

wyprawa

INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

ul. Pawińskiego 5A

SPRAWOZDANIE Z DZIAŁALNOŚCI za 1994 rok

DYREKTOR: Prof. dr hab. Włodzimierz ZAGÓRSKI-OSTOJA

PRZEWODNICZĄCY RADY NAUKOWEJ: Prof. dr hab. Zofia LASSOTA

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN ma uprawnienia do nadawania stopni doktora i doktora habilitowanego nauk przyrodniczych w zakresie biologii.

UPRAWIANE SPECJALNOŚCI NAUKOWE

Badania na poziomie molekularnym struktury aparatu genetycznego i mechanizmów przekazywania zawartej w nim informacji; budowa kwasów nukleinowych i białek, ich biosynteza, fizykochemiczne podstawy ich samoorganizacji, prawidłowość w powstawaniu funkcjonalnych kompleksów nadmolekularnych; struktura, funkcja i regulacja aktywności enzymów; sekwencje genomów; mechanizmy ich mutagenezy, naprawy i replikacji DNA, mechanizmy ekspresji i regulacji genów; wirusologia molekularna roślin; molekularne podstawy biotechnologii.

Krótkie omówienie prac badawczych prowadzonych w 1994 roku

Zespoły Instytutu zajmują się biologią molekularną wirusów, bakterii, grzybów niższych ^{zwierząt} i roślin. Poznawane są struktury i mechanizmy działania genów oraz ich produktów - białek i kwasów rybonukleinowych. W badaniach stosowany jest zestaw zaawansowanych metod genetycznych, biochemicznych, biofizycznych. Rozwijana jest inżynieria genetyczna, konstruowane są organizmy transgeniczne.

Analizowane są procesy patogenezy u roślin; poznawane są ogólne mechanizmy obrony roślin przed infekcjami wirusowymi i grzybicami. Poznawana jest sekwencja genomów wiroidów i wirusów roślinnych, konstruowane są pełne, infekcyjne genomy wirusowe, niosące obce geny mogące wywoływać oporność na badane patogeny. Identyfikowano nowe geny roślinne sekwencjonując pozachromosomowe jądrowe DNA, analizując sekwencje klonów wyizolowanych poprzez immunodetekcję.

Badane są funkcje genomu drożdży poprzez identyfikację nowych genów w drodze sekwencjonowania genomowego DNA lub analizę genetyczną wybranych procesów komórkowych. Określone zostały struktury i funkcje genów kontrolujących syntezę hemu i hemoprotein, wewnątrzkomórkowego transportu białka, wskazano geny kontrolujące syntezę glikokonjugatów. Zmapowano i zsekwencjonowano geny kontrolujące syntezę i naprawę DNA.

Mutageniza i naprawa DNA analizowana jest również w systemach bakteryjnych. Podane zostały mechanizmy chemiczne mutagenyzy wywoływanej wybranymi czynnikami skażającymi środowisko, przeprowadzona została analiza kontrolowanych zmian w strukturze genów regulujących proces mutagenyzy.

Genetyka wybranych procesów metabolicznych poznawana jest na przykładzie przemian związków siarkowych u *Aspergillus* i *Enterobakterii*. Seria genów *A.nidulans* kontrolujących metabolizm siarki została sklonowana i zsekwencjonowana. Podobnie poznano sekwencje i funkcje nowych genów kontrolnych enterobakterii i przeprowadzono analizy molekularne oddziaływań produktów genów regulatorowych ze swoistymi promotorami. Podjęto nowe badania nad genetyką mechanizmów reagowania na temperaturę komórek bakteryjnych.

Poznawane są funkcje białek czynnych biologicznie - enzymów nukleotycznych, enzymów kontrolujących metabolizm puryn, inhibitorów białkowych, roślinnych kinaz białkowych, białek regulujących metabolizm wapnia.

Struktury wybranych białek i kompleksów białko - kwas nukleinowy analizowane są połączonymi metodami fizyko-chemicznymi (m.in. dichroizmu kołowego, fluorescencji, jądrowego rezonansu magnetycznego), korelowanymi z obliczeniami mechaniki i dynamiki molekularnej.

Zaawansowane metody chemii organicznej stosowano w pracach nad strukturą i przemianami roślinnych izoprenoidów i syntezami pochodnych nukleozydowych o funkcjach biologicznych.

Wszystkie omówione badania oparte są na obszernym wykorzystaniu informatyki biologicznej. Rozwijane są teoretyczne metody analizy sekwencji genów, struktur ich produktów, zwijania łańcuchów białkowych, tworzenia struktur białko - kwas nukleinowy, analiz filogenetycznych,

modelowania molekularnego.

Należy wreszcie podkreślić, że w Instytucie rozwijane są oparte na inżynierii genetycznej metody zaawansowanej biotechnologii prowadzące do ekspresji transgenów o znaczeniu użytkowym oraz produkcji białek o zastosowaniu praktycznym.

Jednym z najważniejszych osiągnięć jest przedstawione w serii publikacji zanalizowanie struktury i funkcji nieznanych genów zawartych we fragmencie prawego ramienia X chromosomu drożdży. Zidentyfikowano 8 nowych genów wykazujących m. inn. analogie do genów bakteryjnych lub ludzkich, znaleziono nietypowy układ dwu transpozonów, podjęto prace nad "odwrotną genetyką" wybranych genów. Rezultaty osiągnięto dzięki systematycznym sekwencjonowaniom genomowego DNA drożdży obejmującym 300.000 nukleozydów i zastosowaniu zaawansowanych metod inżynierii genetycznej i informatyki biologicznej.

Stopnie naukowe nadane przez Radę Naukową IBB PAN w 1994 roku:

Doktora

1. Magdalena Magierowska

Tytuł pracy: "The human immunodeficiency virus type 1. Detection and prediction of HIV-1 resistance to zidovudine"

2. Alicja Kujawa

Tytuł pracy: "Regulation of gene expression of potato leafroll luteovirus"

3. Krzysztof Felczak

Tytuł pracy: "Poszukiwania nowych 6-podstawionych nukleozydów pirymidynowych o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych"

4. Anna Fabisiewicz

Tytuł pracy: "Efekt szoku termicznego na syntezę białek w *Bacillus subtilis* i ekspresję genów w *Escherichia coli*"

5. Maria J. Bucholc

Tytuł pracy: "Synteza pozachromosowego DNA i sekwencji telometyrowych w kiełkujących zarodkach pszenicy"

X. Renata Wolinowska

Tytuł pracy: "Klonowanie, analiza struktury i ekspresji genu streptodornazy ze *Streptococcus egnisimilis* H46A" (uw)

DDoktora habilitowanego

1. Edward Darżynkiewicz - Zakład Biofizyki UW, Warszawa

"Zastosowanie syntetycznych analogów 5' końców mRNA i U snRNA w badaniach nad mechanizmem biosyntezy białka oraz transportu wewnątrzkomórkowego małych jądrowych RNA".

2. Wojciech Ambroziak - Instytut Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej

"Dehydrogenaza aldehydowa (EC 1.2.1.3.): Charakterystyka molekularna i kinetyczna izoenzymów wątroby ludzkiej i ich prawdopodobna rola fizjologiczna".

3. Joanna Rzeszowska-Wolny - Centrum Onkologii w Gliwicach

"Oddziaływanie DNA z matriks jądrową".

Uzyskane przez pracowników IBB PAN tytuły profesora:

1. Joanna Rytka - profesor zwyczajny (stanowisko)

2. Tadeusz Kulikowski - profesor nadzwyczajny (stanowisko)

Liczba osób pobierających stypendia IBB:

doktorskie - 17

habilitacyjne - 8

magisterskie - 11

16 osób przypisanych do celów
finansowania

Warszawska Szkoła Biologii Molekularnej przy IBB PAN:

liczba uczestników - 65

Opieka nad studentami:

liczba studentów odbywających praktyki w IBB - 6

Instytut zatrudnia ²⁰³ pracowników, w tym ¹⁶⁷ naukowych (w tym 60 inżynieryjno-technicznych), spośród których ⁶⁵ dąży do uzyskania doktoratu.

Działalność naukowa: opublikowano ⁶³ prace; realizowano ²⁵ projektów badawczych; we współpracy z zagranicą realizowano ¹⁵ tematów badawczych.

Nakłady 55.713,1 mln zł;

w tym na:

- działalność statutową 40.320 mln zł,
- działalność ogólnotechniczną 300 mln zł,
- inne 15.093,1 mln zł:
 - 3.200 mln zł - SPUBy (NMR + Centrum Polsko-Francuskie) ^{Specj. inżyn. biochem. i m.}
 - 6.422,6 " - projekty badawcze (granty)
 - 1.733 " - *European Science Foundation* (symp. "Peptydy") + Polska Fundacja Upowsz. Nauki (prenumer. czasopism)
 - 1.439,5 " - KBN (na współpracę z zagranicą)
 - 1.300 " - KBN (aparatura inwestycyjna)
 - 662 " - UNESCO (dotacja na program polsko-izraelski)
 - 336 " - UNESCO (dotacja na EFS).

Nakłady na 1 pracownika naukowego 241,4 mln zł,
na 1 zatrudnionego 196,6 mln zł.

Warszawa, 31.XII.1994 r.

GŁÓWNY KSIĘGOWY

.....
Grażyna Deba

DYREKTOR INSTYTUTU

Prof. dr hab. inż. Zdzisław Zagórski-Ostoja

W S T Ę P

Opis działalności merytorycznej zespołów zawarty jest w szczegółowym sprawozdaniu, spróbuję w tym "Wstępie" przedstawić kilka istotnych elementów życia organizacyjnego Instytutu w 1994r.

1. Rozwój informatyki

Od dwu lat kładziemy w IBB PAN nacisk na rozwój informatyki. W tym roku dokonaliśmy negocjacje z sąsiednimi Instytutami (Instytutem Biocybernetyki, Instytutem Biologii Doświadczalnej, Centrum Medycyny Doświadczalnej) dotyczące wspólnego użytkowania łączącej nas sieci informatycznej i centralnej jednostki Challenge L. W ich rezultacie - część (50%) kosztów wyjściowych jednostki została pokryta przez naszych partnerów. Sieć łącząca Instytuty jest czynna, sądzimy, że nasze propozycje uwspólnienia informatyki będą istotne dla całego kampusu. Uruchomiliśmy też sieć wewnętrzną, poczta elektroniczna dostępna jest z każdego aktywnego gniazda sieci.

Od ponad roku prowadziliśmy też negocjacje z European Molecular Biology Network (EMBnet) na temat członkostwa Polski w tej organizacji. Wspierały nas w tym Narodowy Węzeł Informatyczny Izraela zlokalizowany w Instytucie Weizmanna, Komitety Biotechnologii oraz Biochemii i Biofizyki PAN. Było to podstawą do uzyskania odpowiedniej rekomendacji KBN. W rezultacie od listopada '94, w Instytucie powstał Narodowy Węzeł EMBnet. Organizacja, sponsorowana przez Wspólnotę Europejską, skupia wszystkie kraje Wspólnoty łącząc ze sobą węzły Narodowe. Dzięki temu mamy dostęp "on line" do głównych banków genów i otrzymujemy "updating" programów bioinformatycznych. Delegatem Polski do EMB net został dr Piotr Zielenkiewicz. Działanie w tej dziedzinie oparte są o współpracę z Instytutem Weizmanna, podtrzymywaną przez specjalny grant UNESCO. W jego ramach, trójka młodych pracowników Instytutu odbyła 10-dniowy staż w Instytucie Weizmanna zaznajamiając się z nowymi pakietami bioinformatycznymi i specyfiką programu CGC - Wisconsin. Ten podstawowy pakiet programów biologii molekularnej jest dostępny w IBB PAN. W czasie pobytu trzech stażystów w Izraelu przygotowano wspólny program kursu bioinformatycznego, który odbędzie się w IBB PAN na wiosnę 1995r. Sądzę, że kurs ten pozwoli na szersze zapoznanie się z dostępnymi pro-

gramami zainteresowanym członkom zespołów IBB PAN.

W dalszym ciągu doinwestowujemy pracownie w PC, standardem staje się 486. W 1995r. musimy skupić się na racjonalizacji wykorzystania informatyki w Instytucie.

2. Współpraca z Interdyscyplinarnym Centrum Matematycznym

Działania dotyczące rozwoju informatyki mają też swój wyraz organizacyjny. Instytut w 1994r. zacieśnił związki z Interdyscyplinarnym Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego, kierowanego przez prof. M.Niezgódkę. Przewidujemy, że zespół ICM zostanie w 1995r. osadzony w specjalnie budowanych lokalach - na 5-tym piętrze pawilonu D naszego gmachu. W tym już roku udostępniliśmy ICM w gmachu B pomieszczenia laboratoryjno-biurowe. Zaoferowaliśmy w suterynie pawilonu C pomieszczenie dla wypożyczony ICM nowy komputer CRAY.

Firma Bio Sym za pośrednictwem ICM przyznała kilka stypendiów krajowych. W wyniku konkursu, stypendia takie otrzymali w IBB dr P.Zielenkiewicz i mgr J.Poznański.

Ważne dla nas sprawy sieci ochockiej, połączenia jej z siecią warszawską i komunikacji z zagranicą prowadzone są za pośrednictwem ICM. Współpraca z ICM - jednostką Uniwersytecką wzmacnia związek Instytutu z Uniwersytetem Warszawskim

3. Utworzenie pracowni NMR

W roku sprawozdawczym najpoważniejszą inwestycją aparaturową IBB PAN był udział w zakupie aparatu NMR (500mH) dedykowanego do analizy struktur białkowych. Koszt aparatu wynosił 13.269.509.900,- w czym udział Instytutu wynosił 5.369.509.900,-. Aparat umieszczono w specjalnie zbudowanym laboratorium, koszt adaptacji pomieszczeń wyniósł 1.421.000.000,-. Sumy te zostały pokryte z naszych środków inwestycyjnych. Laboratorium NMR, kierowane przez doc. A.Bierzyńskiego ma charakter środowiskowy, zgodnie z regulaminem przedstawionym już Radzie Naukowej IBB. W skład Rady Laboratorium wchodzi specjaliści z różnych ośrodków krajowych.

Rozruch aparatu trwa, warto powiedzieć, że systemy ekspresji i oczyszczania kilku białek interesujących pracownię, są już opanowane.

Działanie laboratorium wspierane jest specjalnym funduszem z KBN.

anal. białkowe do 20000
w perspektywie pracowni i wyspecjalizowane

4. Działalność Centrum Polsko-Francuskiego

W 1994r. zostały ustalone zasady działania Centrum, powołanego do życia w 1993r przez CNRS, KBN i PAN. Powołana została Rada Centrum w składzie:

strona polska

- prof. Andrzej Legocki - Instytut Chemii Bioorganicznej PAN (Poznań)
- prof. Karol Taylor - Uniwersytet Gdański
- prof. Piotr Węgleński - Uniwersytet Warszawski
- prof. Włodzimierz Zagórski - IBB PAN

strona francuska

- prof. Jaga Łazowska - Centre de Génétique Moléculaire CNRS
- prof. Alain Boudet - Université - Paul - Sabatier - Toulouse *finj. roślin*
- prof. Pierre Boistard - INRA - Toulouse *gen. i b. mol. mikrob. w rolnictwie*
- prof. Adam Kondorosi - Institut des Sciences Végétales CNRS
- prof. Michel Caboche - INRA Versailles *genetyka Arabidopsis*

Rada mianowała Dyrektorem Centrum prof. St. Lewaka. Współkieruje Centrum- ze strony francuskiej dr Jaga Łazowska, Sekretarzem Centrum jest Pan Igor Walenczak.

Inauguracyjne posiedzenie Rady odbyło się w Poznaniu w maju 1994r. z okazji wspólnego sympozjum doktorantów IBB PAN i IChB PAN; materiały sympozjalne zostały wydane. Liczymy na to, że uda nam się wzmocnić kontakty obu naszych instytucji i że w 1995r. poznańscy doktoranci odwiedzą nas w Warszawie.

Centrum jest finansowane ze źródeł polskich i francuskich - przyczym finansowanie przez stronę polską ma formę tzw. ^{Sp. Urz. Bad.} SPUB, przypisanego do naszego Instytutu. Sprawozdania szczegółowe Centrum składane są bezpośrednio do instytucji finansujących.

Centrum przyznało serię rocznych subwencji - grantów, grupom mającym wspólne programy z laboratoriami francuskimi.

Warto wspomnieć, że Instytut gościł delegację CNRS pod przewodnictwem prof. Tambourin - Dyrektora departamentu Nauk o Życiu CNRS.

5. Przygotowanie podręcznika metodycznego

Za ważną rzecz uważam zredagowanie podręcznika zatytułowanego "Podręcznik Laboratoryjny IBB PAN". Propozycja przygotowania takiego podręcznika wyszła ze strony dyrekcji IBB już dość dawno. W rezultacie w ostatnim kwartale dzięki staraniom prof. G.Palamarczyk, prof. J.Rytki oraz dr. M.Skonecznego ukazały się pierwsze egzemplarze podręcznika zawierającego 67 przepisów laboratoryjnych. Wkrótce zostanie wydany nakład podstawowy i egzemplarze trafią do zespołów. Uważamy, że podręcznik ten będzie służył jako informator wewnętrzny, ułatwiający pracę zespołom. Podręcznik pozwoli też sformułować propozycje programów ćwiczeniowych i może być podstawą do prowadzenia kursów specjalistycznych.

Wypada teraz pokrótce wspomnieć o niepowodzeniach i powodzeniach w działalności Instytutu w 1994r.

Niepowodzeniem jest na pewno brak przetworzenia dużej ilości ciekawych wyników (dokumentowanych w wewnętrznych sesjach plakatami) w odpowiednią liczbę publikacji doświadczalnych. Sądzę, że jest to zagadnienie, które winni przeanalizować kierownicy zespołów.

Problemem jest korzystanie ze wspólnej aparatury instytutowej, stoi za tym najpewniej brak wystarczającej informacji o zasobach aparaturowych. Problem ten może rozwiązać poszerzenie zakresu naszego podręcznika metodycznego i współpraca tematyczna między zespołami naszych Zakładów.

Nierozwiązanym zagadnieniem jest problem płac. Zagadnienie to wymaga zmian w finansowaniu Instytucji naukowych, wzrostu udziału tego finansowania w budżecie państwa.

Poważnym problemem w 1994r. były włamania do starej siedziby Instytutu. Funkcja gmachu na Rakowieckiej w ciągu ostatnich lat została przez jego gospodarzy zmieniona bez zapewnienia odpowiedniej, do nowej sytuacji ochrony. Doprowadziło to do strat - tylko częściowo pokrytych przez ubezpieczenia.

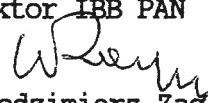
Milej jest mówić o sukcesach. Sądzę, że pierwszym jest to, iż w ramach naszej Szkoły Biologii Molekularnej 65 asystentów pracuje nad uzyskaniem doktoratów. Grupa młodzieży w Instytucie rośnie, pracuje intensywnie posługując się zaawansowaną metodyką i uzyskuje obiecujące rezultaty. Niestety nie potrafiliśmy wypracować skutecznego systemu

finansowania ich płac. Sądzę, że instytucje takie jak nasza - umiejące przyciągać młodzież, winny uzyskać odpowiednie wsparcie ze strony PAN i KBN.

Drugim - to, że 14-stu naszych pracowników przygotuje habilitacje. Prace są zaawansowane w różnym stopniu, ale wydaje się, że 1995r. będzie pracowitym rokiem naszej Rady.

Trzecim - było Sympozjum sprawozdawcze odbywające się w nowym gmachu. Wszystkie zespoły Instytutu i Stowarzyszone Zakłady Uniwersyteckie znalazły się pod wspólnym dachem; dokumentacja sympozjum sprawozdawczego przedstawia przykład prawidłowo rozumianej współpracy Uniwersytetu i Instytutu - i odzwierciedla - napewno dobry poziom badań.

Dyrektor IBB PAN


Prof. Włodzimierz Zagórski

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

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

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

Kontynuowano badanie właściwości uprzednio syntetyzowanych nowych tiopochodnych 2',3'-dideoksy-3'-fluorotymidyny (FLT) - najsilniejszego inhibitora retrowirusa HIV. Przy użyciu stałych sprzężenia uzyskanych z wysokorozdzielczych widm ^1H NMR (500 MHz) zbadano konformacje tych nukleozydów w roztworze D_2O . Wszystkie 2',3'-dideoksy-3'-fluoronukleozydy (w tym nukleozydy tionowane w pozycji 2) niezależnie od postaci anomerycznej wykazują ca 100% populacji konformacji S, podczas gdy analogiczne 2'-deoksynukleozydy posiadające w pozycji 3' zamiast fluoru grupę hydroksylową, posiadają konformację zależną od postaci anomerycznej: β -anomery wykazują 60% populacji konformacji S, podczas gdy α -anomery 80-90% populacji tej konformacji. W przypadku α -anomerów 3'-fluoronukleozydów obserwuje się w widmie ^1H NMR sprzężenie przez przestrzeń 3'-F,H(6) o wartości 1,5 Hz co powoduje stabilną konformację S dla tych związków (praca finansowana przez grant KBN G-10).

Zbadano podatność β -2',3'-dideoksy-3'-fluoro-2-tio-urydyny i tymidyny oraz FLT na fosforolityczne rozszczepienie wiązania glikozydowego katalizowane przez fosforylaze tymidynową z *E.coli*. Obydwa tionukleozydy okazały się substratami dla tego enzymu, podczas gdy FLT wogóle nie ulega fosforolizie (praca finansowana częściowo przez grant KBN G-10).

Kontynuowano badanie centrum aktywnego fosforylasy urydynowej (UPazy) metodami kinetyki enzymatycznej. Izolowano i oczyszczano UPazę z tasiemca oraz opracowano jej charakterystykę. W przypadku enzymu

E.coli i ze śluzówki jelita szczura wyznaczono stałe inhibitorowe dla nukleozydów o nietypowej konformacji *syn*, takich jak 6-metylourydyna (6MeUrd) i 2,3'-anhydro-5-etylourydyna (anEtUrd). anEtUrd okazała się dla UPazy znacznie silniejszym inhibitorem ($K_i \sim 10^{-5}M$) niż 6-MeUrd ($K_i \sim 10^{-3}M$).

Opracowano syntezy oraz zbadano właściwości biologiczne nowych 5-chloro analogów 2'-deoksy-2-tionukleozydów i nukleotydów uracylowych oraz ich macierzystej zasady - 5-chloro-2-tiouracylu. Wykazano, że β -anomer 5-chloro-2-tio-2'-deoksyurydyny (ClSdUrd) posiada właściwości cytotoksyczne ($CD_{50} \sim 10^{-5}$). W celu wyjaśnienia mechanizmu powstawania cytotoksyczności ClSdUrd poddano selektywnej, enzymatycznej fosforylacji. Otrzymany w ten sposób ClSdUMP okazał się kompetytywnym inhibitorem syntazy tymidylanowej ($K_i \sim 10^{-6}M$ dla enzymu z EAC i 10^{-5} dla enzymu z L1210) (praca wykonana przy współpracy z Instytutem Biologii Doświadczalnej PAN w Warszawie).

Zbadano właściwości inhibitorowe uprzednio syntetyzowanych nukleozydów 5-fluoro-2-tiocytosynowych w stosunku do kinazy deoksycytydynowej (dCK) wyodrębnionej z białaczkowej śledziony ludzkiej. 5-fluoro-2-tio-2'-deoksycytydyna okazała się dla tego enzymu o rząd wielkości lepszym inhibitorem niż 2-tio-2'-deoksycytydyna (IC_{50} odpowiednio $10^{-7}M$ i $10^{-6}M$) (praca finansowana częściowo przez grant KBN).

Wykryto nowe obiecujące, niesubstratowe inhibitory dCK: 5'-amino- i 5'-azydo 2'3'-dideoksycytydynę oraz 5'-0-etylo-2'-deoksycytydynę (współpraca z Zakładem Biofizyki UW).

Opublikowano obszerny, zamówiony przegląd dotyczący zależności struktura-aktywność biologiczna przeciwoopryszczkowych nukleozydów.

Wyniki badań uzyskanych we współpracy z zagranicą:

Badano cytotoksyczność oraz aktywność przeciwko HIV 2'3'-dideoksy-3'-fluoro-2-tiourydyny (FSddUrd) oraz 2'3'-dideoksy-3'-fluoro-2-tiotymidyny (FSddThd) w komórkach CEM ostatnio wprowadzonych do testowania HIV. FSddUrd i FSddThd wykazywały w tych komórkach umiarkowaną cytotoksyczność (CD_{50} odpowiednio 20 i 100 $\mu g/ml$). Dalsze badania aktywności biologicznej są w toku (współpraca z Rega Instituut, Katholieke Universiteit Leuven, Belgia).

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Nowe analogi nukleozydowe o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych i przeciw pasożytniczych. Synteza, właściwości fizykochemiczne i biologiczne" (G-10, kier. prof. T.Kulikowski).

PUBLIKACJE: 2950, 2958, 2961, 2977, 2997, 6/N, 3p, 704/A, 705/A, 706/A, 707/A.

Temat 2: "Molekularne podstawy powstawania i leczenia łuszczycy u ludzi"

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

Od trzydziestu lat fotochemoterapią PUVA (psoralen+UVA) stosuje się do leczenia chorych na łuszczycę i inne choroby autoimmunizacyjne. Mechanizm działania tej terapii na ogół wiązano z uszkodzeniami fotochemicznymi w DNA komórek naskórka. Zaproponowaliśmy dodatkowy mechanizm działania poprzez reakcje zachodzące w fosfolipidach błon limfocyta (+2979). W nowej hipotezie zakłada się, że fotochemiczne reakcje zachodzące w błonach limfocyta zapoczątkowują ciąg reakcji, które zmieniają własności antygenowe komórki. Ten kierunek badań doprowadził do wykrycia nowych adduktów psoralenów. Nasze wyniki można przedstawić jak następuje:

- 1). Fotoaddukty pomiędzy 8-metoksypsoralenem (8-MOP) a kwasem tłuszczowym 8-MOP<>UFA w lecytynie w postaci miceli powstają z 10-krotnie większą wydajnością niż w roztworach etanolowych (+619/A).
- 2). Reakcji fotoaddycji towarzyszy transizomeryzacja kwasu oraz bliżej niezidentyfikowana reakcja utleniania (+619/A).
- 3). Identyfikacja powstającego cyklobutanu między podwójnym wiązaniem kwasu a krawędzią furanową 8-MOP jest udokumentowana badaniami widm NMR na przyrządzie o mocy 500 MHz: protony cyklobutanowe adduktów odnajduje się w specyficznych rejonach widma NMR około 4 i 2 ppm; protony reszt aromatycznych w rejonie 6.8 - 7.7 ppm (702/A).
- 4). Reszty aromatyczne protonów 3-4 pierścienia pyronowego, pochodzące z adduktów, prawdopodobnie można będzie wykrywać w mieszaninie fosfolipidów, pochodzących z błon limfocyta po reakcji PUVA. Zakłada się

wykrywalność tych protonów bez uprzedniej hydrolizy UFA<>8MOP ze szkieletu glikolo-cholinowego na bazie różnicowania lokalizacji tych protonów w rejonie 6-8 ppm, podczas gdy sygnały lecytynowe występują wyłącznie w rejonie 5-0.5 ppm.

Przydatność analizy NMR do wykrywania fotoadduktów w mieszaninie fosfolipidów po reakcji PUVA będzie przedmiotem naszych dalszych badań. Powyższe wyniki uzyskano we współpracy z mgr J. Poznańskim z Zakładu Biofizyki IBB PAN oraz z Prof. Caffieri z Instytutu Nauk Farmaceutycznych w Padwie, Włochy.

Tytuł grantu w CNR: "Mechanizm działania psoralenów: badania uszkodzeń w fosfolipidach błonowych".

PUBLIKACJE: 2979, 619/A, 702/A

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

Zespół: doc. Jarosław Kuśmierek, dr Małgorzata Mroczkowska-Słupska, mgr Agnieszka Bukowska, mgr Ewa Borys

Badano wpływ indukcji systemu odpowiedzi adaptacyjnej na środki alkilujące u *E.coli* na przeżycie i częstość tranzycji C->T testowego faga M13 *glyU* traktowanego aldehydem chlorooctowym (CAA). Stwierdzono, że w komórkach adaptowanych wzrasta przeżycie i spada częstość mutacji fagowych indukowanych CAA. Wskazuje to, że glikozylaza II 3-metyladenina-DNA, która jest częścią systemu odpowiedzi adaptacyjnej, usuwa addukty CAA-cytosyna, 3,N⁴-(N⁴- α -hydroksyetano)- i 3,N⁴-etenocytozynę.

Prowadzono prace przygotowawcze do badania wpływu sąsiadujących zasad w matrycy na właściwości kodujące izoguaniny. Syntetyzowano izoguanozynę, jej N-1 i O²-metylopochodne a także 5'-dwufosforan. Przy pomocy fosforylasy polinukleotydowej syntetyzowano matryce poli(U), poli(C), poli(A) i poli(I) zawierające różne ilości izoguanozyny oraz wykonano analizę składu matryc. Syntetyzowano 5-metylo-2'-dezoksyizocytydynę (idCM) oraz jej 5'-trójfosforan (idCMTP). Zbadano stabilność idCM w roztworach kwasowych i alkalicznych. Rozpoczęto badania nad

kopii przygotowanych matryc w obecności dTTP i idCMTP (dT i idCM są komplementarne do różnych tautomerów izoguanozyny) w układzie odwrotnej transkryptazy.

Dr Małgorzata Mroczkowska-Słupska przebywa na stażu naukowym w laboratorium prof. J. Millera, Institute of Molecular Biology, University of California Los Angeles, USA, gdzie zajmuje się badaniem - ekspresji ludzkich genów mutatorowych w komórkach bakteryjnych.

Dr Jarosław Kuśmierek przebywał na trzymiesięcznym stażu w laboratorium prof. B. Singera, Donner Laboratory LBL, University of California Berkeley, gdzie zajmował się badaniem reakcji hydrolitycznych adduktów chlorku winylu.

W kwietniu 1994r rozpoczęto realizację projektu badawczego KBN pt. "Molekularne podstawy mutagenyzy: badanie wpływu sąsiadujących zasad w matrycy na właściwości kodujące modyfikowanych zasad podczas replikacji DNA" (G-22, kier. doc. J. Kuśmierek).

PUBLIKACJE: 2957, 2987, 3011

Temat 4.1: "Badania konformacji peptydów wiążących wapń"

Zespół: doc. Andrzej Bierzyński, dr Grażyna Goch, mgr Jakub Góral,
mgr Hanna Kozłowska

Zaprojektowano syntezę peptydów o następującej sekwencji:

- 1) Ac-Cys-Gly-Asp-Lys-Asp-Gly-Asp-Gly-Tyr-Ile-Ser-Ala-Ala-Glu-NH₂,
- 2) Ac-Asp-Lys-Asp-Gly-Asp-Gly-Tyr-Ile-Ser-Ala-Ala-Gly-Cys-NH₂,
- 3) Ac-Asp-Lys-Asp-Gly-Asp-Gly-Tyr-Ile-Ser-Ala-Ala-Glu-Ala-Ala-Ala-Gln-NH₂.

Zsyntetyzowane peptydy zostały oczyszczone.

Peptydy 1 i 2 zostały wyznakowane sondami fluorescencyjnymi przez wprowadzenie znaczników na reszty cysteiny. Peptydy zostały użyte do badania asocjacji z zastosowaniem pomiarów przeniesienia energii. Ponadto otrzymano homo- i heterodimery tych peptydów dla zbadania ich wewnątrzcząsteczkowej asocjacji indukowanej wiązaniem jonów lantanowców. Podjęto badania peptydu 3 mające na celu zbadanie procesu powstawania helisy alfa w C końcowym odcinku łańcucha polipeptydowego. Syn-

teza peptydów została wykonana w pracowni prof. P.S.Kima w ramach współpracy z Whitehead Institute, MIT.

Temat 4.2: "Transport elektronów między rodnikowymi centrami w modelach peptydów i białkach"

Zespół: prof. Kazimierz L. Wierzchowski, dr Krzysztof Bobrowski, mgr Jarosław Poznański, mgr Krystyna Majcher

Kontynuowana była weryfikacja opracowanego przez nas wcześniej modelu wewnątrzcząsteczkowego przenoszenia elektronu w peptydach $\text{H-Trp-(Pro)}_n\text{-Tyr-OH}$, opartego na opisie właściwości konformacyjnych cząsteczek metodą molekularnej mechaniki. W tym celu metodą molekularnej dynamiki otrzymano zależność swobodnej energii peptydów od odległości między krawędziami aromatycznych pierścieni przez przestrzeń oraz wzdłuż wiązań łańcucha głównego. W jej świetle zderzenia między pierścieniami są możliwe wyłącznie w peptydach Trp-Tyr , Trp-Pro-Tyr i izomerze *all-trans* peptydu $\text{Trp-(Pro)}_2\text{-Tyr}$. Wniosek ten, jak też otrzymany rozkład odległości wzdłuż wiązań, okazały się zgodne z wynikami wcześniejszych obliczeń metodą molekularnej mechaniki. Metodą molekularnej dynamiki "umbrella sampling", umożliwiającą badanie przejść konformacyjnych o wysokiej energii bariery potencjału, zbadano rotacje zachodzące wokół wiązania $\text{C}^\alpha\text{-C(=O)}$ pierwszej reszty w dwupeptydach Trp-Pro , Pro-Pro i Pro-Tyr (w wodnym otoczeniu i $T = 300^\circ\text{K}$). Otrzymane wyniki dowodzą, że dominującą formą mostka $(\text{Pro})_n$ jest konformacja zbliżona do *all-trans* 3_1 heliksu poliproliny II oraz że przyjmuje ją już dwu-prolinowy fragment. Są one zgodne zarówno z wynikami naszych doświadczalnych badań metodami NMR i CD jak i modelowania metodą molekularnej mechaniki. Tak więc opis właściwości konformacyjnych badanych układów na gruncie molekularnej mechaniki okazał się wystarczający dla celów modelowania mechanizmu przenoszenia elektronu.

W celu stworzenia bardziej poprawnego fizycznie modelu przenoszenia elektronu przeprowadzono kwantowo-mechaniczne obliczenia orbitali

molekularnych (program MOPAC 6.0) 3-metyloindolu w stanie rodnikowym oraz p-krezolu, traktowanych jako modele reszt indolylowej i fenolowej w peptydach, a następnie całki nakrywania ich orbitali HOMO i LUMO dla różnych wzajemnych ułożeń obu aromatycznych reszt w przestrzeni konformacyjnej peptydów. Oszacowane w ten sposób wartości sprzężenia funkcji elektronowych donora i akceptora wykorzystano do obliczenia szybkości przeniesienia elektronu bezpośrednio między donorem i akceptorem i konstrukcji ogólniejszego, kwantowo-mechanicznego modelu przenoszenia elektronu w układach peptydowych. Model ten zastosowano z powodzeniem do interpretacji kinetyki przeniesienia elektronu w liniowych: Trp(Tyr)-(Pro)_n-Tyr(Trp) i cyklicznych peptydach: -L-Trp-L-Tyr-, -D-Trp-L-Tyr- i -Trp-(Pro)₂-Tyr-(Gly)₂-.

Przygotowano do publikacji i wysłano do International Journal of Peptide and Protein Research pracę przedstawiającą wyniki badań metodą CD konformacji trzech serii peptydów: X-(Pro)_n-Y (X = Trp, Tyr; Y = Tyr, Met).

PUBLIKACJE: 718/A, 726/A, 739/A, 3, 2951, 2952, 2966*, 2965*, 2967*, 2968*, 2969*, 2981*.

Temat 4.3: "Mechanizm inicjacji transkrypcji genów prokariotycznych"

Zespół: prof. Kazimierz L. Wierzychowski, dr Wiesław J. Smagowicz, dr Tomasz Łoziński (staż naukowy: Centrum Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Heidelbergu, RFN), mgr Iwona Kolasa

W celu wyjaśnienia źródła obniżonej i zróżnicowanej ruchliwości elektroforetycznej (PAGE) otwartych kompleksów transkrypcyjnych, utworzonych przez polimerazę RNA E.coli, na promotorach zawierających powyżej domeny -35 sekwencje A_n.T_n, zaginające oś heliksu DNA, zbadano w jaki sposób ruchliwość ta zależy od długości nici DNA poza obszarem sekwencji promotorowej. Porównanie ruchliwości kompleksów utworzonych na restrykcyjnych fragmentach SalI-HinfI (-250...+160), AluI-HinfI (-54...+160) oraz SalI-PflMI (-250...+57) zawierających promotory a(kontrolny), g(T₅:-34...-38), k(A₅:-37...41), l(T₅:-37...-41) oraz m(T₈:-34...-41) pokazało, że kompleksy z odciętą nicią DNA powyżej

pozycji -54 mają taką samą ruchliwość, podczas gdy odcięcie nici DNA poniżej pozycji +57 nie zmienia ich względnej ruchliwości. Obserwacje te wskazują, że polimeraza RNA kontaktuje się z nicią DNA, przypuszczalnie poprzez podjednostkę α , aż do rejonu -54 oraz, że zagięcie osi DNA w rejonie -34...-41 zmienia położenie DNA na powierzchni białka.

Dalsze badania metodą footprintingu KMnO_4 nad topologią budowy domeny jednoniciowego DNA w otwartym kompleksie transkrypcyjnym pokazały, że w kompleksach utworzonych na promotorze b (2 sekwencje $A_5.T_5$ łamiące oś heliksu w domenie łącznika) i promotorze d (łącznik zbudowany z sekwencji $A_{17}.T_{17}$ B'-DNA) dostępność reszt T w nie kodującej nici DNA nie zależy od obecności jonów Mg^{2+} . W kompleksach promotorów z łącznikiem o budowie normalnego B-DNA dostępność reszt T zmieniała się w charakterystyczny sposób pod wpływem związania 3 jonów Mg^{2+} . W celu wyjaśnienia wpływu tych sekwencji $A_n.T_n$ na budowę kompleksów podjęto porównawcze pomiary kinetyki izomeryzacji kompleksu zamkniętego w kompleksy otwarte RP_{01} i RP_{02} . W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Związek pomiędzy budową i aktywnością nieregulowanego promotora bakteryjnego w procesie inicjacji transkrypcji u E. coli" (G-21, kier. prof. Kazimierz L. Wierchowski). Poza planem naukowym Instytutu:

Prof. Kazimierz L. Wierchowski nadal uczestniczył w badaniach termodynamicznych właściwości wodnych roztworów alkilowanych pirymidynowych i purynowych zasad, prowadzonych w Zakładzie Kalorymetrii Instytutu Chemii Fizycznej PAN (prof. dr Wojciech Zielenkiewicz).

Publikacje: 2946*, 2963*, 2964*, 30005*, 2, 724/A, 725/A.

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

4.4.1 Czynniki wzrostu naskórka człowieka (hEGF)

Zespół: dr Krystyna Bolewska, mgr Andrzej Młynarczyk (od 15.09.1994) i Teresa Rak

Kontynuowano prace nad konstrukcją genu hEGF przystosowanego do wektora ekspresyjnego z liderową sekwencją wyprowadzającą białko do

ciałek inkluzyjnych w systemie E. coli wykorzystującym polimerazę RNA faga T7. Wektor ten otrzymano w darze od dr P.S. Kima (Whitehead Institute, MIT). Uzasadnienie decyzji o nowej konstrukcji tego genu podano w poprzednim sprawozdaniu. Analiza sekwencyjna skonstruowanego genu hEGF wprowadzonego do wspomnianego wyżej wektora wykazała powtarzającą się delecję jednej zasady w tym samym miejscu sekwencji. Błąd ten naprawiono metodą mutagenazy kierowanej syntetycznym oligonukleotytem (T.A. Kunkel, J.D. Roberts, i R.A. Zakour (1987) Methods in Enzymology 154, 367-382). Ze względu to, że w zastosowanym wektorze białko hEGF będzie syntetyzowane w postaci białka fuzyjnego i uwalniane chemicznie bromocyjanem w sekwencji białkowej hEGF należało też zamienić metioninę w pozycji 21 na leucynę. Zamianę odpowiedniego kodonu przeprowadzono metodą mutagenazy kierowanej syntetycznymi oligonukleotydami. Prace te są w toku.

Ponadto w ramach grantu G-1 skonstruowano syntetyczny gen kodujący składające się z 29 reszt aminokwasowych białko CMTI-I w którym ze względu na stosowany do ekspresji plazmid w jego naturalnej sekwencji aminokwasowej zamieniono metioninę w pozycji 8 na leucynę. Gen ten wprowadzono do odpowiedniego wektora ekspresyjnego. Metodą dideoxy potwierdzono prawidłową sekwencję genu. Opracowano warunki ekspresji tego genu w szczepie BL21(DE3)pLysS i metodę izolacji białka z ciałek inkluzyjnych.

Temat 4.4 "Klonowanie małych heterologicznych genów w mikroorganizmach"

4.4.2 "Inhibitor proteaz serynowych z roślin dyniowatych (CPTI II).

Ludzki czynnik wzrostu komórek naskórka (EGF)"

Zespół: prof. Magdalena Fikus, mgr Bożenna Rempoła, mgr Jolanta Topczewska

Dokonano rekonstrukcji sekrecyjnego wektora typu pIN-III-ompA z podstawie otrzymanego od Dr U. Hahna (Uniwersytet w Berlinie) plazmidu

niosącego gen kodujący RNAazę T1 (pA2T1). W zrekonstruowanym plazmidzie klonowany gen CPTI II znajduje się pod kontrolą konstytutywnego promotora *lpp* i regionu promotor/operator operonu *lac*, dołączony jest zgodnie z ramką odczytu do sekwencji kodującej peptyd wyprowadzający bakteryjnego białka *ompA* i dodatkowo regulowany sekwencjami terminacyjnymi transkrypcji. Strukturę zrekonstruowanego plazmidu ekspresyjno-sekrecyjnego wraz z klonowanym genem CPTI II skontrolowano w odpowiednich regionach oznaczając sekwencje nukleotydów.

Rekombinacyjne białko znajdowano poza komórką, wykazano jego brak w przestrzeni peryplazmatycznej. Poszukując maksymalnej wydajności jego syntezy i sekrecji przetestowano różne: podłoża, temperatury hodowli, stężenia induktora, fazy rozpoczęcia indukcji, czas po indukcji. Do dalszej pracy wybrano hodowlę w podłożu LB, w 37°C, indukcję w fazie logarytmicznej na czas 20 godzin.

Inhibitor wstępnie oczyszczono metodą chromatografii powinowactwa i oznaczono ilościowo. Oszacowano wydajność na ok. 60 mikrogramów w 1 litrze nadsącza hodowli.

W celu zwiększenia sekrecji hEGF w *S. cerevisiae* transformowanych plazmidem pYET-EGF zmodyfikowano w tym wektorze sekwencję kodującą peptyd wyprowadzający. Dodane sekwencje nukleotydowe powodują iż do C-końca peptydu toksyny killerowej dołączeniu ulega pięć ostatnich aminokwasów sygnalnego peptydu alfa faktora, dzięki czemu powstaje sekwencja przecinana przez peptydazę KEX2. Potwierdzono sekwencję nukleotydów w nowo połączonych fragmentach nukleotydowych modyfikowanego wektora, pYET-EGF2.

Temat 4.5: "Modelowanie struktury i funkcji białek"

Zespół: dr Piotr Zielenkiewicz, dr Danuta Płochocka

Na podstawie analizy częstości występowania czteroaminokwasowych fragmentów w reprezentatywnej bazie danych (stworzonej na podstawie bazy PIR) znaleziono, że niektóre fragmenty występują częściej lub rzadziej niż wskazuje na to obliczona z częstości występowania poszczególnych aminokwasów wartość oczekiwana. Wstępna analiza wskazuje,

że są to fragmenty często tworzące pętle w strukturze trzeciorzędowej białka. Nadmiarowa sekwencja PLPP, znaleziona również w krystalograficznej bazie danych, przyjmuje tę samą konformację w 5 różnych, nie-homologicznych białkach. Obliczenia dynamiki molekularnej połączone z analizą konformacyjną dla czteropeptydów PXPP wskazują, że struktura PXPP jest usztywniona, gdy X jest resztą o większej objętości niż walina, a np. gdy X=Gly, wówczas otrzymuje się całą rodzinę możliwych ustawień.

Zaproponowano nową metodę modelowania struktury trzeciorzędowej białka na podstawie porównania rozkładu reszt hydrofobowych i hydrofiliowych z białkiem o znanej strukturze krystalograficznej. Metodę tę zastosowano do opracowania modelu białka VPg wirusa Y (PVY) o znanej sekwencji aminokwasowej. Znaleziono, że profil hydrofobowo - hydrofiliowy tego białka jest najbardziej zbliżony do profilu dehydrogenazy jabłczanowej (PDB). Na podstawie grafiki molekularnej (INSIGHT) oraz minimalizacji energii zaproponowano trójwymiarową strukturę białka VPg. Ponieważ wiadomo, że białko to wiąże się kowalencyjnie z wirusowym RNA poprzez jedną z tyrozyn, przeprowadzono również modelowanie kompleksu białko - fragment RNA dobierając najbardziej prawdopodobne oddziaływania dodatnio naładowanych reszt powierzchniowych białka z łańcuchem fosforanowym RNA oraz prowadząc bliczenia minimalizacji energii.

We współpracy z Freie Universitat Berlin wykonano pełną symulację dopasowania dwu cząsteczek lizozymu z jaja kurzego. Wyniki posłużą do sparametryzowania dynamiki brownowskiej w taki sposób, aby było możliwe uwzględnienie anizotropii oddziaływań pomiędzy monomerami.

Dr P. Zielenkiewicz wygłosił na FUB w ramach Sonderforschungsbereich 344. wykład p.t.: "Theoretical studies of aggregation processes in protein precrystallization conditions".

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Zwijanie i specyficzne rozpoznawanie białek" (G-9, kier. dr P.Zielenkiewicz).

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

A. "Rola 20-hydroksyekdyzonu i hormonu juwenilnego w ekspresji genów u *Galleria mellonella*"

Zespół: dr Krystyna Grzelak, dr Barbara Kłudkiewicz, techn. Krystyna Gocman

Z badań nad zdefiniowanym genem Lhp-82, kodującym białko hemolimfy larw *Galleria mellonella* wynika, że we wczesnej fazie stadium poczwarki 20-hydroksyekdyzon hamuje transkrypcję tego genu. Jest to zgodne z hipotezą, że wysoki wzrost poziomu endogennego ekdysteroidu obserwowany w początkowym okresie stadium poczwarki /24 godz./, który inicjuje rozwój dorosłego owada w nieobecności JH, całkowicie wygasza ekspresję genu Lhp-82.

Badania te prowadzone były we współpracy z zespołem prof. A.K. Kumara-na z Marquette University, Milwaukee USA.

B. "Wpływ neurohormonów peptydowych na syntezę białek u owadów"

Zespół: dr Joanna Michalik, dr Ewa Szołajska

W badaniach nad udziałem neuropeptydów w regulacji syntezy witellogeniny u *Tenebrio molitor* określono zawartość tego białka w cieple tłuszczowym i hemolimfie w kolejnych dniach pierwszego cyklu gonadowego dorosłej samicy.

Kontynuowano we współpracy z dr J.Chroboczek z Instytutu Biologii Strukturalnej w Grenoble we Francji prace nad uzyskaniem transformanta bakulowirusa z sekwencją dla poneratoksyny oraz sekwencją sekrecyjną dla hormonu diuretycznego, pochodząca z plazmidu pDH 7.0. Uzyskanie w trzech cyklach PCR pełnej sekwencji genu z poprzedzającą go sekwencją sekrecyjną wymaga użycia czterech syntetycznych primerów. Uzyskana przez nas konstrukcja zawierała dwie delecje punktowe, co zmusza nas do powtórnej syntezy i klonowania całego fragmentu.

Od 1 czerwca do 30 listopada 1994 współpracowała z zespołem dr Halina

Turkowska z Instytutu Biologii Molekularnej z Kijowa pobierająca 6-miesięczne stypendium EFS.

PUBLIKACJE: 3000, 2988, 2953, 2986, 719/A

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

Zespół: prof. Włodzimierz Zagórski, dr Marek Wełnicki, mgr Anna Chachulska, mgr Anna Góra, Elżbieta Nowak

Kontynuowano prace nad ustalaniem sekwencji nukleotydowej wybranych regionów genomu trzech polskich izolatów wirusa PVY (PVY^N Nysa i Wilga oraz PVY^O Lipiński Wczesny). Ukończono pracę nad sekwencjonowaniem genu białka płaszcza (CP), długości 804 nt, uzyskując wyniki świadczące o występowaniu dużego zróżnicowania w obrębie szczepu nekrotycznego PVY: identyczność sekwencji nukleotydowych dwu izolatów nekrotycznych wynosiła tylko 90%. Z kolei PVY^N Nysa i PVY^O Lipiński Wczesny są podobne do siebie prawie w 100% (99.8%, jeden odmienny aminokwas). Wyniki te, podobnie jak otrzymane wcześniej sekwencje części 5' genomu PVY, prowadzą do wniosku, iż dotychczasowa klasyfikacja izolatów PVY (oparta na symptomach wywoływanych na tytoniu) nie jest zgodna z klasyfikacją opartą na danych sekwencyjnych oraz że białko płaszcza nie jest bezpośrednio związane z patogennością wirusa. Zamplifikowano także i otrzymano sekwencję fragmentu polimerazy PVY^N Wilga (długości 220 nt) i regionu niekodującego 3' PVY^N Nysa (długości 330 nt).

Prowadzono także prace nad otrzymaniem roślin transgenicznych, opornych na wirusa PVY. W pierwszym etapie pracy uzyskano wektory binarne, służące do transformacji roślin drogą agroinfekcji, zawierające fragment polimerazy PVY^N (długości 1.2 kb), pozbawiony kodonu inicjującego i ostatnich 400 nt. Fragment ten sklonowano w obu orientacjach, aby otrzymać w roślinach ekspresję sensownego i antysensownego RNA, umieszczając go pod promotorem 35S CaMV lub za zmutowanym uprzednio drogą ukierunkowanej mutagenazy genem tRNA^{leu}, jako promotorem

polimerazy III. Dwóch różnych promotorów użyto w celu uzyskania odpowiedniego poziomu ekspresji i obróbki produktu. Otrzymane konstrukty wprowadzono do *Agrobacterium tumefaciens* na drodze elektroporacji i rozpoczęto transformację różnych odmian tytoniu i ziemniaków poprzez agroinfekcję. Jako kontroli używano plazmidów zawierających gen GUS. Otrzymano transgeniczne rośliny tytoniu odmiany Xanthi, zawierające cDNA PVY (co wykazano metodą PCR, amplifikując fragment polimerazy PVY w genomowym DNA badanych roślin).

Kontynuowano także badania nad genetyczną stabilnością poszczególnych wariantów sekwencyjnych wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka PSTVd. Wyizolowano RNA z roślin zakażonych plazmidami niosącymi kopie cDNA tych wariantów. Otrzymano cDNA i sklonowano w wektorze pUC9. Zsekwencjonowano cDNA wariantu molekularnego s27, M, i2 oraz przygotowano matryce do sekwencjonowania pozostałych wariantów (s23, i3, i4). Przeprowadzono badanie infekcyjności mutantów sekwencyjnych wykrytych po 1 pasażu roślin.

W doświadczeniach dotyczących wpływu domeny P i V na patogenność i replikację PSTVd badano infekcyjność sześciu skonstruowanych plazmidów rekombinacyjnych tego wiroida. Rośliny pomidora odmiany Rutgers zakażono plazmidami rekombinacyjnymi i obserwowano objawy porażenia w okresie od 2 do 8 tygodni od zakażenia. Liście pobierane z każdej rośliny w okresach jedno tygodniowych zostały użyte do oszacowania względnego stężenia wiroida w roślinie metodą hybrydyzacji plamowej.

Zakończono prace nad diagnostyką PLRV, PSTVd i PVY przy zastosowaniu sondy p3POT, zawierającej fragmenty cDNA tych trzech patogenów wprowadzone do wektora pUC18.

Sonda p3POT została wyznakowana digoxigeniną metodą "random primers", a następnie została użyta do detekcji PSTVd, PVY i PLRV w surowych (nie oczyszczanych) ekstraktach otrzymanych z roślin uprzednio zainfekowanych tymi patogenami. Wyniki potwierdzają wysoką wiarygodność diagnostyki opartej na sondach nie radioaktywnych. Badane patogeny wykrywano w próbach rozcieńczonych od 256 (PLRV, PSTVd) do 1024 (PVY) razy, podczas gdy zarówno próbki z roślin zdrowych, jak i zakażonych innymi wirusami ziemniaka (PVX, PVS, PVM) nie przyłączały

sondy.

Potwierdzono również skuteczność sondy w wykrywaniu szerokiego spektrum szczepów badanych patogenów. Wynika to z faktu zastosowania odcinków cDNA obejmujących konserwatywne fragmenty patogennego RNA, co potwierdzono sekwencjonowaniem sondy.

We współpracy z grupą dr Piotra Zielenkiewicza opracowano model przestrzennej struktury białka VPg PVY. Wykorzystano tu sekwencję genu VPg wirusa otrzymaną po sekwencjonowaniu wstawki cDNA PVY z plazmidu PVY15. Porównanie sekwencji białkowej VPg z danymi zawartymi w banku sekwencji ujawniło podobieństwo do dehydrogenazy jabłczanowej, wyrażające się rozkładem charakteru aminokwasów w obrębie obu białek. Okazało się, iż w zaproponowanym modelu przestrzennej struktury VPg regiony stanowiące centrum wiążące i katalityczne enzymu odpowiadają fragmentom VPg o silnie zachowanej sekwencji wśród Potywirusów. Również tyrozyna, wiążąca kowalencyjnie VPg do RNA, w opracowanym modelu znajduje się w miejscu dostępnym dla tworzenia wiązania. Opierając się na tych danych opracowano drugi model, w którym białko VPg związane jest, poprzez tyrozinę, z 11-o nukleotydową cząsteczką RNA odpowiadającą 5'-końcowemu fragmentowi RNA PVY.

Podczas pobytu w Laboratoire de Biologie Cellulaire INRA A.Chachulska wygłosiła referat pt. "Engineering of potato Y resistance in potato - different strategies". ("Analiza molekularna wybranych regionów genomu polskich izolatów wirusa PVY i strategie otrzymywania roślin opornych").

Badania były prowadzone przy współpracy z ośrodkami francuskimi: Station de Pathologie Vegetale, INRA, Villenave d'Ornon i Laboratoire de Biologie Cellulaire INRA, Centre de Versailles.

W zespole realizowano i zakończono w roku sprawozdawczym projekt badawczy KBN pt. "Konstrukcja plazmidów niosących kopie genów wiroidów i wirusów ziemniaczanych - struktura i biosynteza tych patogenów" (G-6, kier. prof. W.Zagórski).

PUBLIKACJE: 3002, +3010, 711/A, 712/A, 714/A

Temat 7: "Cięcie i składanie genomu wiroida PSTVd"

Zespół: prof. Przemysław Szafrński, dr Marek Wełnicki, mgr Jerzy Pawłowicz

Do badań nad możliwością cięcia genomu PSTVd zastosowano rybozomy. Chemicznie zsyntetyzowano nić (+) i (-) DNA rybozomu HP1 typu "hairpin", zaprojektowanego tak, aby specyficznie rozpoznawał odcinek RNA PSTV pomiędzy 196 a 209 nukleotydem. Otrzymany dwuniciowy DNA rybozomu sklonowano w wektorze ekspresyjnym pGEM3Z. Jako matrycę do syntezy substratu dla enzymu zastosowano cDNA PSTV pełnej długości, przeklonowany z plazmidu pAV401 do wektora pGEM3Z. Sekwencjonowanie obu konstruktów potwierdziło poprawność syntezy i klonowania, a także pozwoliło stwierdzić, iż synteza rybozomowego RNA oraz transkryptu (+) PSTV RNA odbywa się z promotora SP6. Wstępne próby uzyskania specyficznego przecinania PSTV RNA przez rybozym nie przyniosły dotychczas pozytywnych wyników. Trwają prace nad zastosowaniem zmodyfikowanego substratu dla rybozomu HP1, a także nad użyciem pozostałych zaprojektowanych rybozymów.

PUBLIKACJE: 713/A

Temat 8: "Sekuencjonowanie genomu drożdży"

Zespół: prof. W. Zagórski, mgr Marek Zagulski, mgr Robert Gromadka, mgr Andrzej Migdalski, mgr Jerzy Pawłowicz, mgr Jolanta Sulicka, Beata Babińska, Danuta Sielska

Badania nad strukturą i funkcją genomu drożdży *S.cerevisiae* prowadzone są w ramach współpracy z zespołem prof. P.P. Słonimskiego z Centrum Genetyki Molekularnej, CNRS, Gif-sur-Yvette.

Zakończono sekwencjonowanie fragmentu 24 kb z kosmidu *alfa-103* z prawego ramienia chromosomu X. W obrębie ustalonej sekwencji znaleziono cztery kompletne otwarte ramki odczytu. Analiza komputerowa sekwencji aminokwasowych przewidywanych produktów tych ORFów wykazała następujące podobieństwa: L2 do bakteryjnej epimerazy L-rybu-lozo fosforanu, L3 do ludzkiej di-oksygenazy kwasu 3-hydroksy antranilowego, R2 do drożdżowego białka SEC7p a R3 do *cis-trans* izomeraz peptydy-

lo - prolinowych.

Wykazano również, że tandemowa insercja Ty1, znaleziona w sekwencjonowanym fragmencie, nie występuje we wszystkich szczepach drożdży a niekompletne ORFy L4 i R4 są fragmentami jednego genu "zinaaktywowanego" przez insercję Ty1. Rozpoczęto analizę funkcji genu YBR1119, kodującego ATP zależną helikazę RNA. Inaktywacja genu wskazała, że helikaza ta jest niezbędna dla życia komórki. Metodami analizy genetycznej wykazano alleliczność genu YBR1119 i MAK5. Kontynuowane są prace nad funkcjonalną analizą nowo odkrytych ORF-ów chromosomu III.

W okresie sprawozdawczym w ramach projektu sekwencjonowania genomu drożdży zsekwencjonowano 300 000 nukleotydów.

PUBLIKACJE: +2970, +2980, +2984, 738/A

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

Zespół: prof. Jerzy Buchowicz, dr Marta Dobrzańska, dr Elżbieta Kraszewska, dr Maria Bucholc, mgr Blanka Szurmak, mgr Jolanta Zaim, mgr Marek Koter

Kontynuowano izolację i identyfikację składników pozachromosomalnej frakcji jądrowego DNA pszenicy. Standardową metodę wybiórczej ekstrakcji plazmidowego DNA (Sambrook et al., 1989. Molecular Cloning, p. 1.36) zastosowano do izolowanych jąder komórkowych jako bezpośredniego źródła pozachromosomalnego DNA. Sekwencje oskrzydłone odwróconymi powtórzeniami telomerowymi powielano metodą PCR. Główny produkt amplifikacji sklonowano i zsekwencjonowano. Okazał się nim odcinek DNA o długości 637 par zasad (pz). W tej liniowej, dwuniciowej cząsteczce (w EMBL ma nr rej. X73235) krótkie (28 pz) odcinki telomerowe obramowują sekwencję unikalną (581 pz), której zasadniczą część wyczerpują dwie otwarte ramki odczytu tej samej fazy (bez homologii do znanych białek). W ramach nietelomerowej części sklonowanego fragmentu wyróżnić też można elementy strukturalne typowe dla autonomicznie replikujących się sekwencji, regionów wiążących się wybiórczo z białkami macierzy jądrowej, miejsc wiążących białko regulacyjne RAP1 i bloków uczestniczących w reak-

cji rośliny na fitohormon ABA. Cechy te wskazują, że opisana struktura może reprezentować naturalnie występujący minichromosom roślinny. Jest on dostępny do dalszych badań i przechowywany w formie plazmidu o symbolu pTa637.

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN: "Próba konstrukcji sztucznych chromosomów przydatnych do transformacji roślin jednoliściennych" (G-18, kier. dr M.Dobrzańska).

PUBLIKACJE: 2996, 7/N, 20/N

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

Zespół : prof. Lidia-Danuta Wasilewska, dr Bogusław Kwiatkowski (od 15.03.94 r. w USA), mgr Anna Zielińska-Kwiatkowska (od 15.03.94 r. w USA), mgr Waldemar Krajewski (zatrudniony na 1/2 etetu od 16.03.94r.)

W okresie sprawozdawczym kontynuowano badania nad charakterystyką sklonowanych sekwencji cDNA dla wybranych białek roślinnych. Podczas sekwencjonowania natrafiono wśród wyselekcjonowanych rekombinantów z banku klonów cDNA *Zea mays* (w ekspresyjnym wektorze lambda Uni-ZAP-XR) na sekwencje wykazujące bardzo wysoką homologię do dwóch nowych klas białek roślinnych, zależnych od wapnia, typu kalneksyny (CNX - klon nr. 1) oraz kalretikuliny (CRH - klon nr. 2). Analiza komputerowa zsekwencjonowanych insertów wykazała, że:

a) Klon nr. 1 zawierający cDNA *Zea mays* o rozmiarach 1716 p.z. przekłada się na sekwencję aminokwasową białka od 166-go do 1450-go nukleotydu kodującej nici cDNA. Sekwencja ta (428 reszt aminokwasowych) wykazuje 72% homologii do sekwencji aminokwasowej kalneksyny przetłumaczonej z sekwencji nukleotydowej cDNA *Arabidopsis thaliana*, jakkolwiek jest niepełna, gdyż brakuje ok. 110 reszt aminokwasowych od N-terminalnego końca kalneksyny *Zea mays*.

b) Klon nr. 2 zawierający cDNA *Zea mays* o rozmiarach 1183 p.z. przekłada się na sekwencję aminokwasową białka (321 reszt aa) w obrębie od 1-go do 963-go nukleotydu kodującej nici cDNA. Sekwencja ta wykazuje niezwykle wysoką (90%) homologię do sekwencji aminokwasowej

kalretikuliny przetłumaczonej z sekwencji nukleotydowej cDNA *Hordeum vulgare*. Podobnie jak w przypadku kalneksyny *Zea mays*, sekwencja aminokwasowa kalretikuliny jest niekompletna, gdyż brak jej ok. 90 reszt aminokwasowych od N-terminalnego końca.

Obydwa białka mają charakterystyczne dla wiązania wapnia wewnętrzne motywy heksapeptydu KPEDWD powtórzone w sekwencji kalneksyny trzykrotnie oraz w sekwencji kalretikuliny dwukrotnie. C-terminalny fragment kalretikuliny *Zea mays* (54 aa) jest niezwykle bogaty (32 aa) w reszty kwasu asparaginowego i kwasu glutaminowego, co jest cechą charakterystyczną wszystkich poznanych dotąd kalretikulin pochodzenia zwierzęcego. Ponadto, zarówno kalretikulina *Zea mays* jak i *Hordeum vulgare* mają na C-terminalnym końcu identyczny pentapeptyd KHDEL, który stanowi sygnał rozpoznawczy dla miejsca wiązania się tych białek błonowych.

Obydwie nowopoznane sekwencje uzyskały rejestrację w EMBL Data Library pod numerami:

KALNEKSYNA - X77569 *Zea mays* CNX mRNA

KALRETIKULINA - X78057 *Zea mays* CRH mRNA

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

Zespół: prof. Tadeusz Chojnacki, Józefina Hertel, dr Wiesław

Jankowski, mgr Elżbieta Skoczylas, mgr Elżbieta Soszyńska,
dr Ewa Świeżewska, mgr Roland Woldański

Prowadzono badania nad prenylacją białek roślinnych *in vitro*. Określono wstępnie specyficzność prenylotransferaz białkowych z liści szpinaku w stosunku do różnych reszt prenylowych: typowych jak difosforan farnezyli i geranylogeranyli oraz nietypowych - difosforan fityli, solanezyli, undekaprenyli. Jako akceptor stosowano nonapeptyd KSLTGCVIM. Określono optymalne warunki działania enzymu, porównano aktywność enzymu uzyskanego ze szpinaku i innych roślin. Rozpoczęto próby czyszczenia białkowych prenylotransferaz roślinnych.

Kontynuowano badania chemotaksonomiczne nad występowaniem

długołańcuchowych poliprenoli u poszczególnych taksonów roślin. W obrębie rodziny *Sapindaceae*, u której dwu przedstawicieli wykryto uprzednio występowanie poliprenoli dłuższych niż typowe dla większości okrytozalążkowych C_{55} -prenole, potwierdzono powszechność występowania C_{55-85} prenoli. Wyizolowane uprzednio z *Nephelium litchi* i *Euphoria longean* znaczne ilości C_{65} -, i C_{70} - prenoli posłużyły do porównania metodami NMR i MS ich struktury ze strukturą poliprenoli o identycznej długości łańcucha wyizolowanych z igieł roślin okrytozalążkowych i wykazania ich odmienności polegającej na konformacji jednej z reszt izoprenowych -*trans* u *Sapindace*, tak jak u większości roślin okrytozalążkowych, i -*cis* u nagozalążkowych.

Rozszerzono do ok. 20 przegląd gatunków roślin z rodziny *Combretaceae* zawierających najdłuższe z dotychczas opisanych, kauczukopodobne poliprenole (do 100 reszt izoprenoidowych w cząsteczce) - wyizolowano frakcje czystych poliprenoli w celu wykonania dalszych badań.

Zbadano skład lipidów epikutikularnych liści wiesiołka dziwacznego *Oenothera paradoxa* wykazując unikalne występowanie w tej frakcji poza 25 innymi scharakteryzowanymi klasami lipidów około 30% kwasu α -linolenowego. Ta odkryta na niżu środkowoeuropejskim 25 lat temu roślina olejodajna jest powstałym spontanicznie agresywnym hybrydem kolonizującym silnie zdegradowane aczkolwiek dobrze nasłonecznione stanowiska np w Górnośląskim Okręgu Przemysłowym. Uprawa *Oenotera paradoxa* rozpoczęta około 10 lat temu niezwykle dynamicznie rozwija się w Polsce, a tłoczony z nasion na zimno dziewiczy, nie wymagający rafinacji olej zawierający znaczne ilości kwasu γ -linolenowego jest cennym, aktywnym składnikiem wielu leków antymiażdżycowych, immunostymulacyjnych i kosmetyków. Olej tłoczony z nasion *Oe. paradoxa* uprawianego biodynamicznie otrzymał w 1994 r nominację do nagrody "Teraz Polska".

Wykonano preparatyki unikalnych prenylofosforanów (m.in. dekaprenylofosforan) do badań nad biosyntezą arabinogalaktanu u prątków (m.in. *Mycobacterium phlei*) we współpracy z Dr B.Wołodzką, Louvain.

Kontynuowano współpracę z Prof. G. Dallnerem, Sztokholm nad biosyntezą dolicholu i ubichinonu w wątrobie szczura oraz plastochinonu i

innych izoprenoidów w szpinaku.

We współpracy z Ogrodem Botanicznym w Kew, Wlk. Brytania zebrano kolekcję roślin do dalszych badań chemotaksonomicznych.

W zespole realizowane są badania w ramach projektów badawczych KBN pt. "Naturalne i syntetyczne alkohole poliizoprenoidowe; poszukiwanie nowych koenzymów transglikozylacji" (G-15, kier. prof. T. Chojnacki) i "Grupy prenylowe w posttranslacyjnej modyfikacji białek roślinnych" (G-16, kier. dr E. Kula-Świeżewska).

PUBLIKACJE: +2949, 2992, 2999, +3003, 3008, 695/A, 696/A, 750/A.

Temat 13: "Właściwości wybranych enzymów przemiany purynowej"

Zespół: prof. Maria Monika Jeżewska, mgr Halina Trembacz,
technik Grażyna Jewdoszuk

Kontynuowano badania nad właściwościami dwóch białek o aktywności fosforylasy adenozynowej wyizolowanych z przywry *Fasciola hepatica*. Za pomocą chromatografii kolumnowej na Sephadex G-150 i G-100 uzyskano rozdział każdego z tych białek na dwa piki białkowe odpowiadające formie monomerycznej i trimerowej. Dla obu białek trimerowych oznaczono stałe Michaelisa dla adeniny i rybozo-1-fosforanu, a w przypadku trimery o mniejszym ciężarze cząsteczkowym także dla adenyzy i fosforanu nieorg. Równowaga katalizowanej reakcji była przesunięta silnie w stronę syntezy, a optimum pH wynosiło około 6.5. Oba białka enzymatyczne katalizowały fosforolizę Ado, 2'-dAdo i 5'-MetS-Ado. Aktywność wobec Ado odróżnia białka enzymatyczne z *F. hepatica* od fosforylasy 5'-MetS-Ado człowieka, która nie działa na Ado.

Oznaczono aktywność AdoPho, InoPho. APRTazy, HGPRTazy i ADA w larwie i poczwarcie *Tenebrio molitor*, larwie i postaci dorosłej *Drosophila melanogaster* oraz w ciele tłuszczowym *Gromphadorphina coquereliana*. We wszystkich przypadkach stwierdzono obecność syntetyzującej aktywności fosforylasy adenozynowej, co w połączeniu z poprzednio uzyskanymi danymi dla ślimaków i przywr wskazuje na powszechność występowania tego enzymu u bezkręgowców.

PUBLIKACJE: 2982, 721/A, 722/A, 723/A

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

Zespół: prof. Grażyna Muszyńska, mgr Jadwiga Szczegielniak,
mgr Joanna Trojanek; pozostali pracownicy zespołu poza
granicami kraju: dr G.Dobrowolska (USA), mgr I.Jagiełło
(Belgia)

Poziom fosfotyrozyny (P-Tyr) w białkach siewek kukurydzy jest podobny do poziomu w komórkach transformowanych i wielokrotnie wyższy niż w normalnych komórkach ssaczych. Wykazano, że w siewkach kukurydzy obecne są kinazy białkowe odpowiedzialne za fosforylację tyrozyny w peptydach poly (Glu Tyr) 4:1 i angiotensynie Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe). Jony Mn^{2+} efektywnie stymulują fosforylację zarówno egzogennych peptydów jak i endogennych białek o masie cząsteczkowej 44 i 65 KDa. Fosforylacja białka 44 KDa jest całkowicie zależna od obecności jonów Mn^{2+} , natomiast białko o masie 65 KDa może być częściowo fosforylowane w obecności jonów Mg^{2+} .

Wyniki badań immunologicznych i enzymatycznych wskazują, że fosforylacja tyrozyny w cytozolowych białkach siewek kukurydzy jest w głównej mierze stymulowana przez jony Mn^{2+} . Podobnie, fosforylacja roślinnych białek błonowych jest zależna od jonów Mn^{2+} , natomiast fosforylacja zwierzęcych białek błonowych jest zależna od jonów Mg^{2+} . Wyniki wskazują, że metabolizm roślin może być regulowany poprzez system kinaz białkowych zależnych od jonów manganowych. Część badań zrealizowano we współpracy z Instytutem Chemii Medycznej i Fizjologicznej Uniwersytetu w Uppsali (Szwecja).

W zespole realizuje się prace w ramach grantu KBN "Charakterystyka roślinnych kinaz białkowych C i kinaz tyrozynowych oraz badanie ich udziału w przekazywaniu sygnałów" (G-20, kier. G.Muszyńska).

PUBLIKACJE: +3009, 751A.

Temat 15: "Aktywność fosfataz izolowanych z kukurydzy"

dr hab. Teresa Sawicka

Kontynuowano współpracę z Zakładem Fizjologii i Odporności Roślin Inst. Biologii Eksperymentalnej U.W. w temacie: "Wpływ niskich temperatur na aktywność enzymów związanych ze ścianą komórki roślinnej". Opracowywano i poprawiano pracę p.t. Soluble and cell wall-associated β -galactosidases from the cold-grown winter rape /*Brassica napus* L., var *oleifera* L./ leaves. Opracowano teoretycznie i ułożono plan pracy eksperymentalnej w temacie "Wpływ niskich temperatur na aktywność metyloesterazy pektyn związanej ze ścianą komórkową liści rzepaku". Likwidowano pracownię.

Temat 16: "Enzymy nukleolityczne roślin wyższych"

Zespół: prof. Jan W. Szarkowski, dr Elżbieta Kuligowska, dr Anna Przykorska, dr Grzegorz Przewłocki, dr Maria A. Siwecka, dr Dali Gaganidze, mgr Magdalena Mońko, mgr Joanna Gabryszuk, Danuta Klarkowska

Uprzednio stwierdzono, że nukleaza ze stromy chloroplastów liści pszenicy specyficzna do struktur jednoniciowych atakuje kolisty DNA o strukturze superhelikalnej plazmidu ϕ X174 i plazmidu pBR322. Obecnie wykazano, że aktywność enzymu wobec superspiralnego DNA plazmidu pBR322 jest zależna od siły jonowej. Niskie stężenie NaCl (10 mM) nie powoduje hamowania aktywności enzymu wobec superspiralnego DNA, natomiast 100 mM i wyższe stężenia prawie całkowicie hamują przekształcanie formy superspiralnej do formy kolistej. Obserwowane tak szybkie obniżenie aktywności w miarę wzrostu siły jonowej nie wpływa na enzym lecz powoduje zacieśnianie struktury drugorzędowej substratu i zanik miejsc dostępnych dla badanego enzymu. Dla sprawdzenia czy powstające cząsteczki liniowe DNA mają wyraźnie tzw. lepkie końce, zbadano jaki wpływ ma ogrzewanie produktów enzymatycznej degradacji plazmidu na ilość powstającej formy liniowej. Ogrzewanie powodowało zwiększenie ilości formy liniowej, co pozwala przypuszczać, że nukleaza przecina dwa łańcuchy tworzące cząsteczkę DNA w pozycjach nie leżących na przeciwko sobie. Cząsteczki liniowe uzyskane po trawieniu

DNA tym enzymem mają prawdopodobnie "lepkie końce" ułatwiające ewentualne łączenie się ich za sobą.

Stwierdzono, że właściwości nukleazy ze stromy chloroplastów, takie jak: aktywność w szerokim zakresie pH, niski ciężar cząsteczkowy, oraz to, że enzym wymaga obecności dwuwartościowych jonów czynią z badanej nukleazy dobrą sondę enzymatyczną dla badań struktury kwasów nukleinowych. Wysoką specyficzność tego enzymu do struktur jednoniciowych potwierdziły badania drugo- i trzeciorzędowej struktury eukariotycznego selenocysteinowego tRNA^{Sec}.

Kontynuowano badania nad wykorzystaniem enzymów nukleolitycznych z roślin wyższych do badania przestrzennej struktury tRNA.

Całkowite, natywne tRNA różnią się stabilnością i niektórymi elementami struktury przestrzennej od odpowiadających im niezmodyfikowanych transkryptów.

Dla tRNA selenocysteinowego (tRNA^{Sec}) znany jest model struktury drugo- i trzeciorzędowej oparty na badaniach przeprowadzonych dla niezmodyfikowanego transkryptu tRNA^{Sec} z *Xenopus laevis*. Aby zbadać wpływ modyfikacji nukleozydów na strukturę przestrzenną selenocysteinowego tRNA poddaliśmy analizie strukturalnej natywny, całkowicie zmodyfikowany tRNA^{Sec} z wątroby wołu, a otrzymane wyniki porównaliśmy z danymi uzyskanymi w analogicznych badaniach przeprowadzonych na transkrypcie tRNA^{Sec} z *Xenopus laevis*. Oba tRNA mają niemal identyczną sekwencję nukleotydów z jedną tylko różnicą w pozycji C9, która w natywnej cząsteczce zastąpiona jest przez U9. Natywny tRNA^{Sec} posiada ponadto 4 zmodyfikowane nukleozydy: mcm⁵U34, i⁶A37, U53 i m¹A58.

W obu seriach badań, jako sondy strukturalne użyto dwie nukleazy roślinne specyficzne do jednoniciowych kwasów nukleinowych, wyizolowane i oczyszczone wcześniej w naszym laboratorium (nukleaza Rn z jąder komórkowych zarodków żyta i nukleaza ChS z chloroplastów pszenicy) oraz nukleazę V1- enzym specyficzny do struktur dwuniciowych lub uwikłanych w oddziaływania trzeciorzędowe.

Wykazaliśmy, że natywny tRNA^{Sec} posiada, podobnie jak transkrypt, unikalną strukturę przestrzenną, charakteryzującą się między innymi przedłużonym ramieniem aminoacylowym, małą pętlą D (4 nukleotydy) i

przedłużoną helikalną częścią tego ramienia. W odróżnieniu od niezmodyfikowanego transkryptu antyodon natywnej cząsteczki tRNA^{Sec} jest słabiej dostępny dla nukleazy Rn, co może świadczyć, że obecne w pętli antyodonu modyfikacje, zmieniają konformację cząsteczki w tym rejonie.

Z drugiej strony, ramię dodatkowe w natywnym tRNA^{Sec}, było lepiej dostępne dla obu enzymów specyficznych wobec jednoniciowych kwasów nukleinowych, co mogłoby wskazywać, że w zmodyfikowanym tRNA^{Sec} ramię dodatkowe posiada rozluźnioną strukturę i jest wyeksponowane na zewnątrz całej cząsteczki, co najprawdopodobniej posiada związek z nietypową funkcją tego tRNA.

Wyniki badań uzyskano we współpracy z Instytutem Biologii Molekularnej i Komórkowej w Strasbourgu, Francja.

Podjęto też próbę wyizolowania z komórek ludzkich RNazy indukowanej przez interferon. Enzym ten częściowo oczyszczono stosując wysalanie siarczanem amonu i chromatografię w systemie FPLC. Prace te prowadzone są we współpracy z Instytutem Pasteura w Paryżu, Francja.

Z naszych uprzednich badań wynikało, że nukleaza związana z rybosomami zarodków żyta i mająca zdolność hydrolizowania jedno- i dwuniciowego RNA ma również zdolność degradowania natywnego i zdenaturowanego DNA.

W obecnym okresie sprawozdawczym zbadano działanie oczyszczonego enzymu na superspiralny, dwuniciowy DNA fagowy ϕ X174 DNA. Wykazano, że enzym przekształca całkowicie formę superspiralną ϕ X174 DNA w formę kołową i liniową.

Potwierdzono budowę podjednostkową enzymu przeprowadzając jego preparatykę z dodatkiem i bez 2-merkaptoetanolu. W obu przypadkach uzyskano w elektroforezie na żelu poliakrylamidowym dwa pasma o masie cząsteczkowej 57 000 D i 62 000 D. Uzyskany wynik świadczy o tym, że obie podjednostki nie są związane mostkiem dwusiarczkowym.

Opracowano warunki przechowywania oczyszczonego enzymu. Wykazano, że dodatek glicerolu w stężeniu 40% stabilizuje jego aktywność wobec poli (I) poli(C) i po zamrożeniu, a następnie odmrożeniu utrzymuje jego aktywność w 80%.

Badania realizowano z udziałem stypendystek EFS: dr T.Ustinnikowej i M. Turiszczewy z Instytutu Biochemii im. Bacha w Moskwie.

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Nukleaza związana z rybosomami zarodków żyta, hydrolizująca dwuniciowe RNA: oczyszczanie, jej aktywatory i inhibitory" (G-26, kier. dr M.A.Siwecka) oraz grant francuski pn. "Post - transkrypcyjna modulacja ekspresji genu CFTR przez IFN γ - RNazy indukowane przez interferon" (kier. dr G.Przewłocki).

W ramach współpracy z CNR dr Maria A. Siwecka przebywała na Uniwersytecie w Weronie, w Instytucie Chemii Biologicznej w okresie od 5.12. - 12.12.1994 r., gdzie wygłosiła referat p.t.: "Ribosomal nucleases degrading single- and double-stranded RNA: purifications and properties"

PUBLIKACJE: 732/A, 727/A, 731/A, 756/A, 2998.

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

Zespół : doc. Bernard Wielgat, prof. Kazimierz Kleczkowski, dr Jacek Hennig, dr Urszula Maciejewska, dr Anna Szczerbakowa, mgr Maria Borkowska, mgr Magdalena Krzymowska, mgr Andrzej Talarczyk, Malik Fateh Muhammad Awan (doktorant), Robert Brodzik (magistrant z U.W.).

Kultury tkankowe i komórkowe są podstawowym modelem naszych badań dotyczących odporności ziemniaka na patogeny. Docelowym zadaniem są rośliny transgeniczne wykazujące oporność na patogeny grzybowe. W części fizjologiczno - biochemicznej kontynuowano badanie wpływu elicitorów biotycznych na powstawanie symptomów chorobowych u ziemniaka po infekcji Phytophthora infestans oraz traktowaniu roślin elicitorami biotycznymi takimi jak:

- kwas arachidonowy (AA)
- przesącz z hodowli płynnej Phytophthora infestans (CF)
- ekstrakt z homogenatu mycelium tego grzyba (MH)

Powstawanie nekroz powodowanych inokulacją liści oraz bulw ziemniaka w/w elicitorami było zbliżone do efektu wywołanego inokulacją sporanginami Phytophthora infestans. Rozpoczęto również selekcję oporności zawiesiny komórkowej ziemniaka po traktowaniu CF. Równolegle do w/w badań oznaczano aktywność amoniako-liazy L-fenyloalaninowej (PAL) oraz białek PR (chitynazy i 1.3. beta-glukanazy) w zawieszynie komórkowej ziemniaka traktowanej w/w elicitorami. Aktywność PAL wykazywała najwyższą aktywność już po 5 godzinach kontaktu zawiesiny z CF a następnie obniżała się do 24 godzin, a wpływ MH i AA był opóźniony. Aktywność 1,3-beta glukanazy wzrastała od 10 do 24 godzin działania elicitorów za wyjątkiem AA, który aktywował enzym już po 5h. Chitynaza była aktywowana już po 5h przez AA oraz AA + CF. Wpływ MH był opóźniony w czasie. Z danych tych wynika, że elicitory stosowane pojedynczo działają w zróżnicowany sposób. Jednoczesne traktowanie zawiesiny kilkoma elicitorami wykazuje efekt synergistyczny.

Przygotowujemy się do wprowadzenia drogą transformacji "użytecznych" genów do ziemniaka, których ekspresja może mieć potencjalne znaczenie w zwiększeniu oporności tej rośliny na patogeny. Dla opanowania technik transformacji adaptowaliśmy metodę transformacji liści i międzywęźli ziemniaka przy użyciu binarnego wektora pBI121 z genem uidA (beta glukuronidazy) oraz genem NPTII (neomycynowej fosfotransferazy). Otrzymane rośliny transgeniczne wykazują wysoką aktywność obu enzymów. Trwałość ekspresji tych genów potwierdzono w wegetatywnym rozmnażaniu roślin zarówno *in vitro* jak *in vivo* włącznie z produkcją bulw w kilku cyklach hodowli przez okres ponad 2 lat.

Analizując wewnątrzkomórkową przemianę związków fenolowych wykazano podwyższony 4-50 razy poziom kwasu salicylowego i jego glukozydu w roślinach ziemniaka zainfekowanych wirusem Y (PVY), lub Phytophthora infestans. W transgenicznym ziemniaku cv Dessire zawierającym hybrydowy gen PR2d/GUS (podlegający aktywacji kwasem salicylowym w tytoniu) stwierdzono aktywność GUS po zainfekowaniu w/w roślin ziemniaka wirusem PVY. Histochemiczna analiza tkanki wykazała ścisły związek pomiędzy miejscami rozwijającej się infekcji a stopniem ekspresji GUS. Traktowanie roślin transgenicznym (PR2d/GUS) ziemniaka kwasem salicylowym stymulowało również ekspresję GUS.

Wykorzystując technikę PCR przystąpiono do izolacji zależnego od kwasu salicylowego regionu regulatorowego dla genu 1.3-beta-glukanazy z ziemniaka.

Badania prowadzono we współpracy z Zakładem Genetyki Instytutu Ziemniaka w Młochowie.

W zespole realizuje się prace w ramach grantów KBN "Transformacja ziemniaka" (G-17, kier. prof. K.Kleczkowski) oraz "Elementy regulacyjne zależne od kwasu salicylowego warunkujące odporność roślin na patogeny" (G-23, kier. dr J.Hennig).

PUBLIKACJE: 2989, 2990, 3004, 697/A, 701/A, 740/A, 741/A, 742/A, 743/A, 744/A.

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

Zespół: prof. Grażyna Palamarczyk, dr Anna Szkopińska, dr Joanna Kruszevska, mgr Urszula Lenart, mgr Agnieszka Chacińska

W okresie sprawozdawczym prowadzono następujące prace:

a/ Kontynuowano badania nad regulacją biosyntezy dolicholi w komórkach *S.cerevisiae*. Na podstawie wyników opublikowanych w roku poprzednim wnioskowaliśmy, że zaburzenie szlaku biosyntezy ergosterolu obserwowane w mutantach drożdży typu erg prowadzi do obniżenia poziomu fosforanów dolicholi, syntetyzowanych w tym samym szlaku metabolicznym z wykorzystaniem wspólnej puli difosforanu farnezyli. Dlatego też podjęto próbę charakterystyki aktywności cis-prenyl transferazy, enzymu katalizującego kondensację reszt cis-isoprenowych, prowadzącą do syntezy di-fosforanów dolicholi. Ustalono warunki syntezy *in vitro* poliprenoli, katalizowanej przez frakcję błon komórkowych drożdży.

Stwierdzono, że pula syntetyzowanych di-fosforanów poliprenoli ulega natychmiastowej defosforylacji i jest powtórnie fosforylowana przez kinazę dolicholu zależną od CTP. Wynik ten potwierdza wcześniejsze sugestie na temat roli reakcji fosforylacji i de-fosforylacji w utrzymywaniu określonego poziomu fosforanu dolicholu w komórce a tym samym określonego poziomu glikozylacji białek.

b/ Zakończono pracę nad identyfikacją białka syntazy sterylglukozydu (SGS). Enzym ten katalizuje reakcję przeniesienia glukozy z UDP-glucose na endogenny akceptor lipidowy, znajdujący się w błonach komórkowych drożdży. Podobnie jak w przypadku innych enzymów błonowych klasyczne techniki solubilizacji błon biologicznych prowadzące do uwolnienia oczyszczanego białka enzymatycznego prowadzą zwykle do jego inaktywacji. Dlatego też do identyfikacji białka SGS zastosowano metodę jego fotoznakowania za pomocą światłoczułej sondy [J^{125}]-5-[3- -(p-azidosalicylamido)]-allylo-UDP-glukozy, analogu substratu. Reakcję tę wykonano na częściowo oczyszczonych ekstraktach detergentowych frakcji zawierających aktywny enzym. Zastosowana procedura pozwoliła na stwierdzenie, że azydowa pochodna UDP-glukozy wiąże się z białkiem o

ciężarze cząsteczkowym 67kDa, biorącym udział w syntezie steryloglukozydu w komórkach drożdży.

Praca wykonywana przy współpracy z Instytutem Chemii Organicznej w Bratysławie (Słowacja).

c/Analiza genetyczna mutantów drożdży zaburzonych w biosyntezie glukozofosfodolicholu (GPD).

Znane są dwa mutanty *S.cerevisiae* niezdolne do syntezy GPD tj. *alg5* i *dpg1* przy czym żaden z mutantów nie posiada wyraźnie zmienionych cech fenotypowych. Mutacje są niealeliczne a szczepy diploidalne niosące obydwie zmutowane geny są zdolne do syntezy glukozofosfodolicholu na poziomie zbliżonym do szczepu dzikiego. Tak więc w biosyntezie GPD w drożdżach biorą udział dwa białka Alg5p i Dpg1p. Podjęta próba skonstruowania szczepów haploidalnych niosących mutacje *alg5* i *dpg1* ma na celu umożliwienie badań nad rolą białek Alg5i Dpg1 w reakcji katalizowanej przez syntazę GPD.

d/ Badanie regulacji sekrecji cellulaz w *Trichoderma reesei*

Wyniki prac, prowadzonych w naszym zespole, nad 0-mannozylacją białek i sekrecją cellulaz w komórkach *Trichoderma reesei*, wskazywały na zależność pomiędzy aktywnością syntazy mannozofosfodolicholu (MPD-syntaza) a poziomem sekrecji enzymów cellulolitycznych produkowanych przez ten organizm. W celu wyjaśnienia obserwowanej zależności przeprowadzono transformację *Trichoderma reesei* drożdżowym genem syntazy-MPD. Ekspresję genu potwierdzono metodami immunochemicznymi i stwierdzono, że stransformowany szczep wydziela 5-7 razy więcej cellulaz niż szczep przed transformacją.

Obecnie podjęliśmy próbę sklonowania genu syntazy MPD z *Trichoderma reesei* w celu charakterystyki białka syntazy-MPD i zbadania wpływu homologicznej ekspresji genu na wydajność układu sekrecyjnego *Trichoderma*.

W zespole są realizowane projekty badawcze KBN: "Regulacja syntezy dolicholu i jego glikozylowych pochodnych w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*" (G-8, kier. prof. G. Palamarczyk) oraz "Regulacja 0-glikozylacji białek a sekrecja enzymów cellulolitycznych w komórkach *Trichoderma reesei*" (G-11, kier. dr J. Kruszewska).

Temat a/ jest prowadzony we współpracy z prof. F.Karstem z Uniwersytetu w Poitiers we Francji; temat d/ we współpracy z prof. Kubickiem z Uniwersytetu Technicznego w Wiedniu, z którym również złożyliśmy wspólny projekt badawczy z prośbą o finansowanie do Austriackiej Akademii Nauk, dotyczący klonowania genu syntazy MPD z *Trichoderma reesei*.

Ponadto nawiązaliśmy współpracę z prof. Hemmingiem z Uniwersytetu w Nottingham dotyczącą rozpoczynanych przez nas badań nad glikozylacją i sekrecją inwertazy przez *Aspergillus nidulans*.

Temat: "Charakterystyka mutantów *Aspergillus nidulans* upośledzonych w glikolizacji białek". Wymiana osobowa pomiędzy współpracującymi placówkami jest finansowana przez grant KBN/British Council.

PUBLIKACJE: 2993, 734/A, 735/A, 736/A, 737/A.

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

Zespół: prof. Tadeusz Kłopotowski, dr Krystyna Krajewska-Grynkiewicz, mgr Aldona Kielczyk i mgr Piotr Grabarczyk

Badania zespołu dotyczyły głównie mechanizmu regulacji temperaturowej systemu syntezy kwasu kolaninowego, mukopolisacharydu *Escherichia coli* K12. Synteza ta jest prowadzona przez enzymy kodowane przez geny operonu cps, a regulowana przez białkowe produkty genów rcs. Stwierdziliśmy przy użyciu fuzji cps::lacZ, że operon cps podlega indukcji w warunkach obniżenia temperatury do zakresu właściwego dla pozajelitowej fazy cyklu życiowego *E. coli*. Skonstruowaliśmy fuzję rcsA::lacZ i wykazaliśmy, iż jej transkrypcja podlega podobnej regulacji. Skutki tej indukcji utrzymują się przez pewien czas w temperaturze naturalnego środowiska jelitowego *E. coli*. Nieoczekiwanie okazało się też, że transkrypcja genu rcsA ulega podwyższeniu u mutantów lon, pozbawionych ATP-zależnej proteazy. Obie te cechy procesu syntezy kwasu kolaninowego – wrażliwość na podwyższenie temperatury i proteazę

Lon - tłumaczono przedtem wyłącznie cechami samego produktu RcsA. Nasz wynik wskazujący, że są to cechy procesu transkrypcji genu rcaA pozwala postulować, że gen ten podlega regulacji przez nieznany czynnik o takich właśnie cechach. Alternatywną hipotezę, że samo białko RcsA jest pozytywnym efektem ekspresji genu rcaA, wyklucza fakt, iż wpływ temperatury i mutacji lon na fuzję rcaA::lacZ obserwowaliśmy u mutantów pozbawionych możliwości syntezy białka RcsA.

W innym doświadczeniu wyizolowaliśmy plazmid z fragmentem chromosomu E. coli na wielokopiowym plazmidzie. Plazmid ten zwiększał syntezę kwasu kolaninowego i ekspresję operonu cps. Analiza restrykcyjna pozwoliła na dokładną lokalizację genu odpowiedzialnego za te efekty. Sekwencjonowanie odpowiedniego fragmentu DNA i porównawcza analiza komputerowa wskazały, że genem, którego produkt stymuluje operon cps jest gen cspC, należący do rodziny genów szoku zimnego. Wynik ten utwierdza wniosek, że operon cps jest regulowany jako jeden z elementów systemu szoku zimnego E. coli.

W kolejnym doświadczeniu badaliśmy przeżywalność E. coli poddanych zamrażaniu do temperatury -20°C . W przyjętych warunkach wynosiła ona ok. 5%, a po szoku zimnym (4 godz. w $+10^{\circ}\text{C}$) była kilkakrotnie wyższa - ok. 25%. Podobnie zachowywały się mutanty systemu regulacji operonu cps, z wyjątkiem lon: były one 5-krotnie bardziej wrażliwe na zamrażanie, ale wciąż zdolne do indukcji przez szok zimny zdolności do przeżycia zamrożenia. Wskazuje to, że geny, których produkty determinują tę zdolność należą do regulonu szoku zimnego, ale nie wchodzi do systemu cps.

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Regulacja metabolizmu enterobakterii przez temperaturę i jej aspekty biofizyczne i medyczne" (G-19, kier. prof. T.Kłopotowski).

Powyższe wyniki są częściowo rezultatem współpracy z Katedrą Genetyki Białoruskiego Uniwersytetu Państwowego w Mińsku. Były możliwe dzięki stypendiom dla Dr Anatoli'ego N.Evtuchenkova i Dr Igora N.Olekhovicha z Europejskiego Funduszu Stypendialnego IBB PAN.

PUBLIKACJE: 3004

Temat 20.1 "Genetyka mitochondrialna drożdży"

Zespół: dr Magdalena Boquta, mgr Agata Konopińska, mgr Barbara

Szcześniak, mgr Marcin Murawski, Kamila Czerska (od listopada 1994 r.)

Ekspresja genomu mitochondrialnego drożdży *S. cerevisiae* jest kontrolowana przez produkty genów jądrowych. Jednym z genów tego typu jest NAM9, który kontroluje translację mitochondrialną. Genem tym zajmowaliśmy się już od kilku lat. Nasze badania w 1994 roku związane z genem NAM9 były prowadzone w dwóch kierunkach:

1. Analiza molekularna genu GDS1

Gen GDS1 został sklonowany jako jeden z czterech wielokopijnych supresorów fenotypu defektywnego wzrostu na glicerolu powodowanego obecnością mutacji w genie NAM9. Klonowanie opisano w poprzednim okresie sprawozdawczym. Metodą kolejnych delecji subklonowano wstawkę zawierającą gen GDS1. Fragment 2350 par zasad poddano sekwencjonowaniu. Zidentyfikowano otwartą ramkę odczytu odpowiadającą białku o długości 522 aminokwasów. Jest to nowy gen, którego sekwencja została przez nas przekazana do bazy danych (GenBank). Wielkość transkryptu genu GDS1 oszacowano na 2,3 kb. Gen GDS1 został zlokalizowany na prawym ramieniu chromosomu XV, pomiędzy genami *phr1* i *scd7*. Inaktywacja chromosomalnej kopii genu GDS1 poprzez wstawienie kasety LEU2 powoduje wolniejszy wzrost szczepu na pożywce z glicerolem. Gen GDS1 należy zatem do klasy genów jądrowych, których produkty funkcjonują w mitochondriach. Gen GDS1 jest supresorem mutacji NAM9-1; można zakładać wzajemne oddziaływanie białek GDS1 i NAM9 albo wpływ białka GDS1 na ekspresję genu NAM9.

2. Otrzymanie przeciwciał specyficznych dla białka NAM9.

Oczyszczono białko hybrydowe NAM9- β -galaktozydaza z *E. coli*. Białko to zostało użyte do immunizacji królika. Otrzymana surowica testowana w ekstraktach białkowych *E. coli* okazała się specyficzna dla białka fuzyjnego użytego jako antygen. Surowica ta jednak nie rozpoznaje białka NAM9 w ekstraktach z drożdży.

Skonstruowano wielokopijne plazmidy zawierające gen NAM9, co

pozwala teoretycznie na 100 krotne zwiększenie ekspresji NAM9. W transformantach nadal nie obserwowano specyficznej reakcji z przeciwciałem. Może to oznaczać degradację nadmiaru białka NAM9 w komórce drożdży, co jest regułą dla cytoplazmatycznych białek rybosomalnych. Planujemy zastosowanie jeszcze innych metod prowadzących do zwiększenia ilości białka NAM9 w testowanych ekstraktach.

Poza badaniami dotyczącymi tematu statutowego prowadzono dodatkowo badania będące kontynuacją grantu G2 KBN ukończonego formalnie w grudniu 1993. Badania te dotyczyły zagadnienia sortowania białek w komórce drożdży. W ramach realizacji grantu KBN opracowano prosty system genetycznej selekcji mutantów drożdżowych w genach odpowiedzialnych za wewnątrzkomórkowy ruch białek. Wyizolowano mutantą *maf1*, w którym zmieniona jest lokalizacja wewnątrzkomórkowa białka reportersowego MOD5-M2. Wyniki otrzymane metodą immunofluorescencji dla mutantu *maf1* wskazują na przenikanie MOD5-M2 do jądra komórkowego, podczas gdy w szczepie kontrolnym białko to zlokalizowane jest w mitochondriach i cytoplazmie.

W bieżącym okresie sprawozdawczym przeprowadzono klonowanie dzikiego allelu genu zawierającego mutację *maf1* poprzez transformację temperaturowrażliwego mutantu *maf1* dzikim bankiem genów drożdży skonstruowanym na wektorze pFL44L. Otrzymano jeden plazmid, który w pełni przywraca fenotyp dziki, oraz dwa plazmidy, które tylko częściowo odtwarzają temperaturooporność mutantu *maf1*. Ostatnie dwa plazmidy zawierają pokrywające się fragmenty. Fragment DNA drożdżowego, który w pełni komplementuje mutację *maf1* zlokalizowano na chromosomie IV, między genem RAD57 a SOK1. Fragment ten po integracji do chromosomu nie rekombinuje z mutantem *maf1*, zawiera więc dziki gen MAF1. Obecnie zajmujemy się sekwencjonowaniem genu.

Fragment DNA drożdży, obecny w dwóch niezależnie wyizolowanych plazmidach, który powoduje supresję fenotypu *maf1* zlokalizowano na chromosomie XV. Supresorem *maf1* jest prawdopodobnie gen YTA1, którego sekwencja wykazuje homologię do PAS1 i SEC18, genów związanych z transportem białek w komórce drożdży.

PUBLIKACJE: 2954, 3007, 749/A

Temat 20.2: "Regulacja biosyntezy hemu i hemoproteidów w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*"

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

Celem rozpoczętej w tym roku pracy jest poznanie roli ferrochelatazy w procesach: regulacji biosyntezy hemu, regulacji stanu red-ox komórki oraz w dystrybucji hemu pomiędzy różne przedziały komórkowe. Ferrochelataza, ostatni enzym szlaku biosyntezy, katalizuje włączanie Fe^{++} do pierścienia protoporfiryny IX, jest ona umiejscowiona w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Na drodze mutagenyzy ukierunkowanej otrzymano mutanty nie wykazujące aktywności ferrochelatazy. Mutanty te stanowią materiał wyjściowy do izolacji supresorów. Tą drogą zamierzamy zidentyfikować geny, których produkty współdziałają z ferrochelatazą w procesie wewnątrzkomórkowego transportu hemu i jonów żelaza.

W badaniach nad regulacją funkcji i proliferacji peroksysomów, w celu izolacji mutantów zaburzonych w procesie indukcji enzymów szlaku beta-oksydacji, skonstruowano szczepy drożdży, w których do genomowego DNA wintegrowano fuzje genowe złożone z promotorów genów *CTA1*, *FOX1*, *PAS1* genu *LacZ*. Wykazano odmienną regulację przez tlen ekspresji genu *PAS1* i genów *FOX1* i *CTA1*.

Stała współpraca z prof. Rosine Labbe-Bois, Laboratorium Biochemii Porfiryn, Instytut J.Monod, CNRS, Francja

W zespole są realizowane dwa projekty badawcze KBN: "Udział białka wiążącego kwasy tłuszczowe w indukcji enzymów szlaku peroksysomalnej beta - oksydacji w *S.cerevisiae*" (G-4, kier. dr A.Kurlandzka) oraz "Udział ferrochelatazy w kontroli metabolizmu przez hem" (G-13, kier. prof. J.Rytka).

PUBLIKACJE: 2985, 3007, 734/A, 735/A.

Temat 20-3: "Genetyczna kontrola szlakow metabolizmu siarkowego u grzybow"

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

Zakończono charakterystykę molekularną genów *cysB*, *metG*, *cysD* *Aspergillus nidulans* kodujących odpowiednio syntazę cysteinową, B-liazę cystationinową i syntazę homocysteinową, udowadniając przez syntazę syntazę cDNA występowanie w tych genach intronów. Stwierdzono, że syntaza cysteinowa pod względem sekwencji aminokwasowej jest bliższa ewolucyjnie syntazom cysteinowym bakteryjnym niż pochodzącym z roślin wyższych. Syntaza homocysteinowa zaś wykazuje wysokie podobieństwo z homologicznym enzymem drożdżowym (jedyną syntazą homocysteinową dotąd sklonowaną) i należy do tej samej rodziny enzymów co syntazy i liazy cystationinowe.

Wyizolowano kosmidy z banku genów *A. nidulans* komplementujące mutacje w genach regulacyjnych *sconB* i *sconC*. W przypadku genu *sconB* wyizolowano drogą subklonowania fragment 2.7kb zachowujący zdolność do komplementowania. Częściowa sekwencja nukleotydowa tego odcinka wskazuje, że koduje on polipeptyd przypominający B-podjednostkę białka G. Wyselekcjonowano też kosmid niosący gen *cysC* *Aspergillus nidulans*. Trwa praca nad subklonowaniem insertu w celu uzyskania fragmentu DNA zawierającego badany gen i nadającego się do sekwencjonowania. Poszukiwano nowych mutacji regulacyjnych dotyczących metabolizmu folianowego. Wśród rewertantów mutacji *meth* wykryto mutacje supresorowe, które znoszą represje enzymów folianowych przez metioninę. Prace te wykonywano częściowo w ramach projektu badawczego KBN pod tytułem: "Rola i genetyka sulfhydrylaz O-acetylohomoserynowych w grzybach" (G-27, kier. prof. A. Paszewski).

PUBLIKACJE: 2994, 2955, 2995, 755/A, 756/A

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

Zespół: prof. Jerzy Żuk, prof. Witold Jachymczyk, dr. Hanna Baranowska-Wyszomirska, mgr. Agnieszka Hałas, Zofia Policińska.

Zakończono badania nad rolą polimerazy DNA III w procesie mutagenezy u drożdży. W badaniach nad częstością rewersji mutantów *cdc2* indukowanych promieniami UV w temperaturze restryktywnej (37°C) i po preinkubacji 4 h w temperaturze permissyjnej (23°C) wykazano, że po preinkubacji w temperaturze permissyjnej częstość rewersji mutacji *cdc2* jest niższa. Stwierdzono także w diploidalnym homoallelicznym szczepie HB 75, że w temperaturze restryktywnej następuje znaczne zwiększenie częstości rewersji w mutacjach *meth*, *his* i *trp* po naświetleniu komórek promieniami UV. Te dane wskazują, że mutanty *cdc2* są pozbawione 3'-5' aktywności sprawdzającej. Tak więc mutacja *cdc2* wywiera jednocześnie wpływ na aktywność polimeryzacyjną i 3'-5' egzonukleotyczną polimerazy III DNA. Obie te aktywności muszą więc występować w dużej podjednostce polimerazy DNA.

Uzyskane dane opracowano i zredagowano w formie publikacji pt. Role of the DNA polymerase III in mutagenesis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Bull. Acad. Polon. Sci. 42 (in press).

Kontynuowano również badania nad udziałem polimerazy III DNA w procesie mutacji adaptatywnej - procesie odkrytym w komórkach drożdży dopiero w 1992 roku. Wykorzystując odpowiednio skonstruowany szczep niosący mutację *cdc2-1* w genie polimerazy III DNA i mutację w genie *lys2-1* stwierdzono, że w warunkach restrykcyjnych, gdy aktywność 3'-5' egzonukleazy sprawdzającej ulega zablokowaniu, częstość mutacji adaptacyjnej w genie *lys2* wzrasta bardzo znacznie. Uzyskane wyniki wskazują na znacznie obniżoną korekcję błędów w czasie replikacji DNA, które prowadzą do powstania mutacji ulegających następnie utrwalaniu w warunkach selektywnych. Uzyskane wyniki znajdują się w trakcie przygotowywania do druku.

W ramach projektu badawczego dotowanego przez KBN (G-12, kier. prof. W. Jachymczyk) badano rolę polimerazy DNA II i III w reperacji uszkodzeń

indukowanych promieniami UV i czynnikami metylującymi (MMS). Przy pomocy temperaturo-wrażliwych mutantów *cdc2-1* polimerazy DNA III (δ) i pol 2-18 polimerazy DNA II (ϵ) ustalono, że polimeraza DNA II jest odpowiedzialna tylko za naprawę uszkodzeń indukowanych przez promieniowanie UV. W naprawie uszkodzeń indukowanych przez MMS nie bierze udziału. Natomiast polimeraza DNA III zaangażowana jest w syntezę naprawczą uszkodzeń indukowanych zarówno przez MMS jak i UV. Uzyskane wyniki potwierdziły zarówno nasze doniesienie opublikowane w *Curr. Genet.* (1993) 24: 200 - 204, jak i dane uzyskane przez Wang et al. (1994), otrzymane w doświadczeniach "in vitro" a dotyczące udziału polimerazy II (ϵ) w reperacji uszkodzeń indukowanych w drożdżowym DNA przez promienie UV.

Badanie roli polimerazy DNA REV3, odpowiedzialnej za proces naprawy mutagennej w komórkach drożdży wykazało, że delecja genu REV 3 powoduje znaczne zpownienie naprawy uszkodzeń indukowanych przez MMS. Brak efektów synergistycznych w podwójnych mutantach *rev3*, *cdc2* wskazuje, że prawdopodobnie obie te polimerazy współdziałają w naprawie tych samych uszkodzeń spowodowanych przez MMS, a brak produktu genu REV 3 powoduje, że w komórkach zachodzi tylko synteza bezbłędna, katalizowana przez polimerazę DNA III (δ). Prace te znajdują się w etapie końcowym, który powinien doprowadzić do ich szybkiego opublikowania .
PUBLIKACJE: 2975.

Temat 21: "Regulacja metabolizmu siarkowego u prokariotów"

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

I. W ostatnim roku kontynuowano badania nad genem *cbl*, kodującym białko o cechach strukturalnych regulatora transkrypcyjnego, wykazujące 50% homologii na poziomie aminokwasów do CysB, aktywatora regulonu cysteinowego. Wykazano, że gen *cbl*, ulega ekspresji w komórkach *E.coli* i ekspresja ta jest kontrolowana przez białko CysB, źródło siarki w podłożu i O-acetyloserynę, induktor regulonu cysteinowego. Gen *cbl* jest słabo autoregulowany i nie ma wpływu na ekspresję

cysB. Ustalono pozycję promotora *cbl* przez wyznaczenie miejsca startu transkrypcji i wykazano wiązanie białka CysB *in vitro* w regionie promotorowym *cbl*. Skonstruowano mutantu insercyjnego w genie *cbl*, mutant ten nie wymaga cysteiny do wzrostu. Zaobserwowano, że obecność genu *cbl* na plazmidzie wielokopiowym w szczepie *cysK* (pozbawionym funkcji sulfhydrylasy A O-acetyloseryny) powoduje zahamowanie zdolności wykorzystania siarczanu przy zachowaniu zdolności wykorzystania tiosiarczanu jako źródła siarki. Sugeruje to wpływ Cbl na ekspresję genu *cysM*, kodującego sulfhydrylasę B O-acetyloseryny odgrywającą również rolę w metabolizmie tiosiarczanu. W toku są prace zmierzające do wyjaśnienia roli regulacyjnej *cbl* w metabolizmie siarczanu i tiosiarczanu.

II. Ukończono badania nad ekspresją genu *cysE*, kodującego enzym niezbędny dla syntezy O-acetyloseryny, induktora regulonu cysteinowego. Wykazano, że usunięcie sekwencji palindromowej z odcinka liderowego genu *cysE* powoduje dwukrotne obniżenie ekspresji tego genu zatem sekwencja ta jest prawdopodobnie istotna dla stabilności transkryptu *cysE*.

Stwierdzono również, że wprowadzenie mutacji wykluczających odczytywanie dodatkowej otwartej ramki odczytu ORFX (zawartej w obrębie ORF *cysE* i skierowanej przeciwnie do *cysE*) nie wpływa na ekspresję i funkcję genu *cysE*.

III. Ukończono badania nad transportem siarczanu i tiosiarczanu wykazując, że mutant pozbawiony aktywności białka wiążącego siarczan (SBP) i białka wiążącego tiosiarczan (TSBP) jest niezdolny do transportu żadnego z tych jonów. Wykazano w ten sposób, że

- (1) nasza hipoteza o nakładającej się funkcji obu białek wiążących była słuszna
- (2) permeaza siarczanowo-tiosiarczanowa, w której skład wchodzi białka periplazmatyczne SBP i TSBP będące produktami genów *sbp* i *cysP* oraz białka błonowe będące produktami genów *cysT*, *cysW* i *cysA* jest jedyną permeazą służącą do transportu tych jonów u *E.coli*.

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Nowe aspekty regulacji metabolizmu siarkowego u Enterobacteriaceae: zależności

między funkcją genu *cbl* a regulonem cysteinowym" (G-24, kier. dr M.Hryniewicz).

PUBLIKACJE: 715/A, 710/A, 3001.

Temat 22: "Regulacja ekspresji genomu wirusa liściozwoju"

Zespół: prof. Danuta Hulanicka, mgr Ewa Sadowy, mgr Marek Juszczyk,
mgr Andrzej Pałucha, mgr Krzysztof Pluta

I. W poprzednim okresie otrzymano szereg linii transgenicznego ziemniaka zawierającego w swym genomie gen białka płaszcza (CP) w orientacji "antysense". Po wykazaniu obecności cDNA wirusa w DNA roślinnym techniką "Southerna" w bieżącym okresie sprawozdawczym opracowano metodę stwierdzenia ekspresji cDNA wirusa na poziomie RNA metodą "Northern". Dalsze prace miały na celu otrzymanie roślin zawierających gen CP w orientacji "sense". W tym celu do agroinfekcji stosowano następujące binarne plazmidy:

- a) gen białka płaszcza (CP)PLRV
- b) gen CP wraz z krótką sekwencją liderową
- c) gen CP oraz pełnej długości sekwencję liderową

We wszystkich plazmidach wklonowany fragment znajdował się w orientacji "sense". Z trzech niezależnych eksperymentów, w których transformowano skrawki liści ziemniaka, otrzymano szereg roślin opornych na kanamycynę (użyty marker selekcyjny). Wyselekcjonowane rośliny namnażano w warunkach sterylnych w celu izolacji preparatów totalnego DNA i RNA. DNA roślin trawiono odpowiednimi enzymami restrykcyjnymi następnie analizowano metodą hybrydyzacyjną "Southerna". Totalne RNA transformowanych roślin analizowano metodą hybrydyzacyjną "Northern". W obu przypadkach jako sondy molekularnej użyto znakowanego fragmentu DNA regionu CP wirusa. U wszystkich analizowanych roślin stwierdzono obecność RNA dającego sygnał z użytą sondą co wskazuje, że wprowadzony gen CP wirusa ulega ekspresji na poziomie RNA. Transgeniczne rośliny, u których wykazano ekspresję cDNA wirusowego przekazano Instytutowi Ziemniaka w Młochowie celem przeprowadzenia testów biologicznych to znaczy zbadania czy któraś linia wykazuje odporność na infekcję PLRV.

II. Badanie mechanizmu ekspresji ramek odczytu (ORF4, ORF5, ORF6) zlokalizowanych na sgRNA wirusa. Przeprowadzając *in vitro* transkrypcję i translację plazmidu zawierającego cDNA sgRNA wirusa wykazano:

- a) Obie ORF4 i ORF5 ulegają translacji z jednej molekuly RNA
- b) Translacja ORF5 startuje z drugiego kodonu inicjatorowego, który znajduje się w "lepszym kontekście" niż pierwszy
- c) Ekspresja ORF6 zachodzi w wyniku czytania amber kodonu
- d) Wstawienie silnego palindromu w sekwencję liderową uniemożliwia translację ramek odczytów zlokalizowanych poniżej. Wynik ten wskazuje, że nie zachodzi wewnętrzna inicjacja translacji.

III. Konstrukcja pełnej kopii cDNA genomu PLRV pod promotorem fagowym. Konstrukcja tzw. infekcyjnych transkryptów jest jedyną metodą umożliwiającą badanie wpływu wprowadzonych mutacji na poziomie cDNA na proces replikacji wirusa i stopień jego infekcyjności. W związku z tym podjęto prace mające na celu konstrukcję plazmidu zawierającego pełną kopię genomu PLRV. Otrzymano dwa plazmidy (pJFI i pFCK) zawierające pełne kopie genomu, składając je z różnych uprzednio skonstruowanych klonów. Otrzymany *in vitro* transkrypt plazmidu pJFI użyto do infekcji protoplastów tytoniu *cult. Xianthi* metodą elektroporacji. Stwierdzono metodą hybrydyzacji (technika Northern), że wprowadzony do protoplastów transkrypt jest zdolny do replikacji i syntezy subgenomowego RNA. Przeprowadzono *in vitro* translację genomu wirusa z plazmidu pFCK, analiza produktów reakcji w żelu poliakrylamidowym wykazała obecność białek 1-szej i 2-giej ramki odczytu. Te same białka powstają kiedy przeprowadzana jest translacja RNA wyizolowanego z cząstek wirusowych. Trwają prace nad sprawdzeniem czy otrzymane transkrypty są infekcyjne. Ponieważ planujemy badanie ekspresji genów wirusa *in vivo* metodą "prześciowej ekspresji" w protoplastach, podjęto prace mające na celu otrzymanie przeciwciał przeciwko białkom wirusowym. Zastosowano metodę, która polega na konstrukcji białek fuzyjnych z β galaktozydazą. Fragment cDNA wirusa, obejmujący ramki kodujące białko laszcza i 17K połączono z odpowiednimi wektorami serii pWR450, tak aby białka wirusowe były w fazie odczytu z β galaktozydazą. W ten

sposób powstają białka fuzyjne składające się z β galaktozydazy i białka wirusowe tworząc tzw. białka inkluzyjne. Stwierdzono wzmożoną ekspresję białek hybrydowych w komórkach *E.coli*.

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Mechanizmy ekspresji genomu wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV)" (G-25, kier. prof. D.Hulanicka).

PUBLIKACJE: 4/N, 729/A, 730/A, 728/A, 709/A, 700/A, 699/A, 698/A, 2973, 2974

Temat 23: "Efekty pól elektrycznych na żywe komórki"

Zespół: prof. Magdalena Fikus, mgr Piotr Pawłowski

Zakończono teoretyczny opis modelu elektromechanicznego komórki umieszczonej w zewnętrznym, periodycznym polu elektrycznym. Przedstawiono analizę kątowych rozkładów naprężeń ścinania i izotropowego rozciągania w płaszczyźnie powłoki idealnie sprężystej uśrednionych po okresie drgań pola elektrycznego. Z wyznaczonymi naprężeniami powiązano deformację kształtu powłoki oraz lokalne zmiany jej grubości i pola powierzchni. Powyższą analizę zmodyfikowano na potrzeby analizy powłoki lepkosprężystej i zjawisk jej destabilizacji. Sformułowano hipotezę o istnieniu energii krytycznej dla zajścia różnych destabilizacyjnych procesów. Zaproponowano modele reologiczne opisujące rozważane procesy rzeczywiste.

W seriach doświadczeń udokumentowano zasadność postulowanych modeli a także wykazano możliwość prawidłowego przewidywania przebiegu wybranych procesów w oparciu o zaproponowane rozwiązania teoretyczne.

Przeprowadzono serię dużej liczności pomiarów elektroporacji komórek *N. crassa* pozwalających na statystyczną weryfikację zależności wydajności poracji od częstotliwości pola. Wykazano doświadczalnie zależność podatności komórek *N. crassa* na elektrodestrukcję od czasu zadawania naprężenia, przebieg zgodny z przewidywaniem własnej teorii.

Temat 24: "Mutageneza, naprawa i ekspresja DNA"

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

MMS-metylo-metano-sulfonian jest mutagenem, którego aktywność w *E.coli* jest zależna od indukcji systemu SOS i białek UmuD, UmuC. Używając bakterii z delecją w rejonie *UmuDC*, stwierdzono, że poziom mutacji indukowanych MMS spektakularnie wzrasta, gdy bakterie transformowane są plazmidowymi DNA (pDNA) niosącymi geny *umuD'*C i w znacznie mniejszym, stopniu geny *umuDC*. Potwierdzono, że rewersje *argE3*->*Arg*⁺ są wynikiem transwersji AT->TA i utworzenia supresorów *tRNA-supL(N)*. Stwierdzono, że poziom mutacji supresorowych ulega procesowi MFD, to znaczy znacznie obniża się gdy bakterie bezpośrednio po działaniu MMS są czasowo indukowane w warunkach nie pozwalających na syntezę białka. Stwierdzono, że w czasie MFD zachodzi naprawa uszkodzonego DNA. Zapoczątkowano, w oparciu o enzymatyczną analizę uszkodzonego pDNA, badania nad kinetyką naprawy DNA. Metoda polega na izolacji pDNA z bakterii natychmiast po działaniu MMS, lub po okresie inkubacji w warunkach MFD. Stwierdzono, że pDNA zawiera miejsca apurynowe, które w czasie MFD ulegają naprawie. W czasie MFD zachodzi również indukowana, lub stabilna replikacja DNA (iSDR).

W oparciu o tę metodę zapoczątkowano badania nad występowaniem reszt 8ohG w pDNA gdy plazmidy rosną w bakteriach z uszkodzonymi systemami chroniącymi komórkę przed występowaniem 8ohG.

Kontynuowane są badania nad mutagennością związków FAPY, powstałych po rozpadzie pierścienia imidazolowego w purynach. Stwierdzono, że mutagenne mogą być produkty FAPY powstałe z 7meG i 7meA. Poszukiwane są inhibitory glikozylaz DNA-3meA (białek TagA i AlkA).

Znaleziono, że 3-etylo-, 3-butylo i 3-propylo-adenina są inhibitorami białka TagA, a nie AlkA.

PUBLIKACJE: +2991, +2997, 3006, 8/N, 10/N, 11/N, 704/A, 716/A, 745/A,
752/A

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

Zespół: prof. Zygmunt Cieśla, dr Ewa Śledziwska-Gójska, dr Piotr Jończyk, mgr Magdalena Kanabus, mgr Adrianna Nowicka, mgr Piotr Mieczkowski, Michał Jaworski.

W badaniach nad molekularnym mechanizmem mutagenazy indukowanej promieniami UV w komórkach *Escherichia coli*, prowadzono prace nad udziałem podjednostki ϵ polimerazy III DNA w tym procesie. Skonstruowano plazmid kodujący defektywną podjednostkę ϵ , która zachowuje zdolność do wiązania się z DNA ale utraciła aktywność 3'→5' egzonukleazy edytorskiej. Nadprodukcja tej defektywnej podjednostki ϵ zapobiega mutagenzie indukowanej promieniami UV. Wysunięto hipotezę, że wiązanie defektywnej podjednostki ϵ do końca 3' nowosyntetyzowanej nici DNA uniemożliwia interakcję holoenzymu polimerazy III DNA z "mutasomem". (Kanabus M. i wsp., MGG w druku).

Do badania "mutasomu" *E.coli* zaadaptowano dwuhybrydowy system "matchmaker". Potwierdzono w warunkach *in vivo* specyficzną interakcję między białkami umuD a umuD', oraz między białkiem UmuD' a UmuC. Prowadzone są prace nad interakcją między zmutowanymi białkami UmuD' a umuC. Mają one na celu ustalenie domen odpowiedzialnych za te interakcje.

O⁶metylguanina to główne premutagenne uszkodzenie DNA powstające pod wpływem środków alkilujących, prowadzące do tranzycji GC → AT. Wykorzystanie szeregu specyficznych mutantów w genie lacZ faga M13mp18 umożliwiło nam porównanie reperacji uszkodzeń, prowadzących do tych tranzycji, indukowanych przez MMS (metanosulfonian metylowy) *in vivo* i *in vitro*. Stwierdziliśmy, że indukcja metyltransferazy - O⁶metylguaniny - DNA w komórkach gospodarza nie ma wpływu na częstość powstawania tranzycji GC do AT indukowanych przez MMS *in vivo* podczas gdy DNA modyfikowane MMS *in vitro* jest w tych komórkach wydajnie reperowane. Wyniki te potwierdzają, że O⁶metylguanina leży u źródła tranzycji GC → AT indukowanych przez MMS i są zgodne z przedstawionymi przez nas ostatnio badaniami biochemicznymi

pokazującymi, że MMS inaktywuje metyltransferazę- O^6 metylguaniny-DNA *in vivo*. (Śledziwska-Gójska E. Mutation Res, w druku).

Prace nad reperacją DNA w komórkach drożdżowych doprowadziły do identyfikacji nieznanego dotąd genu indukowanego przez promieniowanie UV i MMS, *DIN7*. Została ustalona sekwencja DNA odpowiadająca regionowi regulatorowemu *DIN7* oraz N-terminalna część tego genu. Zawiera ona regiony homologiczne dla genu *RAD2 S.cerevisiae*, *RAD13 S.pombae* i ludzkiego XPG. Prowadzone są badania nad ustaleniem funkcji genu *DIN7*.

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Analiza funkcji białek UmuDC i polimerazy III DNA w indukowalnej mutagenezie *Escherichia coli*" (G-14, kier. prof. Z.Cieśla).

PUBLIKACJE: 2978, 17/N, 18/N.

Temat 26: "Mechanizmy mutagenezy indukowanej przez promienie UV"

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

Kontynuowano badania nad mutacją *isfA* (dawniej *sjbA*), która hamuje szereg zjawisk kontrolowanych przez system SOS i nadaje charakter antymutatorowy komórkom *E.coli*. Dotychczasowe badania wskazują, że w komórkach z tą mutacją jest hamowana aktywność koprotazy białka RecA. Aby uzyskać więcej informacji o działaniu mutacji *isfA* na proces mutagenezy badano jej wpływ na mutagenezę indukowaną przez dwa czynniki alkilujące: MMS i EMS. Wiadomo, że MMS indukuje mutacje z udziałem systemu SOS, natomiast EMS-indukowana jest niezależna od SOS. Uzyskane wyniki wykazały, że obecność mutacji *isfA* hamuje mutagenezę indukowaną przez MMS, a nie ma wpływu na indukowaną przez EMS. Wskazuje to iż mutacja *isfA* hamuje tylko proces mutagenezy zależny od SOS. Prowadzono także dalsze próby sklonowania genu *isfA*. Przygotowano publikację, która została przyjęta do Mol.Gen.Genet.

Kontynuowano również badania nad mechanizmem UV-indukowanej mutagenezy niezależnej od replikacji DNA w fagu λ *sus08*. Wcześniejsze wyniki wskazywały, na ważną rolę białek UmuD' i UmuC w procesie muta-

genezy niezależnym od replikacji DNA, w szczepie *E.coli* 594 su^- nie-permisywnym dla replikacji DNA faga λ_{sub08} .

Do dalszych badań skonstruowano szczepy *E.coli* C600 su^+ i 594 su^- z delecją operonu *umuDC* oraz ich pochodne noszące plazmidy nadprodukujące białka UmuDC, UmuD'C lub UmuD'. Zbadano w tych szczepach UV-indukowaną rewersję mutacji *sus08* w fagu lambda. Uzyskane wyniki wykazały, że delecja operonu *umuDC* w szczepie C600 su^+ nie ma wpływu na wydajność UV-indukowanej mutagenezy. Wprowadzenie do tego szczepu plazmidów nadprodukujących białka Umu D i C również nie zmienia poziomu mutagenezy. Wskazuje to, że mutageneza zachodząca w warunkach replikacji DNA fagowego nie wymaga białek UmuD i C.

W komórkach 594 su^- , w których może zachodzić tylko mutageneza niezależna od replikacji, delecja operonu *umuDC* prowadzi do braku UV-indukowanej mutagenezy. Badania z plazmidami nadprodukującymi białka UmuDC wykazały, że tylko białka UmuD' i C przywracają zdolność komórek 594 $su^- \Delta umuDC$ do mutagenezy. Samo białko UmuD' nie przywraca.

Wyniki wskazują, że mechanizmy mutagenezy faga lambda *sus08* zależnej od replikacji DNA i niezależnej, różnią się co do wymagań białek UmuD i C. Podkreśla to istnienie 2 różnych dróg mutagenezy. Zostały złożone i przyjęte do druku dwie publikacje.

Temat 27: "Analiza funkcjonalna genów plazmidu bakterii Gram-dodatnich, pSM19035"

Zespół: dr Piotr Cegłowski, dr Jacek Bardowski, dr Renata Wolinowska, mgr Izabella Kern, mgr Krystyna Leszczyńska, mgr Urszula Zielenkiewicz, mgr Renata Pankiewicz

pSM19035 jest dużym (27 kb), niskokopiovym plazmidem o szerokim zakresie gospodarzy wśród bakterii Gram-dodatnich o niskiej zawartości par G+C. Plazmid ten jest stabilny strukturalnie i segregacyjnie oraz wykazuje intrygującą właściwość - 82% jego genomu stanowi odwrócone powtórzenie sekwencji nukleotydowych.

W bieżącym roku kontynuowano badania nad delecyjną pochodną pSM19035, plazmidem pDB101. Ustalono sekwencję nukleotydową (4081 pz)

nie scharakteryzowanego dotychczas fragmentu tego plazmidu doprowadzając tym samym do poznania kompletnej sekwencji nukleotydowej pDB101. Plazmid ten składa się z 19202 pz i zawiera 13 różnych otwartych ramek odczytu (ORF). Sześć z tych ORF wchodzi w skład sekwencji stanowiącej odwrócone powtórzenie, reprezentujące 76% genomu pDB101. Tak więc, plazmid pDB101 zawiera w sumie 19 ORF.

Stosując w *E.coli* system ekspresji oparty na działaniu polimerazy RNA faga T7 wykazano obecność produktów białkowych o spodziewanej masie cząsteczkowej, kodowanych przez 12 spośród 13 różnych ORF plazmidu pDB101. ORF₁ wydaje się kodować białko o anomalnej mobilności elektroforetycznej, odpowiadającej 60 kDa, podczas gdy masa produktu białkowego wydedykowanego z ORF₁ powinna wynosić 28.3 kDa.

Analizowany w tym roku fragment DNA zawiera 4 ORF (oznaczone: η , θ , ι oraz *copS*). Analiza komputerowa tych ORF pozwoliła na ustalenie, że produkt ORF *copS* wykazuje wysoką homologię z białkami zaangażowanymi w regulację liczby kopii plazmidów z rodziny *inc18*, a produkt ORF₁ charakteryzuje się wysoką homologią z białkiem powierzchniowym komórek ziarniaków Gram-dodatnich. Produkty ORF η i ORF θ nie wykazują znaczącej homologii z białkami, których sekwencje aminokwasowe zdeponowano w bazach danych Swiss-Protein i NBRF-PIR.

Badania te realizowano w ramach współpracy z grupą dr J.C.Alonso z Max-Planck Institut für molekulare Genetik w Berlinie (RFN).

W zespole jest realizowany projekt badawczy KBN pt. "Badania nad ekspresją genu streptokinazy w bakteryjnych systemach homologicznych i heterologicznych" (G-7, kier. dr P.Cegłowski).

PUBLIKACJE: +2971, +2983, 2959, 2960, 2972.

Sprawozdanie z działalności Laboratorium NMR

Zespół: doc. Andrzej Bierzyński, dr Jacek Wójcik, mgr Piotr Dobrowolski, mgr Karolina Sadowska, mgr Beata Mikołajek

Zakończono prace budowlane i instalacyjne w pomieszczeniach Laboratorium. Między innymi dokonano instalacji urządzeń klimatyzacyjnych,

urządzeń stabilizujących napięcie sieci elektrycznej i instalacji dostarczającej sprężone powietrze. Przyrząd został ustawiony i obecnie trwa jego rozruch. Jednocześnie prowadzono szkolenie pracowników.

Sprawozdanie z działalności
Laboratorium Sekwencjonowania Kwasów Nukleinowych
i Syntezy Oligonukleotydów"

Sekwencjonowanie w ramach działalności usługowej na rzecz IBB

W 1994 r. zsekwencjonowano na potrzeby następujących osób:

A. Chachulska	ZBB	29 matryc
A. Góra	ZBB	211 matryc
J. Topczewski	ZG	32 matryce
M. Sienko	ZG	84 matryce
A. Konopińska	ZG	141 matryc
M. Wełnicki	ZBB	5 matryc
E. Grzybowska	ZBB	60 matryc
U. Zielenkiewicz	ZBB	98 matryc
B. Rempoła	ZB	17 matryc
A. Dmochowska	UW	63 matryce
P. Stepień	UW	8 matryc
M. Góra	ZG	54 matryce
K. Pluta	ZG	18 matryc
M. Juszczak	ZBD	12 matryc
M. Hryniewicz	ZBD	4 matryce
M. Boguta	ZG	1 matryca
B. Szurmak	ZBR	6 matryc
R. Natorff	ZG	49 matryc
B. Burzyńska	ZG	6 matryc
K. Czerska	ZG	18 matryc
E. Sadowy	ZBD	18 matryc
R. Iwanicka	ZBD	4 matryce
J. Michalik	ZBP	4 matryce
J. Henig	ZBR	10 matryc

K.Gryniewicz	ZBD	4 matryce
P. Bieganowski	Instytut Onkologii	97 matryc
Razem		1053 matryce,

co przy średniej długości odczytu sekwencji - 350 b daje ok 370.000 zsekwencjonowanych nukleotydów; dodając zsekwencjonowane w tym roku w ramach Polsko-Francuskiego Projektu Sekwencjonowania Genomu Drożdżowego daje w sumie ok 650 000 zsekwencjonowanych nukleotydów.

ZG - Zakład Genetyki
 ZBB - Zakład Biosyntezy Białka
 ZBR - Zakład Biochemii Roślin
 ZBD - Zakład Biochemii Drobnoustrojów
 ZB - Zakład Biofizyki
 UW - Zakład Genetyki Uniwersytetu Warszawskiego

Synteza Oligonukleotydów w 1994 roku

W ciągu 1994 roku przeprowadzono syntezę 259 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:

Zakład Genetyki - 14 oligonukleotydów
 Zakład Biofizyki - 6 oligonukleotydów
 Zakład Biologii Molekularnej - 4 oligonukleotydów
 Zakład Biochemii Drobnoustrojów - 24 oligonukleotydy
 Zakład Biochemii Roślin - 8 oligonukleotydów
 Zakład Biochemii Porównaczej - 2 oligonukleotydy
 Zakład Biosyntezy Białka - 4 oligonukleotydów
 Zakład Genetyki UW - 12 oligonukleotydy
 Akademia Medyczna - 29 oligonukleotydów (tzw "antysensownych" z zmodyfikowanymi nukleotydami)
 Zakład Genetyki SGGW - 4 oligonukleotydy
 Instytut Matki i Dziecka - 23 oligonukleotydy
 Uniwersytet Gdański - 2 oligonukleotydy
 Instytut Biologii Doświadczalnej PAN - 3 oligonukleotydy
 Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów - 112 oligonu-

kleotydów

Dodatkowo oczyszczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (FPLC) 21 oligonukleotydów

Sprawozdanie z działalności Szkoły Biologii Molekularnej w roku 1994

Szkoła Biologii Molekularnej przy IBB PAN została formalnie powołana zarządzeniem Dyrekcji Instytutu z dn.1-go sierpnia 1994. Łącznie z zarządzeniem przedstawiono zasady funkcjonowania Szkoły, skład kierownictwa (Prof.Grażyna Palamarczyk, kierownik, Prof.Prof. A.Jerzmanowski i J.Rytka) oraz program proponowanych zajęć teoretycznych.

Szkoła liczy 65 uczestników, w tym w roku 1994 przyjęto 17 osób. Członkowie Szkoły, którzy zostali przyjęci po 15-tym września br. dokonali wyboru zespołów badawczych na podstawie informatora o działalności naukowej Instytutu i rozmów z wybranymi kierownikami grup tematycznych. Ponadto zostali poinformowani o możliwości zmiany wybranego wstępnie zespołu badawczego w okresie dwóch m-cy. W br. odbyły się następujące zajęcia w ramach Szkoły:

- a/ Osiem 2-godzinnych wykładów z informatyki oraz indywidualnych konsultacji zorganizowanych przez dr. P.Zielenkiewicza. Wykłady dotyczyły zasad korzystania z dostępnego w IBB systemu operacyjnego UNIX: konsultacje obejmowały: podstawy systemu UNIX w zakresie swobodnego poruszania się w dostępnych zbiorach, oprogramowanie sieciowe (TCP/PC), obsługę poczty w sieci lokalnej i przez INTERNET, korzystanie z pakietu GCG i nielokalnych baz danych (biologia molekularna) poprzez sieć.
- b/ Dwa 2-godzinne wykłady prowadzone przez prof. W. Jachymczyka z tematu: Wybrane zagadnienia z replikacji DNA.

Omówiono następujące zagadnienia: Podstawowe zasady replikacji, inicjacja replikacji w dwuniciowym DNA, inicjacja przez transkrypcję, inicjacja przez endonukleolityczne nacinanie jednej nici kolistego dupleksu, inicjacja przez kowalencyjne przyłączenie białka do końca liniowej cząsteczki DNA, elongacja i terminacja replikacji.

W ramach obowiązkowych zajęć dla uczestników Szkoły zorganizowano wspólnie z Instytutem Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu i Polsko-Francuskim Centrum Biotechnologii Roślin symposium dotyczące: Badań nad zależnościami strukturalno-funkcyjnymi w genomie roślinnym i teoretycznymi oraz praktycznymi aspektami biotechnologii. W Symposium wzięli udział współpracujący z Centrum wykładowcy z Francji. Organizatorami ze strony IBB byli: Prof.A. Jerzmanowski, G. Muszyńska i G. Palamarczyk.

Doktoranci z IBB przedstawili wyniki swoich prac w formie 40 plakatów i 10-ciu ustnych, 15 minutowych doniesień. Poziom przedstawianych prac zyskał wysoką ocenę organizatorów Symposium i Dyrekcji obu uczestniczących Instytutów a także gości z Francji.

W ramach działalności Szkoły przygotowano Podręcznik Laboratoryjny IBB PAN zawierający zbiór metod, głównie z zakresu biologii molekularnej, stosowanych w IBB. Autorami podręcznika są przede wszystkim uczestnicy Szkoły.

Obecnie są przygotowywane szczegółowe programy 30-godzinnych bloków tematycznych, które zostaną przedstawione doktorantom w roku przyszłym.

Sprawozdanie z działalności

Polsko - Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin

Dyrektor: prof. dr hab. Stanisław Lewak

Zadaniem Polsko - Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin jest koordynacja badań w zakresie biologii i genetyki molekularnej, prowadzonych przez naukowców polskich i francuskich. Środki na ten cel przekazywane są przez rządy obu krajów.

W ramach dotacji otrzymanej z Komitetu Badań Naukowych, Centrum subwencjonuje (od października 1994) realizację następujących programów badawczych prowadzonych w Polsce przy współpracy z placówkami francuskimi:

1.dr Joanna Michalik (IBB PAN), Application of Baculovirus for control of Forest Pest Population (dokonano syntezy fragmentów syntetycznego

genu dla poneratoksyny)- współpraca z Institut de Biologie Structurale w Grenoble.

2. mgr Anna Chachulska (IBB PAN), Konstrukcja roślin tytoniu i ziemniaka opornych na infekcje wirusem Y ziemniaka (przeprowadzono transformację dysków liściowych tytoniu 4 konstruktami zawierającymi fragmenty cDNA PVY) - współpraca z INRA Versailles.

3. mgr Anna Góra (IBB PAN), Analiza struktury lokalnych izolatów wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd) (sklonowano cDNA PSTV 6 wariantów sekwencyjnych i hybrydowe cząsteczki PSTVd w pUC9)-współpraca z INRA Bordeaux.

4. dr Barbara Tudek (IBB PAN), Studies on the mechanism of action of anticancer therapeutics (prowadzone są badania nad właściwościami mutagennymi Fapy-7-MeAde i Fapy-7-MeGua) - współpraca z Institut Goustave Roussy w Villejuif.

5. prof. Danuta M. Hulanicka (IBB PAN), Konstrukcja infekcyjnych transkryptów wirusa liściozwoju ziemniaka i badanie ich replikacji w protoplastach roślin dzikich i transgenicznym ekspresyjnym geny wirusowe (otrzymano fuzje z genem lacZ w wektorze ekspresyjnym z dwoma ramkami odczytu PLRV) - współpraca z Institut des Sciences Végétales CNRS)

6. prof. Piotr P. Stępień (Zakład Genetyki UW), Badanie funkcji genów jądrowych wpływających na stabilność transkrypcji w mitochondriach (uzyskano szereg mutantów supresorowych w szczepie suv3-zero) - współpraca z Centre de Génétique Moléculaire CNRS.

7. prof. Piotr P. Węgleński (Zakład Genetyki UW), Regulation of arginine and proline catabolism in *Aspergillus* (kontynuowano sekwencjonowanie sklonowanego uprzednio genu kodującego arginazę) - współpraca z Institut de Microbiologie Université Paris XI)

8. prof. Andrzej Jerzmanowski (Instytut Biologii Eksperymentalnej Roślin UW), Konstrukcja roślin transgenicznym ze zmienionym poziomem ekspresji genu kodującego histon H1 (zbadano sposób włączenia transge-
nu do genomowego DNA gospodarza, prowadzona jest hodowla transgenicz-

nych roślin *A. thaliana* pokolenia F1) - współpraca z Institut de Biologie Moléculaire des Plantes CNRS w Strasbourgu.

9. dr Michał Sikorski (Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu), Organospecyficzna ekspresja genów łubinu w modelowych roślinach motylkowatych i niemotylkowatych (zidentyfikowano dwa geny korzeniowe kodujące białka korzeniowe, które ulegają represji w trakcie rozwoju symbiozy) - współpraca z Institut des Sciences Végétales CNRS.

10. prof. Joanna Rytka (IBB PAN), Sequencing of yeast genome - the functional analysis of new discovered ORF-s badania realizowane przy współpracy z Centre de Génétique Moléculaire CNRS)

11. dr Teresa Zołądek (IBB PAN), Regulation of heme biosynthetic pathway in yeast *S. cerevisiae* (badania prowadzone przy współpracy z Institut J. Monod w Paryżu)

PFCBR było również współorganizatorem (wraz z Instytutem Biochemii Biofizyki PAN w Warszawie i Instytutem Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu) warsztatów "Structure - Function Relationship in Plant Genome. Organization and Expression. Theoretical and Practical Aspects of Biotechnology" w Poznaniu w dn. 19 - 21 maja 1994 r.

Ponadto Centrum wielokrotnie uczestniczyło w organizacji pobytów naukowców polskich (IBB PAN, Uniwersytet Warszawski, Uniwersytet Wrocławski) w placówkach francuskich (Centre de Génétique Moléculaire w Gif-sur-Yvette, Institut Monod w Paryżu, Institut de Biologie Structurale w Grenoble, Institut des Sciences Végétales CNRS w Gif-sur-Yvette, Genethon w Paryżu, Laboratoire de Biologie Cellulaire INRA w Wersalu, Université Paris XI).

ROCZNA INFORMACJA O EFEKTACH DZIAŁALNOŚCI IBB PAN
w 1994 roku

ZESTAWIENIE LICZBOWE UZYSKANYCH WYNIKÓW w 1994 r.

I.	Publikacje wydane drukiem ^{*/}	128
a.	w tym:	
	- książki: monografie, syntezy, podręczniki	2
	- artykuły i rozprawy naukowe	61
	- referaty i doniesienia konferencyjne	65
b.	publikacje w renomowanych czasopismach o zasięgu światowym	42
II.	Nowe urządzenia	-
III.	Nowe technologie i materiały	-
IV.	Nowe metody badawcze i pomiarowe	70
V.	Ekspertyzy naukowe	41
VI.	Projekty wynalazcze zgłoszone	-
VII.	Patenty i świadectwa ochronne	2

^{*/} Spis publikacji - w załączeniu

WYKAZ WAŻNIEJSZYCH OPRACOWANYCH METOD BADAWCZYCH I POMIAROWYCH

W laboratoriach Instytutu opracowano 67 metod badawczych inżynierii genetycznej i biologii molekularnej. Zestaw tych metod został wydany w zbiorze pt. "Podręcznik laboratoryjny IBB PAN. Warszawa 1994 r.". W skład zespołu redakcyjnego weszli prof. G.Palamarczyk, prof. J.Rytka, dr M.Skoneczny.

Metody badawcze nie wymienione w wspomnianym opracowaniu:

Zakład Biochemii Roślin

1. Transformacja dihaploidalnych i tetraploidalnych odmian ziemniaka wektorami z Agrobacterium tumefaciens.

2. Otrzymanie protoplastów z zawiesiny komórkowej ziemniaka i ich transformacja metodą elektroporacji.

Zakład Biofizyki

1. Kwantowo-mechaniczny model interpretacji mechanizmu wewnątrz cząsteczkowego przenoszenia elektronu w układach peptydowych.

OCHRONA WŁASNOŚCI INTELEKTUALNEJ I PRZEMYSŁOWEJ

I. Opublikowano polski patent Nr PL 162708 B1 dotyczący sposobu otrzymywania pochodnych 6-merkaptopuryn (prof. T.Kulikowski)

II Zgłoszenie patentowe nr P-303913 z dn. 20.06.1994 r. pt. "Sposób wytwarzania sondy polinukleotydowej do jednoczesnego wykrywania trzech patogenów ziemniaka: PSTV, PVY i PLRV" (dr M.Wełnicki, prof. W.Zagórski, mgr C.Zekanowski)

DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA

Nazwa uczelni	Zajęcia ze studentami (wykłady, ćwiczenia, seminaria itp)	Inne zajęcia ze studentami poza wykładami
	liczba godzin:	

a) w kraju

1. Uniwersytet Warszawski

a) Wydział Fizyki:

prof. D.Shugar	58
prof. T.Kulikowski	10
doc. Z.Zarębska	2

b) Wydział Biologii:

dr K.Grzelak		opieka nad prakt.
dr J.Michalik		opieka nad pr.mag.
prof. L.D.Wasilewska	12	
dr J.Hennig	2	
prof. K.Kleczkowski		seminarium
prof. T.Kłopotowski		opieka nad pr.mag.
dr M.Skoneczny	 36	
mgr M.Góra		
mgr I.Smaczyńska		

prof. J.Zuk		opieka nad pr.mag.
prof. D.Hulanicka		opieka nad pr.mag.
mgr B.Rempoła		opieka nad pr.mag.
mgr J.Topczewska		opieka nad prak.(3 m-ce)
prof. Z.Cieśla		opieka nad 2 pr.mag.
dr P.Cegłowski	26	opieka nad pr.mag. i nad letnimi praktykami
mgr I.Kern	24	
dr R.Wolinowska	24	
2. Uniwersytet Gdański:		
Międzyucz. Wydział		
Biotechnologii:		
dr P.Cegłowski	2	
3. SGGW - Warszawa:		
mgr Blanka Szurmak	30	
prof. M.Fikus	15	
4. Akademia Medyczna -		
Warszawa:		
dr A.Przykorska	24	
prof. M.Fikus	35	
dr B.Tudek	40	
5. Centralne Laboratorium		
Kryminalistyki Policji:		
prof. J.Rytka	10	
mgr A.Góra		2 m-ce praktyki
prof. A.Paszewski	10	
mgr M.Sieńko		2 m-ce praktyki
mgr J.Topczewski		
6. Szkoła Biologii		
Molekularnej IBB PAN:		

prof. W.Jachymczyk	4
dr P.Zielenkiewicz	16

7. Inst. Biologii Molek.

UAM – Poznań:

prof. D.Hulanicka	2
-------------------	---

8. UMCS – Lublin:

prof. M.Fikus	90
---------------	----

9. WSRiP – Siedlce:

prof. M.Fikus	15
---------------	----

10. Krajowy Fundusz na

Rzecz Dzieci:

mgr P.Pawłowski	12
-----------------	----

mgr B.Rempoła	12
---------------	----

Ponadto pracownicy IBB PAN wygłosili 26 wykładów w placówkach i ośrodkach pozauczelnianych (Towarzystwa i Komitety Naukowe oraz inne Instytuty).

b) za granicą

FRANCJA:

1. Universite Paris VI

prof. W.Zagórski

konsultacje pracy doktor-
skiej dr M.Veira
(promotor M.Claissé)

20

2. Universite Bank Saba-

tier Toulouse

dr J.Hennig	1
-------------	---

3. Instit.of Pharmaceutical

Scienc.of Padua Univers.

doc. Z.Zarębska	1
-----------------	---

**Działalność dydaktyczna placówek UW w stowarzyszeniu z IBB PAN
w roku akademickim 1993/1994**

Pracownia Biologii Molekularnej Roślin (Zakład Fizjologii Odporności Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej Roślin UW) zorganizowała w roku akademickim 1993/1994 zajęcia fakultatywne pt. "Biologia molekularna roślin" w wymiarze 60 godzin ćwiczeń i 30 godzin wykładów dla studentów III i IV roku Wydziału Biologii. Zajęcia praktyczne przeprowadzono dla dwóch grup ćwiczeniowych (w sumie 15 osób). Zajęcia obejmowały kurs praktyczny podstawowych metod biologii molekularnej.

Ze strony IBB PAN w prowadzeniu zajęć uczestniczył Zakład Genetyki (pracownia prof. J.Rytkowej, zajęcia dot. klonowania w drożdżach) i Zakład Biochemii Roślin (pracownia prof. Danuty Wasilewskiej, zajęcia dot. immunodetekcji).

W prowadzeniu wykładu uczestniczył dr Jacek Hennig (wykład nt. mechanizmów odporności roślin na patogeny).

W roku akademickim 1994/1995 zajęcia praktyczne będą prowadzone dla 3 grup ćwiczeniowych.

WYKAZ EKSPERTYZ, OPINII I OCEN NAUKOWYCH

dr P.Cegłowski - oceny naukowe 3 projektów badawczych zgłoszonych do KBN

- recenzja publikacji do Acta Biochemica Polonica

Prof. Z.Cieśla - ocena 1 pracy habilitacyjnej

- 6 ocen projektów zgłoszonych do KBN.

Prof. Magdalena Fikus - recenzja 1 rozprawy habilitacyjnej Wydziału Biologii UW.

Dr Jacek Hennig - ocena 2 projektów badawczych dla KBN.

prof. W.Jachymczyk - 3 recenzje prac doktorskich
 4 recenzje dla KBN

Prof. C.Janion - ocena dorobku naukowego na stopień naukowy Profesora - prof.R.Olińskiego.
 - 3 recenzje dla "Postępów Biochemii" i "Acta Microbiologica Polonica".

Prof. K.Kleczkowski - ocena 4 projektów badawczych dla KBN,
 ocena 4 prac dla redakcji Acta Physiol. Plant.

prof.T.Kulikowski - 6 recenzji projektów dla KBN
 1 recenzja dla Biochemical Pharmacology

Prof. I.Pietrzykowska - Recenzje dla redakcji Polish J.Chemistry i Acta Bioch.Polon.
 - Recenzja pracy doktorskiej mgr H.Szpilewskiej z Uniwersytetu Gdańskiego.

Dr M.A. Siwecka zrecenzowała 1 artykuł do Postępów Biochemii.

Prof. J.Szarkowski - 1 ocena projektu badawczego dla KBN
 1 recenzja projektu badawczego dla KBN.

Prof. W.Zagórski - 3 recenzje projektów badawczych dla KBN
 1 recenzja pracy habilitacyjnej dr H.Rokity z Uniwersytetu Jagiellońskiego

ZWIĄZKI Z PRAKTYKĄ

Zleceniodawca	Treść zlecenia	Sposób wykorzystania
1.Instytut Ziemniaka, Młochów	od wszystkich zleceniodawców:	
2.Katedra Fitopatologii SGGW, Warszawa	Testowanie materiału próbek roślinnych na	
3.Pomorsko-Mazurska Hodowla Ziemniaka, Sp. z o.o. Oddział Płochocin	obecność wiroida PSTV metodą hybrydyzacyjną	
4.Centr.Ośrodek Badania Roślin Uprawnych,		

Słupia Wielka

5. Hodowla Roślin

w Szyldaku Sp. z o.o.

6. Centrum Zdrowia Dziecka Oznaczenie adenozynowej Dla diagnozy le-
deaminazy i fosforylazy karskiej
nukleozydu purynowego
-

UDZIAŁ W IMPREZACH NAUKOWYCH

ZAKŁAD BIOCHEMII DROBNOUSTROJÓW

Udział w krajowych imprezach naukowych:

1. Kurs "Metody Biologii Molekularnej" (Gdańsk, czerwiec 1994r.)
- mgr A. Nowicka
2. XXX Zjazd PTBioch. (Szczecin, 13-17 09 1994) - mgr R. Iwanicka,
mgr M. Juszczyk
3. "Letnia Szkoła Biotechnologii" (Wilga, lipiec 1994) - mgr
R. Iwanicka, mgr K. Pluta
4. "Oddziaływnia między mikroorganizmami i roślinami. Niekonwen-
cjonalne strategie ochrony roślin przed infekcjami wirusowymi"
Ogólnopolskie Sympozjum, (Kazimierz, 1994) - prof. D. Hulanicka
5. "Molekularne Podstawy Interakcji Pomiędzy Patogenem Wirusowym a
Rośliną Uprawną" Seminarium Krajowe, (08.12.1994, Poznań) - prof.
D. Hulanicka, E. Sadowy

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

1. Cold Spring Harbor Symposium 1994. Molecular Genetics of
Bacteria and Phage - prof. D. Hulanicka.
2. VII Thiverval-Grignon, (France 17-22 07 1994) Zjazd poświęcony
wirusom roślinnym - mgr E. Sadowy, mgr M. Juszczyk.
3. "Polsko-Francuskie Warsztaty Naukowe" (Poznań, maj 1994r.) -
mgr M. Kanabus, mgr A. Nowicka

ZAKŁAD BIOCHEMII PORÓWNAWCZEJ

Udział w krajowych imprezach naukowych:

1. XXX Zjazd PTBioch. (14 - 16 09, 1994, Szczecin) - prof.

M.M.Jeżewska, mgr H.Trembacz, dr A.Przykorska, dr J.Gabryszuk, mgr M.Mońko, dr M.A.Siwecka, dr D.Gaganidze.

Referat zamawiany: "Enzymy reutilizujące puryny w układzie gospodarz - pasożyt" prof. M.M.Jeżewska

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

1. EMBO-CNRS Workshop, Nucleotide Modification and base conversion of RNA (4-8 05, 1994, Aussois, Francja) - dr A.Przykorska

2. I-st International Conference on Insects: Chemical, Physiological and Environmental Aspects. Conference on the 105-th Birthday Anniversary of Stefan Kopeć" (26-29 09 1994, Łądek Zdrój) - dr J. Michalik była członkiem Komitetu Organizacyjnego Konferencji.

Imprezy naukowe międzynarod.

3. Eight Intern. Symp. on "Purine and Pyrimidine Metabolism in Man" (22 - 27 05, 1994, Bloomington, Indiana, USA) - mgr H.Trembacz, prof. M.M.Jeżewska

ZAKŁAD BIOCHEMII ROŚLIN

Udział w krajowych imprezach naukowych:

1. VII-ma Ogólnopolska Konferencja Kultur In Vitro (21-23 09 1994 r., Katowice-Ustroń) - prof. K.Kleczkowski, mgr M.Borkowska, prof. J.Buchowicz.

2. "Wpływ biotycznych elicytorów na indukcję aktywności amoniakolizazy-L-fenylalaniny (PAL) oraz 1,3-beta glukaz i chitynaz w zawieszynie komórkowej ziemniaka", (XXX Zjazd PTBioch, Szczecin 14-16.09.1994), dr U.Maciejewska.

3. "Trwałość ekspresji genów w roślinach transgenicznym i mini-bulwach ziemniaka" (Katowice - Ustroń 21-23-IX-1994r) - mgr M.Borkowska.

4. Konferencja naukowa pt. "Phytophthora infestans" (1.02.1994, Młochów) - prof. K.Kleczkowski, dr U.Maciejewska.

5. Referat zamawiany: "Transformacja ziemniaka w kulturach in vitro" - prof. K.Kleczkowski na VII Ogólnopolskiej Konferencji Kultur in vitro pt. "Potencjalne zastosowanie kultur in vitro w nowoczesnej hodowli roślin" (21-23.09.1994, Katowice-Ustroń) - prof. K.Kleczkowski

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

1. "International Symposium on Protein Phosphorylation in Plants" (12-14 09 1994 r., Bristol, Wielka Brytania) - prof. G.Muszyńska.
2. Międzynarodowa konferencja "Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control" (5-9 09 1994, Poznań) - dr U.Maciejewska, mgr Malik F.M. Awan
3. "Expression of tobacco PR promoters in transgenic potato plants after pathogen or elicitor treatment" (4th International Congress of Plant Molecular Biology, 19-24 June, 1994, Amsterdam) - dr J.Hennig, mgr M.Krzyszowska.
4. "International Symposium and Training Course in Plant Biology" (15-28 August, Gödöllo, Hungary) - mgr A.Talarczyk.
5. "FEBS Advanced Course on Genetics and Cell Engineering" (November 27 - December 10th, 1994, Riga, Latvia) - mgr Malik F.M.Awan

ZAKŁAD BIOFIZYKI

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

Organizacja i udział 6 osób w International Workshop on "Peptide Conformation and Metal Binding in Solution" (Miedzeszyn k/Warszawy, 12-16 IX 1994.)

1. IIIrd International Conference PULS, Warszawa/Zakopane September 5-12, 1994: K.Bobrowski (komunikat nr. 726/A).
2. 12 International School on Biophysics of Membrane Transport, Zakopane, 4-13 05, 1994: K.L. Wierzchowski
3. "Genes proteins and computers"- EMBNET AGM (Wielka Brytania, Chester, 7-11 September 1994) - dr P.Zielenkiewicz
Referat zamawiany: "Bioinformatics at IBB"

LABORATORIUM NMR

Udział w krajowych imprezach naukowych:

1. Szkoła NMR (Gdańsk 26-30 IX 199) - 4 J.Wójcik, P.Dobrowolski, K.Sadowska, B.Mikołajek.

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

Organizacja i udział całego zespołu w International Workshop on "Pep-

tide Conformation and Metal Binding in Solution" (Miedzeszyn k/Warszawy, 12-16 IX 1994.)

ZAKŁAD BIOLOGII MOLEKULARNEJ

Udział w krajowych imprezach naukowych:

1. "XXX Zjazd PTBioch (14-16 09 1994, Szczecin) - mgr A.Bębenek, mgr A.Czajkowska, prof. C.Janion, mgr A.Wójcik.

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

1. "24 Meeting MMS" (Poznań, 31.08. - 3.09.1994) - prof. I.Pietrzykowska.

2. "Spotkanie przedstawicieli Europejskiej Sieci Naprawy DNA (DNA Repair Network), (Szeged/Węgry 30.09. - 1.10.1994) - prof.I.Pietrzykowska -przedstawiono aktualny stan badań nad naprawą DNA w Polsce.

3.Międzynarodowa konferencja - Eleventh International Round Table "Nucleosides, Nucleotides and Their Biological Applications", (7-11 09,1994, Leuven, Belgia) - prof.T.Kulikowski, dr K.Felczak, mgr M.Bretner, mgr K.Krawiec

4.Międzynarodowe sympozjum "I-st International Symposium on Protein Kinases" (13-15 05 1994 - Heidelberg, Niemcy).
Referat zamawiany pt. "Inhibitors of Protein Kinases CK-I and CK-II" - prof. D.Shugar

5. Polsko-Francuskie sympozjum nt."Structure-function relationship in the plant genome" (19-21 05 1994 Poznań) - mgr E.Borys

6."XXIV Zjazd European Environmental Mutagen Society, (Poznań 31.VIII-3.IX.1994r.) - doc.J.Kuśmierek

7."24th EMS Meeting" (31.08.-3.09.1994r Poznań) prof. C.Janion

8. Międzynarodowa konferencji nt. "Molecular mechanisms of environmental mutagenesis and Carcinogenesis" (Sztokholm 20-25.08.1994r) - dr E.Grzesiuk

ZAKŁAD BIOSYNTETY BIAŁKA

Udział w krajowych imprezach naukowych:

1."Molekularne Podstawy Interakcji Pomiedzy Patogenem Wirusowym, a Rośliną Uprawną" (8 12 1994 r., Poznań) - A. Chachulska, W. Zagórski "Analiza molekularna polskich izolatów wirusa Y ziemniaka

(PVY), W.Zagórski - "Genom wirusa liściozwoju ziemniaka"

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

1. "EMBO - INRA Workshop Thiverval-Grignon (Francja, lipiec 1994)
A. Chachulska, W. Zagórski

ZAKŁAD BIOCHEMII FOSFOLIPIDÓW

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

1. "2nd Symposium of the European Network on Plant Terpenoids"
(23 - 27.01.1994 r., Strasbourg, Francja) - prof. T.Chojnacki, dr
E.Kula - Świeżewska

Referat zamawiany: "Long-chain polyprenols - 'rubber-like' plant lipids", prof. T.Chojnacki

2. "International Summer School on Molecular Mechanisms of Transcellular Signaling: 'From the Membrane to the Gene'" (15-27.08.1994 r., Spetsai, Grecja) - mgr E.Skoczylas

3. "7-th Bratislava Symposium on Saccharides" (Bratysława, Słowacja 29.08. do 2.09.1994) - prof. G.Palamarczyk

Referaty zamawiane: - "Biosynthesis of polyprenols and their glycosylated derivatives in ergosterol mutants of *S.cerevisiae*" - "Transformation of *Trichoderma* with yeast mannosylphosphodolichol synthase gene leads to the increased secretion of cellulytic enzymes" - prof. G.Palamarczyk

4. XVI-th IUBMB Satellite Symposium on Complex Carbohydrate (14-16.09.1994, Roorkee, Indie) Colloquium: New Frontiers in Glycobiology, XVI-th IUBMB, India 18 - 21.09.1994 - New Delhi, India - prof. G.Palamarczyk

Referaty zamawiane:

- "Cis-prenyl transferase activity in different ergosterol mutants of *S.cerevisiae*"

- "Molecular mechanism of O-glycosylation in *Trichoderma* related to protein secretion"

ZAKŁAD GENETYKI OGÓLNEJ

Udział w krajowych imprezach naukowych:

1. 1-st French-Polish Graduate Students Workshop (maj 1994 r., Poz-

nań) - mgr M. Murawski

2. Polskie Towarzystwo Genetyczne - (październik 1994r.)

Referat zamawiany: "Wierność transportu białek w komórce *S. cerevisiae*" - dr M. Boguta

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych:

1. Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting (August 16-21 sierpnia 1994 r., Seattle, USA) - dr M. Boguta

2. Europejska Konferencja Genetyki Grzybów (Lunteren, Holandia, 28.04 - 1.05.1994 r.) - A. Paszewski, M. Sienko, J. Topczewski.

3. Sympozjum "Genetyka i Biologia Molekularna Drożdży" (16-18 sierpnia 1994 r., Seattle, USA - J. Rytko.

OGÓLNOINSTYTUTOWE SEMINARIA NAUKOWE

1. Syntetyczne analogi 5'końców mRNA i U snRNA w badaniach nad mechanizmem biosyntezy białka oraz transportu wewnątrzkomórkowego małych jądrowych RNA - dr E. Darżynkiewicz, Instytut Fizyki Doświadczalnej UW (11.01.94).
2. Gen NAM9 u drożdży - mechanizm supresji i analiza molekularna - dr M. Boguta, IBB PAN (1.02.94).
3. Mechanizmy regulacji genetycznej u *Lactococcus lactis*: Antyterminator transkrypcji aktywujący asymilację β -glukozydów - dr J. Bardowski, IBB PAN (14.02.94).
4. Dehydrogenaza aldehydowa [EC 1.2.1.3]: Charakterystyka molekularna i kinetyczna izoenzymów wątroby ludzkiej i ich prawdopodobna rola fizjologiczna - dr.inż. W. Ambroziak, Instytut Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej (15.02.94).
5. Oddziaływania DNA z matriks jądrową - dr J. Rzeszowska - Wolny, Centrum Onkologii, Gliwice (15.02.94).
6. Understanding resistance against tetracycline. Structure and function of tetracycline repressor - prof. W. Saenger, Institut für Kristallographie, Freie Universität, Berlin (23.02.94).
7. Elektroporacja - jak powstają dziury w błonie - mgr P.

- Pawłowski, IBB PAN (8.03.94).
8. Effect of peptides, antibiotics, cecropines on biological membranes - prof. E. Glaser, Dept. of Biochemistry, Stockholms University, Szwecja (19.04.94).
 9. Time-resolved fluorescence and protein dynamics - prof. G. Krishnamoorthy, Tata Institute of Fundamental Research, Bombay, Indie (16.05.94).
 10. Wczesne stadia zwijania inhibitora trypsyny z trzustki wołu (BPTJ) - dr M. Dadlez, IBB PAN (24.05.94).
 11. Powstawanie natywnej struktury białka CM T I-I - mgr Ł. Jaroszewski, IBB PAN (24.05.94).
 12. Szybkie sekwencjonowanie wielkich genomów bez konwencjonalnego klonowania - prof. W. Szybalski, McArdle Laboratory for Cancer Research, Madison, USA (30.05.94).
 13. Próba analizy informatycznej i fizjologicznej nowoodkrytych ORF-ów chromosomu III S-cerevisiae - mgr M. Zagulski, IBB PAN (7.06.94).
 14. Modyfikacje nukleozydów zależne od obecności intronów w transferowych RNA - dr Z. Szweykowska-Kulińska. Uniwersytet im. A. Mickiewicza (9.06.94).
 15. Hormonalne regulacje procesów związanych z rozwojem osobniczym owada - dr K. Grzelak, IBB PAN (14.06.94).
 16. Zastosowanie enzymów nukleolitycznych do badania struktury RNA - mgr J. Sadowska, IBB PAN (14.06.94).
 17. Recombination and gene silencing - dr J. Paszkowski, Friedrich Miescher Institut, Bazylea, Szwajcaria (15.06.94).
 18. Plazmid Lambda i replikony eukariotyczne; analogie regulacji replikacji - prof. K. Taylor, Uniwersytet Gdański (22.06.94).
 19. IMA systems for protein and mammalian cells studies - prof. M.A. Vijayalakshmi, Universite de Technologie de Compiègne, Francja (24.06.94).
 20. The role of extensine gene in plant morphogenesis - dr Amil Shirsat, School of Biological Sciences, University of Wales, Bangor, W.Brytania (24.06.94).

21. Inhibitory topoiizomerazy II - dr P. Lassota, Lederle Research Laboratories, Pearl River, USA (5.07.94).
22. Komórkowe i wirusowe kinazy białkowe i nukleozydowe. Inhibitory i donory fosforanu. Czy ATP jest monopolistą? - prof. D. Shugar, IBB PAN (5.07.94).
23. DNA target recognition specificity by C-5 DNA methyltransferases - prof. T.A. Trautner, Dyrektor Max - Planck Institut für Molekulare Genetik, Berlin (23.09.94).
24. Ion impacts on bioorganic solids monitored by atomic force microscopy (AFM) and applications in biological mass spectrometry - prof. Bo U.R. Sundqvist, Uppsala University, Szwecja (30.09.94).
25. Białka oddziałujące z DNA widziane w akcji: RNA polimerazy, helikazy i rekombinazy - dr A. Stasiak, Laboratorium Analizy Ultrastruktur w Lozannie, Szwajcaria (21.10.94).
26. Mechanizmy regulacji ekspresji genów u *Lactococcus lactis* - dr J. Bardowski, IBB PAN (8.11.94).
27. Terpenoidowa teoria powstania i ewolucji życia komórkowego. Nowe rodzaje światłoczułych sond w badaniach budowy błon. - prof. Guy Ourisson, CNRS, Strasburg, Francja (10.11.94).
28. Udział cytoszkieletu aktywnego w dystrybucji białek pomiędzy cytoplazmą i mitochondriami - dr T. Żołądek, IBB PAN (15.11.94).
29. Trombopoetyna - nowy hormon odpowiedzialny za produkcję płytek krwi - dr A. Śledziewski, Zymogenetics, Seattle, USA (21.11.94).
30. Mechanizmy kontrolujące wierność replikacji DNA u *Escherichia coli* - dr I. Fijałkowska, IBB PAN (6.12.94).
31. Dehydrogenaza glicerolo 3-fosforanu u *Drosophila melanogaster* - regulacja przez "alternative splicing" czy "alternative polyadenylation". - dr T. Wilanowski, Australian National University (13.12.94).
32. Zastosowanie infekcyjnych transkryptów w badaniach mechanizmów ekspresji genomów wirusów roślinnych - mgr E. Sadowy, IBB PAN (20.12.94)

NAGRODY

Zakład Biologii Molekularnej

1. Tadeusz Kulikowski i Maria Bretner otrzymali II nagrodę Dyrekcji IBB PAN za pracę pt. "2-Thio Derivatives of dUrd 5-Fluoro-dUrd and Their 5'-Monophosphates: Synthesis, Interaction with Tumor Thymidylate Synthase, and *in vitro* Antitumor Activity. J. Med. Chem. 1993, 36, 3611-3617.

2. Praca doktorska dr Małgorzaty Mroczkowskiej-Słupskiej pt. "Molekularne mechanizmy mutacji wywoływanych chlorkiem winylu". Badanie własności mutagennych N²,3-etenoguaniny" otrzymała Nagrodę imienia Aurelii Baczko w dorocznym konkursie na najlepszą pracę doktorską w dziedzinie nauk biologicznych, zorganizowanym przez Towarzystwo Popierania i Krzewienia Nauk.

Zakład Biofizyki

1. Prof. K.L. Wierzchowski: Medal im. Leona Marchlewskiego, przyznany przez Komitet Biochemii i Biofizyki PAN za całokształt osiągnięć naukowych.

Zakład Biochemii Fosfolipidów

1. Informacja w data base Best Europe (Longman Cartermill Limited, Scotland) Accession No 1455 , na temat życiorysu naukowego G. Palamarczyk. W tej bazie danych znajdują się nazwiska ok. 2000 naukowców europejskich, w tym z Polski, zgodnie z informacją PAN, ok. 200 osób.

Zakład Genetyki Ogólnej

Zespół: prof. Andrzej Paszewski, dr Renata Natorff, dr Jerzy Brzywczy, doc. Małgorzata Balińska otrzymał nagrodę Sekretarza II Wydziału PAN za publikacje:

1. J. Brzywczy and A. Paszewski: "Comparative studies on O-acetylhomoserine sulfhydrylase: physiological role and characterization of *Aspergillus nidulans* enzyme". Acta Biochim. Pol. 40:421-428 (1993)

2. J. Brzywczy and A. Paszewski: "Role of O-acetylhomoserine sulfhy-

drylase in sulfur amino acid synthesis in various yeasts".Yeast 9:1335-1342 (1993)

3. R.Natorff, M.Balińska and A.Paszewski:" At least four regulatory genes control sulphur metabolite repression in *Aspergillus nidulans*". Mol.Gen.Genet.238:185-192 (1993)

4. A.Paszewski, J.Brzywczy and R. Natorff:" Sulphur metabolism in *Aspergillus nidulans*". in *Aspergillus: 50years on*" S.D. Martinelli, J.R.Kinghorn (eds) Elsevier (1994) pp.299-319

5. A.Paszewski and B.I.: "Biosynthesis of sulphur amino acids in *Saccharomyces cerevisiae*:regulatory roles of methionine and S-adenosylmethionine reassessed" Curr.Genet., 22:141-143 (1992)

Zakład Biochemii Drobnoustrojów

1.dr A.Sirko - III nagroda Rady Naukowej IBB PAN

Sirko A., Zehelein E., Freundlich M., Sawers G. 1993. Integration host factor is required for anaerobic pyruvate induction of pfl operon expression in *Escherichia coli*, J.Bacteriol. 175:5769-5777.

2. Dr R. Wolinowska: 1 nagroda IBB PAN w kategorii prac przeglądowych za publikacje:

R. Wolinowska, 1993. Genetyka czynników wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków. I. Regulon wirulencji paciorkowców grupy A. Post. Mikrobiol. 32:179-196.

R.Wolinowska, 1993. Genetyka czynników wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków. II. Inne grupy kodujące czynniki wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków. Post. Mikrobiol. 32:197-220.

3. Dr P.Cegłowski: 3 nagroda IBB PAN w kategorii prac eksperymentalnych za publikację:

P. Cegłowski, A. Boitsov, N. Karamyan, S. Chai, J.C. Alonso, 1993. Characterization of the effectors required for stable inheritance of *Streptococcus pyogenes* pSM19035-derived plasmids in *Bacillus subtilis*. Mol. Gen. Genet. 241:579-585.

WYKAZ REALIZOWANYCH PROJEKTÓW BADAWCZYCH

W roku sprawozdawczym w Instytucie realizowano następujące granty zagraniczne:

1. Prof J.Rytka - mgr M.Zagulski

Grant w ramach umowy "Jumelage"

"Sekuencjonowanie i analiza funkcjonalna genomu drożdży"

2. Dr J.Michalik (we współpracy z dr J.Chroboczek)

Grant NATO

"Introduktion of the baculovirus protein expression system topoland"

3. Dr G.Przewłocki

Grant francuski

"Post-transkrypcyjna modulacja ekspresji genu CFTR przez INF γ - RNazy indukowane przez interferon"

4. Prof. G.Palamarczyk

Grant w ramach umowy pomiędzy KBN i British Council

"Characterisation of glycosylation deficient mutants of *Aspergillus nidulans*"

5. Prof. K.L.Wierzchowski - dr P.Zielenkiewicz

Grant polsko-izraelski finansowany przez UNESCO

"Cooperation between Israel and Poland within the framework of an International Center for Cooperation in Bioinformatics"

6. Dr W.Jankowski

Grant polsko-niemiecki

"Pozyskiwanie i możliwości zastosowań praktycznych długołańcuchowych polimerów izoprenoidowych"

W IBB PAN prowadzono prace w ramach 25 projektów badawczych KBN:

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

Okres realizacji (rok od-do): 1991 - 1994

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
1935,4	280,4

Kierownik projektu: Dr Anna Kurlandzka
 Tytuł projektu: Udział białka wiążącego kwasy tłuszczowe w indukcji
 enzymów szlaku peroksyzomalnej beta-oksydacji w *Saccharomyces*
cerevisiae
 Okres realizacji (rok od-do): 1992 - 1995
 Kwota przyznana na realizację (w mln zł):
 ogółem w tym na rok sprawozdawczy
 600 170

Kierownik projektu: Prof. Andrzej Paszewski
 Tytuł projektu: Rola i genetyka sulfhydrylaz O-acetylohomoseryno-
 wych w grzybach
 Okres realizacji (rok od-do): 1992 - 1994
 Kwota przyznana na realizację (w mln zł):
 ogółem w tym na rok sprawozdawczy
 600 63

Kierownik projektu: Prof. Włodzimierz Zagórski
 Tytuł projektu: Konstrukcja plazmidów niosących kopie genomów
 wiroidów i wirusów ziemniaczanych - struktura i biosynteza tych
 patogenów
 Okres realizacji (rok od-do): 1992 - 1994
 Kwota przyznana na realizację (w mln zł):
 ogółem w tym na rok sprawozdawczy
 850 100

Kierownik projektu: Dr Piotr Ceglowski
 Tytuł projektu: Badania nad ekspresją genu streptokinazy w bakte-
 ryjnych systemach homo- i heterologicznych
 Okres realizacji (rok od-do): 1992 - 1994
 Kwota przyznana na realizację (w mln zł):
 ogółem w tym na rok sprawozdawczy
 989 234

Kierownik projektu: Prof. Grażyna Palamarczyk
 Tytuł projektu: Regulacja syntezy dolicholu i jego glikozylowych pochodnych w komórkach drożdży *S.cerevisiae*
 Okres realizacji (rok od-do): 1992 - 1995
 Kwota przyznana na realizację (w mln zł):
 ogółem 600 w tym na rok sprawozdawczy 200

Kierownik projektu: Dr Piotr Zielenkiewicz
 Tytuł projektu: Zwijanie i specyficzne rozpoznawanie białek
 Okres realizacji (rok od-do): 1992 - 1994
 ogółem 450 w tym na rok sprawozdawczy 90

Kierownik projektu: Prof. Tadeusz Kulikowski
 Tytuł projektu: Nowe analogi nukleozydowe o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych i przeciwpasożytniczych. Synteza, właściwości fizykochemiczne i biologiczne
 Okres realizacji (rok od-do): 1992 - 1995
 Kwota przyznana na realizację (w mln zł):
 ogółem 1200 w tym na rok sprawozdawczy 401

Kierownik projektu: Dr Joanna Kruszewska
 Tytuł projektu: Regulacja O-glikozylacji białek a sekrecja enzymów celulolitycznych w komórkach *Trichoderma reesei*
 Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1995
 Kwota przyznana na realizację (w mln zł):
 ogółem 450 w tym na rok sprawozdawczy 168

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

Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1995

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
564	156
.....	

Kierownik projektu: Prof. Joanna Rytka

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

Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1996

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
664	195
.....	

Kierownik projektu: Prof. Zygmunt Cieśla

Tytuł projektu: Analiza funkcji białek UmuDc i polimerazy III DNA
w indukowanej mutageniezie *Escherichia coli*

Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1995

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
702	200
.....	

Kierownik projektu: Prof. Tadeusz Chojnacki

Tytuł projektu: Naturalne i syntetyczne alkohole poliizoprenoidowe;
poszukiwanie nowych koenzymów transglikozylacji

Okres realizacji (rok od-do): 1993 1995

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
320	90
.....	

Kierownik projektu: Dr Ewa Kula-Swieżewska

Tytuł projektu: Grupy prenylowe w posttranslacyjnej modyfikacji
białek roślinnych

Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1995

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
350	100
.....	

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

Tytuł projektu: Transformacja ziemniaka

Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1996

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
887	312
.....	

Kierownik projektu: Dr Marta Dobrzańska

Tytuł projektu: Próba konstrukcji sztucznych chromosomów przydat-
nych do transformacji roślin jednoliściennych

Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1996

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
900	200
.....	

Kierownik projektu: Prof. Tadeusz Kłopotowski

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

Okres realizacji (rok od-do): 1993 - 1996

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
1000	300
.....	

Kierownik projektu: Prof. Grażyna Muszyńska

Tytuł projektu: Charakterystyka roślinnych kinaz białkowych C i
tyrozynowych oraz badanie ich udziału w przekazywaniu sygnałów

Okres realizacji (rok od-do): 1994 - 1996

Kwota przyznana na realizację (w mln zł):

ogółem	w tym na rok sprawozdawczy
900	380
.....	

ROCZNA INFORMACJA O WSPÓŁPRACY NAUKOWEJ INSTYTUTU BIOCHEMII I BIOFIZYKI PAN Z ZAGRANICĄ W 1994R.

1. Informacja opisowa o zakresie i warunkach współpracy z zagranicą

Działania organizacyjne Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin doprowadziły do powołania Rady Centrum, której przewodniczącym został prof. Piotr Słonimski, a dyrektorem prof. Stanisław Lewak. Kontynuowana była również współpraca z Francją w ramach Związku Bliźniaczego. W 1994 roku wyjechało 31 pracowników IBB PAN do placówek francuskich w celu prowadzenia wspólnych badań. Opublikowano sześć wspólnych prac w renomowanych czasopismach naukowych. Młodzi pracownicy IBB aktywnie uczestniczyli w sympozjum zorganizowanym przez EMBO i INRA dotyczącym roślin i wirusów. W roku sprawozdawczym przebywało w Instytucie 30 naukowców francuskich, którzy wygłaszali referaty, opracowywali wyniki wspólnych publikacji i planowali dalszą współpracę.

Nawiązana została współpraca w Weizmann Institute of Science Rehovot, Izrael w dziedzinie bioinformatyki. Współpraca ta odbywa się w ramach wspomagane go finansowo przez UNESCO wspólnego projektu rozwoju narzędzi informatycznych dla biologii. W bieżącym roku przebywali w Instytucie profesorowie L.Engström - dziekan Wydziału Chemii Medycznej i Fizjologicznej, i B.Sundqvist - dziekan Wydziału Nauki i Technologii Uniwersytetu w Uppsali. Celem tych wizyt było omówienie kierunków i sposobów realizacji współpracy między naszym Instytutem i Uniwersytetem w Uppsali. Zawarto dwustronną dwuletnią umowę pomiędzy laboratoriami Uniwersytetu w Uppsali i naszego Instytutu na realizację współpracy w badaniach roli i mechanizmów fosforylacji białek roślinnych.

Europejski Fundusz Stypendialny przy Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN rozpoczął pracę 1 października 1992r. Pierwsi stypendyści przyjechali do IBB PAN w marcu 1993r. Od tego czasu do chwili obecnej pracowało w IBB 23 stypendystów a 2-óch pracuje aktualnie. Poza IBB PAN pracowało w różnych ośrodkach biologicznych w Polsce 10-ciu stypendystów, i 2-óch pracuje obecnie. Stypendyści pochodzą głównie z Rosji, Białorusi i Ukrainy. Pojedynczy stypendyści przyjechali z Uzbe-

kistanu, Armenii, Gruzji i Słowacji. Wiek większości stypendystów jest w granicach 40-50 lat. Stypendyści pracowali we wszystkich Zakładach IBB z wyjątkiem Zakładu Biochemii Roślin. Czasokres pracy w większości przypadków wynosi 3-6 miesięcy. Ocena ich pracy jest pozytywna. W paru przypadkach rozpoczęli pracę w IBB z niedostateczną znajomością metodyki i tym tłumaczono dotychczasowy brak wyników nadających się do opublikowania. Obecnie jednak prawie wszyscy opiekunowie zapowiadają publikacje ze współautorstwem stypendystów. Jak narazie współautorstwo to jest widoczne tylko w komunikatach zjazdowych. Praca jednego ze stypendystów w ośrodku łódzkim zaowocowała publikacją. Obserwuje się spadek przyjeżdżających stypendystów.

Współpraca z Francją - Związek Bliźniaczy

Prof. W.Zagórski wyjeżdżał czterokrotnie do Centrum Genetyki Molekularnej CNRS w Paryżu gdzie prowadził badania nad syntezą białek drożdży, oraz omawiał ostateczną wersję pracy prezentowanej w "Current Genetic" i uczestniczył w spotkaniu z Dyrektorem Generalnym UNESCO.

Mgr A.Góra dwukrotnie wyjeżdżała do Station de Pathologie Vegetale INRA, Villenave d'Ornon (razem 2 m-ce) gdzie kontynuowała badania stabilności wariantów sekwencyjnych PSTV.

Dr J.Michalik wyjeżdżała dwukrotnie do Instytutu Biologii Strukturalnej w Grenoble (razem 11 tygodni) gdzie prowadziła badania nad sekwencjonowaniem genu poneratoksyny wraz z sekwencją sekrecyjną w plazmidzie pUW21.

Dr J.Hennig przebywał 1 tydzień w Lab.de Biol.Mol.les Velations Plantes Microorganismes - Univ. Paul Sabatier w Tuluzie gdzie nawiązywał współpracę z placówkami zajmującymi się podstawami odporności roślin na patogeny.

Mgr M.Juszczuk przebywał 1,5 m-ca w Instytucie J.Monod'a w Paryżu, gdzie badał ekspresję genów ORF4, ORF5 i ORF6 wirusa PLRV na subgenomowym RNA.

Mgr M.Góra przebywała 2 m-ce w Instytucie J.Monod'a w Paryżu gdzie zajmowała się analizą biochemiczną mutantów *S.cerevisiae* o zmienionej aktywności ferrochelatazy.

Prof. J.Rytka przebywała 10 dni w Centrum Genet.Mol.CNRS i Lab.

Biochemii Porfiryn Inst.J.Monod'a w Paryżu, gdzie na spotkaniu tamtejszych zespołów zajmujących się analizą genomu *S.cerevisiae* składała sprawozdanie z wykonanych prac oraz przygotowywała pierwszą wersję wspólnej publikacji z dr R.Labbe-Bois pt."Struktura i funkcja ferrenchelatazy".

Mgr A.Chachulska przebywała 2 tygodnie w Centre de Versailles Route de Saint-Cyr w Wersalu gdzie zajmowała się amplifikacją i sekwencjonowaniem fragmentu genu białka płaszcza PVYN NYSA oraz transformacją dysków liściowych tytoniu, wprowadzała również ostatnie poprawki do wspólnej publikacji nt."Sequence polymorphism in the 5'NTR and in the P₁ coding region of potato virus Y genomic RNA". Mgr mgr - A.Chachulska, E.Sadowy i M.Juszczuk uczestniczyli w seminarium - pt."Plant and viruses: partners in pathogenicity" organizowanym przez EMBO i INRA w Thiverval-Grignon, gdzie zaprezentowali cztery plakaty.

Mgr R.Gromadka przebywał 3 m-ce w Centre Gen.Mol. CNRS - Gif-sur-Yvette, gdzie zajmował się inaktywacją nowoodkrytych genów w chromosomie III *S.cerevisiae* metodą PCR w szczepie diploidalnym W303-2N: YCL059C, YCL06C, YCL062W, YCL063W, YCL026S-C.

Mgr E.Sadowy przebywała 6 m-cy w Inst.des Sci.Vegetales CNRS - Gif-sur-Yvette (pobyt finansowany częściowo przez Jumelage i częściowo stypendium Reseaux), gdzie zajmowała się konstrukcją infekcyjnych transkryptów wirusa liściozwoju ziemniaka (PLSV).

Mgr R.Tomaszewski przebywał 1 m-c w Instytucie J.Monod'a - CNRS w Paryżu, gdzie poznawał techniki rekonstrukcji i analizy chromatyny w układzie in vitro.

Współpraca z CNRS

Dr Dr A.Przykorska i J.Sadowska przebywały 2 tygodnie w Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Strasbourgu, gdzie zajmowały się badaniem przestrzennej struktury nietypowego tRNA^{ser} z *Candida albicans* oraz przygotowywały dwie publikacje.

Mgr A.Chachulska przebywała 3 tygodnie w Centre de Versailles, Lab.de Biol.Cell. INRA w Wersalu k/Paryża, gdzie kontynuowała prace nad klonowaniem cDNA genu białka płaszcza PVYN Nysa, wygłosiła własny referat nt."Analiza molekularna polskich izolatów wirusa PVY,

konstrukcja plazmidów przeznaczonych do transformacji roślin" oraz kończyła prace nad publikacją dotyczącą sekwencji niekodującej 5' różnych izolatów wirusa PVY.

Współpraca z Francją - umowy bezpośrednie nieformalne

Mgr M.Zagulski wyjeżdżał na 1 tydzień do CGM CNRS w Gif-sur-Yvette, gdzie zajmował się sekwencjonowaniem fragmentu 25 kB kosmidu 103 chromosomu X *S.cerevisiae* (w ramach funduszu Reseaux).

Mgr, mgr M.Zagulski R.Gromadka i J.Sulicka oraz tech. Beata Sokołowska przebywali 2 tygodnie w CGM - CNRS w Gif-sur-Yvette, gdzie zajmowali się sekwencjonowaniem genów drożdży *S.cerevisiae*.

Współpraca z CNR

Doc. Z.Zarębska dwukrotnie wyjeżdżała do Instytutu Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu w Padwie (razem 5 tygodni), gdzie zajmowała się mechanizmem działania psoralenów i badaniem uszkodzeń w fosfolipidach błonowych.

Mgr E.Waszkowska przebywała 4 tygodnie w Instytucie Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu w Padwie gdzie kontynuowała badania nad izolacją i ustalaniem struktury adduktów psoralenu w lecytynie.

Dr A.Siwecka przebywała 2 tygodnie w Instytucie Chemii Biologicznej Uniw. w Weronie, gdzie przedstawiła materiały dotyczące współpracy pomiędzy IBB PAN i Uniwersytetem w Weronie, wygłosiła własny referat nt."Rybosomalne nukleazy degradujące jedno- i dwuniciowe RNA".

Współpraca z Włochami - umowy bezpośrednie nieformalne

Prof. T.Kłopotowski przebywał 5 dni w Instytucie Genetyki i Biofizyki CNR w Neapolu, gdzie spotkał się z prof. J.Guardiolą i dr P.Verde oraz prof.M.Iaccarino i omawiał techniki badania oddziaływań białko-DNA, ponadto wygłosił wykład nt. "Szok zimny w regulacji systemu syntezy egzopolisacharydu u *E.coli*".

Mgr J.Sadowska wzięła udział w kursie "RNA structure and function" w Trieście.

Współpraca z USA

Dr T.Żołądek przebywała 3 lata w Medical Center, Dept of Biochemistry & Molecular Biology w Hershey, Pensylwania, gdzie odbywała staż podoktorski i zajmowała się wyizolowaniem i analizą genetyczną i biochemiczną mutantów, zmieniających lokalizację komórkową białka Mod5p-I, które jest jedną z form enzymu modyfikującego tRNA cytoplazmatyczne i mitochondrialne. W czasie pobytu przygotowała 1 publikację. Praca będzie kontynuowana w Instytucie.

Dr J.Cieśla przebywał 2 lata w Wardsworth Center for Lab.& Research Empire State Plaza w Albany, gdzie odbywał staż podoktorski i zajmował się badaniem enzymów uczestniczących w systemie DNA. W czasie pobytu przygotował 1 publikację.

Doc. J.Kuśmerek przebywał 3 m-ce w Donner Lab LBL, Univ.of California w Berkeley, gdzie prowadził badania reakcji hydrolitycznych adduktów chlorku winylu do dezoksynukleotydów i zasad DNA.

Dr A.Sirko przebywała 2,5 roku w Suny at Stony Brook, Dept.of Biochemistry w Stony Brook, gdzie odbywała staż podoktorski i zajmowała się badaniem funkcji histonopodobnego białka IHF (integration host factor) z E.coli.

Dr K.Krajewska-Grynkiewicz przebywała 3 tygodnie w Cold Spring Harbor Lab. w Cold Spring Harbor, gdzie brała udział w kursie obejmującym prezentację nowych koncepcji i technik genetyki bakteryjnej.

Dr M.Dadlez dwukrotnie wyjeżdżał do Whitehead Instytut for Biomedical Research IMT w Cambridge gdzie odbywał 2,5 roczny staż podoktorski i zajmował badaniami nad kinetyką tworzenia mostków dwusiarczkowych we wczesnych stadiach zwijania inhibitora trypsyny z trzustki wołu (BPTI).

Dr K.Bobrowski przebywał 2 lata w Radiation Lab. Univ.of Notre Dame w Notre Dame - Indiana, gdzie prowadził badania sensybilizowanego benzofenonem fotoutleniania aminokwasów i kwasów karboksylowych zawierających siarkę wykorzystując metodę laserowej fotolizy błyskowej z rozdzielczością nanosekundową. W czasie pobytu opracował 8 publikacji oraz dwie prace przyjęto mu do druku.

Współpraca ze Szwedzką Królewską Akademią Nauk

Mgr J. Trojanek przebywała 4 tygodnie w Instytucie Chemii Medycznej i Fizjologicznej Uniw. w Uppsali, gdzie prowadziła badania nad identyfikacją i charakterystyką roślinnych kinaz tyrozynowych.

Dr E. Kula-Świeżewska trzykrotnie wyjeżdżała (7 tygodni w tym 2 tygodnie wymienne) do Wydziału Biochemii Uniwersytetu Sztokholmskiego, gdzie prowadziła badania izoprenoidów roślinnych i zwierzęcych oraz przygotowywała 1 publikację.

Współpraca ze Szwecją - umowy bezpośrednie nieformalne

Mgr J. Szczegielniak przebywała 3 tygodnie w Instytucie Chemii Medycznej i Fizjologicznej Uniw. w Uppsali, gdzie prowadziła badania nad charakterystyką roślinnych kinaz białkowych C i identyfikacją fizjologicznego substratu tego substratu.

Prof. G. Muszyńska przebywała 4 tygodnie w Instytucie Chemii Medycznej i Fizjologicznej Uniw. w Uppsali, gdzie podpisała dwustronną umowę bezpośrednią pomiędzy Instytutem Chemii Medycznej i Fizjologicznej Uniwersytetu w Uppsali i IBB PAN. Współpraca dotyczy fosforylacji białek roślinnych. Ponadto opracowała wyniki doświadczenia i plan prowadzenia badań oraz przygotowała 2 publikacje.

Współpraca z W. Brytanią (Royal Society)

Prof. T. Chojnacki przebywał 1 tydzień w Royal Botanic Gardens w Londynie, gdzie zebrał kilkaset próbek liści roślin będących materiałem do izolowania unikalnych alkoholi poliizoprenoidowych oraz przygotowywał również publikację do druku.

Prof. G. Palamarczyk przebywała 1 tydzień w Nottingham University, Queen Medical Center w Nottingham, gdzie opracowywała plan współpracy w ramach wspólnego projektu badawczego nt badania mechanizmu glikozylacji białek w komórkach *Aspergillus nidulans*.

Współpraca z Izraelem

Dr M. Dadlez przebywał 1 tydzień w Bar-Ilan University w Ramat Gan, gdzie opracowano szczegóły wspólnego projektu badawczego i podpisano dwustronną umowę o współpracy w zakresie badania odległości między

cysteinami w wariantach BPTI oraz wygłosił referat pt. "Wczesne stadia związania BPTI.

Mgr mgr Migdalski, A.Kierzek i K.Kruszewska przebywali 10 dni w Weizmann Institute of Science w Removot, gdzie zapoznawali się z organizacją izraelskiego węzła EMB-NET, sposobami aktualizacji baz danych oraz instalacji obsługujących je programów komputerowych. Ustalono plan kursu dotyczącego wykorzystania zasobów informatycznych internetu w biologii molekularnej.

Współpraca z Niemcami

Dr P.Zielenkiewicz trzykrotnie wyjeżdżał do Freie Universität w Berlinie (razem 12 dni), gdzie omawiał wyniki obliczeń swobodnej energii asocjacji białek w znanych strukturach krystalicznych oraz wyniki współpracy w zakresie modelowania procesów rozpoznawania białko-białko i analizy oddziaływań w znanych kryształach makrocząsteczek. Ponadto prowadził rozmowy z Kier. Katedry Biochemii Uniwersytetu Comenius prof.J.Kolarov'em i dyrektorem d/s naukowych Instytutu Biofizyki Ak.Nauk Republiki Czeskiej prof.Kleinwahter'em dotyczące wspólnego wystąpienia w ramach Projektu Copernicus.

Dr K.Bobrowski przebywał 10 dni w Hahn-Meitner Instytut w Berlinie, gdzie przeprowadził pomiary wydajności chemoradiacyjnej dekarboksylacji aminokwasów zawierających siarkę metodą wysokociśnieniowej chromatografii jonowej oraz wygłosił wykład seminaryjny pt. "Intermediates in the oxidation of sulfur-containing peptides".

Współpraca z Białorusią

Prof. D.Shugar przebywał 4 dni w Instytucie Chemii Bioorganicznej Białoruskiej Ak. Nauk w Mińsku, gdzie wymienił doświadczenia nt. syntezy nietypowych mono- i trójfosforanów nukleozydów i acyklonukleozydów do badań strukturalnych i biologicznych oraz wygłosił własny referat pt. "Inhibitory kinaz białkowych oraz specyficzność kinaz nukleozydowych". Ponadto przygotowywał prace do publikacji.

Prof. T.Kłopotowski wizytował Instytut Biochemii Białoruskiej

Ak.Nauk, gdzie interesował się warunkami do prowadzenia badań naukowych w zakresie biologii molekularnej.

Współpraca z Litwą

Prof. T.Kłopotowski przebywał w Uniwersytecie Polskim w Wilnie, gdzie prowadził rozmowy na temat zorganizowania kursu nowoczesnej biologii.

Współpraca z Danią

Dr K.Bobrowski przebywał 2 tygodnie w Risø National Laboratory w Roskilde, gdzie prowadził badania nt.wewnątrzcząsteczkowego przenoszenia elektronu w układach peptydowych i białkowych oraz przygotowywał publikację do druku.

Współpraca z Holandią

Dr P.Zielenkiewicz przebywał 10 dni w Nijmingem Caos-Camm Center, gdzie uzgadniał procedury przyjęcia Polski do Europejskiej Sieci Biologii Molekularnej.

Współpraca z Austrią

Dr J.Kruszewska przebywała 10 dni w Technische Universität w Wiedniu, gdzie prowadziła badania zależności pomiędzy regulacją O-glikozylacji białek i sekrecją enzymów celulołitycznych w komórkach *Trichoderma reesei*.

Współpraca z Kanadą

Prof. D.Shugar przebywał 6 tygodni w 3 placówkach naukowych w Kanadzie: Wydział Medycyny Uniwersytetu w Quebec, National Research Council - Ottawa, Wydział Biologii Uniwersytetu York - Toronto, gdzie wygłaszał własne referaty. Przygotowywał publikacje do druku w zakresie pracy nad strukturą i konfiguracją biologicznych czynnych nukleozydów i acynukleozydów oraz mechanizmami uszkodzenia mtDNA.

Współpraca ze Słowacją

Mgr U.Perlińska-Lenart przebywała 2 tygodnie w Instytucie Chemii

Słowackiej Ak.Nauk gdzie prowadziła badania nad charakterystyką białka syntazy sterylglukozydu.

Udział w Międzynarodowych imprezach naukowych

Dr dr i J.Sadowska brały udział w EMBO Workshop "Nucleoside modification, RNA adding" w Strasbourgu, gdzie wygłoszono referat pt."Wpływ modyfikacji nukleozydów na przestrzenną strukturę RNA".

Dr J.Hennig i mgr M.Krzymowska brali udział w Czwartym Międzynarodowym Kongresie Biologii Molekularnej Roślin w Amsterdamie, gdzie przedstawiono plakat pt."Expression of Tobacco PR Promoters in Transgenic Potato Plants after Pathogen or Elicitors Treatment".

Prof. T.Chojnacki i dr E.Kula-Swieżewska brali udział w Second Sympozjum of the European Network on Plant Terpenoids w Strasbourgu, gdzie przedstawiono referat sympozjalny pt."Long-chain polyprenols - "rubberlike" plant lipids".

Prof. A.Paszewski, mgr mgr M.Sieńko i J.Topczewski brali udział w Second European Conference on Fungal Genetics w Amsterdamie, gdzie przedstawiono doniesienie pt." Cloning and characterization of Aspergillus nidulans gens coding for cysteine synthase and homocysteine synthase".

(Prof. M.Jeżewska brała udział w 8th International Symposium on Purine and Pyrimidine Metabolism in Man w Blumington - USA, gdzie prezentowała poster pt."Specyficzne enzymy syntetyzujące adenosinę z adeniny i rybozy-1-fosforatase ⁱⁿ invertebrates".

Mgr A.Talarczyk brał udział w International Symposium and Training Course in Plant Biotechnology w Godollo - Węgry.

Prof. I.Pietrzykowska brała udział w Międzynarodowej Konferencji "DNA Repair Network" w Szegedzie - Węgry.

Prof. D.Shugar brał udział w Międzynarodowym Sympozjum nt."Kinazy białkowe CK-1 i CK-2" - w Heidelbergu - Niemcy, gdzie wygłosił plenarny referat pt."Inhibitory kinaz białkowych".

Dr E.Grzesiuk brała udział w Międzynarodowym Sympozjum nt."Molecular Mechanisms of Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis" w Sztokholmie - Szwecja, gdzie prezentowała plakat.

Prof. G.Muszyńska brała udział w Międzynarodowym Sympozjum nt."Protein Phosphorylation in Plants" w Bristolu - W.Brytania gdzie prezentowała plakat pt."Managenese dependent tyrosine phosphorylation in maize seedlings protein".

Prof. T.Kłopotowski brał udział w Sympozjum dla Uczczenia Bruce'a A.Amesa w San Francisco - USA, gdzie wygłosił referat pt."Operony *dad* oraz *cps* - syntezy otoczkowego polisacharydu".

Prof. D.Hulanicka brała udział w Sympozjum "Molecular Genetics of Bacteria and Phage" w Cold Spring Harbor - USA, gdzie przedstawiła pracę pt."Identification and Expression Studies of the E.coli *cbl* gene encoding the member of LysR family of transcriptiopnal regulators".

Prof. G.Palamarczyk brała udział w "7ym Sympozjum Polisacharydy" w Bratysławie - Słowacja, gdzie została poproszona przez organizatorów tego Sympozjum do wygłoszenia wykładu nt. Molekularne mechanizmy glikozylacji białek u *Trichoderma reesei* i *Saccharomyces cerevisiae*".

Dr P.Zielenkiewicz brał udział w International Conference: "Bio-Informatoics Networking and Computing in Molecular Biology" w Manchester - W.Brytania.

Prof. J.Rytka brała udział w "1994 Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting" w Seattle - USA, gdzie przedstawiła doniesienie pt."The gene MAK5 involved in maintenance of the dsRNA killer plasmids encodes DEAD-box helicase essential for the host viability". Ponadto w Z-dzie Biochemii Uniwersytetu w Dallas wygłosiła referat nt."The stru-cture and function of ferrochelataase".

Prof. D.Shugar wygłosił referat zamawiany pt.Konformacja i własności substrat/inhibitor acyklonukleozydów, nukleotydów oraz cyklicznych fosforanów" na VI Międzynarodowej Konferencji na temat środków przeciwwirusowych".

Prof. P.Szafranski brał udział w Międzynarodowej Konferencji nt."Past, Present and Future of Immobilized Metal-Jon Affinity Systems w Paryżu, gdzie przewodniczył sekcji poświęconej rozdziałowi białek w układach zawierających jony metali.

Prof. G.Palamarczyk uczestniczyła w dwóch kongresach w Indiach.

1. "Complex Carbohydrates", Roorkee
2. 16ty Kongres Biochemii i Biologii Molekularnej" Dehli, została

zaproszona do wygłoszenia następujących referatów na obu imprezach "Cis-prenyl transferaze activity in different ergosterol mutants of *Saccharomyces cerevisiae*"; "Molecular mechanism of O-glycosylation in *Trichoderma* related to protein secretion".

Szkolenia

Dr J.Wójcik brał udział w szkoleniu technik NMR w Varian GmbH Igls - Austria.

Mgr E.Skoczyła uczestniczyła w FEBS Advanced Course: Molecular Mechanism of Transcellular Signaling: "From the Membrane to the Gene".

Mgr A.Chacińska przebywała 2 tygodnie w Lab.de Biologie w Lille, gdzie brała udział w kursie FEBDSu nt."Glycoconjugates".

Imprezy międzynarodowe zorganizowane przez IBB PAN.

W 1994r. Instytut Biochemii i Biofizyki PAN był organizatorem i współorganizatorem trzech imprez międzynarodowych:

1. W okresie 19-21 maja odbyła się w Poznaniu I-st French-Polish Graduate Student Workshop nt: "Structure - Function Relationship in Plant Genome Organization and Expression Theoretical and Practical Aspects of Biotechnology". W imprezie wzięli udział uczestnicy z Polski i Francji. Na 79 wystawionych plakatów doktoranci IBB PAN (uczestnicy Szkoły Biologii Molekularnej) zaprezentowali 49. Współorganizatorami imprezy było Centrum Polsko-Francuskie Biotechnologii Roślin oraz Instytut Chemii Bioorganicznej PAN. Przy okazji tej imprezy odbyło się w Warszawie posiedzenie Rady Centrum, na którym podkreślono wysoki poziom zaprezentowanych wyników oraz stymulujący dla młodych pracowników charakter imprezy.

2. W okresie 12-16 września w Miedzeszynie pod Warszawą zorganizowano "International Workshop on Peptide Conformation and Metal Binding in Solution". W sympozjum wzięło udział 57 osób, w tym połowa z zagranicy. Zaprezentowano 16 wykładów, 9 doniesień oraz 15 plakatów. W części kulturalno rozrywkowej imprezy goście zwiedzili Zamek Królewski i wysłuchali Kwartetu "Camerata" w Muzeum Historycznym. Współorganizatorem imprezy był Instytut Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

3. W okresie 28-30 listopada Instytut zorganizował Sympozjum "Second Survey of Research" z udziałem gości zagranicznych z Francji, USA, i Izraela, obejmujące wyniki badań Instytutu i Z-du Genetyki UW z ostatnich 3 lat. Wygłoszono 39 referatów oraz przedstawiono 117 plakatów. Miały również miejsce dyskusje zespołowe nt:

- edukacji w dziedzinie biologii
- biologii XXI wieku
- skąd idziemy dokąd zmierzamy z czynnym udziałem gości zagranicznych. Pierwszego grudnia odbyło się posiedzenie posympozjalne z udziałem przedstawicieli Dyrekcji, Rady Naukowej, Kierowników Zakładów IBB PAN i UW oraz części uczestników zagranicznych, na którym między innymi dokonano wysokiej oceny tej imprezy.

2. Wymiana osobowa

W roku sprawozdawczym Instytut przyjął 72 gości zagranicznych, z IBB PAN wyjechało 86 osób.

3. Ocena merytoryczna współpracy z zagranicą. Wnioski

W 1994 roku na VIIIth Annual General Meeting of EMBnet Foundation, Polska została przyjęta do Europejskiej Sieci Biologii Molekularnej. Oficjalnym przedstawicielem Polski w tej organizacji został Instytut Biochemii i Biofizyki PAN (zgodnie z notą KBN). Uczestnictwo w EMBnet umożliwi polskim naukowcom dostęp do aktualnych baz danych dla biologii molekularnej i biotechnologii oraz nowoczesnego oprogramowania. W ramach narodowego węzła EMBnet, w IBB PAN oferuje się już szereg aktualizowanych baz danych dostępnych bezpłatnie dla całego polskiego środowiska naukowego.

Perspektywicznym celem współpracy polsko-izraelskiej jest stworzenie w IBB PAN regionalnego centrum bioinformatycznego dla Europy Wschodniej i Środkowej. W 1994 roku w ramach projektu odbyło się szkolenie trzech polskich operatorów w Instytucie Weizmanna stanowiące przygotowanie dla planowanego w 1995 roku kursu szkoleniowego w IBB, na który zaproszeni zostaną uczestnicy z różnych krajów.

Wyrazem naukowego uznania pracowników naszego Instytutu było:

- zaproszenie ich do wygłoszenia pięciu referatów na międzynarodowych

Kongresach i Zjazdach;

- ufundowanie dwóch stypendiów naukowych dla pracowników Instytutu przez firmę BIOSYM Technologies San Diego, USA;
- zaproszenie (koszty pobytu i podróży pokrywała strona zapraszająca) całych grup badawczych z Instytutu do realizacji wspólnych prac badawczych. Przykładem jest współpraca z Francją w ramach europejskiego projektu sekwencjonowania drożdży oraz ze Szwecją w badaniu fosforylacji białek roślinnych (Uniwersytet w Uppsali).

Instytut w roku bieżącym zorganizował trzy sympozja, których poziom był wysoko oceniony przez międzynarodowe środowisko naukowe. W przypadku Funduszu Europy Wschodniej konieczne są ostrzejsze kryteria doboru kandydatów.

Tabl. 1

Przyjazdy z zagranicy w 1994r

Kontynenty/ Kraje	Ogółem	w tym			
		Bada- wcze	Szkole- niowe	Kongresy i konfer.	Organi- zacyjne
Indie	1	—	—	1	—
Szwecja	4	1	—	—	3
Niemcy	3	—	—	1	2
USA	12	—	—	12	—
Rosja	6	4	—	2	—
Ukraina	5	4	—	—	1
Francja	23	—	—	19	4
Francja — Zw.Bliźniaczy	7	1	4	2	—
Włochy	1	—	—	1	—
Białoruś	1	1	—	—	—
Węgry	3	—	—	3	—
Izrael	3	—	—	3	—
Wlk.Brytania	3	—	—	2	1
	72	11	4	46	11

Tabl.2

Wyjazdy za granicę w 1994r

Kontynenty/ Kraje	Ogółem	w tym			
		Bada- wcze	Szkole- niowe	Kongresy i konf.	Organiza- cyjne
Szwecja	8	6	–	1	1
Indie	1	–	–	1	–
Niemcy	5	3	–	1	1
Dania	1	1	–	–	–
Francja	18	6	2	6	4
Francja – Zw. Bliźniaczy	13	12	–	–	1
USA	10	5	1	4	–
Izrael	4	–	3	–	1
Wlk.Brytania	4	1	–	2	1
Austria	2	1	–	1	–
Holandia	6	1	–	5	–
Białoruś	2	1	–	–	1
Słowacja	2	1	–	1	–
Grecja	1	–	–	1	–
Kanada	1	1	–	–	–
Włochy	6	4	1	–	1
Węgry	2	–	–	2	–
	86	43	7	25	11

Tabl.3

Wydatki i dochody z tytułu współpracy
z zagranicą w 1994r (w mln zł)

Treść	Kwota
I. WYDATKI	
1. Koszty zagranicznych podróży służbowych (bilety)	- 589.626
2. Koszty wykupu dewiz	- 293.620
3. Koszt wiz	- 3.024
4. Koszty pobytu gości zagranicznych	
4.1. na zaproszenie i koszt placówki	- 39.909
4.2. w ramach wymiany bezdewizowej	- 35.430
5. Koszty konferencji międzynarodowych organizowanych w kraju	- 715.636
6. Inne wydatki	- 21.515
II. DOCHODY (nie było)	

Warszawa, 31 grudnia 1994 r.

.....
(Główny Księgowy).....
(Dyrektor placówki)

ROCZNA INFORMACJA O ROZWOJU KADR NAUKOWYCH IBB PAN w 1994 roku

Tabl.1 Stopnie naukowe nadane w IBB PAN:

Stopnie naukowe	n a d a n e		
	Ogółem	w tym	
		Pracown. PAN	Innym osobom
doktora	5	5	–
doktora habilitowanego	3	–	3

Tabl.2 Stopnie naukowe uzyskane przez pracowników w IBB PAN:

Stopnie naukowe	u z y s k a n e		
	Ogółem	w tym	
		w PAN	poza PAN
doktora	6	5	1
doktora habilitowanego	–	–	–

Stypendia naukowe

Liczba osób pobierających stypendia:

doktorskie – 17
 habilitacyjne – 8
 magisterskie – 11

Studia doktoranckie

liczba uczestników – 0

Krajowe staże naukowe i zawodowe

liczba osób przyjętych na staż w IBB – 2 (z zagranicy)

Opieka nad studentami

Liczba studentów odbywających praktyki w IBB PAN – 6

Prace magisterskie wykonane pod kierunkiem pracowników w IBB – 6

Warszawa, dnia 31 grudnia 1994 r.

„(Dyrektor placówki)”

Załącznik do Sprawozdania
(pkt.I na str. 59)

POLSKA AKADEMIA NAUK
INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI
UL.PAWIŃSKIEGO 5a
02-106 WARSZAWA

PUBLIKACJE Z ROKU 1994

- +2949. TECLEBRHAN H., OLSSON J., ŚWIEŻEWSKA E., DALLNER G.
Biosynthesis of the side chain of ubiquinone: *trans*-prenyltransferase in rat liver microsomes.
J. Biol. Chem. 1993 268 23081-23086
2950. BRETNER M., KULIKOWSKI T., DZIK J.M., BALIŃSKA M., RODE W., SHUGAR D.
2-thio derivatives of dUrd and 5-fluoro-dUrd and their 5'-monophosphates: synthesis, interaction with tumor thymidylate synthase, and *in vitro* antitumor activity.
J. Med. Chem. 1993 36 3611-3617
2951. BOBROWSKI K., MARCINIAK B.
The kinetics of the acid-base equilibrium of 4-carboxybenzophenone ketyl radical. A pulse radiolysis study.
Radiat. Phys. Chem. 1994 43 361-364
2952. MARCINIAK B., BOBROWSKI K., HUG G.L.
Quenching of triplet states of aromatic ketones by sulfur-containing amino acids in solution. Evidence for electron transfer.
J. Phys. Chem. 1993 97 11937-11943
2953. MICHALIK J.
Neuropeptydy owadów i perspektywy ich praktycznego zastosowania do kontroli populacji szkodników owadzich.
Kosmos 1993 42 583-597
- +2954. BOGUTA M., HUNTER L.A., WU-CHENG SHEN, GILLMAN E.C., MARTIN N.C., HOPPER A.K.
Subcellular locations of *MOD5* proteins: Mapping of sequences sufficient for targeting to mitochondria and demonstration that mitochondrial and nuclear isoforms commingle in the cytosol.
Mol. Cell. Biol. 1994 14 2298-2306

2955. BRZYWCZY J., PASZEWSKI A.
 Role of O-acetylhomoserine sulphydrylase in sulfur amino acid synthesis in various yeasts.
 Yeast 1993 9 1335-1342
- +2956. WEEKES J., HAWLEY S.A., CORTON J., SHUGAR D., HARDIE D.G.
 Activation of rat liver AMP-activated protein kinase by kinase in a purified, reconstituted system.
 Effects of AMP and AMP analogues.
 Eur. J. Biochem. 1994 219 751-757
2957. MROCZKOWSKA-SŁUPSKA M.M., KUŚMIEREK J.T.
 Molekularne podstawy mutagennego działania chlorku winylu. /Molecular basis of mutagenic activity of vinyl chloride./
 Post. Biochem. 1994 40 31-39
2958. KULIKOWSKI T.
 Structure-activity relationships and conformational features of antiherpetic pyrimidine and purine nucleoside analogues.
 A review.
 Pharm. World Sci. 1994 16 127-138
2959. WOLINOWSKA R.
 Genetyka czynników wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków. I. Regulon wirulencji paciorkowców grupy A.
 Genetics of virulence factors of *Streptococcus pyogenes* and enterococci. I. A virulence regulon in *Streptococcus pyogenes*.
 Post. Mikrobiol. 1993 32 179-196
2960. WOLINOWSKA R.
 Genetyka czynników wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków. II. nowe geny kodujące czynniki wirulencji paciorkowców ropotwórczych i enterokoków.
 Genetics of virulence factors of *Streptococcus pyogenes* and

enterococci.

Post. Mikrobiol. 1993 32 197-220

2961. SHUGAR D., BOROWSKI E., eds. of symp.
Molecular Aspects of Chemotherapy. Spec. Issue
In: Pharmacol. Ther. 1993 60 149-387
The J. of The Intern. Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics.
Proc. of 4th Int. Symp. on Mol. Aspects of Chemotherapy.
Gdańsk, Poland, June 23-25, 1993
- +2962. KOLL A., ROSPENK M., STEFANIAK L., WÓJCIK J.
Study of the association of 2-oxoindolines in carbon tetrachloride solutions by IR spectra, dipole moments and average molecular weight measurements.
J. Phys. Org. Chem. 1994 7 171-177
- +2963. ZIELENKIEWICZ A., ROUX-DESGRANGES G., ROUX A.H.,
GROLIER J.-P.E., WIERZCHOWSKI K.L., ZIELENKIEWICZ W.
Apparent molar heat capacities and volumes, van der Waals volumes and accessible surface areas of alkylated derivatives of cytosine and uracil in aqueous solutions at 25°C.
J. Solution Chem. 1993 22 907-918
- +2964. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid bases.
VIII. Enthalpies of hydration of 6-alkyluracils.
J. Solution Chem. 1993 22 975-981
- +2965. BURLIŃSKA G., WĄSOWICZ T., MICHALIK J., BOBROWSKI K.
Radiation induced radicals in solid peptides.
Mol. Phys. Reports 1994 6 134-139

- +2966. BOBROWSKI K., POGOCKI D., SCHÖNEICH CH.
Mechanism of the $\cdot\text{OH}$ radical-induced decarboxylation of
2-(alkylthio)ethanoic acid derivatives.
J. Phys. Chem. 1993 97 13677-13684
- +2967. BURLINSKA G., MICHALIK J., BOBROWSKI K.
An electron spin resonance study of gamma-irradiated polycry-
stalline methionine-containing peptides.
Radiat. Phys. Chem. 1994 43 425-432
- +2968. POGOCKI D., BURLINSKA G., WĄSOWICZ T., SĄDŁO J., BOBROWSKI K.
Radical induced oxidation of sulfur-containing amino acids.
An ESR study.
Mol. Phys. Reports 1994 6 224-229
- +2969. BOBROWSKI K., HUG G.L., MARCINIAK B., KOZUBEK H.
4-Carboxybenzophenone-sensitized photooxidation of sulfur-con-
taining amino acids in alkaline aqueous solutions. Secondary
photoreactions kinetics.
J. Phys. Chem. 1994 98 537-544
- +2970. BECAM A.-M., CULLIN C., GRZYBOWSKA E., LACROUTE F., NASR F.,
OZIER-KALOGEROPOULOS O., PAŁUCHA A., SŁONIMSKI P.P.,
ZAGULSKI M., HERBERT C.J.
Yeast sequencing reports.
The sequence of 29.7 kb from the right arm of chromosome II
reveals 13 complete open reading frames, of which ten corres-
pond to new genes.
Yeast 1994 10 S1-S11
- +2971. CEGŁOWSKI P., BOITSOV A., SUNGHEE CHAI, ALONSO J.C.
Analysis of the stabilization system of pSM19035-derived plas-
mid pBT233 in *Bacillus subtilis*.
Gene 1993 136 1-12

2972. WOLINOWSKA R.
Genetyka czynników wirulencji paciorkowców jamy ustnej.
Post. Mikrobiol. 1993 32 253-270
2973. HULANICKA D., PAŁUCHA A., ZAGÓRSKI W.
Niekonwencjonalne strategie ochrony roślin przed infekcjami wirusowymi.
Post. Biochem. 1994 40 91-96
2974. PAŁUCHA A., SADOWY E., KUJAWA A., JUSZCZUK M., ZAGÓRSKI W.,
HULANICKA D.
Nucleotide sequence of RNA a polish isolate of Potato Leafroll
Luteovirus.
Acta Biochem. Polon. 1994 41 405-414
2975. ZABOROWSKA D., BARANOWSKA H., ŻUK J.
Role of the DNA polymerase III in mutagenesis in the yeast
Saccharomyces cerevisiae.
Bulletin Polish Acad. Sci. 1994 42 25-30
2976. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Thermochemistry of alkylated uracils in aqueous solutions.
Enthalpies of hydration of 3-alkyluracils.
Pure and Appl. Chem. 1994 66 503-507
2977. BIRNBAUM K.B., STOLARSKI R., SHUGAR D.
Structure and conformation of the cyclic phosphate of Gancic-
lovir, a broad-spectrum antiviral agent.
Biochim. Biophys. Acta 1994 1200 55-63
2978. NOWICKA A., KANABUS M., ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E., CIEŚLA Z.
Different UmuC requirements for generation of different kinds
of UV-induced mutations in *Escherichia coli*.
Mol. Gen. Genet 1994 243 584-592

2979. ZAREBSKA Z.
Cell membrane, a target for PUVA therapy. Invited Review.
J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 1994 23 101-109
- +2980[†] NASR F., BÉCAM A.-M., GRZYBOWSKA E., ZAGULSKI M.,
SŁONIMSKI P.P., HERBERT C.J.
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.
Curr. Genet. 1994 26 1-7
- +2981. SCHONEICH CH., ZHAO F., MADDEN K.P., BOBROWSKI K.
Side chain fragmentation of N-terminal threonine or serine residue induced through intramolecular proton transfer to hydroxy sulfuranyl radical formed at neighboring methionine in dipeptides.
J. Am. Chem. Soc. 1994 116 4641-4652
2982. TREMBACZ H., JEŻEWSKA M.M.
Adenosine phosphorylase and other enzymes of purine salvage in Pulmonata snails and their Trematoda parasites.
Comp. Biochem. Physiol. 1994 107B 135-139
- +2983. CEGŁOWSKI P., ALONSO J.C.
Gene organization of the *Streptococcus pyogenes* plasmid pDB101: sequence analysis of the *orf η -copS* region.
Gene 1994 145 33-39
- +2984. ZAGULSKI M., BÉCAM A.-M., GRZYBOWSKA E., LACROUTE F.,
MIGDALSKI A., SŁONIMSKI P.P., SOKOŁOWSKA B., HERBERT C.J.
Yeast sequencing reports. The sequence of 12.5 kb from the right arm of chromosome II predicts a new N-terminal sequence for the IRA1 protein and reveals two new genes, one of which is a DEAD-box helicase.
Yeast 1994 10 1227-1234

2985. SMACZYŃSKA I., SKONECZNY M., KURLANDZKA A.
Studies on the effect of an heterologous fatty acid-binding protein on acyl-CoA oxidase induction in *Saccharomyces cerevisiae*.
Biochem. J. 1994 301 615-620
- +2986. MUSZYŃSKA-PYTEL M., MIKOŁAJCZYK P., SZOŁAJSKA E., PSZCZOLKOWSKI M.A.
Feedback regulation of the allatotropic hormone in the *Galleria mellonella* (Lepidoptera) larval brain.
In: Insect Neurochemistry and Neurophysiology. Alexej B. Bor- kovec, Marcia J. Loeb. CRC Press 1993
2987. BORYS E., MROCZKOWSKA-SŁUPSKA M.M., KUŚMIEREK J.T.
The induction of adaptive response to alkylating agents in *Escherichia coli* reduces the frequency of specific C → T mutations in chloroacetaldehyde-treated M13 *glyU* phage.
Mutagenesis 1994 9 407-410
2988. GRZELAK K.
Ecdysteroids in insects: biosynthesis, metabolism and function.
Post. Biochem. 1994 40 181-190
2989. BORKOWSKA M., KLECZKOWSKI K., KŁOS B., JAKUBIEC J., WIELGAT B.
Transformation of diploid potato with an *Agrobacterium tumefaciens* binary vector system: I. Methodological approach.
Acta Physiol. Plant. 1994 16 225-230
2990. AWAN M.F.M.
Ontogenic variation of nodulation, nitrogen fixation and nitrogen assimilation in lentil (*Lens culinaris* Medic).
I. Soil characteristics, nodulation and plant yield.
Acta Physiol. Plant. 1994 16 163-169

- +2991. MOORE J.T., CIESLA J.M., CHANGCHIEN L.-M., MALEY G.F., MALEY F.
Identification of a site necessary for allosteric regulation
in T4-Phage deoxycytidylate deaminase.
Biochemistry 1994 33 2104-2112
2992. SWIEZEWSKA E., SASAK W., MANKOWSKI T., JANKOWSKI W., VOGTMAN T.,
KRAJEWSKA I., HERTEL J., SKOCZYLAS E., CHOJNACKI T.
The search for plant polyprenols. Minireview.
Acta Biochim. Polon. 1994 41 221-260
2993. KRUSZEWSKA J., KUBICEK CH.P., PALAMARCZYK G.
Modulation of mannosylphosphodolichol synthase and dolichol ki-
nase activity in *Trichoderma*, related to protein secretion.
Acta Biochim. Polon. 1994 41 331-337
2994. BRZYWCZY J., PASZEWSKI A.
Sulfur amino acid metabolism in *Schizosaccharomyces pombe*:
occurrence of two O-acetylhomoserine sulfhydrylases and the
lack of the reverse transsulfuration pathway.
FEMS Microbiol. Lett. 1994 121 171-174
2995. PASZEWSKI A., BRZYWCZY J., NATORFF R
Sulphur metabolism.
In: "Aspergillus: 50 years on " v. edited by S.D. Martinelli
and J.R. Kinghorn Progress in Industrial Microbiology, 29
Elsevier 1994 299-319
2996. BUCHOLC M., BUCHOWICZ J.
A minichromosome-like structure in wheat embryos.
Plant Mol. Biol. Rep. 1994 12 204-208
2997. DZIK J.M., ZIELINSKI Z., CIEŚLA J., RODE W., BRETNER M., KULIKO-
WSKI T., SHUGAR D.
Interaction with 2(4)-thio-5-fluoro-dUMP of thymidylate syn-
thases with differing sensitivities to 5-fluoro-dUMP.

In: Chemistry and Biology of Pteridines and Folates
ed. J.E.Ayling et al. Plenum Press N.Y. 1993 617-620

2998. MONKO M., KULIGOWSKA E., SZARKOWSKI J.W.
A single-strand- specific nuclease from a fraction of wheat
chloroplast stromal protein.
Phytochemistry 1994 37 301-305
2999. JANAS T., CHOJNACKI T., ŚWIEŻEWSKA E., JANAS T.
The effect of undecaprenol on bilayer lipid membranes.
Acta Biochim. Polon. 1994 41 351-358
- +3000. MEMMEL N.A., TREWITT P.M., GRZELAK K., RAJARATNAM V.S.,
KUMARAN A.K.
Nucleotide sequence, structure and developmental regulation
of LHP82, a juvenile hormone-suppressible hexamerin gene from
the wax moth, *Galleria mellonella*.
Insect Biochem. Molec. Biol. 1994 24 133-144
- +3001. HRYNIEWICZ M.M., KREDICH N.M.
Stoichiometry of binding of CysB to the *cysJIH*, *cysK*, and *cysP*
promoter regions of *Salmonella typhimurium*.
J. Bacteriol. 1994 176 3673-3682
3002. WELNICKI M., ŻEKANOWSKI C., ZAGÓRSKI W.
Digoxigenin-labelled molecular probe for the simultaneous de-
tection of three potato pathogens: PSTV, PVY and PLRV.
Acta Bioch. Polon. 1994 41 473-475
- +3003. RUNQUIST M., ERICSSON J., THELIN A., CHOJNACKI T., DALLNER G.
Isoprenoid biosynthesis in rat liver mitochondria. Studies on
farnesyl pyrophosphate synthase and *trans*-prenyltransferase.
J. Biol. Chem. 1994 269 5804-5809

3004. ŁOBOCKA M., HENNIG J., WILD J., KŁOPOTOWSKI T.
 Organization and expression of the *Escherichia coli* K-12 *dad* operon encoding the smaller subunit of D-Amino acid dehydrogenase and the catabolic alanine racemase.
 J. Bacteriol. 1994 176 1500-1510
3005. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
 Apparent molar heat capacities of some alkyl derivatives of 2-aminopurine, adenine and guanine in dilute aqueous solution at 25°C.
 Termochimica Acta 1994 237 49
3006. GRZESIUK E., JANION C.
 The frequency of MMS-induced, *umuDC*-dependent, mutations declines during starvation in *Escherichia coli*.
 Mol. Gen. Genet. 1994 245 486-492
3007. MURAWSKI M., SZCZEŚNIAK B., ŻOŁĄDEK T., HOPPER A., MARTIN N.C., BOGUTA M.
 Mutation altering the subcellular localization of the MOD5 protein in yeast.
 Acta Biochim. Polon. 1994 41 441-448
3008. JANKOWSKI W.J., ŚWIEŻEWSKA E., SASAK W., CHOJNACKI T.
 Occurrence of polyprenols and dolichols in plants.
 J. Plant Physiol. 1994 143 448-452
- +3009. SEGER R., SEGER D., RESZKA A.A., MUNAR E.S., ELDAR-FINKELMAN H., DOBROWOLSKA G., JENSEN A.M., CAMPBELL J.S., FISCHER E.H., KREBS E.G.
 Overexpression of mitogen-activated protein kinase kinase (MAPKK) and its mutants in NIH 3T3 cells. Evidence that MAPKK involvement in cellular proliferation is regulated by phosphorylation of serine residues in its kinase subdomains VII and VIII.

J. Biol. Chem. 1994 269 25699-25709

+3010. GÓRA A., CANDRESSE T., ZAGÓRSKI W.

Analysis of the population structure of three phenotypically different PSTVd isolates.

Arch. Virol. 1994 138 233-245

3011. KUŚMIEREK J.T.

Środowisko, pestycydy, nowotwory.

Wiedza i Życie, grudzień 1994 s.17-22

TYTUŁY ROZPRAW HABILITACYJNYCH

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

1/N AMBROZIAK Wojciech

Dehydrogenaza aldehydowa (EC 1.2.1.3): Charakterystyka molekularna i kinetyczna izoenzymów wątroby ludzkiej i ich prawdopodobna rola fizjologiczna.

(Aldehyde dehydrogenase (EC1.2.1.3): molecular and kinetic characterization of human liver isozymes and their probable physiological role)

Presented on April 25, 1994 pp.54

The work done in the Institute of General Food Chemistry of Technical University of Łódź. Łódź, 1993

Publ.: Alcohol. Clin. Exp. Res. 1987 11 528-532: Agents Actions 1988 23 311-313: J. Biol. Chem. 1989 264 4715-4721:

J. Am. Chem. Soc. 1989 28 5367-5373: J. Biol. Chem. 1991 266 13011-13018: Comp. Biochem. Physiol. 1991 100B 321-327:

Biochim. Biophys. Acta 1991 1079 203-208: Biochim. Biophys.

Acta 1992 1139 287-294: Physiological role of aldehyde dehydrogenase in "Alcoholism: A molecular perspective" ed.T.N.

Palmer, Plenum Press, N.Y. 1991 pp.101-106: Działania biolo-

giczne alkoholu etylowego PWN p.128-164 rozdz.7: Metabolic role of aldehyd dehydrogenase in "Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism" eds. Weiner H., Crabb D.W., Flynn G.T., Pergamon Press, N.Y. 1993 pp.1-11

2/N DARŻYNKIEWICZ Edward

Zastosowanie syntetycznych analogów 5' końców mRNA i U snRNA w badaniach nad mechanizmem biosyntezy białka oraz transportu wewnątrzkomórkowego małych jądrowych RNA.

(Application of synthetic analogues of the 5'-termini of mRNA and U snRNA to studies on the mechanism of protein biosynthesis and the intracellular transport of small nuclear RNA)

Presented on February 8, 1994 pp.33

The work done in the Institute of Experimental Physics, University of Warsaw.

Publ.: J. Mol. Biol. 1981 153 451-458: Biochem. Soc. Symp. 47 129-143: Biochemistry 1985 24 1701-1707: Biochemistry 1987 26 4372-4379: Nucleosides and Nucleotides 1990 9 599-618: Nucleic Acids Res. 1988 16 8953-8962: Biochemistry 1989 28 4771-4778: Effects of hypermethylated and aberrant 5'-caps on translation of β -globin and sindbis virus 26S mRNAs in Nucleic Acid Methylation 1990, UCLA Symp. Alan R. Liss, pp.67-82: Collect. Czech. Chem. Commun. 1990 55 2765-2768: Biophys. Chem. 1989 33 289-293: Acta Chem.Scand. 1988 B42 86-92: Collection Czechoslov. Chem. Commun. 1990 55 117-120: Acta Chem. Scand. 1990 B42 250-253: Acta Chem. Scand. 1990 44 636-638: Biochemistry 1990 29 3337-3341: Biochemistry 1991 30 1624-1627: Cell 1990 62 569-577: J. Cell Biol. 1991 113 705-714: J. Cell Biol. 1992 118 1287-1295

3/N RZESZOWSKA-WOLNY Joanna

Oddziaływanie DNA z matriks jądrową.

(Interaction of DNA with the nuclear matrix)

Presented on October 25, 1994 pp.23

The work done in the Institute of Oncology, Department of Molecular Biology Gliwice, 1993

Publ.: Biol. Cell 1988 64 13-22: Acta Biochim. Polon. 1987 34 103-110: Acta Biochim. Polon. 1990 37 69-72: Nuclear Structure and Function ed. I.B.Zbarky and J.R.Harris Plenum Publ. Corp. 1990 "DNA sequences nonrandomly distributed in respect to rat live nuclear matrix" 330-336: Mol. Biol. 1985 19 376- 384: Mol. Cell. Biol. 1990 10 5349-5358: Acta Biochim. Polon. 1990 37 65-67: Acta Biochim. Polon. 1992 39 21-26

TYTUŁY PRAC DOKTORSKICH

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

4/N MAGIEROWSKA-JUNG Magdalena

Ludzki wirus braku odporności typ 1. Wykrywanie i przewidywanie oporności HIV-1 na zidowudynę. (The human immunodeficiency virus type 1. Detection and predication of HIV-1 resistance to zidovudine)

Presented on February 9, 1994 pp.120

The work done in the Department of Protein Biosynthesis IBB PAS and Laboratory of Virology CNRS EP 57, CERVl, Hopital Pitie-Salpêtrière, Paris 1993

5/N KUJAWA Alicja

Regulacja ekspresji genów wirusa liściozwoju ziemniaka. (Regulation of gene expression of potato leafroll luteovirus)

Presented on February 9, 1994 pp.76

The work done in Department of Microbial Biochemistry IBB PAS and Institute Jacques Monod and the Centre de Genetique Moleculaire, France, 1994

6/N FELCZAK Krzysztof

Poszukiwania nowych, 6-podstawionych nukleozydów pirymidynowych o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych. (Looking for the new 6-substituted pyrimidine nu-

cleosides with potential antitumour and antiviral properties)

Presented on February 9, 1994 pp.160

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

7/N BUCHOLC Maria

Synteza pozachromosomowego DNA i sekwencji telomerowych w kiełkujących zarodkach pszenicy. (Synthesis of extrachromosomal DNA and telomeric sequences in germinant seeds of wheat)

Presented on June 28, 1994 pp.74

The work done in the Department of Plant Biochemistry IBB PAS, 1994

8/N FABISIEWICZ Anna

Efekt szoku termicznego na syntezę białek w *Bacillus subtilis* i na ekspresję genów w *Escherichia coli*. (Effect of heat on protein synthesis in *Bacillus subtilis* and gene expression in *Escherichia coli*)

Presented on June 28, 1994 pp.101

The work done in the Department of Molecular Biology IBB PAS, 1994

TYTUŁY PRAC MAGISTERSKICH

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

9/N TYMOWSKA Zuzanna

Udział w badaniu nad dwoma genami kodującymi inwertazę u *Arabidopsis thaliana*. (Contribution a l'etude de deux genes codant pour l'inwertase chez *Arabidopsis thaliana*)

Presented on September 17, 1993

The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Centre de Recherche sur les Plantes URA 1128, Biologie du Developpement des Plantes.

10/N ORZYŁOWSKA Olga

Biologiczne efekty modyfikacji zasad w DNA *E. coli* i bakteriofaga M13mp18. (Biological effects of the bases modification in DNA of *E. coli* and bacteriophage M13mp18)

Presented on June 14, 1994 pp.49

The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Molecular Biology IBB PAS, 1994

11/N WÓJCIK Anna

Analiza mutacji i DNA w szczepach *Escherichia coli*: mutT, mutY, mutM. (Analysis of mutation and DNA in strain of *Escherichia coli*: mutT, mutY, mutM)

Presented on June 23, 1994 pp.78

The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Molecular Biology IBB PAS, 1994

12/N MUSIELAK Małgorzata

Ekspresja drożdżowego genu syntazy mannozylofosfodolicholu w *Trichoderma reesei*. (Expression of yeast mannosylphosphodolichol encoding gene in *Trichoderma reesei*)

Presented on June 1994 pp.38

The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Lipid Biochemistry IBB PAS, 1994

13/N DZIEŁAK Anna

Analiza genetyczna klonu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wykazującego podwyższoną syntezę sterylglukozydu. (Genetical analysis of *S. cerevisiae* clone exhibiting elevated activity of sterylglukoside)

Presented on June 1993 pp.41

The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Lipid Biochemistry IBB PAS 1993

- 14/N PFUTZNER-WĄSOWSKA Małgorzata
Inaktywacja genu *dhfr* w chromosomie *Lactococcus lactis*. (Inactivation of the *dhfr* gene in the chromosome of *Lactococcus lactis*)
Presented on November 24, 1994 pp.42
The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS, 1994
- 15/N GRYNBERG Marcin
Próba identyfikacji i charakterystyki genów regulujących syntezę cysteiny u *Aspergillus nidulans*. (An attempt to identify and characterize the genes regulating the synthesis of cysteine in *Aspergillus nidulans*)
Presented on June 29, 1994 pp.26
The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with Department of Genetics IBB PAS, 1994
- 16/N KWIATKOWSKA Agnieszka
Rola polimerazy III(δ) i II(ϵ) DNA w procesie naprawy i rekombinacji DNA u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. (The role of the polymerase III(δ) and II(ϵ) DNA in the process of DNA repair and recombination in the yeast *S. cerevisiae*)
Presented on July 1994 pp.48
The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Genetics IBB PAS, 1994
- 17/N MIECZKOWSKI Piotr
Izolacja genów indukowanych przez uszkodzenia DNA u *Saccharomyces cerevisiae*. (Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* genes induced by DNA damage)
Presented on December 1, 1994 pp.36
The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS

18/N. TORZEWSKA-GOŁĄBEK Dorota

Wpływ reperacji DNA u *Escherichia coli* na poziom tranzycji GC → AT indukowanych przez metanosulfonian metylowy (MMS) *in vivo* i *in vitro*. (Effect of *Escherichia coli* DNA repair on the level of GC → AT transitions induced by MMS *in vivo* and *in vitro*).

Presented on December 20, 1994 pp.53

The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS, 1994

19/N. BRZESKI Jan

Model oddziaływań peptydowej jednostki typu SPKK z bogatymi w pary A•T obszarami w DNA. (Model of interaction of SPKK peptide motifs with A•T rich DNA)

Presented on July 8, 1994 pp.34

The work done in Lab. Plant Molecular Biology of Institute of Plant Experimental Biology, University of Warsaw in collaboration with Department of Plant Biochemistry IBB PAS

20/N. KOTER Marek

Współudział w sekwencjonowaniu fragmentu kosmidu α 20 zawierającego 9.2 Kpz. odcinek chromosomu II oraz analiza otwartej ramki odczytu YBR 1003 z kosmidu α 61 chromosomu II drożdży *S. cerevisiae*. (Participation in the project of the sequencing of 9.2 kbz fragment of chromosome II carried by cosmid α 20 and analysis of the ORF YBR 1003 of *S. cerevisiae*)

Presented on November 1994 pp.42

The work done in Department of Biology, University of Warsaw in collaboration with the Department of Genetics IBB PAS

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

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

ABSTRACTS. MISCELLANEUS

- 687/A. ZAGÓRSKI-OSTOJA W.
Sekwencja nukleotydowa wirusa liściozwoju ziemniaka.
Nauka Polska 1993 4 77-79
- 688/A. BOBROWSKI K., MARCINIAK B., HUG G.L.
Benzophenone sensitized photooxidation of sulfur-containing aminoacids. Nanosecond laser flash photolysis and pulse radiolysis studies.
Proc. of the 16th DOE Solar Photochemistry Research Conference. Held at Lake Lawn Lodge Delavan, Wisconsin May 31 - June 4, 1992 p.174 poster 4
- 689/A. BOBROWSKI K.
Mechanism of the OH-induced oxidation processes of sulfur containing carboxylic acids-decarboxylation vs three-electron bond formation.
Poster Session Radiation Chemistry Gordon Conf. July 6-10, 1992 Salve Regina, Rhode Island p.5
- 690/A. BOBROWSKI K., HUG G.L., MARCINIAK B., KOZUBEK H.
Benzophenone-sensitized photooxidation of sulfur-containing amino acids in alkaline aqueous solutions. Steady-state and nanosecond laser flash photolysis studies.
Proc. of the 17th DOE Solar Photochemistry Res. Conf. Held at Cragun's Lodge and Conf. Center Brainerd, Minnesota June 6-10, 1993 p.117 poster 3
- 691/A. BOBROWSKI K., MARCINIAK B., HUG G.L.
Electron-transfer parameters in the photooxidation of sulfur-containing amino acids by substituted benzophenone triplets.
Ibidem: p.139 poster 25

692/A. BOBROWSKI K.

Charge transfer in biochemistry modelled by radiolysis methods.

18th Miller Conference Radiation Chemistry Windermere Hydro Hotel Bowness-on-Windermere Cumbria, England 3-8 1993 p.6

693/A. BURLINSKA G., BOBROWSKI K., WĄSOWICZ T., MICHALIK J.

Radiation induced radicals in peptides.

Third Intern. Conf. on Chemical Kinetics July 12-16, 1993

Abstr. p.80

694/A. BOBROWSKI K., SCHONEICH CH.

Reactivity of the hydroxyl radical adduct at sulfur in substituted organic sulfides.

Ibidem: p.148-149

695/A. CHOJNACKI T., ŚWIEŻEWSKA E.

Long-chain polyprenols - "rubber-like" plant lipids.

2nd Symp. of the European Network on Plant Terpenoids,

Strasbourg - France January 23-27, 1994 Abstr. L14

696/A. ŚWIEŻEWSKA E., DALLNER G., ANDERSSON B., ERNSTER L.

Biosynthesis of ubiquinone and plastoquinone in spinach cell.

Ibidem: P10

697/A. HENNIG J.

Badanie molekularnych mechanizmów obronności roślin tytoniu na infekcje patogenów.

Konf. "Nowe Trendy w Biologii Molekularnej Roślin", W-wa

17 grudnia 1993

Pol. Tow. Bot. Sekcja Fizjol. Roślin Kat. Bot. Leśn. SGGW

Abstr. s.25

698/A. PAŁUCHA A., ORCZYK A., HULANICKA D.

Analiza transgenicznych roślin ziemniaka transformowanych plazmidami zawierającymi gen białka płaszcza wirusa liścio-

zwoju ziemniaka.

P.T.M. Puławy 3-4 czerwca 1994 s.27

699/A. JUSZCZUK M., KUJAWA A., HULANICKA D.

Inicjacja translacji dwóch zachodzących na siebie otwartych ramek odczytu z subgenomowego RNA wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV).

Ibidem: s.28

700/A. HULANICKA D.

Niekonwencjonalne strategie ochrony roślin przed infekcjami wirusowymi.

Ogólnopolskie Sympozjum "Oddziaływania Między Mikroorganizmami i Roślinami" Kazimierz Dolny, 19-20 maja 1994 s.17

701/A. KRZYMOWSKA M., HENNIG J.

Expression of tobacco PR promoters in transgenic potato plants after pathogen or elicitors treatment.

4th International Congress of Plant Molecular Biology,
Amsterdam June 19-24, 1994 abstr.1704

702/A. WASZKOWSKA E., POZNAŃSKI J., ZARĘBSKA Z.

Photoaddition of psoralens to phosphatidylcholine in micelles. Cell membrane, a target for PUVA therapy.

Twelfth School on Biophysics of Membrane Transport School Proceedings, Zakopane, Poland, May 4-13, 1994

703/A. TOMASZEWSKI M.

Expression of the DNA segment lost in endosperm of wheat grain.

1st International Seminar on the Nuclear Matrix, June 21st-23rd 1994 Wrocław/Łagów poster P13

704/A. BRETNER M., BALIŃSKA M., KRAWIEC K., KIERDASZUK B., SHUGAR D., KULIKOWSKI T.

Synthesis and biological activity of 5-fluoro-2-thio-cytosine

nucleosides.

11th Intern.Round Table "Nucleosides, nucleotides and their biological applications".

Katholieke Universiteit Leuven, September 7-11, 1994 abstr.

P-10

705/A. POPEIKO N.E., POZNAŃSKI J., MIKHAILOPULO I.A., SHUGAR D.,
KULIKOWSKI T.

Synthesis and solution conformation of 2', 3'-dideoxy-3'-fluoro-D-*erythro*-pentofuranosides of 2-thiouracil and 2-thiothymine.

Ibidem: P-164

706/A. FELCZAK K., BRETNER M., BALIŃSKA M., KULIKOWSKI T.

Synthesis and antitumour properties of 2- thio-5-chloro-nucleosides.

Ibidem: abstr. P-31

707/A. KRAWIEC K., KIERDASZUK B., SHUGAR D.

5'- modified 2'-deoxycytidines as promising non-substrate inhibitors of human deoxycytidine kinase.

Ibidem: P-50

708/A. PASZEWSKI A., BALIŃSKA M., LEWANDOWSKA I., NATORFF R.

Integrated regulation of sulphur and folate metabolism in *Aspergillus nidulans*.

2nd Europ.Conf.on Fungal Genetics Lunteren 28.04-1.05 1994

p. 17 No 41A

709/A. JUSZCZUK M., KUJAWA A., HULANICKA D.M.

In vitro studies on the initiation translation of two overlapping ORF s (ORF4 and ORF5) located on subgenomic RNA of PLRV.

XXX Zjazd PTB, Szczecin, 14-16 września 1994, abstr. P4

- 710/A. IWANICKA R., HRYNIEWICZ M., HULANICKA D.M.
Identification and expression studies of the *E coli cbl* gene encoding the member of LYSR family of transcriptional regulators.
Ibidem: abstr. P47 p.199
- 711/A. CHACHULSKA A., ROBAGLIA C., ZAGÓRSKI W.
Engineering of Potato Virus Y resistance in potato- different strategies.
XXX Zjazd P.T.Bioch., Szczecin, 14-16 październik 1994 p.180 P1
- 712/A. GÓRA A., CANDRESSE T., ZAGÓRSKI W.
The influence of P and V domains on Potato Spindle Tuber Viroid (PSTVd) pathogenicity.
Ibidem: abstr. p. 180 P2
- 713/A. WEŁNICKI M., YURINA N.
Synthetic ribozymes specifically recognizing Potato Spindle Tuber Viroid (PSTVd) RNA.
Ibidem: abstr. p. 180 P3
- 714/A. CHACHULSKA A., ROBAGLIA C., ZAGÓRSKI W.
Engineering of Potato Virus Y resistance in potato-different strategies.
Plant and Viruses: Partners in Pathogenicity. Institut National Agronomique Thiverval- Grignon, France, July 17-21, 1994
Abstr. 29
- 715/A. HULANICKA D.M., IWANICKA R., HRYNIEWICZ M.
Identification and expression studies of the *E coli cbl* gene encoding the member of LysR family of transcriptional regulators.
Abstracts on papers presented at the 1994 meeting on "Molecular Genetics of Bacteria and Phage".

- 716/A. TUDEK B., VAN ZEE LAND A.A., KUŚMIEREK J.T., LAVAL J.
Comparison of the activity of various DNA repair enzymes using
as substrates methylated or ethylated DNAs. Inhibition of 3-
methyladenine DNA- glycosylase by various 3-substituted adeni-
ne derivatives.
XXIV European Environmental Mutagen Society Meeting, Poznań
31.08-3.09 1994
- 717/A. TOPCZEWSKI J., SIENKO M., PASZEWSKI A.
Cloning and characterization of *Aspergillus nidulans* genes co-
ding for cysteine synthase and homocysteine synthase.
2nd European Conference on Fungal genetics Lunten 24.04-
01.05 1994 abstr. p. 17 41A, 1994
- 718/A. WIERZCHOWSKI K.L., MAJCHER K., POZNAŃSKI J.
CD investigations on conformation of H-X-(Pro)n-Y-OH peptides
(X=Trp, Tyr; Y=Tyr, Met); models for intramolecular long range
electron transfer.
Intern.Workshop on "Peptide Conformation and Metal Binding So-
lution".
Warszawa, September 12-16, 1994 p.37
- 719/A. MICHALIK J., SZOŁAJSKA E., ROSIŃSKI G., LOMBARSKA-SŁIWINSKA D.
KONOPINSKA D.
Some physiological effects of AKH/RPCH peptides on *Tenebrio*
molitor fat body *in vitro* .
1st International Conference of Insects: "Chemical, Physiolo-
gical and Environmental Aspects".
Łądek Zdrój Sept. 26-29, 1994 abstr. p.21
- 721/A. TREMBACZ H., JEŻEWSKA M.M.
Specific enzyme synthesising adenosine from adenine and ribo-
se-1-phosphate in invertebrates.

8th Intern. Symp. on Purine and Pyrimidine Metabolism in Man,
May 22-27, 1994, Indiana Univ. Bloomington, USA Abstr. 57 p.43

- 722/A. TREMBACZ H., JEŻEWSKA M.M.
Specyficzny enzym syntetyzujący adenozyne z adeniny i rybozo-
1-fosforanu w organizmach bezkręgowców.
XXX Zjazd P.T.Bioch. 14-16 wrzesień 1994, Szczecin,
Abstr. P120 s.232
- 723/A. JEŻEWSKA M.M.
Enzymy reutilizujące puryny w układzie gospodarz - pasożyt.
Ibidem: Referat, W6 s.231
- 724/A. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid
bases. IX. Enthalpies of hydration of 9-methyl-8-alkyl-and
6,9-dimethyl-8-alkyl-adenines.
IX Intern. Soc. for Biol. Calorimetry Conference: Thermody-
namics of Biological Processes, Schmerwitz, RFN, 27-31 May
1994
- 725/A. ZIELEKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid

bases. IX. Enthalpies of hydration of 9-methyl-8-alkyl-and
6,9-dimethyl-8-alkyl-adenines.
VI Konferencja Kalorymetrii i Analizy Termicznej, Zakopane
18-22.09.1994, P-1/1
- 726/A. BOBROWSKI K., POZNAŃSKI J., HOLCMAN J., WIERZCHOWSKI K.L.
Intramolecular Trp[•] → Tyr[•] radical transformation in cyclic
peptides.
III International Conf. PULS, Warszawa, Zakopane September
1994, abstr. p.

- 727/A. SADOWSKA J., PRZYKORSKA A., MOŃKO M., KULIGOWSKA E.,
SZARKOWSKI J.W., DIRHEIMER G., KEITH G.
Specyficzność nukleazy związanej z frakcją stromy chloroplastów liści pszenicy wobec tRNA^{Phe} i tRNA^{Asp} z drożdży.
XXX Zjazd P.T. Bioch., Szczecin, 14-16 września 1994 Abstr.
P.29 s.192
- 728/A. JUSZCZYK M., KUJAWA A., HULANICKA D.
Expression of genes located on the subgenomic RNA of potato leafroll virus.
Plant and Viruses: Partners in Pathogenicity, Thiverval-Grignon, France July 17-21, 1994 abstr. nr 13
- 729/A. KUJAWA A.B., DRUGEON G., HULANICKA D., HAENNI A.-L.
Structural requirements for translational frameshifting in the synthesis of the putative RNA-dependent RNA polymerase of potato leafroll virus.
Ibidem: nr 12
- 730/A. SADOWY E., PAŁUCHA A., GRONENBORN B., ZAGÓRSKI W.,
HULANICKA D.
Constructing infectious transcripts of potato leafroll virus.
Ibidem: nr 14
- 731/A. PRZYKORSKA A.
Influence of modified nucleotides on the secondary and tertiary structure of bovine +RNA^{sec} as probed with rye nuclease.
EMBO-CNRS Workshop on Nucleotide Modification and Base Conversion of RNA Aussois (Savoie) France, abstr. 12-4
- 732/A. MOŃKO M., KULIKOWSKA E., SZARKOWSKI J.W.
Charakterystyka nukleazy związanej z frakcją stromy chloroplastów liści pszenicy *Triticum vulgare* L., specyficznej do jednoniciowego DNA.

XXX Zjazd P.T. Bioch. Szczecin, 14-16 września 1994 abstr. P28
s.191

733/A. SIWECKA M.A., GAGANIDZE D.

Oczyszczanie rybosomalnej nukleazy zarodków żyta degradującej
dwuniciowe RNA.

Ibidem: abstr. P30 s.192

734/A. SZKOPINSKA A., RYTKA J., PALAMARCZYK G.

Biosynthesis of polyprenols and their glycosylated derivatives
in ergosterol mutants of *S. cerevisiae*.

7th Bratislava Symposium on Saccharides, August 29 - September
2, 1994 Smolenice, Slovakia p.34

735/A. SZKOPINSKA A., RYTKA J., PALAMARCZYK G.

Cis-prenyltransferase activity in different ergosterol mutants
of *Saccharomyces cerevisiae*.

XVIth IUBMB India Satellite Symp. on Complex Carbohydrates and
Annual Meeting of Society of Biosciences, India September 14-
16, 1994 abstr. IL-II

736/A. KRUSZEWSKA J., MESSNER R., KUBICEK C.P., PALAMARCZYK G.

Transformation of *Trichoderma* with yeast mannosyl-phosphodoli-
chol-synthase gene leads to the increased secretion of cellu-
lytic enzymes.

7th Bratislava Symp. on Saccharides August 29 - September 2,
1994 Smolenice, Slovakia p.36

737/A. KRUSZEWSKA J., MUSIELAK M., MESSNER R., KUBICEK C.P.,
PALAMARCZYK G.

Molecular mechanism of O-glycosylation in *Trichoderma* related
to protein secretion.

XVIth IUBMB India Abstr. C-I-4 p.119 invited lect.

- 738/A. ZAGULSKI M., HERBERT C.J., SŁONIMSKI P.P., RYTKA J.
The gene MAK5 involved in maintenance of the dsRNA killer plasmids encodes DEAD-box helicase essential for the host cells viability.
1994 Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting, Univ. of Washington, Seattle
- 739/A. POZNANSKI J.
Conformation of and long range electron transfer in Trp/Pro)_n-Tyr peptides.
International Workshop on Peptide Conformation and Metal Binding in Solution, Warszawa, September 12-16, 1994, p.23
- 740/A. KLECZKOWSKI K., BORKOWSKA M., KŁOS B., JAKUBIEC J., WIELGAT B.
Transformacja ziemniaka w kulturach *in vitro*.
VII Ogólnopolska Konferencja Kultur *in vitro*. Katowice - Ustroń 21-23 września 1994, abstr. p.25 wykład nr 23
- 741/A. BORKOWSKA M., KLECZKOWSKI K., KŁOS B., JAKUBIEC J., WIELGAT B.
Trwałość ekspresji genów w roślinach transgenicznym i mini-bulwach ziemniaka w hodowli *in vitro*.
Ibidem: p.105 plakat nr 71
- 742/A. MACIEJEWSKA U., AWAN M.F.M., KŁOS B., WIELGAT B.
Pathogenesis related proteins in cell suspension culture of potato in response to elicitors from *Phytophthora infestans*.
3rd Conf. hosted by The Polish Phytopathological Society.
Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control September 5-9, 1994 Poznań, Abstr. nr 65 p.73
- 743/A. AWAN M.F.M., ZARZYCKA H., SZCZERBAKOWA A., WIELGAT B., KLECZKOWSKI K.
Response of potato tissues to *Phytophthora infestans*.
Ibidem: Abstr. nr 76 p.77

- 744/A. MACIEJEWSKA U., AWAN M.F.M., KŁOS B., WIELGAT B.
Wpływ biotycznych elicytorów na indukcję aktywności amoniakolizy L-fenylalaniny (PAL) oraz β -1,3-glukanaz i chitynaz w zawiesinie komórkowej ziemniaka.
XXX Zjazd P.T.Bioch. Szczecin 14-16 września 1994 abstr. P5 p.181
- 745/A. JANION C., WÓJCIK A.
Próby określenia zawartości 8-hydroksyguaniny 8ohG w DNA *E. coli*.
Ibidem: abstr. P21 p.188
- 746/A. BĘBENEK A., PIETRZYKOWSKA I.
Wpływ mutacji *sjb* na mmutagenezę indukowaną EMS i MMS.
Ibidem: abstr. P4 p.6
- 747/A. CZAJKOWSKA A., PIETRZYKOWSKA I.
Rola białek Umu DC w UV-indukowanej mutagenizie faga lambda.
Ibidem: abstr. P5 p.7
- 748/A. SZYSZKA R., GRANKOWSKI N., SHUGAR D.
Hamowanie aktywności kinaz modyfikujących kwaśne białka rybosomowe drożdży.
Ibidem: abstr. P24 p.190
- 749/A. HOPPER A.K., ŻOŁĄDEK T., HUNTER L.A., VADUVA G., BOGUTA M., MARTIN N.C.
Cytoskeleton and organelle-cytoskeleton interactions.
Platform.
1994 Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting, August 16-21, University of Washington, Seattle abstr. p.20
- 750/A. SKOCZYLAS E., ŚWIEŻEWSKA E., GIBBS J.B., CHOJNACKI T.
In vitro prenylation of peptides in spinach.
Intern. Summer School on Molecular Mechanisms of Transcellular

Signaling: From the Membrane to the Gene, Island of Spetsai,
Greece, August 15-27, 1994 abstr. p.78

751/A. MUSZYŃSKA G., EKMAN P., TROJANEK J.

Manganese-dependent tyrosine phosphorylation in maize seed-
lings proteins.

Intern. Symp. SEB "Protein Phosphorylation in Plants"

12-14 September 1994, Long Ashton Res. Station Bristol, UK

752/A. JANION C., WÓJCIK A., TUDEK B., GRZESIUK E.

Attempts to estimate 8-hydroxyguanine level in DNA of *E. coli*
strains defective in genes *mutT*, *mutM* and *mutY*.

24th Annual Meeting "Human Biomonitoring in Assessment of
Genetic Risk", August 31st - September 3rd, 1994, Poznań
abstr. P1.3 p.55

PATENTY

P.3 KULIKOWSKI T., GRYNKIEWICZ G.

Sposób otrzymywania pochodnych 6-merkaptopuryn.

(Preparation of 6-mercaptopurine derivatives)

Uprawniony do patentu: Instytut Farmaceutyczny, Warszawa PL.

Opis Patentowy PL 162708 B1. Nr zgłoszenia: 284717, Int Cl⁵:

C07D 473/38

1. TREMBACZ H., JEŻEWSKA M.M.
Specific enzyme synthesising adenosine from adenine and ribose-1-phosphate in invertebrates.
Adv. Exp. Med. Biol. 1994
2. ZIELENKIEWICZ W., ZIELENKIEWICZ A., WIERZCHOWSKI K.L.
Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid bases. IX. Enthalpies of hydration of 9-methyl-8-alkyl- and 6,9-dimethyl-8-alkyl-adenines.
J. Sol. Chem. 23 1994
3. WIERZCHOWSKI K.L., MAJCHER K., POZNAŃSKI J.
CD investigations on conformation of H-X-(Pro)_n-Y-OH peptides (X=Trp, Tyr, Y=Tyr, Met). Models for intramolecular long range electron transfer.
Int. J. Pept. Protein Res. 1995
4. SAWICKA T., KACPERSKA A.
Soluble and cell wall-associated β -galactosidases from the cold-grown winter rape (*Brassica napus* L., var. *oleifera* L. leaves.)
J. Plant Physiol. 1994 144
5. BUCHOLC M., BUCHOWICZ J.
An extrachromosomal fragment of telomeric DNA in wheat.
Plant Mol. Biol. 1994 in press
6. KANABUS M., NOWICKA A., ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E., JONZYK P., CIEŚLA Z.
The antimutagenic effect of a truncated ϵ subunit of DNA polymerase III in *E. coli* cells irradiated with UV.
Mol. Gen. Genet. 1995

7. ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E.

Inactivation of O⁶ methylguanine-DNA methyltransferase *in vivo* by
SN2 alkylating agents.

Mutation Res. 1995