D., PAŁUCHA A., ZAGÓRSKI W.
Niekonwencjonalne metody ochrony roślin przed infekcjami wirusowymi.
Post. Biochem. 1994 40
14. CEGŁOWSKI P., BOITSOV A., CHAI S., ALONSO J.C.
Analysis of the stabilization system of the pSM19035 - derived plasmid pDT233 in *Bacillus subtilis*.
Gene 1994
15. WOLINOWSKA R.
Genetyka czynników wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków. I Regulon wirulencji paciorkowców grupy A.
Post. Mikrobiol. 1993
16. WOLINOWSKA R.
Genetyka czynników wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków. II Inne geny czynników wirulencji.
Post. Mikrobiol. 1993
17. WOLINOWSKA R.
Genetyka czynników wirulencji paciorkowców jamy ustnej.
Post. Mikrobiol. 1993
- +18. MEMMEL N.A., TREWITT P.M., GRZELAK K., RAJARATNAM V.S.,
KUMARAN K.A.
Nucleotide sequence, structure and developmental regulon of LHP82, a juvenile hormone - suppressible hexamerin gene from the waxmoth, *Galleria mellonella*.
Insect Biochem. Mol. Biol. 1993

19. SAWICKA T., KACPERSKA A.

Soluble and cell wall-bond β -galactosidases from the cold-grown winter rape leaves.

Acta Physiol. Plant. 1994

dolej w druku

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

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

TYTUŁY ROZPRAW HABILITACYJNYCH

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

2943 SZYFTER Krzysztof

Analiza powstawania i usuwania adduktów mutagen:DNA w leukocytach ludzkich.

(Analysis of the appearance and removing of mutagen:DNA adducts in human leukocytes).

Presented on June 1, 1993 pp.32

The work done in the Department of Human Genetics PAS, Poznań, 1992

Publ.: Chem.Biol.Interact.1991 77 51-61: Chem.Biol.

Interact.1991 80 99-107: Quantitative aspects of ³²P-postlabeling in "New horizons in biological dosimetry"

B.L.Gledhill and F.Mauro: Wiley-Liss, NY., p.219-228:

Scand.Jo.Work Environ.Health. 1992 18 suppl.1, 22-26:

Cancer Epidemiol.Biomarkers and Prevention in press.

2944 SIEDLECKI Janusz

Badania nad mechanizmem działania i ekspresją genu polimerazy DNA β .

(Studies and mechanism of the action and expression of polymerase DNA β gene).

Presented on December 14, 1993 pp.34

The work done in Cancer Center-Institute, Warsaw, 1992

Publ.: Acta Biochim.Polon. 1987 34 205-215:

Biochem.Biophys.Acta 1989 1008 203-207: Exp.Cell Res.

1990 191 51-56: Molec.Biol.Rep. 1991 15 25-31:

Post.Biochem. 1988 34 153-172: Acta Biochim.Polon. 1981

28 157-173.

2945 STOLARSKI Ryszard

Badanie tautomerii i konformacji pochodnych nukleozydów i nukleotydów metodami spektroskopii NMR - wpływ na aktywność enzymatyczną i mutagenną.

(The investigation of the tautomerism and conformation of nucleosides and nucleotides derivatives with NMR spectroscopic methods - the influence on enzymatic and mutagenic activity).

Presented on October 6, 1992 pp.29

The work done in Department of Biophysics IFD Warsaw University, 1988

Publ.: Eur.J.Biochem. 1983 130 559-564: Biochemistry 1984 23 2906-2913: Acta Biochim.Polon. 1984 31 49-64: Biochemistry 1988 26 4332-4337: Acta Biochim.Polon. 1984 31 33-48: Eur.J.Biochem. 1984 138 187-192: Z.Naturforsch. 1986 41c 758-770: Z.Naturforsch. 1988 43c 231-242: Biochemistry 1987 169 603-609.

TYTUŁY PRAC MAGISTERSKICH

++ Titles of dissertations presented for M.Sc. degrees

2946 CHACINSKA Agnieszka

Izolacja i charakterystyka mutantów *Saccharomyces cerevisiae* zaburzonych w ostatnim etapie szlaku biosyntezy hemu.

(Isolation and characterization of the mutants of *Saccharomyces cerevisiae* defective in the last step of heme biosynthesis.

Presented on December 16, 1993 pp.58

The work done in Department of Genetics, IBB, PAS and Dept. of Genetics UW, 1993

2947 PLUTA Krzysztof

Izolacja i charakterystyka supresorów inicjacji translacji w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*.

(Isolation and characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* translational suppressors).

Presented on December 7, 1993 pp.75

The work done in Department of Genetics IBB PAS and Department of Genetics UW, 1993

2948 BORYS Ewa

Badanie tranzycji C $\rightarrow$ T indukowanych aldehydem chlorooctowym w układzie faga M13 *glyU*.

(Studies of transitions C $\rightarrow$ T induced by chloroacetaldehyde in phage M13 *glyU* system).

Presented on July, 1993 pp.54

The work done in Department of Molecular Biology IBB PAS, 1993

UMOWA O WSPÓŁPRACY NAUKOWEJ I TECHNICZNEJ
W ZAKRESIE UTWORZENIA POLSKO - FRANCUSKIEGO CENTRUM
BIOTECHNOLOGII ROŚLIN

POMIEDZY

NARODOWYM CENTRUM BADAŃ NAUKOWYCH (CNRS)
(FRANCJA)

A

KOMITETEM BADAŃ NAUKOWYCH
(POLSKA)

* * *

Narodowe Centrum Badań Naukowych z siedzibą w Paryżu, Quai Anatole France nr 15 i Komitet Badań Naukowych z siedzibą w Warszawie, ul. Wspólna 1/3 (zwane dalej Stronami),

- * powołując się na postanowienia Umowy o Współpracy Naukowej i Technicznej między Rządem Republiki Francuskiej a Rządem Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej podpisanej dnia 20 maja 1966 roku w Warszawie (zwanej dalej umową ramową),
- * przekonane, że owocna współpraca w dziedzinach nauki i techniki winna opierać się na bezpośrednich, długoterminowych kontaktach naukowców obydwu krajów,
- * zdecydowane połączyć swoje wysiłki wobec nowych wyzwań naukowych i technologicznych niosących ze sobą postęp i odkrycia, z których obie Strony skorzystają dla dobra swoich krajów i pomyślności ludzkości,
- * życząc sobie rozwoju współpracy naukowo - technicznej pomiędzy Stronami,

postanowiły współpracować wraz z Polską Akademią Nauk w ramach powołanego przez Strony Polsko - Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin. Statut Centrum określa Załącznik nr I do Umowy.

*
* *
*

Artykuł 1.

1. Celem Umowy będzie promowanie wymiany naukowej i współpracy pomiędzy Stronami poprzez tworzenie warunków współpracy w dziedzinach wspólnego zainteresowania.
2. Współpraca będzie finansowana ze środków budżetowych przyznanych przez Strony oraz ze środków własnych Centrum.

Artykuł 2.

Każda ze Stron zobowiązuje się dołożyć wszelkich starań w celu dostarczenia informacji o programach badawczych otwartych dla drugiej Strony, którymi może być ona zainteresowana.

Artykuł 3.

1. W celu skutecznego wdrożenia współpracy, Strony ułatwią wzajemny dostęp do aparatury i kontakty uczestniczących naukowców. Każda ze Stron wyznaczy koordynatora naukowego.
2. Obsługę administracyjną i wsparcie naukowe Centrum Polsko - Francuskiego zapewnią Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk oraz Centrum Genetyki Molekularnej CNRS.

Artykuł 4.

Strony będą dążyć do zapewnienia właściwej i skutecznej ochrony praw własności intelektualnej oraz proporcjonalnego podziału tych praw jak również innych praw własnościowych mogących wynikać ze współpracy. O ile będzie to niezbędne, warunki ochrony tych praw będą określane w programach współpracy opracowanych i akceptowanych przez Komitet Naukowy, o którym mowa w Artykule 7.

Artykuł 5.

1. W ramach Umowy, współpraca będzie realizowana w formach akceptowanych przez Komitet Naukowy, takich jak: seminaria, wymiana naukowców, wymiana informacji, wspólne badania, itp. Jako główną formę współpracy Strony ustalają wspólne projekty badawcze długoterminowe, których czas realizacji winien być dłuższy niż jeden rok a określony cel odpowiadać wzajemnemu zainteresowaniu.
2. Dziedziny współpracy określa załącznik nr 2 do Umowy.

Artykuł 6.

W ramach niniejszej Umowy, wspólny projekt badawczy długoterminowy może obejmować wszystkie formy współpracy akceptowane przez Komitet Naukowy.

Udział każdej ze Stron w projekcie badawczym jak również sposób wykorzystania rezultatów wspólnych prac będą zawczasu każdorazowo określane w formie odrębnego kontraktu.

Artykuł 7.

1. Strony powołują Komitet Naukowy Centrum, którego skład określa Załącznik nr 1.
2. Członkowie Komitetu wyznaczani są przez Komitet Badań Naukowych i przez Narodowe Centrum Badań Naukowych na okres 3 lat.
3. Zadaniem Komitetu jest wybór dziedzin i form współpracy, projektów badawczych oraz opracowywanie rocznych sprawozdań z działalności Centrum.

4. Statut Komitetu Naukowego Centrum określony jest w Załączniku nr I do niniejszej Umowy.

Artykuł 8.

1. Umowa wchodzi w życie z dniem podpisania przez obie Strony. Jest ona ważna przez okres trzech lat. Jest ona przedłużana na taki sam okres poprzez milczące odnowienie, chyba że nastąpi pisemne wypowiedzenie przez jedną ze Stron z zachowaniem sześciomiesięcznego terminu wypowiedzenia.

2. Umowa może być zmieniana za zgodą Stron.

3. Załączniki, nr 1 i nr 2 stanowią integralną część Umowy.

Sporządzono w Warszawie, dnia 25 marca 1993 roku w dwóch egzemplarzach, jeden w języku francuskim i jeden w języku polskim, przy czym obydwa teksty posiadają jednakową moc.

W imieniu

Komitetu Badań Naukowych

Podsekretarz Stanu



Jan Krzysztof FRĄCKOWIAK

W imieniu

Narodowego Centrum Badań Naukowych

Przewodniczący



François KOURILSKY

W imieniu

Polskiej Akademii Nauk

Wiceprezes, Sekretarz Naukowy



Andrzej WYCZANSKI

Warszawa, 24.11.1994 r.

SN-94/94

Do
Kierowników Zakładów,
Kierowników Grup Tematycznych
i Laboratoriów
oraz Kierownik Szkoły
Biologii Molekularnej
w IBB PAN

Zwracamy się do Państwa z prośbą o przygotowanie sprawozdań z działalności naukowej za 1994 rok, które zostaną przedłożone Radzie Naukowej IBB oraz posłużą do opracowania sprawozdania z działalności statutowej Instytutu dla PANu i KBNu.

Sprawozdania należy złożyć w Sekretariacie Naukowym do 10 grudnia br.

Opracowanie powinno zawierać:

I. Sprawozdanie merytoryczne dotyczące zadania zgłoszonego do realizacji w 1994 roku
--

W celu uniknięcia powstających przy przepisywaniu błędów, proponujemy przygotować sprawozdanie w edytorze tekstów *CHI Writer* (po raz ostatni). Na końcu pisma podajemy do wiadomości Sekretarek Zakładowych parametry, które należy zachować przy pisaniu sprawozdania.

a) Tytuł zadania:

13. Właściwości wybranych enzymów przemiany purynowe
- prof. dr hab. Maria M. JEŻEWSKA

b) Pod tytułem: skład osobowy zespołu

c) Na końcu treści sprawozdania należy uwzględnić wyniki badań uzyskanych we współpracy z zagranicą oraz podać tytuły grantów (KBN lub. innych)

d) Pod treścią, podobnie jak w latach ubiegłych, umieścić numery publikacji (w tym Nry rozpraw doktorskich i habilitacyjnych).

II. Dalsze informacje do sprawozdania rocznego

1) Wykaz ważniejszych opracowanych technologii.

2) Wykaz ważniejszych opracowanych metod badawczych i pomiarowych.

3) Ochrona własności intelektualnej – patenty:

- w kraju
- za granicą.

4) Działalność dydaktyczna wg schematu PAN:

Imię i nazwisko	Zajęcia ze studentami (wykłady, ćwiczenia, seminaria itp)	Inne wykłady poza zajęciami ze studentami
.....	liczba godzin:	liczba godzin:

Nazwa uczelni:

a) w kraju

b) za granicą

5) Wykaz ekspertyz, opinii i ocen naukowych.

6) Związki z praktyką (badania, opinie, konsultacje, umowy):

Zlecniodawca	Treść zlecenia	Sposób wykorzystania
--------------	----------------	----------------------

7) Udział w krajowych imprezach naukowych:

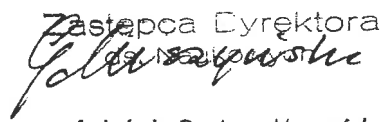
- podać nazwiska uczestników, nazwę, datę i miejsce imprezy oraz ew. tytuł referatu zamawianego.

8) Udział w zagranicznych imprezach naukowych:

- podać nazwiska uczestników, nazwę, datę i miejsce imprezy oraz ew. tytuł referatu zamawianego.

9) Nagrody i wyróżnienia:

- nazwisko osoby nagrodzonej
- rodzaj nagrody/wyróżnienia
- dane o pracy nagrodzonej.

Zastępca Dyrektora

prof. dr hab. Grażyna Muszyńska

CZŁONKOWIE RADY NAUKOWEJ INSTYTUTU BIOCHEMII I BIOFIZYKI PAN

w kadencji 1993-95

Przewodnicząca: Prof.dr hab. Zofia LASSOTA

Wiceprzewodniczący: Prof.dr hab. Andrzej PASZEWSKI

Prof.dr hab. Jan W. SZARKOWSKI

Prof.dr hab. Kazimierz L. WIERZCHOWSKI

(czł.rzecz.PAN)

Członkowie:

(samodzielni pracownicy naukowci):

1. Prof.dr hab. ADAMIAK Ryszard W.
2. Prof.dr hab. BARTNIK Ewa
3. Doc.dr hab. BIERZYŃSKI Andrzej
4. Prof.dr hab. BUCHOWICZ Jerzy
5. Prof.dr hab. CHOJNACKI Tadeusz (członek kor.PAN)
6. Prof.dr hab. CHORĄŻY Mieczysław (członek rzecz. PAN)
7. Prof.dr hab. CIEŚLA Zygmunt
8. Prof.dr hab. DUSZYŃSKI Jerzy
9. Prof.dr hab. FIKUS Magdalena
10. Prof.dr hab. FILIPOWICZ Witold
11. Prof.dr hab. GAJEWSKI Wacław (czł.rzecz. PAN)
12. Prof.dr hab. GNIAZDOWSKI Marek
13. Prof.dr hab. HULANICKA-DZIECHCIŃSKA M.Danuta
14. Prof.dr hab. JACHYMCZYK Witold
15. Prof.dr hab. JANION Celina
16. Prof.dr hab. JEZEWSKA Maria Monika
17. Prof.dr hab. KLECZKOWSKI Kazimierz
18. Prof.dr hab. KŁOPOTOWSKI Tadeusz
19. Prof.dr hab. KOCHMAN Marian
20. Doc.dr hab. KULIKOWSKI Tadeusz
21. Prof.dr hab. KUNICKI-GOLDFINGER Władysław (czł.rzecz.PAN)
22. Doc.dr hab. KUŚMIEREK Jarosław
23. Prof.dr hab. LESYNG Bogdan
24. Prof.dr hab. LORKIEWICZ Zbigniew (czł.kor.PAN)
25. Prof.dr hab. MALEPSZY Stefan

26. Prof.dr hab. MICHALSKI Jan (czł.rzecz.PAN)
27. Prof.dr hab. MUSZYNSKA Grażyna
28. Prof.dr hab. PALAMARCZYK Grażyna
29. Prof.dr hab. PAWEŁKIEWICZ Jerzy (czł.rzecz.PAN)
30. Prof.dr hab. PIETRZYKOWSKA Irena
31. Prof.dr hab. PŁUCIENNICZAK Andrzej
32. Prof.dr hab. RACZYNSKA-BOJANOWSKA Konstancja
33. Prof.dr hab. RYTKA Joanna
34. Prof.dr hab. SEDLACZEK Leon
35. Prof.dr hab. SHUGAR David (czł.zagr.PAN)
36. Prof.dr hab. STĘPIEN Piotr P.
37. Prof.dr hab. SZAFRAŃSKI Przemysław (czł.rzecz.PAN)
38. Prof.dr hab. TOCZKO Kazimierz
39. Prof.dr hab. WASILEWSKA-DĄBROWSKA Lidia D.
40. Prof.dr hab. WASYLEWSKI Zygmunt
41. Prof.dr hab. WĘGLEŃSKI Piotr
42. Doc.dr hab. WIELGAT Bernard
43. Prof.dr hab. WOJTCZAK Lech (czł.rzecz.PAN)
44. Prof.dr hab. ZAGÓRSKI-OSTOJA Włodzimierz
45. Doc.dr hab. ZARĘBSKA Zofia
46. Prof.dr hab. ZUK Jerzy

pomocniczy pracownicy naukowci:

1. Mgr KERN Izabela
2. Dr KRASZEWSKA Elżbieta
3. Dr KULA-SWIEZWSKA Ewa
4. Dr KURLANDZKA Anna
5. Mgr PAŁUCHA Andrzej
6. Mgr PAWŁOWICZ Jerzy
7. Dr SLEDZIEWSKA-GOJSKA Ewa
8. Mgr TOPCZEWSKI Jacek

Trustees of the Institute of Biochemistry and Biophysics PAS
1992

1. Dr Jerzy Barankiewicz
Gensia Pharmaceuticals, Inc.
11025 Roselle Street
San Diego, California 92121-1204, USA
tel. (619) 546 8300
fax (619) 453-0095
2. Dr Jadwiga Chroboczek
Institut Laue - Langevin
Avenue des Martyrs
38042 Grenoble Cedex
tel. 033 76 20 71 88
fax 033 76 48 71 99
3. Prof. Maria Erecińska
Department of Pharmacology
131 John Morgan Building
University of Pennsylvania
School of Medicine
Philadelphia PA 19104
tel. (215) 898 3661
fax (215) 898 9927
4. Prof. Ryszard Kole
Lineberger
Comprehensive Cancer Center
School of Medicine
The University of North Carolina at Chapel Hill
Campus Box 7295
Chapel Hill, NC 27599-7295
tel. (919) 966-3036
fax (919) 966-3015

5. Dr Magda Konarska
The Rockefeller University
1230 York Avenue
New York 10021-6399
tel. (212) 5708432
fax (212) 5708370
6. Dr Włodzimierz Mandecki
Corporate Molecular Biology
Department 93D, Building 9A
Abbott Laboratories
Abbott Park, Illinois 60064
tel. (708) 937-2236
7. Dr Włodzimierz Sasak
Harvard Medical School
Bess Israel Hospital
Department of Medicine
330, Brookline Av.
Dana Building
Room 536
Boston Ma 02115
tel. (617) 735-5938
8. Dr Andrzej Stasiak
Universite de Lausanne
Laboratoire d'Analyse Ultrastructurale
Bâtiment de Biologie, niveau 1
CH-1015 Lausanne-Dorigny, Switzerland
tel. (4121) 692 24 71
fax (4121) 692 25 40
9. Dr Anna Radomińska
Division of Gastroenterology
University of Arkansas for Medical Sciences

4301 West Markham
Mail Slot 567-1
Little Rock, Arkansas 72205-7199
tel. (501) 686-5414
fax (501) 686-6248

10. Dr Ludwika Zimniak
University of Arkansas for Medical Sciences
Division of Nephrology
4301 West Markham
Mail Slot 501
Little Rock, Arkansas 72205
Tel. (501) 661-1202 Ext. 2972