

**INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**

Warszawa, ul. Pawińskiego 5a

**SPRAWOZDANIE
Z DZIAŁALNOŚCI STATUTOWEJ
za 1996r.**



SPIS TREŚCI

	Strony od - do
Wstęp	1 - 5
I Schemat Nr 1 (podstawowe informacje o placówce)	I.1 - I.2
II Schemat Nr 2 (wybrane informacje analityczno-statystyczne o działalności naukowo-badawczej i jej wynikach)	II.1 - II.7
III Schemat Nr 3 (informacja o współpracy naukowej z zagranicą w 1996 roku)	III.1 - III.13
IV Schemat Nr 4 (roczna informacja o rozwoju kadr naukowych w IBB PAN w 1996 roku)	IV.1
V Dodatkowe informacje o działalności placówki	V.1 - V.11
VI Sprawozdanie merytoryczne za 1996 rok	VI.1 - VI.71
VII Lista publikacji za 1996 rok	VII.1 - VII.26

WSTĘP

Przedstawione „Sprawozdanie” odpowiada regulaminowi zewnętrznemu, określanemu typem formularzy do wypełnienia. Formularze te stanowią zapewne całość przejrzystą dla administracji, ale nie odzwierciedlają istoty rzeczy pracy badawczej, dlatego też, zgodnie z naszym zwyczajem, uzupełniamy je merytorycznymi sprawozdaniami poszczególnych grup badawczych.

Działanie Instytutu wyraża się autentyczną aktywnością naukową naszych zespołów. Aktywność tę w A.D. 1996 mogliśmy ocenić podczas listopadowego sympozjum sprawozdawczego. „Sprawozdanie” dotyczy oczywiście prac wykonywanych w ramach działalności statutowej, a przecież większość zespołów Instytutu prowadzi także prace w ramach zewnętrznych projektów badawczych, dlatego też materiały opublikowane w broszurze „Third Survey of Research”, obejmujące prace z ostatniego roku, są dla członków Rady Naukowej poszerzonym uzupełnieniem rocznego sprawozdania. Te dwa dokumenty odzwierciedlają życie naukowe Instytutu i jego potencjał badawczy w 1996r.

Sympozjum, które odbyło się w tym roku miało inny charakter niż poprzednie. Komitet organizacyjny (prof. G. Muszyńska, dr P. Ceglowski, prof. A. Paszewski, prof. G. Palamarczyk i prof. A. Podstolski) zdecydował się na zgrupowanie przedstawianych komunikatów w postaci sesji tematycznych, którym towarzyszyły prezentacje plakatowe i dyskusje nad wybranymi zestawami plakatów. Tak zorganizowane Sympozjum sprawozdawcze mogło objąć w sposób naturalny nie tylko zespoły sensu stricte Instytutu, ale również stowarzyszone z IBB zespoły z Uniwersytetu Warszawskiego i Uniwersytetu Gdańskiego. Ta innowacja jest na pewno warta kontynuowania, bowiem jednym z zadań Instytutu jest wspólna wymiana myśli w szeroko pojętym środowisku biologów molekularnych.

Chciałbym wyrazić uznanie Komitetowi Organizacyjnemu za znalezienie odpowiedniej formuły Sympozjum, ułożenie programu i przygotowanie materiałów do druku.

Z przeglądu działań Instytutu na podstawie „Third Survey of Research” i części merytorycznej „Sprawozdania z działalności Instytutu za 1996 r.” nasuwa się kilka wniosków. Tematy statutowe w 1996 roku wynikały w sposób naturalny z kontynuacji poprzednich prac zespołów. Porównanie przedstawionego „Sprawozdania” oraz „Third Survey of Research” z poprzednimi materiałami sprawozdawczymi wskazuje jednak wyraźnie, że zespoły przedstawiają zupełnie nowe wyniki. Dynamika prac doświadczalnych w Instytucie jest znaczna.

Metodycznie, do rozwiązywania zagadnień biologii molekularnej aż w 25 tematach, zespoły stosują techniki inżynierii genetycznej wspomagane bioinformatyką. Techniki te stały się - w ciągu ostatnich kilku lat - technikami rutynowymi. Jestem przekonany, że w sensie metodycznym zespoły Instytutu są na dobrym światowym poziomie. Świadczą o tym sprawozdania, wykłady i plakaty donoszące o serii ciekawych wyników. Nasuwa się refleksja, taka sama jak w poprzednich okresach sprawozdawczych, wyniki doświadczalne są zbyt wolno „przetwarzane” w pełne publikacje. Myślę, a właściwie jestem przekonany, iż jednym z powodów (o którym w naszym środowisku nie wypada mówić) jest po prostu bariera językowa, ale także brak aktywności w nawiązywaniu kontaktów z członkami komitetów redakcyjnych czołowych czasopism. Kontakty osobiste mają swoją wagę i należy poważnie rozważyć ich intensyfikację w celu należytej prezentacji badań z dziedziny biologii molekularnej prowadzonych w Polsce. Przykładem niech będzie kontakt z prof. M. Grunberg-Manago, który zaowocował wydaniem w 1996r. „polskiego” numeru „*Biochimie*”, stanowiącego swoisty ewenement.

Liczba pełnych publikacji w tym roku (74) jest podobna do liczby w latach poprzednich. Warto jednak zwrócić uwagę, że niemała ich część została przyjęta do druku w naprawdę czołowych pismach międzynarodowych. W 1996r. aż 4 prace sygnowane przez naszych współpracowników znalazły się w *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 3 - w *J. Bact.*, 3 - w *Yeast*, 2 - w *Eur. J. Biochem.*, 2 - w *J. Biol. Chem.*, 2 - w *Mol. Gen. Genet.*, 1 - w *Arch. Virol.*, 1 - w *Biochemistry*, 1 - w *EMBO J.*, 1 - w *Gene*, 1 - w *J. Mol. Biol.*, 1 - w *Mol. Cell. Biol.*, 1 - w *Virology*.

Impact factor ma swoje znaczenie w generalnych ocenach poziomu badań, waloryzacja wyników poprzez publikacje w czasopismach o wysokim współczynniku powinna być celem wszystkich zespołów.

Tendencją bardzo pozytywną jest to, że 50% prac wykonanych jest we współpracy z partnerami krajowymi i zagranicznymi. Ta nowa dynamika, zgodna z rozwojem światowej biologii molekularnej, dowodzi niezaściankowego charakteru badań zespołów. Jesteśmy naturalnym partnerem w wymianie z międzynarodową strukturą naukową. Sądzę, iż nieproporcjonalnie mało jest wspólnych prac wykonanych przez różne zespoły Instytutowe. Ekonomia badań wymaga możliwie intensywnego wykorzystania potencjału metodycznego; rzeczywiste indywidualności naukowe nie zasklepiają się w obrębie struktur organizacyjnych i potrafią przekonać innych do zintegrowanej pracy.

Głębszej oceny merytorycznej „Sprawozdania” i Sympozjum dokona zapewne Rada Naukowa. Korzystając jednak z przywileju pierwszego czytelnika „Sprawozdania” pozwalam sobie wymienić kilka rezultatów badań, które zwróciły moją uwagę.

Praca podająca ostateczną sekwencję chromosomu X drożdży (3125), której współautorem jest Marek Zagulski, zajmuje trwałe miejsce w literaturze przedmiotu. W ciągu kilku lat zespół sekwencjonowania uczestniczył w przełomowym w biologii, zakończonym sukcesem, programie sekwencjonowania pełnego genomu drożdży. Powstanie nowej dziedziny biologii - genomiki dokonuje się z czynnym udziałem naszych zespołów. Jej wagę doceniają dziś już wszyscy. Nie ma tu miejsca na rozwijanie tego wątku, wspomnę tylko o perspektywach, które przedstawił nam w swoim wykładzie prof. Piotr Słonimski w ostatnim dniu naszego Sympozjum.

Zespół prof. T. Kulikowskiego i prof. D. Shugara donosi o zsyntezowaniu nowych inhibitorów HIV o aktywności (*in vitro*) porównywalnej z AZT. Ważne, że wynik osiągnięty jest ze współdziałającym strukturalnie z nami Centrum Diagnostyki i Terapii AIDS w Warszawie. Metodyka prac nad tym wirusem jest więc łatwo dostępna naszym zespołom. Wobec pojawiania się u chorych mutantów HIV opornych na AZT oraz coraz skuteczniejszych metod terapii opartych na „koktailach” różnych leków, proponowanie nowych chemioterapeutyków staje się coraz ważniejsze.

Bardzo istotne jest stwierdzenie zespołu prof. J. Kuśmierka, iż lek przeciwbiałaczkowy 2CSA nie jest mutagenem, a jego mechanizm działania wydaje się polegać na spowolnieniu (po inkorporacji do matrycy) replikacji DNA. Szczegółowe poznanie mechanizmów działania leków ważne jest dla strategii terapeutycznych.

Zastanawiający jest wynik zespołu doc. A. Bierzyńskiego o wysokiej stabilności bardzo krótkich helis α ; to fakt mający istotne znaczenie dla rozważań nad samoorganizacją cząsteczek białkowych.

Wyraźny postęp dotyczy analizy molekularnej mutantów drożdżowych. Grupa prof. J. Rytki stwierdziła rzecz nieoczekiwaną - iż system ubikwytynowy bierze udział w wewnątrzkomórkowym transporcie białek, zaś w zespole prof. G. Palamarczyk, warsztat genetyki molekularnej grzybów wyższych stosowany jest w analizie syntezy glikoproteidów.

Istotne perspektywy otwiera zintegrowana analiza genów metabolizmu siarki u *Aspergillus nidulans* (zespół prof. A. Paszewskiego). Struktury kodowanych białek sugerują, że tworzą integrującą sieć regulacyjną, istotną dla wielu szlaków metabolicznych i mającą swoje odzwierciedlenie u innych eukariontów.

Wśród programów dotyczących roślin transgenicznych, konstrukcja odmiany ziemniaka niosąca naturalną odporność na PVY i PVX oraz chimeryczna wobec PLRV, to osiągnięcie techniczne w skali krajowej. Transformanty są stabilne w kolejnych pokoleniach somatycznych (zespół prof. D. Hulanickiej). Poznawczo, pierwszorzędne znaczenie ma skonstruowanie roślin transgenicznych nadekspresujących histon H1 i wykazujących zmiany w programach morfogenetycznych (zespół prof. A. Jerzmanowskiego).

Może najbardziej zastanawiające są wyniki wskazujące na dziedziczenie białek kompleksu replikacyjnego (zespół prof. K. Taylora, Filia Gdańska IBB PAN) i prionowy charakter białka NAM-9 (zespół dr M. Boguty). Tego typu, słabo dotąd poznane, procesy prowadzące do przekazywania informacji komórkom potomnym za pośrednictwem białek (a pewnie i struktur błonowych) mogą stanowić podłoże wielu zjawisk epigenetycznych o poważnym znaczeniu dla biologii komórki.

Zarodnią nowych osiągnięć w Instytucie jest sformalizowana lub niesformalizowana współpraca między zespołami. W 1996 r. obserwujemy pierwsze próby użycia technik inżynierii genetycznej drożdży rozwiniętych przez zespoły „drożdżowców” w pracach innych zespołów - specjalizujących się np. w biologii molekularnej roślin. Odnotować należy wstępne wyniki dotyczące ekspresji PLRV w drożdżach, czy też próbę komplementacji mutacji drożdżowych bankami genów z innych organizmów. Wydaje mi się, że właśnie rozwinięcie tego podejścia może w przyszłości stanowić o elemencie nowości naukowej, swoistym dla naszego Instytutu.

Z faktów życia organizacyjnego Instytutu należy podkreślić, iż był to rok mianowania nowej Rady Naukowej i wyborów nowej Dyrekcji. Skład i działanie tych obu ciał są kontynuacją dotychczasowych, ze stopniowym przeprofilowaniem, zgodnym z potrzebami czasu. Dziękuję w tym miejscu prof. G. Muszyńskiej za pracę w ciągu dwu trudnych, bo wypełnionych transformacją Instytutu, kadencji na stanowisku Dyrektora ds. Naukowych.

Z punktu widzenia Dyrekcji, najważniejszym faktem jest ukończenie w 1996r. naszej inwestycji; w ciągu najbliższych miesięcy administracja prowadzić będzie formalną stronę tej sprawy. Przypomnę tylko, że połowa zespołów Instytutu pracuje w nowych warunkach od czterech, a połowa - od dwu lat. Siedzibę uruchamialiśmy i wyposażaliśmy w miarę oddawania obiektów. Ten rok zakończył się (w obrębie naszego kompleksu) otwarciem siedziby ICM UW.

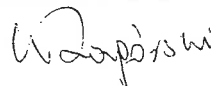
W 1996r. sformalizowaliśmy istnienie szkoły doktoranckiej (patrz sprawozdanie kierownictwa szkoły). W tej kadencji Rada Naukowa poniesie wysiłek przeprowadzenia - miejmy nadzieję - licznych przewodów doktorskich i habilitacyjnych.

Nowym i ważnym dla Instytutu doświadczeniem jest prowadzenie edukacyjnego programu PHARE łączącego grupy IBB PAN i Wydziału Biologii UW. Liczymy, że w nowej edycji programu potrafimy zapewnić szkolenie studentów w oparciu o informatykę, skierowane również do innych partnerów Instytutu. Zespoły Instytutu udostępniły swoje laboratoria magistrantom z kilku różnych uczelni - również pozawarszawskich. Program taki będziemy starali się kontynuować.

Źródła finansowania Instytutu w dalszym ciągu pochodzą z działalności statutowej i licznych (36) grantów KBN, a także kilkunastu programów międzynarodowych (UNESCO, PHARE, NATO, UE, British Council, CPF i inne).

Liczymy, że pozyskiwanie środków pozabudżetowych ułatwi powołany przy Instytucie „Inkubator”, mający między innymi aktywizować komercyjne wykorzystanie potencjału Instytutu.

Dyrektor IBB PAN



prof. Włodzimierz Zagórski

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN

DYREKTOR: prof. dr hab. Włodzimierz ZAGÓRSKI-OSTOJA
PRZEWODNICZĄCA RADY NAUKOWEJ: prof. dr hab. Zofia LASSOTA

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN ma uprawnienia do nadawania stopni doktora i doktora habilitowanego biologii w zakresie biologii, biochemii i biofizyki.

UPRAWIANE SPECJALNOŚCI NAUKOWE

Biologia molekularna, genetyka molekularna, biochemia i biofizyka. W szczególności: badania nad replikacją, mutagenезą i naprawą DNA u prokariotów i eukariotów. Sekwencjonowanie genomów i analiza funkcjonalna otwartych ramek odczytu. Badanie mechanizmów przekazywania informacji genetycznej i regulacji funkcji genów. Biosynteza i potranslacyjne modyfikacje białek. Struktura i funkcja związków makromolekularnych. Konformacja (w tym modelowanie technikami komputerowymi) białek i peptydów. Badania mechanizmów przenoszenia elektronów w modelowych peptydach. Wirusologia molekularna roślin. Konstrukcja roślin transgenicznych. Molekularne podstawy biotechnologii bakterii, grzybów i roślin. Projektowanie i badanie środków przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych.

Zatrudnienie (średnioroczne w przeliczeniu na pełne etaty, zgodnie z obowiązującymi przepisami GUS):
233,9 pracowników, w tym **121,6** naukowych.

Działalność naukowa:

opublikowano **170** prac, realizowano **49** projektów badawczych, w tym **12** zagranicznych, we współpracy z zagranicą realizowano **25** tematów.

Przychody:**9.153,30 tys. zł,**

z tego:

działalność statutowa (ze środków KBN)

7.022,00 tys. zł,

(na 1 pracownika naukowego 57,75 tys. zł, na 1 zatrudnionego 30,02 tys. zł);

działalność ogólnotechniczna (ze środków KBN)

70,00 tys. zł;

projekty badawcze krajowe (ze środków KBN)

1.210,00 tys. zł;

specjalne projekty i urządzenia badawcze (ze środków KBN)

400,00 tys. zł;

dotacje z fundacji krajowych (inne niż PFUN) i zagranicznych - PHARE

88,00 tys. zł;

pozostałe:

współpraca z zagranicą

138,30 tys. zł;

PFUN

225,00 tys. zł;

oraz:

inwestycja budowlana

2.000,00 tys. zł,

inwestycja aparaturowa

600,00 tys. zł.

Wybrane wyniki:

- **Krótkie omówienie wyników prac badawczych prowadzonych w 1996 roku**

Zespoły Instytutu prowadziły badania nad biologią molekularną wirusów, bakterii, grzybów niższych, roślin i owadów oraz nad strukturami i funkcjami biologicznie czynnych związków drobno- i wysokocząsteczkowych.

Uzyskano znaczący postęp w badaniach nad procesami patogenezy u roślin, w tym mechanizmami obrony roślin przed infekcjami wirusowymi i grzybowymi. Zanalizowano genomy wirusów i wiroidów roślinnych, skonstruowano różne transgeniczne rośliny jedno- i dwuliścienne.

Wybrane procesy metaboliczne analizowano na poziomie molekularnym u bakterii, grzybów niższych i roślin. Badano przede wszystkim procesy replikacji i transkrypcji DNA, mutagenezę i naprawę DNA, reakcje biosyntetyczne ze szczególnym uwzględnieniem aspektów regulacyjnych, potranslacyjne modyfikacje, interakcje i sekrecję białek. Kontynuowano analizy funkcjonalne genomów i poszczególnych genów drobnoustrojów, zwłaszcza drożdży.

Zaawansowane metody chemiczne, fizyczne, biologiczne i bioinformatyczne użyto w pracach nad strukturą i funkcjami kwasów nukleinowych i ich składników, izoprenoidów oraz białek o różnych funkcjach biologicznych. Szczególną uwagę zwrócono na możliwe biotechnologiczne zastosowania analizowanych substancji i procesów.

- **Doniesienie naukowe o jednym najważniejszym wyniku uzyskanym w 1996 r.**

W nowoczesnych metodach ochrony roślin wykorzystuje się techniki inżynierii genetycznej, pozwalające na otrzymywanie roślin transgenicznych o nowych właściwościach, w tym rośliny odporne na patogeny.

Infekcje wirusem liściozwoju ziemniaka (PLRV) powodują duże straty w zbiorach ziemniaka, który jest jednym z podstawowych płodów rolniczych w Polsce. Jak dotąd nie otrzymano metodami biologicznymi odmiany uprawnej ziemniaka odpornej na infekcje PLRV. Biorąc pod uwagę znaczenie ekonomiczne problemu, podjęto prace nad otrzymaniem transgenicznego ziemniaka odpornego na infekcje PLRV.

Do badań użyto odmiany ziemniaka Bzura, naturalnie odpornej na wirusy PVX i PVY. Stosując techniki inżynierii genetycznej w genom rośliny wstawiono w orientacji "sens" i "antysens" określone fragmenty cDNA kodujące białko płaszczka wirusa PLRV. U szeregu roślin wykazano obecność transgenu metodą Southerna i jego ekspresję analizą typu Northern.

Testy odpornościowe, przeprowadzone w Instytucie Ziemniaka w Młochowie, wykazały odporność dwóch klonów na infekcje wirusem PLRV, przy czym jeden z nich, zawierający wirusowy cDNA w orientacji "antysens", można zakwalifikować do kategorii "immune". Uzyskana odporność na infekcje jest przekazywana pokoleniu wegetatywnemu. Co więcej, obydwie transgeniczne rośliny zachowały wysoką odporność na infekcje wirusami PVX i PVY. Oznacza to, że uzyskane rośliny są odporne na trzy najbardziej groźne wirusy atakujące ziemniak.

Należy podkreślić, że opisane powyżej rośliny są pierwszymi w Polsce transgenicznymi ziemniakami odpornymi na infekcje wirusem PLRV.

- **Opracowano:**

nowych technologii i materiałów - 2

nowych metod badawczych i pomiarowych - 2

patentów i praw ochronnych - 1

Tytuły i stopnie naukowe pracowników placówki:

- **uzyskane tytuły profesora** - nie było

- **uzyskane habilitacje**

Piotr CEGŁOWSKI

„Konsekwencje występowania w komórkach *Bacillus subtilis* monomerycznych form plazmidów”

Jacek HENNIG

„Udział kwasu salicylowego w odpowiedzi roślin na czynniki chorobotwórcze”

Ewa KULA-ŚWIEŻEWSKA

„Rola związków izoprenoidowych w komórkach roślinnych. Biosynteza, funkcje biologiczne i występowanie”

Elżbieta GRZESIUK

„Rola genów *mutS*, *umuDC* i *dnaQ* w mutagenzie i naprawie uszkodzeń w DNA *Escherichia coli* indukowanych czynnikami alkilującymi”

- **uzyskane doktoraty**

Jarosław POZNAŃSKI

„Analiza konformacyjna peptydów zawierających mostek prolinowy i jej zastosowanie w modelowaniu przeniesienia elektronu między stanami rodnikowymi końcowych aminokwasów (Trp, Tyr, Met)”

Bożenna REMPOŁA

„Synteza inhibitora proteaz serynowych CPTI II w *Escherichia coli* i *Saccharomyces cerevisiae*”

Jolanta TOPCZEWSKA

„Synteza ludzkiego czynnika wzrostowego komórek epidermalnych - hEGF przez drożdże *Saccharomyces cerevisiae*”

Jacek TOPCZEWSKI

„Klonowanie i charakterystyka genu kodującego syntazę cysteinową *Aspergillus nidulans*”

Andrzej PAŁUCHA

„Transformacja wybranych odmian ziemniaka metodą agroinfekcji plazmidami zawierającymi cDNA genomu wirusa liściozwoju ziemniaka”

Adrianna NOWICKA

„Interakcje między białkami wchodzącymi w skład mutasomu *Escherichia coli*”

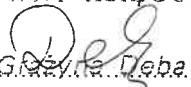
Adres placówki:

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN

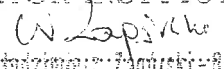
02-106 Warszawa, ul. Pawińskiego 5A

Warszawa, dnia 31.01.1997 r.

GŁÓWNY KSIEGOWY


.....
Główny Księgowy

DYREKTOR INSTYTUTU


Prof. dr Włodzisław Zapski
Dyrektor

A.Bulanda, tel. 658-47-53

**Wybrane informacje analityczno-statystyczne o działalności
naukowo-badawczej i jej wynikach
Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w 1996 roku**

1. Publikacje wydane drukiem w 1996 roku

(wykaz publikacji - Załącznik Nr 1)

a) zestawienie liczbowe:

Łącznie:	170
z tego:	
• książki	2
• rozdziały w książkach (innych niż wyżej wymienione)	3
• artykuły, rozprawy w czasopismach naukowych	74
w tym: publikacje w recenzowanych czasopismach	
o zasięgu światowym	66
• referaty, doniesienia i materiały konferencyjne	91

b) wykaz książek - wydanych przez placówkę lub których wydanie zostało sfinansowane przez placówkę: Third Survey of Research, Abstracts of the Workshop on: „Genes and Their Products in Basic Research and Biotechnology”, Warszawa Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, 1996 (w załączeniu).

c) aktywność wydawnicza placówki

Wyszczególnienie	Liczba tytułów	Liczba arkuszy wydawniczych	Nakład (liczba egz.)	Koszt całkowity wydania (w tys. zł)	Kwota dofinansowania ze środków budżetowych (w tys. zł)
Wydawnictwa zwarte i seryjne	1	17	500	2.600 zł	2.600 zł
Wydawnictwa ciągłe	/	/	/	/	/
Czasopisma naukowe	/	/	/	/	/

2. Opracowane urządzenia

nie było

3. Opracowane technologie i materiały

Technologia lub materiał	Autor
plazmidy do ekspresji motywu HTH podjedn. sigma 70	Bolewska K.
konstrukcja syntetycznego genu CPCI	Rempoła B.

4. Opracowane metody badawcze i pomiarowe

Metoda badawcza lub pomiarowa	Autor
metoda wykrywania wirusa PVY bezpośrednio w tkance roślin	Krzymowska M. i Hennig J.
metoda wyznaczania stałej wiązania jonów Mg przez otwarty kompleks transkrypcyjny	Smagowicz W.J.

5. Ochrona własności intelektualnej

Patenty	Autor
"Sposób wykrywania patogenów i test diagnostyczny do wykrywania patogenów" Opis Patentowy: PL 170018 B1 Nr zgłoszenia: 288397, IntCl ⁶ : C12Q 1/68 C12N 15/10	Żekanowski C., Wełnicki W., Skrzeczkowski L.J., Zagórski W.
„Sposób wytwarzania sondy polinukleotydowej do wykrywania wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka”. Opis Patentowy PL 161561 B1. Nr zgłoszenia : 280261, Int Cl ⁵ : C12N 15/11 GO1N 33/50	Skrzeczkowski L.J., Zagórski W., Wełnicki W.

6. Ekspertyzy naukowe

nie było

7. Realizowane projekty badawcze

L.p.	Rodzaj projektu/Tytuł projektu	Kierownik	Okres realizacji (od-do)
a) krajowe - projekty badawcze tzw. "granty"			
1.	Udział ferrochelatazy w kontroli metabolizmu przez hem. Izolacja i charakterystyka mutantów <i>Saccharomyces cerevisiae</i> o zmiennej aktywności ferrochelatazowej.	prof. J.Rytka	1993-1996
2.	Transformacja ziemniaka.	prof. K.Kleczkowski	1993-1996
3.	Próba konstrukcji sztucznych chromosomów przydatnych do transformacji roślin jednoliściennych.	dr M.Dobrzańska	1993-1997
4.	Regulacja metabolizmu enterobakterii przez temperaturę i jej aspekty biofizyczne i medyczne.	prof. T.Kłopotowski	1993-1996
5.	Charakterystyka roślinnych kinaz białkowych C i kinaz tyrozynowych oraz badanie ich udziału w przekazywaniu	prof. G.Muszyńska	1994-1996

	sygnałów.		
6.	Związek między budową i aktywnością nieregulowanego promotora bakteryjnego w procesie inicjacji transkrypcji u <i>E.coli</i> .	prof. K.L.Wierzchowski	1994-1997
7.	Molekularne podstawy mutagenazy: badanie wpływu sąsiadujących zasad w matrycy na właściwości kodujące modyfikowanych zasad podczas replikacji DNA.	prof. J.Kuśmierek	1994-1996
8.	Elementy regulacyjne zależne od kwasu salicylowego warunkujące oporność roślin na patogeny.	dr J.Hennig	1994-1997
9.	Nowe aspekty regulacji metabolizmu siarkowego u <i>Enterobacteriaceae</i> : zależności między funkcją genu <i>cbl</i> a regulonem cysteinowym.	dr M.Hryniewicz	1994-1997.
10.	Mechanizm ekspresji genomu liściozwoju ziemniaka (PLRV).	prof. D.Hulanicka	1994-1996
11.	Nukleaza związana z rybosomami zarodków żyta, hydrolizująca dwuniciowe RNA: oczyszczanie, jej aktywatory i inhibitory.	dr M.Siwecka	1994-1997
12.	Metabolizm aminokwasów siarkowych u grzybów: molekularna charakterystyka genów struktury i genów regulacyjnych.	prof. A.Paszewski	1994-1997
13.	Badanie mechanizmów regulujących proces kierowania białek do różnych kompartmentów komórki w drożdżach <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	dr T.Żółdek	1995-1997
14.	Analiza strukturalna i funkcjonalna genomu drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	prof. W.Zagórski	1995-1998
15.	Rola genomu jądrowego w regulacji funkcjonowania mitochondriów <i>S.cerevisiae</i> . Charakterystyka genów odpowiedzialnych za translację mitochondrialną.	dr M.Boguta	1995-1998
16.	Modyfikacja zasad - indukcja stabilnej replikacji DNA	prof. C.Janion	1995-1998
17.	Biologia molekularna zakażenia wiroidowego - diagnostyka patogena i konstrukcja roślin opornych.	mgr A.Góra-Sochacka	1995-1997
18.	Badanie mechanizmu wywoływanej przez histon H1 specyficznej represji transkrypcji genów położonych w pobliżu sekwencji DNA bogatych w pary AT.	prof. A.Jerzmanowski	1995-1997
19.	Wierność replikacji nici opóźnionej i prowadzącej, podczas syntezy chromosomu	dr I.Fijałkowska	1995-1998

	<i>Escherichia coli</i> .		
20.	Charakterystyka nowych genów <i>Saccharomyces cerevisiae</i> zaangażowanych w odpowiedź komórki na uszkodzenia DNA.	prof. Z.Cieśła	1995-1998
21.	Badania nad funkcjonowaniem genów regionu stabilności segB plazmidu pSM19035.	dr P.Cegłowski	1995-1998
22.	Rola polimeraz DNA w naprawie różnych rodzajów uszkodzeń DNA w komórkach drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	prof. W.Jachymczyk	1995-1998
23.	Molekularna charakterystyka krajowych populacji nicieni <i>Bursaphelenchus</i> zasiedlających drewno sosnowe.	mgr J.Brzeski	1996-1997
24.	Mechanizm działania i potencjalne inhibitory glikozylazy 3-metyloadenina-DNA pochodzenia bakteryjnego i ludzkiego.	prof. J.Kuśmierek	1996-1998
25.	Badanie przestrzennej struktury RNA przy użyciu nukleaz z roślin wyższych.	dr A. Przykorska	1996-1998
26.	Puszukiwanie funkcji produktu genu U17918, niezbędnego dla życia komórki <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	dr A. Kurlandzka	1996-1998
27.	Klonowanie i analiza genów indukowanego cellobiozą katabolizmu laktozy u <i>Lactococcus lactis</i> .	dr J. Bardowski	1996-1999
28.	Konstrukcja transgeniczných linii ziemniaka i tytoniu opornych na wirusy.	prof. W. Zagórski	1996-1998
29.	Konstrukcja roślin transgeniczných, odpornych na wirus Y ziemniaka (PVY).	mgr A.Chachulska	1996-1998
30.	Analiza ekspresji transgenów wirusowych w liniach ziemniaka transformowanych cDNA wirusa liściozwoju (PLRV).	prof. D.Hulanicka	1996-1997
31.	Izolacja, rekombinacje i zastosowanie plazmidów liniowych w transformacji roślin	dr M. Bucholc	1996-1998
32.	Racjonalne projektowanie i otrzymanie specyficznych białkowych inhibitorów proteinaz serynowych w oparciu o modelowanie molekularne, analizę danych kinetycznych i termodynamicznych oraz ukierunkowaną mutagenezę.	dr M. Dadlez	1996-1999
33.	Poliprenolowe lipidy "kauczukopodobne" pochodzenia roślinnego.	prof. T. Chojnacki	1996-1998
34.	Ekspresja białkowa składników funkcjonalnego receptora ekdyteroidowego w komórkach bakteryjnych i drożdżowych.	dr K. Grzelak	1996-1999

35.	Synteza, badanie struktury i konformacji nowych przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych i przeciwpasożytniczych nukleotydów oraz badanie metodami spektroskopowymi ich oddziaływań z syntazą tymidylanową.	prof. T.Kulikowski	1996-1999
36.	Rola polimeraz DNA w konwersji wewnątrzgenowej w komórkach drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	mgr A. Hałas	1996-1997
b) zagraniczne			
1.	Projekt finansowany przez II Fundusz im. M.Skłodowskiej-Curie: "Mutogeneza zachodząca na nici prowadzącej i opóźnionej podczas replikacji DNA".	dr I.Fijałkowska	1996-1998
2.	Grant NATO: "Introduction of the baculovirus protein expression system to Poland".	dr J.Chroboczek (Francja) i dr J.Michalik (IBB PAN)	1994-1996
3.	Grant Fundacji Współpracy Polsko-Niemieckiej: "Pozyskiwanie i możliwości zastosowań praktycznych długołańcuchowych polimerów izoprenoidowych".	dr W.Jankowski	1994-1996
4.	Grant w ramach "Związku Bliźniaczego" z Francją: "Sekuencjonowanie i analiza funkcjonalna genomu drożdży".	prof. J.Rytka i mgr.M.Zagulski	1996
5.	Projekt polsko-izraelski finansowany przez UNESCO: "International Center for Cooperation in Bioinformatics".	dr P.Zielenkiewicz	1996-1997
6.	Grant NATO: "Construction of transgenic plants producing immunogenic proteins of therapeutic significance".	prof.H.Koprowski (USA) prof.G.Muszyńska dr A.Sirko	1996-1997
- Projekty współpracy między Francją a Polską:			
1.	Reverse genetics of potato leaf roll luteovirus (PLRV).	prof. D.Hulanicka	1995-1996
2.	Construction of recombinant baculovirus as an insecticide.	dr J.Michalik	1995-1996
3.	Modulation post-transcriptionnelle de l'expression du gene CFTR par L'IFNgamma.	dr G.Przewłocki	1995-1996
4.	Diversite genetique dans le genre <i>Lactococcus</i> .	dr J.Bardowski	1996
- Projekty w ramach współpracy między KBN - The British Council			
1.	Molecular biology of sulphur metabolism in <i>Aspergillus nidulans</i> .	prof. A.Paszewski	1995-1997
2.	Characterisation of glycosylation deficient mutants of <i>Aspergillus nidulans</i> .	prof. G.Palamarczyk	1994-1996

3.	The development and evolution of plant artificial chromosomes.	dr M.Dobrzańska	1995-1997
<i>Projekt w ramach programu PHARE SCI-TECH</i>			
1.	Współdziałania między Instytutem Biochemii i Biofizyki PAN a jednostkami Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego w dziedzinie nauczania biotechnologii molekularnej	prof. W.Zagórski i prof.A.Jerzmanowski	1996-1997

8. Działania na rzecz praktyki. Umowy i prace wykonane przez placówkę na zamówienie.

Przedmiot umowy	Kierownik zespołu	Zleceniodawca
Wykonanie widm CD	Bierzyński A.	Instytut Biologii, filia UW w Białymstoku; Instytut Chemii Organicznej PAN, Warszawa; Instytut Biologii Doświadczalnej, Warszawa; Polfa, Warszawa.
Badania NMR płynu mózgowo-rdzeniowego mające na celu opracowanie metod diagnostyki chorób mózgu.	dr B.Toczyłowska	Wydział Anestezjologii i Intensywnej Terapii Akademii Medycznej w Warszawie
Synteza matrycy DNA	Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów	Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa (Skierniewice); Instytut Technologii Żywności (Warszawa); Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (Błonie)
Synteza matrycy DNA i sekwencjonowanie DNA	Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów	Państwowy Instytut Weterynaryjny (Puławy)
Oznaczenie aktywności fosforybozylotransferaz adeninowej i hipoksantyno-guaninowej u pacjentów	Jeżewska Maria M.	Szpital Kliniczny nr 4 AM w Lublinie
Oznaczenie aktywności fosforybozylotransferaz adeninowej i hipoksantyno-guaninowej u pacjentów.	Jeżewska Maria M.	I Katedra i Klinika Pediatrii, Wrocław
Oznaczenie aktywności fosforybozylotransferaz adeninowej i hipoksantyno-guaninowej u pacjentów.	Jeżewska Maria M.	Centrum Zdrowia Dziecka, Warszawa-Anin
Testy hybrydizacyjne na obecność PSTVd w tkankach ziemniaków.	Pawłowicz J.	Instytut Ziemniaka ONB, Młochów

Testy hybrydizacyjne na obecność PSTVd w tkankach ziemniaków	Pawłowicz J.	Hodowla Roślin Szyldak
Testy hybrydizacyjne na obecność PSTVd w tkankach ziemniaków	Pawłowicz J.	Centralny Ośrodek Badania Roślin Uprawnych, Słupia Wielka
Testy hybrydizacyjne na obecność PSTVd w tkankach ziemniaków	Pawłowicz J.	Pomorsko-Mazowiecka Hodowla Ziemniaka, Sp. z o.o., Płochocin

9. Działalność dydaktyczna pracowników placówki

Wyszczególnienie	Zajęcia ze studentami (wykłady, ćwiczenia, seminaria, itp.)		Wykłady (inne, poza zajęciami ze studentami)		Kursy, szkolenia, szkoły itp. organizowane przez placówkę	
	liczba osób prowadzących	liczba godzin	liczba osób prowadzących	liczba godzin	liczba osób prowadzących	liczba godzin
1. w kraju:						
a) uczelnie wyższe						
indywidualna	21	1206	9	44	4	159
na podstawie umowy	2	450	/	/	/	/
pozostałe	/	/	/	/	/	/
b) inne	4	36	2	4	/	/
2. za granicą	4	x	/	x	/	x

Warszawa, dnia 31.01.1997 r.

GŁÓWNY KSIĘGOWY

[Podpis]
Główny Księgowy

DYREKTOR INSTYTUTU

[Podpis]
Prof. dr. Włodzisław Zagórski - Ostroja
Dyrektor

A.Bulanda, tel. 658-47-53

Informacja o współpracy naukowej z zagranicą w 1996 r.

1. Informacja opisowa o zakresie i warunkach współpracy z zagranicą.

W 1996 r., podobnie jak w latach ubiegłych, dominowała współpraca naszego Instytutu z różnymi ośrodkami francuskimi. Mniej więcej połowa wszystkich wyjazdów naszych pracowników, które odbywały się w ramach współpracy z zagranicą, przypada właśnie na Francję. Warto podkreślić dynamikę tej współpracy; dla przykładu, Centrum Polsko-Francuskie w 1996 r. objęło finansowaniem sześć nowych projektów badawczych. Współpraca z Francją obejmuje różnorodną tematykę, w tym kontynuację badań nad genomami *Saccharomyces cerevisiae* i *Arabidopsis thaliana*. Ważnym elementem współpracy polsko-francuskiej jest ukazanie się w tym roku specjalnego zeszytu międzynarodowego czasopisma "Biochimie", wydawanego we Francji. Zeszyt ten, zatytułowany "Biologia molekularna w Polsce" zawiera oryginalne prace naukowe wykonane w polskich laboratoriach (IBB PAN, IChB PAN, Uniwersytet Warszawski, Uniwersytet Jagielloński, Uniwersytet Gdański, Śląska Akademia Medyczna, Akademia Rolnicza w Poznaniu) w większości przypadków przy współpracy z kolegami francuskimi.

Kontynuowana jest współpraca z innymi krajami europejskimi. Owocnie przebiega współpraca z Niemcami, zwłaszcza z odległymi tylko o 600 km ośrodkami berlińskimi - Instytutem Genetyki Molekularnej Maxa Plancka i Instytutem Krystalografii Wolnego Uniwersytetu. W ramach współpracy z Wielką Brytanią kontynuowane są wspólne badania obejmujące biologię molekularną grzybów i roślin. Współpracą z ośrodkami skandynawskimi objęte są m.in. badania nad charakterystyką i metabolizmem poliprenoli (Uniwersytet w Sztokholmie), posttranslacyjnymi modyfikacjami białek roślin (Uniwersytet w Uppsali i Uniwersytet w Sztokholmie) i grzybów (Instytut Biotechnologii Uniwersytetu w Helsinkach). Nadal realizowana jest współpraca IBB PAN z ośrodkami holenderskimi dotycząca wspólnych programów prac doktorskich.

Europejski Fundusz Stypendialny (EFS) przy IBB PAN funkcjonuje od 1 października 1992 r. Do chwili obecnej stypendia przyznano 67 pracownikom naukowym, głównie z Rosji, Białorusi i Ukrainy. Łącznie w IBB PAN pracowało 46 osób. W innych ośrodkach naukowych, takich jak: Uniwersytet Warszawski, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Gdański, Akademia Rolnicza we Wrocławiu, Uniwersytet Łódzki, Centrum Diagnostyki i Terapii AIDS w Warszawie, Centrum Mikrobiologii i Wirusologii w Łodzi pracowało 21 stypendystów EFS. W 1996 r.

przyznano 14 stypendiów, w tym IBB PAN 11 stypendiów i 3 poza IBB PAN. W większości przypadków stypendia przyznawano na okres 3 do 6 miesięcy.

W 1996 r. gościło ośmiu byłych wychowanków Instytutu tworzących tzw. „Grupę Zaufania”, którzy wygłosili referaty, omówili wyniki wspólnych badań, konsultowali prace prowadzone w Instytucie oraz aktywnie współuczestniczyli w sympozjach naukowych organizowanych przez Instytut.

Współpraca z Francją - Związek Bliźniaczy, Centrum Polsko-Francuskie

Dr B. Tudek w trakcie miesięcznego pobytu w Instytucie Goustave Roussy (Villejuif) przeprowadziła badania nad mechanizmami działania niektórych enzymów naprawy DNA, a w szczególności nad poszukiwaniem inhibitorów tych enzymów.

Dr K. Lewicka przebywała dwa tygodnie w Laboratorium Genetyki Molekularnej Pasożytów i Wektorów (Montpellier), gdzie zastosowała technikę "multilocus enzyme electrophoresis" do badań taksonomicznych gatunku bakterii *Lactococcus*.

Mgr M. Zagulski przebywał dziewięć miesięcy w Centrum Genetyki Molekularnej CNRS (Gif-sur-Yvette), przeprowadzając różnorodne badania poświęcone analizie funkcjonalnej genomu drożdży.

Mgr A. Góra w trakcie miesięcznego pobytu w Stacji Patologii Roślin INRA (Villenave d'Ornon) rozpoczęła konstrukcję plazmidów do transformacji roślin w celu otrzymania odmian ziemniaka odpornych na zakażenie wiroidem wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd).

Mgr A. Chachulska przebywała przez cztery miesiące w Laboratorium Biologii Komórkowej INRA (Wersal), gdzie kontynuowała prace nad otrzymaniem pełnych, infekcyjnych kopii cDNA wirusa ziemniaka PVY oraz nad poliformizmem izolatów tego wirusa.

Dr Teresa Żołądek w trakcie pobytu w Instytucie J. Monoda w Paryżu zainicjowała doświadczenia nad identyfikacją ubikwitynowanych pochodnych drożdżowego białka mod5p, które mogłyby mieć wpływ na import tego białka do mitochondriów.

Mgr M. Krzymowska przebywała sześć tygodni w Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin Uniwersytetu J. Fouriera (Grenoble), gdzie stosowała technikę opóźnienia migracji w żelu do analizy interakcji białek chloroplastów z promotorem transkrypcji PR-2d.

Mgr J. Poznański przebywał trzy tygodnie w Instytucie Biologii Strukturalnej w Grenoble. Przeprowadził badania NMR cyklicznego peptydu WPPYGG w roztworze wodnym oraz w DMSO.

Prof. J. Rytko odbyła dwutygodniowy pobyt w Instytucie J. Monoda (Paryż) oraz w Centrum Genetyki Molekularnej CNRS (Gif-sur-Yvette). Przygotowała do druku publikację naukową oraz przygotowała plan analizy funkcjonalnej wybranych ORF z chromosomu III i IX drożdży.

Prof. P. Stępień w trakcie 10-dniowego pobytu w Centrum Genetyki Molekularnej CNRS (Gif-sur-Yvette) zajmował się różnymi aspektami współpracy nad metabolizmem mitochondrialnego RNA u drożdży.

Dr A. Przykorska przebywała miesiąc w INSERM (Paryż) oraz w Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej (Strasbourg), gdzie opracowała sposób oczyszczania RNazy z linii komórkowej T84, a także wybrała i przygotowała szereg substratów dla badanych enzymów nukleolitycznych.

Mgr E. Sadowy odbyła 4-miesięczny pobyt w Instytucie Badań Roślinnych CNRS (Gif-sur-Yvette) przeprowadzając prace nad uzyskaniem agroinfekcyjnego klonu wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV).

Prof. G. Palamarczyk oraz mgr K. Grabińska przebywały przez 3 miesiące w Uniwersytecie Poitiers. Celem pobytu było omówienie wyników współpracy a także ustalenie rodzaju i zakresu badań jakie przeprowadziłyby w Laboratorium prof. F. Karsta mgr K. Grabińska w ramach realizacji pracy doktorskiej.

Dr E. Szolajska podczas miesięcznego pobytu w Instytucie Biologii Strukturalnej (Grenoble) pracowała nad wykrywaniem technikami immunologicznymi ponero toksyny - owadziej neurotoksyny.

Dr hab. J. Michalik przebywała w Instytucie Biologii Strukturalnej (Grenoble) sześć tygodni, gdzie kontynuowała próby konstrukcji rekombinanta bakulowirusa niosącego informację genetyczną o neurotoksynie owadziej. Podczas 7-dniowej wizyty w Stacji Badawczej INRA (LaMiniere) omówiła metodykę i możliwości wykonania odpowiednich biotestów dla rekombinowanego bakulowirusa.

Mgr M. Góra pracowała 4 miesiące w Instytucie J. Monoda w Paryżu nad konstrukcją i badaniem funkcji chimerycznych ferrochelataz.

Dr R. Wolinowska przebywała 11 miesięcy w Centrum Genetyki Molekularnej CNRS (Gif-sur-Yvette), gdzie kontynuowała badania nad mutantami *S. cerevisiae* zaburzonymi w obróbce lub stabilności mitochondrialnego mRNA.

Dr B. Rempoła od kwietnia 1996 r. przebywa w Centrum Genetyki Molekularnej CNRS (Gif-sur-Yvette) przeprowadzając analizę funkcjonalną genomu drożdżowego, w szczególności genów chromosomu IX.

Dr J. Bardowski w trakcie 7-tygodniowego pobytu w Laboratorium Genetyki Drobnoustrojów INRA (Jouy-en-Josas) badał techniką RAPD zróżnicowanie genetyczne bakterii z rodzaju *Lactococcus*.

Dr G. Przewłocki przebywał przez dwa miesiące w INSERM (Paryż), gdzie kontynuował badania nad RNazą T84.

Prof. G. Muszyńska odbyła tygodniową wizytę w Uniwersytecie Technologicznym w Compiègne, gdzie brała udział w obronie pracy doktorskiej, której była recenzentem. Ponadto przedyskutowała badania, które możnaby objąć współpracą.

W 1996 r. w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN gościli następujący naukowcy francuscy: prof. A. Edelman (dwukrotnie) - współpraca nad posttranskrypcyjną regulacją genu CFTR; prof. Ch. Herbert (dwukrotnie) - współpraca przy analizie funkcjonalnej genomu drożdzy; dr J. Chroboczek - współpraca przy konstrukcji rekombinowanych bakulowirusów. Prof. M. Rohmer - dyskusja nad wspólnymi badaniami dotyczącymi biosyntezy izoprenoidów roślinnych.

Współpraca z Wielką Brytanią - British Council

Mgr M. Grynberg przebywał jeden miesiąc w Zakładzie Biologii Molekularnej i Biotechnologii Uniwersytetu Sheffield, gdzie - klonował i sekwencjonował wybrane geny regulacji metabolizmu siarkowego u grzybów.

Gośćmi IBB PAN w 1996 r. byli: prof. G. Turner, który przedyskutował wspólne badania Uniwersytetu Sheffield i naszego Instytutu nad regulacją metabolizmu siarkowego u grzybów; prof. F.W. Hemming - w ramach współpracy nad charakterystyką mutantów *Aspergillus nidulans* zaburzonych w glikozylacji białek; dr C. Sansom, która przedyskutowała sposoby modelowania struktury białek; prof. N. Jones z Uniwersytetu Walijskiego w Aberystwyth konsultował możliwość wykorzystania chromosomów B w biotechnologii roślin, wygłosił też referat ogólnoinstitutowy.

Współpraca z Niemcami

Dr hab. P. Ceglowski w ramach miesięcznego pobytu w Instytucie Genetyki Molekularnej Maxa Plancka (Berlin) kontynuował objęte współpracą badania z dziedziny

biologii molekularnej *Bacillus subtilis*, w szczególności prace nad chimerowymi metylotransferazami DNA z fagów tej bakterii.

Dr P. Zielenkiewicz i mgr A. Kierzek przebywali tydzień w Instytucie Krystalografii Wolnego Uniwersytetu w Berlinie, gdzie przedyskutowali badania teoretyczne i doświadczalne agregacji białek, w szczególności białka modelowego - lizozymu.

Gościem IBB PAN był dr Y. Georgalis, który omówił badania objęte współpracą, a także przygotował z grupą P. Zielenkiewicza wspólną publikację na temat procesów krystalizacji białek.

Współpraca z Holandią

Mgr K. Pluta przebywał trzy miesiące w Instytucie Ochrony Roślin (Wageningen), gdzie badał infekcyjność transkryptów otrzymanych z pełnej długości cDNA wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV).

Mgr M. Juszczuk podczas 4-miesięcznego pobytu w Instytucie Ochrony Roślin (Wageningen), badał ekspresję genów subgenomowego RNA wirusa PLRV w protoplastach tytoniu i groszku. Uzyskał również przeciwciała skierowane przeciwko wirusowemu białku o m.c. 17 kDa i replikazie PLRV.

Prof. P. Stępień przebywał 4 dni w Zakładzie Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Amsterdamie uzgadniając zakres przyszłej współpracy naukowej dotyczącej genetyki mitochondriów drożdży.

Współpraca z Finlandią

Prof. J. Kuśmierek przebywał 5 dni w Uniwersytecie Fińskim w Turku przeprowadzając konsultacje na temat relacji pomiędzy endogennymi i egzogennymi uszkodzeniami DNA oraz metodami ich detekcji oraz wygłosił referat naukowy.

Dr J. Kruszewska odbyła miesięczny staż w Centrum Naukowym w Helsinkach, gdzie klonowała gen syntazy mannozylo-fosfodolicholu z *Trichoderma reesei*.

Prof. W. Zagórski-Ostojka podczas 3-dniowego pobytu w Instytucie Biotechnologii Uniwersytetu Helsińskiego przedyskutował możliwości wymiany naukowej pomiędzy zainteresowanymi placówkami oraz wygłosił referat naukowy.

Gościem IBB PAN była dr M. Makarow z Instytutu Biotechnologii Uniwersytetu w Helsinkach - w ramach kontynuacji współpracy nad mechanizmami posttranslacyjnych modyfikacji białek mających znaczenie dla sekrecji.

Współpraca ze Szwecją

Prof. T. Chojnacki i dr hab. E. Kula-Świeżewska przebywali w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu w Sztokholmie oznaczając poliprenole w różnych gatunkach roślin z rodzin *Combretaceae* i *Rosaceae* oraz badając biosyntezę prenylowanych białek i innych izoprenoidów w komórkach roślinnych i zwierzęcych.

Mgr K. Czerska podczas pobytu w tej samej placówce zajmowała się izolacją tzw. kompetentnych mitochondriów z *Arabidopsis thaliana* i ze szpinaku.

Prof. G. Muszyńska spędziła 5 dni w Zakładzie Chemii Fizjologicznej i Medycznej Uniwersytetu w Uppsali, gdzie ustalała zasady współpracy w ramach wspólnego grantu INCO-Copernicus.

W IBB PAN przebywał dr J. Olsson z Instytutu Karolinskiego opracowując nową metodę rozdziału mieszanin homologów alkoholi izoprenoidowych.

Współpraca z Włochami

Doc. Z. Zarębska i mgr E. Waszkowska spędziły miesiąc na Wydziale Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu w Padwie, gdzie zajmowały się badaniami nad mechanizmami działania psolarenu i fotouszkodzeń w błonach komórkowych.

Współpraca ze Szwajcarią

Mgr A. Chacińska spędziła dwa miesiące w BioCentrum Uniwersytetu w Bazylei analizując lokalizację komorkową drożdżowych białek Nam9 i Hsp104.

Mgr D. Wieczorek w Instytucie Friedricha Mieschera w Bazylei opracowywała metodę badania przejściowej ekspresji genu Grs w komórkach B42.

Dr M. Hryniewicz podczas 4-dniowego pobytu w Zakładzie Mikrobiologii Szwajcarskiego Instytutu Technologii (Zurich) przedyskutowała objęte współpracą wyniki badań nad regulacją genów operonu taurynowego *E. coli* i ustaliła zasady dalszej współpracy.

Współpraca z Belgią

Prof. T. Chojnacki przebywał w Zakładzie Chemii Uniwersytetu w Louvain, uczestnicząc w badaniach nad strukturą poliprenoli i dolicholi.

Współpraca z Białorusią

Gościem IBB PAN był prof. A. Łabanok z Białoruskiej Akademii Nauk, który interesował się pracami z zakresu biotechnologii mikrobiologicznej.

Współpraca z Czechami

Dr hab. K. Grzelak podczas 4-dniowego pobytu w Instytucie Entomologii AUCR zapoznała się z badaniami nad hormonalną regulacją transkrypcji i translacji u owadów.

Współpraca z Rosją

Dr B. Tudek przebywała 2 tygodnie w Instytucie Onkologii (St. Petersburg) biorąc udział we wdrażaniu metod oznaczania niektórych enzymów naprawy uszkodzeń w DNA.

Gośćmi IBB PAN byli: prof. M. Karpeisky, który dyskutował modelowanie struktur białek; dr hab. A. Pokrovski - w celu zapoczątkowania współpracy nad antywirusową aktywnością roślinnych nukleaz; dr A. Likhachew - w celu napisania wspólnej publikacji naukowej; mgr M. Mospan - kontynuacja prac nad enzymami naprawy DNA z tkanek zdrowych i nowotworowych.

Współpraca z Węgrami

Dr P. Zielenkiewicz przebywał 3 dni w Centrum Biotechnologii Rolnej (Godolo), gdzie omawiał konfigurację baz danych dla biologii molekularnej w polskim i węgierskim węźle EMBnet.

W IBB PAN gościł Dyrektor w/w Centrum, prof. E. Balazs, który dyskutował m.in. sposoby wymiany naukowej pomiędzy obydwoma placówkami.

Współpraca z Mołdawią

W IBB PAN przebywał dr V. Kulcittski opracowując metody cyklizacji poliprenoli.

Współpraca z Izraelem

Prof. W. Zagórski-Ostojka podczas pobytu w Instytucie Weizmanna (Rehovot) przeprowadził szereg dyskusji w w/w Instytucie, a także w Izraelskiej Akademii Nauk Ścisłych i Humanistycznych nad dalszym rozwojem współpracy w zakresie bioinformatyki.

Współpraca z USA

Prof. G. Muszyńska podczas miesięcznej wizyty odwiedziła Akademię Medyczną Harvarda i instytucje afiliowane omawiając możliwości współpracy nad rolą fosforylacji i defosforylacji białek w przenoszeniu sygnałów komórkowych. Podobne dyskusje przeprowadziła w Uniwersytecie Washington (Seattle) i w Uniwersytecie Missouri (Columbia).

Dr A. Przykorska przez 4 miesiące badała w Uniwersytecie North Carolina (Chapel Hill) strukturę przestrzenną tRNA^{Tp} w kompleksie ze swoistą syntetazą.

W IBB PAN przebywał prof. R. Schaaper z Narodowego Instytutu Zdrowia omawiając m.in. zasady bieżącej i przyszłej współpracy naukowej.

Współpraca z Japonią

Prof. T. Chojnacki przebywał miesiąc w Instytucie Technologii Uniwersytetu Rolno-Technicznego (Tokio) i w Instytucie Badania Reakcji Chemicznych Uniwersytetu Tohoku (Sendai), gdzie zapoznał się z prowadzonymi tam badaniami i przeprowadził analizę magnetycznego rezonansu jądrowego (600 Mhz) preparatu poliprenoli.

Współpraca z Indiami

Dr Krystyna Grzelak przebywała 10 dni w Szkole Nauk Biologicznych Uniwersytetu w Hyderabadzie. W czasie pobytu zapoznała się z prowadzonymi tam badaniami nad hormonalną regulacją ekspresji genów kodujących białka hemolimfy owadów i prowadziła rozmowy w sprawie nawiązania ścisłej współpracy.

Szkolenia

Dr J. Wójcik uczestniczył w kursie dotyczącym najnowszych technik i problemów MRJ białek i DNA (Austria).

Mgr M. Góra i mgr J. Brzeski brali udział w kursie "Molecular Mechanisms of Signalling and Targeting" (Grecja).

Dr A. Sirko uczestniczyła w "International Training Course in Plant Biotechnology" (Republika Południowej Afryki).

Dr J. Wójcik dwukrotnie uczestniczył w szkoleniu operatorów i użytkowników Spektroskopu UNITY (Niemcy).

Mgr R. Brodzik brał udział w EMBO Practical Course "Non-isotopic in situ hybridization to metaphase chromosomes and interphase nuclei" (Niemcy).

A. Lipska brała udział w kursie szkoleniowym dotyczącym technik biologii molekularnej w analizie i w biotechnologii roślin transgeniczných.

Imprezy z udziałem gości zagranicznych organizowane przez IBB PAN

W 1996 r. IBB PAN był organizatorem lub współorganizatorem następujących imprez z udziałem gości zagranicznych:

1. W okresie 28-30 listopada 1996 r. zorganizowano w IBB PAN „Workshop on Genes and Their Products in Basic Research and Biotechnology”. W symposium wzięło udział jedenastu gości zagranicznych (w tym 7 z „Grupy Zaufania”) reprezentujących ośrodki naukowe USA, Francji, Szwajcarii i Izraela, a także wszyscy pracownicy IBB PAN oraz dzielący z nami budynek pracownicy Zakładu Genetyki U.W. i Instytutu Biologii Eksperymentalnej Roślin U.W. Celem symposium było dokonanie trzeciego już (poprzednie sympozja tego typu odbyły się w 1991 i 1994 r.) przeglądu badań prowadzonych w IBB PAN oraz placówkach stowarzyszonych i współpracujących. Przedstawiono 130 komunikatów naukowych, z których - zdaniem zaproszonych gości - zdecydowana większość reprezentowała dobry poziom międzynarodowy.

2. W dniach 18 i 19 stycznia 1996 r. odbyło się w IBB PAN symposium "Gene Structures and Expression in Plant Pathogenesis". W symposium wzięło udział siedmiu naukowców z Francji oraz polscy doktoranci i naukowcy.

3. W dniach 3-5 czerwca 1996 r., odbył się w Instytucie polsko-francuski kurs bioinformatyki, w którym wzięło udział około pięćdziesięciu osób, w tym wykładowcy z INRA i firmy Infobiogen. W ramach kursu, 25 osób wzięło udział w zajęciach praktycznych.

4. W dniach 9-10 grudnia 1996 r. odbyła się w IBB PAN konferencja zatytułowana "Molecular Analyses of Genomes of Microorganisms" z udziałem trzech naukowców z Instytutu Biologii Fizyko-Chemicznej w Paryżu. W konferencji wzięło udział 13-u magistrantów i doktorantów z IBB i UW.

Wykaz umów o współpracy bezpośredniej zawartych przez IBB PAN z instytutami zagranicznymi

1. IBB PAN - Max Planck Institut fur Molekulare Genetic Berlin (Niemcy)
2. IBB PAN - Dept. of Medical and Physiological Chemistry, Uppsala University, Uppsala (Szwecja)

3. IBB PAN - CNR Centro di Studio sulla Chimica del Farmaco e dei Prodotti Biologicamente Attivi at the Dept. of Farmaceutical Sciences of the University of Padua, Padva (Włochy)
4. IBB PAN - Institute of Biological Chemistry, University of Verona, Faculty of Medicine, Verona (Włochy)
5. IBB PAN - Laboratory of Terpenoid Chemistry Institute of Chemistry of Moldova Academy of Science, (Mołdavia)
6. IBB PAN - State Scientific Center Russia - NPO "VECTOR", Koltsovo, Novosibirsk Region, (Rosja)
7. IBB PAN - Laboratory of Carbohydrate Chemistry, Zelinsky Institute of Organic Chemistry RAS (Rosja)
8. Kontynuowane są prace Centrum Polsko-Francuskiego Biotechnologii Roślin, wiążącego PAN, KBN i CNRS opartego organizacyjnie o Instytut Biochemii i Biofizyki PAN.

Wykaz instytutów, z którymi placówka współpracuje bez umów

1. Instytut J. Monod - Paryż (Francja)
2. Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin (Uniw. J. Fourier, Grenoble - Francja)
3. Instytut Goustave Roussy - Villejuif (Francja)
4. Stacja Patologii Roślin INRA - Bordeaux (Francja)
5. Instytut Badań Roślinnych CNRS - Gif-sur-Yvette (Francja)
6. Instytut Biologii Strukturalnej - Grenoble (Francja)
7. Uniwersytet Paul Sabatier - Tuluza (Francja)
8. Uniwersytet w Sheffield (Wielka Brytania)
9. Uniwersytet Nottingham - Wydział Chemii - Nottingham (W. Brytania)
10. Centrum Biologii Molekularnej Uniwersytetu - Heidelberg (Niemcy)
11. Instytut Genetyki i Kultur Tkankowych - Gatsleben (Niemcy)
12. Wolny Uniwersytet - Berlin (Niemcy)
13. Uniwersytet Camerino - Camerino (Włochy)
14. Z-d Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Sztokholmie (Szwecja)
15. Wydział Biochemii Uniwersytetu - Sztokholm (Szwecja)
16. Karolińska Instytut - Sztokholm (Szwecja)
17. Instytut Biotechnologii Uniwersytetu - Helsinki (Finlandia)
18. Centrum Naukowe - Helsinki (Finlandia)

19. Instytut Mikrobiologii Białoruskiej Akademii Nauk - Mińsk (Białoruś)
20. Katedra Genetyki Białoruskiego Uniwersytetu Państwowego - Mińsk (Białoruś)
21. Wydział Biologii Uniwersytetu - Lozanna (Szwajcaria)
22. Uniwersytet w Nowym Yorku (USA)
23. Uniwersytet Północnej Karoliny - Chapel Hill (USA)
24. Narodowy Instytut Badań nad Wpływem Środowiska na Zdrowie - Research Triangle Park (USA)
25. Instytut Ochrony Roślin - Wageningen (Holandia)
26. Instytut Nauk Biologicznych Uniwersytetu Walijskiego - Aberystwyth (Wielka Brytania)
27. Uniwersytet Techniczny - Wiedeń (Austria)
28. Centrum Badań INRA - Jouy-en-Josas (Francja)
29. Uniwersytet w Groningen (Holandia)

2. Wymiana osobowa.

W roku sprawozdawczym Instytut przyjął **53** gości z zagranicy, z IBB PAN wyjechało **134** osoby.

3./4. Ocena merytoryczna/Wnioski

Sympozja, konferencje i szkolenia, których IBB PAN był organizatorem lub współorganizatorem niewątpliwie spełniły swoją rolę. Dzięki szkoleniom wyraźnie podnoszone są kwalifikacje naukowe kadry Instytutu, a zwłaszcza doktorantów. Znajduje to odzwierciedlenie w stale wzrastającym poziomie komunikatów naukowych przedstawianych na międzynarodowych konferencjach naukowych, w tym w „Workshop on Genes and their Products in Basic Research and Biotechnology”, który zorganizowano w IBB PAN w końcu listopada 1996 r.

Owocnie kontynuowana jest współpraca z zagranicą. Dotyczy to w szczególności współpracy z Francją w ramach „Związku Bliźniaczego” i Centrum Polsko-Francuskiego. Wymiernym efektem tej współpracy jest ukazanie się w tym roku specjalnego zeszytu międzynarodowego czasopisma "Biochimie", wydawanego we Francji. W zeszycie tym, zatytułowanym "Biologia molekularna w Polsce", dobrze widoczne są oryginalne prace naukowe wykonane w IBB PAN.

Kontynuowana jest także współpraca z innymi ośrodkami zagranicznymi, zwłaszcza europejskimi. Szczególnie widoczna jest współpraca z Niemcami, Holandią, Włochami, Szwecją i Finlandią.

Liczni przedstawiciele „Grupy Zaufania” wzięli udział w życiu naukowym Instytutu. Doktoranci IBB PAN aktywnie uczestniczyli w międzynarodowych zjazdach i konferencjach naukowych.

Tabela 1. Kontakty zagraniczne PAN według kierunków w 1996r.

Kraje	Liczba		Ogółem		w tym							
					badawcze		szkoleniowe		kongresy i konferencje		organizacyjne	
	umów	placówek	przyjazdy	wyjazdy	p	w	p	w	p	w	p	w
Austria				3				1		2		
Belgia		1	1		1							
Białoruś				1								1
Czechy				2						1		1
Francja			4	20	1	17		1			3	2
Francja-Jumelage		7	2	12	1	11					1	1
Francja - CPF			25	14		12	2		14		9	2
Grecja				2				2				
Finlandia		2	1	3		2					1	1
Hiszpania				5						5		
Holandia		1		6		3				2		1
Indie				2		2						
Izrael				5						5		
Japonia		1		3		1				2		
Kanada				1						1		
Mołdawa	1		1		1							
Niemcy	1	3	1	15	1	4		3		7		1
Rep.Płd.Afryki				1				1				
Rosja	2		5	4	3	4					2	
Słowacja				7						7		
Szwajcaria				3		3						
Szwecja	1	3	1	8	1	7						1
USA		2	7	7	1	2			6	4		1
Węgry			1	2		1		1			1	
Wielka Brytania		3	4	1	2	1					2	
Włochy	2	1		7		4				3		
RAZEM:	7	23	52	134	11	74	2	9	20	39	19	12

Tabela 2. Wydatki i dochody z tytułu współpracy z zagranicą w 1996r.

Treść	Kwota
I. WYDATKI	
1. Koszty zagranicznych podróży służbowych (bilety, dewizy, wizy)	196.788
2. Koszty pobytu gości zagranicznych	
a) na zaproszenie i koszt placówki	12.521
b) w ramach porozumień bezpośrednich	8.740
3. Koszty konferencji międzynarodowych organizowanych w kraju	21.000
4. Inne wydatki	1.486
Razem:	240.535
II. ŹRÓDŁA FINANSOWANIA	
1. Koszt placówki	49.425
2. Dotacja z KBN (finansowanie w ramach umów międzyrządowych)	111.702
3. Granty	47.373
4. Inne	32.035
Razem:	240.535
III. DOCHODY nie było	
1. Z tytułu organizowania imprez naukowych	
2. Ze sprzedaży aparatury licencji, patentów	
3. Za ekspertyzy i konsultacje naukowe dla partnerów zagranicznych	
4. Inne dochody	
Razem:	

Warszawa, dnia 31.01.1997 r.

GŁÓWNY KSIĘGOWY

.....
Grażyna Deba.....

Główny Księgowy

DYREKTOR INSTYTUTU

Prof. dr. Włodzisław Zagórski - Ostoja

Dyrektor

A.Bulanda, tel. 658-47-53

Roczna informacja o rozwoju kadr naukowych w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w 1996 roku

Tabl. 1 Stopnie naukowe nadane w IBB PAN w 1996 r.

Stopnie naukowe	nadane		
	ogółem	w tym	
		pracowni- kom PAN	innym osobom
Doktora	8	6	2
Doktora habilitowanego	5	5	/

Tabl. 2 Stopnie naukowe uzyskane przez pracowników IBB PAN w 1996 r.

Stopnie naukowe	ogółem	uzyskane	
		w tym	
		w PAN	poza PAN
Doktora	6	6	/
Doktora habilitowanego	4	4	/

Stypendia naukowe:

Liczba osób pobierających stypendia:

- doktorskie - 38
- habilitacyjne - 3
- inne (tzw. powrotów) - 6

Studia doktoranckie

Liczba uczestników

- 1. Ogółem - 66
(w tym 44 doktorantów Szkoły Biologii Molekularnej)
- w tym bez oderwania od pracy - 22
- 2. Przyjętych w 1996 roku
- ogółem - 12
- w tym bez oderwania od pracy - 12

Liczba uczestników dziennych studiów doktoranckich pobierających stypendia

- Ogółem - 22
- z tego przyznane i wypłacane przez:
- a) IBB PAN - 22

Krajowe staże naukowe i zawodowe:

- Liczba pracowników placówki skierowanych na staże - 0
- Liczba osób przyjętych na staż w placówce
- (w tym stażyści z EFS i magistranci z uczelni wyższych) - 15

Opieka nad studentami:

- Liczba studentów odbywających praktyki w PAN - 26
- Prace magisterskie wykonane pod kierunkiem pracowników IBB PAN
- w IBB PAN - 23
- w uczelni macierzystej - 3

Warszawa, 31 stycznia 1997 r.

DYREKTOR INSTYTUTU

Prof. dr. Włodzimierz Zagórski-Ostojka
Dyrektor

Imprezy naukowe organizowane przez IBB PAN

Data	Nazwa imprezy
18-22.01.96	Konferencja nt.: "Gene structures and Expression in Plant Pathogenes"
26.04.96	Konferencja "Dwa oblicza tlenu"
28-30.11.96	Symposium sprawozdawcze "Genes and their Products in Basic Research and Biotechnology"

Udział w krajowych imprezach naukowych

Data	Miasto	Nazwa imprezy	Nazwisko oraz inicjały	Informacje uzupełniające		
				czł. kom. organizac.	przewod n. sesji	referat zamaw.
17-19.09.96	Łódź	XXXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów	Bardowski J.			
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Bebenek A.			
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Bierzyński A.			
15-16.09.96	Warszawa	"Perspectives in Plant Genetics"	Brodzik R. i Hennig J.			x
05-06.03.96	Ojrzanów	XXIX Sesja Naukowa pt. "Genetyczno-Hodowlane Podstawy Postępu Biologicznego w Produkcji Ziemiaka"	Chachulska A. M.			x
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Chachulska A. M., Góra-Sochacka A., Pawłowicz J., Rosa I.			
20-21.06.96	Kazimierz Dolny	III Konferencja "Regulacyjne funkcje białek"	Dobrowolska G., Szczegielniak J.,			

12-14.09.96	Lublin	VI Ogólnopolska Konferencja Biologii Komórki	Trojanek J.				
02.12.96	Warszawa	Minisymposium Warszawskiego O. PTBioch. "Choroby genetyczne, perspektywy diagnostyki i terapii"	Fikus M.M.				x
14.11.96	Poznań	"Molekularne podstawy interakcji pomiędzy patogenem a rośliną uprawną"	Fikus M.M.	jedyny organizator	x		
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Góra-Sochacka A., Lipska A., Pawłowicz J. Gładziejewicz M.				x
14.11.96	Poznań	"Molekularne podstawy interakcji pomiędzy patogenem a rośliną uprawną"	Hennig J.				x
05-06.03.96	Ojrzeń	XXIX Sesja Naukowa pt. "Genetyczno-Hodowlane Podstawy Postępu Biologicznego w Produkcji Ziemiaka"	Hulanicka M.D., Pałucha A.				
14.11.96	Poznań	"Molekularne podstawy interakcji pomiędzy patogenem a rośliną uprawną"	Hulanicka M.D., Pałucha A., Juszczyk M.				
12.06.96	Warszawa	Minisymposium PTBioch pt.: "Otrzymywanie transgenicznych roślin odpornych na infekcje wirusowe"	Hulanicka M.D., Pałucha A., Chrzanoska M.				
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Iwanicka-Nowicka R., Hryniewicz M. Hulanicka D., Węgleńska A., Sirko A.				
16.11.96	Warszawa	X Ogólnopolska Konferencja Chiropterologiczna	Jankowski W.				
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Jeżewska M.M., Trembacz H.				
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Kazimierzczak B.				

12-14.12.96	Łódź	"Aktualne kierunki badań w biochemii i biotechnologii"	Kleczkowski K.			x
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Kruszewska J.			x
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Muszyńska G.			x
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Palamarczyk G		x	
10.03.96	Białowieża	IX Ogólnopolskie Sympozjum "Cytogenetyka w praktyce klinicznej"	Paszewski A.		x	x
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Pawłowicz J.			
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Pietrzykowska I.,			x
20.06.96	Poznań	Konferencja "Kwasy nukleinowe"	Przykorska A., Kuligowska E., Piszczek M., Tomaszewski M.			x
17 -20.09.1996	Kraków	XXXII Zjazd PTBioch.	Siwecka M.A., Tomaszewski M.			
21.06.1996	Gliwice	Spotkanie, Oddziaływanie białko DNA i RNA	Siwecka, M.A.			x
01.10.96	Gdańsk	Inauguracja roku akademickiego 1996/97 Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego	Stępień P.			x
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Szołajska E., Kłudkiewicz B.			
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Szymańska M.			
17-20.09.96	Kraków	XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Świeżewska E.			x

23-24.09.96	Warszawa	"Wszystko zaczęło się od bakterii" konferencja poświęcona pamięci prof. W. Kunickiego-Goldfingera	Taylor K., Węgrzyn A.			x
01.26.96	Gdańsk	Spotkanie Beneficjentów Programu Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej BiMol	Taylor K., Węgrzyn A.			x
12-14.12.96	Łódź	Druka Konferencja "Aktualne kierunki Badań nt. biochemii i biotechnologii"	Tudek B., Grażewicz M.			
23-24.09.96	Warszawa	"Wszystko zaczęło się od bakterii" konferencja poświęcona pamięci prof. W. Kunickiego-Goldfingera	Zagórski-Ostoja W.			x

Udział w międzynarodowych imprezach naukowych

Data	Miejsce	Nazwa imprezy	Nazwisko oraz inicjały	Informacje uzupełniające		
				czł. kom. organizac.	przewodn. sesji	referat zamaw.
8-12.09.96	Veldhoven, Holandia	Fifth Symposium on Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications	Bardowski J.			
7-12.07.96	Barcelona, Hiszpania	24th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies	Boguta M., Chacińska A.			
09.01.96	Kolonia, Niemcy	International Symposium Ecological Genetics in Mammals III	Burzyńska B.			x
28.06.-1.07.96	Poczdham, Niemcy	ESF Network Workshop on Molecular Biology and Ecology of Plasmid Mediated Gene Transfer	Ceglowski P.			
11-16.08.96	Jerusalem, Izrael	Xth International Congress of Virology	Chachulska A., Góra- Sochacka A., Zagórski W.			
04-07.09.96	Antwerpia, Holandia	37th International Conference on the Biochemistry of Lipids	Chojnacki T.	x	x	x

20-24.08.96	Zao, Japonia	International Symposium on Isoprenoid Biochemistry	Chojnacki T.			x
24-28.06.96	Plymouth, USA	Gordon Conference	Fijałkowska I.J.			
29.04-01.05.96	Smolenice, Słowacja	DNA Repair Network Workshop	Fikus M.U.			
22-26.07.96	Barcelona, Hiszpania	XII-th Ecdysone Workshop	Grzełak K.			
14-19.07.96	Knoxville, USA	8 th Molecular Plant-Microbe Interactions Congress	Hennig J.			
11-16.08.96	Jerusalem, Izrael	Xth International Congress of Virology	Hulanicka M.D.			
23-25.10.96	Osaka, Japonia	The Second Japanese-Polish Seminar on Biotechnology organized by JSPS and PAS "Plant Biotechnology"	Hulanicka M.D.			x
16-17.09.96	Warszawa	International Conference "Perspectives in Plant Genetics"	Hulanicka M.D., Pałucha A.	x		
29-04.-1.05.96	Smolenice, Słowacja	DNA Repair Network Workshop	Janion C.			x
02-06.12.96	Okayama, Japonia	5th ICMAA - 5ta Międzynarodowa konferencja nad mechanizmami antymutageny i antykarcynogenezy	Janion C.			x
24-26.06.96	Praga, Czechy	I Howarg Hughes Conference	Jerzmanowski A.			x
06.07.96-13.07.96	Barcelona, Hiszpania	24th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies	Kurlandzka A.			
29.04.-01.05.1996	Smolenice, Słowacja	DNA Repair Network Workshop	Kuśmerek J., Bukowska A., Borys E.			x
09-13.09.96	Florencja, Włochy	10 th FESPP Congress	Maciejewska U.			
25-31.09.96	Florencja, Włochy	XX International Congress of Entomology	Michalik J.			
29.04-01.05.96	Smolenice, Słowacja	DNA Repair Network Workshop	Mieczkowski P.			
17-20.04.96	Missouri, Columbia,	15-te Sympozjum "Phosphorylation -	Muszyńska G.			x

	USA	Dephosphorylation of Plant Proteins"				
20-26.05.96	Zakopane	Workshop the "Structural Basis for the Phosphate Signaling"	Muszyńska G.			x
27-30.03.96	Munster, Niemcy	3rd European Conference on Fungal Genetics	Paszewski A., Piotrowska M., Natorff R.			
29.04-01.05.96	Smolenice, Słowacja	DNA Repair Network Workshop	Pietrzykowska I.	x	x	x
01-06.09.96	Wiedeń, Austria	12th International Congress in Photobiology	Pietrzykowska I.			
11-16.08.96	Jerusalem, Izrael	Xth International Congress of Virology	Sadowy E.			
11-24.05.96	Aussois, Francja	Joint EV Networks Meeting", "Nuclear - mitochondrial interactions in biogenesis and disease"	Stępień P.			
02-07.09.96	Rzym, Włochy	European Environmental Mutagenesis Meeting	Śledziwska-Gójska E.			
06-17.07.96	Toronto, Kanada	12th International Symposium on Plant Lipids	Świeżewska E.			
10-16.02.96	Taos, USA	Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology: Molecular Mechanisms in DNA replication and Recombination	Taylor K., Węgrzyn A.			
01-05.07.96	Salamanca, Hiszpania	EMBO Workshop on Macromolecular Interactions in Bacteriophages	Taylor K., Węgrzyn A.			
29.04-01.05.96	Smolenice, Słowacja	DNA Repair Network Workshop	Tudek B.			x
29.04-01.05.96	Smolenice, Słowacja	DNA Repair Network Workshop	Wójcik A.			
01-06.09.96	Wiedeń, Austria	12ty Międzynarodowy Kongres Fotobiologiczny	Zarebska Z.			
15-19.09.96	La Jolla - USA	XII International Roundtable "Nucleosides,	Kulikowski T.			

		Nucleotides and Their Biological Applications"			
01-07.09.96	Trest- Czechy	Xth Symposium on the Chemistry of Nucleic Acid Components	Kulikowski T.		x

Nagrody i wyróżnienia uzyskane poza IBB PAN

Nazwisko osoby nagrodzonej	Rodzaj nagrody/wyróżnienia		Dane o pracy nagrodzonej		
Bartnik Ewa	Nagroda Rektora Uniwersytetu Warszawskiego		za cykl publikacji w 1995r		
Bartnik Ewa	Nagroda Ministra Edukacji Narodowej		za książkę "Genetyka Molekularna"		
Błaszczak Adam, Liberek Krzysztof	Nagroda Wydziału Nauk Biologicznych PAN (nagroda zespołowa)		cykl prac wyjaśniających molekularny mechanizm autoregulacji ekspresji genów kodujących białka szoku termicznego.		
Jachymczyk Witold	Nagroda Ministra Edukacji Narodowej		za książkę "Genetyka Molekularna"		
Jerzmanowski Andrzej	Nagroda Rektora UW		za publikacje naukowe w 1996r.		
Jerzmanowski Andrzej	Nagroda Ministra Edukacji Narodowej		za książkę "Genetyka Molekularna"		
Magdalena Fikus	Nagroda Ministra Edukacji Narodowej		za książkę "Genetyka Molekularna"		
Nowicka Adrianna	Stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dla młodych naukowców		Interakcje między białkami mutasomu E.coli.		
Stępień Piotr	Nagroda Ministra Edukacji Narodowej		za książkę "Genetyka Molekularna"		
Stępień Piotr	Nagroda Rektora Uniwersytetu Warszawskiego		za cykl publikacji w 1995r		

Taylor Karol, Węgrzyn Alicja	Konkurs im. prof. W. Mozołowskiego na XXXII Zjeździe Polskiego Towarzystwa Biochemicznego w Krakowie	"Mechanizm rozpadu kompleksu replikacyjnego bakteriofaga lambda po szoku termicznym"
Węgleński Piotr	Nagroda Ministra Edukacji Narodowej	za książkę "Genetyka Molekularna"
Węgrzyn Alicja	Wyróżnienie Wydziału BGiO Uniwersytetu Gdańskiego	"Składanie, dziedziczenie i rozpad kompleksu replikacyjnego bakteriofaga lambda"
Zagórski-Ostoja Włodzimierz	Nagroda Ministra Edukacji Narodowej	za książkę "Genetyka Molekularna"

Dane o członkostwie z wyboru w organizacjach naukowych

Data wyboru	Nazwisko i imię	Nazwa organizacji
1996	Błaszczak Adam	Gdański Oddział Polskiego Towarzystwa Genetycznego
1996	Ceglowski Piotr	Komitet Biotechnologii przy Prezydium PAN
1996	Fikus Magdalena	Komitet Mikrobiologii PAN
1996	Fikus Magdalena	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN
1996	Fikus Magdalena	Komitet Biotechnologii przy Prezydium PAN
1995	Hulanicka Maria Danuta	Komitet Biotechnologii przy Prezydium PAN
1996	Hulanicka Maria Danuta	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN
1996	Jachymczyk Witold	Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Genetycznego
1996	Jerzmanowski Andrzej	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN
1996	Jerzmanowski Andrzej	Warszawskie Towarzystwo Naukowe

1996	Paszewski Andrzej	Polskie Towarzystwo Genetyczne.Przewodniczący Zarządu Głównego
1996	Paszewski Andrzej	Komisja Badań Podstawowych.Komitet Badań Naukowych
1996	Paszewski Andrzej	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN
1985	Pietrzykowska Irena	DNA European Repair Network
1996	Wierzchowski Kazimierz Lech	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN
1996	Wierzchowski Kazimierz Lech	Komitet Biotechnologii przy Prezydium PAN
1992	Zagórski Włodzimierz	Warszawskie Towarzystwo Naukowe
1993	Zagórski Włodzimierz	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN
1995	Zagórski Włodzimierz	European Society for Plant Molecular Biology

Członkostwo w Radach Naukowych innych placówek

Nazwisko i imię	Nazwa organizacji
Bartnik Ewa	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Bartnik Ewa	Zakład Genetyki Człowieka PAN
Buchowicz Jerzy	Ogród Botaniczny PAN
Chojnacki Tadeusz	Instytut Biologii Doświadczalnej PAN - Warszawa
Chojnacki Tadeusz	Ogród Botaniczny PAN - Powsin
Fikus Magdalena	Instytut Chemii Biorganicznej PAN w Poznaniu
Jerzmanowski Andrzej	Instytut Biologii Doświadczalnej PAN im.Nenckiego w Warszawie
Jerzmanowski Andrzej	Centrum Modelowania Matematycznego UW

Jerzmanowski Andrzej	Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej przy Instytucie UNESCO - PAN w Warszawie
Jerzmanowski Andrzej	Komisja d/s organizmów zmienionych genetycznie przy Ministerstwie Rolnictwa
Paszewski Andrzej	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
Paszewski Andrzej	Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w Łodzi
Paszewski Andrzej	Instytut Biologii Doświadczalnej PAN im. Nenckiego w Warszawie
Paszewski Andrzej	Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej PAN w Warszawie
Pietrzykowska Irena	Zakład Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
Shugar David	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
Wierzchowski Kazimierz Lech	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, v-przewodniczący
Wierzchowski Kazimierz Lech	Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Zagórski Włodzimierz	Komitet Naukowy Centrum Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin
Zagórski Włodzimierz	Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego

Udział w komitetach/radach redakcyjnych czasopism naukowych

Nazwisko i imię	Nazwa organizacji
Barszcz Daniela	"Acta Biochimica Polonica" - członek Komitetu Redakcyjnego
Chojnacki Tadeusz	"Cellular and Molecular Biology Letters" - członek Komitetu Redakcyjnego
Drabikowska Alicja K.	"Acta Biochimica Polonica" - członek Komitetu Redakcyjnego
Fikus Magdalena	"Biotechnologia" - przewodnicząca Rady programowej kwartalnika

Hulanicka Maria Danuta	"Acta Biochemica Polonica" - członek Rady Redakcyjnej
Jachymczyk Witold	"Postępy Biochemii" - członek Rady Redakcyjnej
Jerzmanowski Andrzej	"Postępy Biochemii" - redaktor
Jerzmanowski Andrzej	"Acta Biochemica Polonica" - członek Rady Redakcyjnej
Kleckowski Kazimierz	"Acta Physiologiae Plantarum" - członek Rady Redakcyjnej
Kuśmerek Jarosław	"Acta Biochemica Polonica" - członek Komitetu Redakcyjnego
Palamarczyk Grażyna	"Postępy Biochemii" - redaktor
Paszewski Andrzej	"Postępy Mikrobiologii" - członek Rady Redakcyjnej
Shugar David	"Anticancer Drug Design"; "Antiviral Chemistry and Chemotherapy"; "Nucleosides, Nucleotides"; "Pharmacology and Therapeutics"; "Acta Biochemica Polonica" - członek Rad redakcyjnych
Stępień Piotr	"Acta Biochemica Polonica" - członek Komitetu Redakcyjnego
Wierzchowski Kazimierz Lech	"Acta Biochemica Polonica" - członek Komitetu Redakcyjnego
Wierzchowski Kazimierz Lech	"KOSMOS" - redaktor naczelny
Wierzchowski Kazimierz Lech	"Biophysical Chemistry (Elsevier)" - członek Doradczego Komitetu Redakcyjnego
Zagórski-Ostoja Włodzimierz	"Acta Biochemica Polonica" - członek Rady Redakcyjnej

**INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**

**SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE
za 1996r.**

1

SPIS TREŚCI

do rozdziału "Sprawozdanie merytoryczne"

1. Synteza, badanie właściwości fizykochemicznych biologicznych analogów nukleozydów pirymidynowych, potencjalnych substratów /inhibitorów biosyntezy kwasów nukleinowych. prof. dr hab. Tadeusz Kulikowski	str. 1 - 2
2. Mechanizmy działania fotochemoterapii PUVA (psoralen +UV-A). doc. dr hab. Zofia Zarębska	str. 2 - 3
4.1 Badania konformacji peptydów wiążących wapń. doc. dr hab. Andrzej Bierzyński	str. 4
4.2 Transport elektronów między rodnikowymi centrami w modelowych peptydach i białkach. prof. dr hab. Kazimierz L. Wierzchowski	str. 5 - 6
4.3 Mechanizm inicjacji transkrypcji genów prokariotycznych. prof. dr hab. Kazimierz L. Wierzchowski	str. 6 - 7
4.4 Inhibitor proteaz serynowych z roślin dyniowatych. prof. dr hab. Magdalena Fikus	str. 8
4.5 Modelowanie struktury i funkcji białek. dr Piotr Zielenkiewicz	str. 8 - 10
4.6 Badanie wczesnych etapów zwijania białek. dr Michał Dadlez	str. 10 - 11
5. Regulacja ekspresji niektórych genów w rozwoju osobniczym owada. prof. dr hab. Zofia Lassota	str. 11 - 12
6. Sekwencjonowanie genomów wybranych szczepów wiroidów i wirusów roślinnych oraz ich detekcja. prof. dr hab. Włodzimierz Zagórski-Ostoj	str. 12 - 15
7. Cięcie i składanie genomu wiroida PSTV. prof. dr hab. Przemysław Szafrński-Szeliga	str. 16
8. Sekwencjonowanie genom drożdży i analiza sekwencyjna genomu drożdży. prof. dr hab. Włodzimierz Zagórski-Ostoj	str. 16 - 17
10. Udział chromosomowego i pozachromosomowego DNA w różnicowaniu komórek roślinnych. prof. dr hab. Jerzy Buchowicz	str. 17 - 18
12. Występowanie i rola lipidów terpenoidowych w tkankach roślinnych. Badania struktury i biosyntezy. prof. dr hab. Tadeusz Chojnacki	str. 18 - 20
13. Właściwości wybranych enzymów przemiany purynowej. prof. dr hab. Maria M. Jeżewska	str. 20
14. Izolacja i charakterystyka białek roślinnych uczestniczących w procesach fosforylacji. prof. dr hab. Grażyna Muszyńska	str. 21 - 22
16. Enzymy nukleolityczne roślin wyższych. prof. dr hab. Jan W. Szarkowski	str. 23 - 24

17. Kultury tkankowe i komórkowe ziemniaka - patogeny oraz transformacja roślin.	
doc. dr hab. Bernard Wielgat	str. 25 - 26
18. Molekularne regulacje syntezy glikokoniugatów w komórkach drożdży i niektórych grzybów nitkowatych (Trichoderma i Aspergillus).	
prof. dr hab. Grażyna Palamarczyk	str. 26 - 29
19. Mechanizmy adaptacji bakterii do zmian środowiska: rola produktów genowych dnaK i rcs w reakcjach na czynniki zachowujące się odmiennie wewnątrz i na zewnątrz organizmu zwierzęcego	
prof. dr hab. Tadeusz Kłopotowski	str. 29 - 30
20.1 Kontrola funkcji mitochondriów przez jądro komórkowe u drożdży <i>S.cerevisiae</i> .	
dr Magdalena Boguta	str. 30 - 33
20.2 Regulacja biosyntezy hemu i hemoproteidów w drożdżach <i>S.cerevisiae</i> .	
prof. dr hab. Joanna Rytka	str. 33 - 34
20.3 Genetyczna kontrola szlaków metabolizmu siarkowego u grzybów.	
prof. dr hab. Andrzej Paszewski	str. 34 - 35
20.4 Rola polymeraz DNA w procesach naprawy DNA u drożdży.	
prof. dr hab. Witold Jachymczyk	str. 36 - 38
21. Regulacja metabolizmu siarczanego u prokariotów.	
prof. dr hab. Danuta Hulanicka	str. 38 - 39
22. Regulacja ekspresji genomu wirusa liściozwoju.	
prof. dr hab. Danuta Hulanicka	str. 39 - 41
23. Efekty pól elektrycznych na żywe komórki.	
prof. dr hab. Magdalena Fikus	str. 41
24. Mutageneza, naprawa i ekspresja DNA.	
prof. dr hab. Celina Janion	str. 42 - 43
25. Regulacja wierności replikacji DNA w komórkach bakteryjnych i komórkach drożdży.	
prof. dr hab. Zygmunt Cieśla, dr Iwona Fijałkowska	str. 43 - 46
26. Mechanizmy mutagenezy indukowanej przez promienie UV.	
prof. dr hab. Irena Pietrzykowska	str. 46 - 47
27. Analiza funkcjonalna genów plazmidu bakterii Gram dodatnich pSM19035.	
dr Piotr Ceglowski	str. 47 - 49
28. Chemiczne podstawy mutagenezy i reperacja adduktów cyklicznych.	
doc. dr hab. Jarosław Kuśmerek	str. 49 - 50
29. Analiza molekularna genów kodujących enzymy katabolizmu argininy u <i>Aspergillus</i> .	
prof. dr hab. Piotr Węgleński	str. 50 - 51
30. Analiza mutantów typu <i>suV3</i> u <i>S.cerevisiae</i> .	
doc. dr hab. Piotr P. Stępień	str. 51
32.1 Składanie, dziedziczenie i rozpad kompleksu replikacyjnego bakteriofaga lambda.	
mgr Alicja Węgrzyn	str. 51 - 53

32.2 Udział białek szoku termicznego w modulacji aktywności DNA zależnej polimerazy RNA z bakterii Escherichia coli.

prof. dr hab. Maciej Żylicz str. 54 - 55

Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów

prof. dr hab. Włodzimierz Zagórski-Ostoj str. 55 - 56

Środowiskowe Laboratorium NMR

doc. dr hab. Andrzej Bierzyński str. 56 - 57

Szkoła Biologii Molekularnej (31.)

prof. dr hab. Grażyna Palamarczyk str. 58 - 61

Polsko-Francuskie Centrum Biotechnologii Roślin

prof. dr hab. Stanisław Lewak str. 61 - 65

Wykaz ogólnoinstytutowych seminariów naukowych str. 66 - 72

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

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

Kontynuowano badania nad 5-podstawionymi i tionowanymi analogami dUMP - inhibitorami syntazy tymidylanowej (TS) i potencjalnymi środkami przeciwnowotworowymi. Poprzednio wykazano, że proton usytuowany w pozycji N(3) analogów dUMP jest istotny w wiązaniu tych analogów z TS oraz, że podstawienie siarką tlenów karbonylowych w pozycji 2 i/lub 4 pierścienia pirymidynowego tych analogów obniża pK_a dysocjacji wymienionego protonu. W celu zbadania wpływu takiego podstawienia na wiązanie się analogów dUMP z TS oraz na cytotoksyczność w stosunku do komórek białaczkowych syntetyzowano nową metodą (hydroksymetylowanie pozycji C-5 w łagodnych warunkach) 5-hydroksymetylo-2'-deoksyurydynę, jej 2-tiopochodną oraz ich 5'-mono-fosforany (wysokie selektywna fosforylacja fosfotransferazą z siewek pszenicy). Zbadano cytotoksyczność otrzymanych analogów nukleozydowych w stosunku do komórek białaczki L5178Y oraz fibroblastów 3T3. Zbadano również właściwości inhibitorowe wykazywane przez 5'-monofosforany wymienionych analogów nukleozydowych w stosunku do TS izolowanej z białaczki L1210. Analogi nukleozydowe wykazywały zbliżone właściwości cytotoksyczne (CD_{50} odpowiednio 1,2 μM i 6,5 μM), a ich 5'-monofosforany zbliżone właściwości inhibitorowe w stosunku do TS (IC_{50} odpowiednio 3,7 μM i 8,2 μM) (współpraca z Instytutem Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego w Warszawie).

Kontynuowano także badania ostatnio odkrytych przez nas inhibitorów replikacji retrowirusa HIV - tionowanych 2',3'-dideoksy-3'-fluorouracydyn oraz ich 5'-monofosforanów. Zbadano aktywność przeciwwirusową tych związków w komórkach CEM w stosunku do szczepu HIV-1 (cat#3) indukującego powstawanie syncytiów a wyizolowanego w laboratorium Centrum Diagnostyki i Terapii AIDS w Warszawie. Dwa związki z tej serii (2',3'-dideoksy-3'-fluoro-2'-tiotymidyna i jej 5'-monofosforan) okazały się obiecującymi inhibitorami HIV-1 o efektywności zbliżonej do standartowego leku AZT (współpraca z Centrum Diagnostyki i Terapii AIDS w Warszawie). Wyizolowano i częściowo oczyszczono fosforylazę urydynową z cytoplazmatycznego ekstraktu tasiemca (*Hymenolepis diminuta*). Wykazano, że enzym ten jest jedyną fosforylazą nukleozydów pirymidynowych rozszczepiającą wiązanie

glikozydowe zarówno rybo- jak i 2'-deoksyrybonukleozydów. Obecność tego enzymu wskazuje na aktywne wykorzystanie głównie urydyny w procesie odzyskiwania, a nie biosyntezy *de novo* i jest przypuszczalnie głównym źródłem zasad i nukleozydów potrzebnych do syntezy kwasów nukleinowych u szybko namnażającego się pasożyta. Zbadano kinetykę zarówno syntezy urydyny z uracylu i 1-P-rybozy jak i jej fosforolitycznego rozszczepienia do uracylu i 1-P-rybozy wykazując, że mechanizm tych reakcji jest sekwencyjny. Wyznaczono stałe inhibitorowe (K_i) dla kilku znanych, efektywnych inhibitorów fosforylasy urydynowej, takich jak 2,2'-anhydro-5-etylourydyna i 1-(1,3-dihydroksy-2-propoksymetylo)-5-benzylouracyl, oraz dla nowo syntetyzowanej przez nas 2,3'-anhydro-5-etylourydyny (K_i odpowiednio 0,07 μ M; 0,07 μ M i 14 μ M). Takie same wartości K_i wyznaczone dla fosforylasy urydynowej z *Hymenolepis diminuta* i ze śluzówki jelita szczura wskazują na duże podobieństwo miejsc wiązania się tych inhibitorów na enzymie gospodarza i pasożyta.

Projekty badawcze KBN

„Synteza, badanie struktury i konformacji nowych przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych i przeciwpasożytniczych nukleozydów i nukleotydów oraz badanie metodami spektroskopowymi ich oddziaływań z syntazą tymidynową”.

Współpraca z zagranicą

Rega Institute for Medical Research, Katholieke Universitet Leuven, Belgia.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykrycie b. wysokiej (rzędu AZT) aktywności przeciwwirusowej u 2',3'-dideoksy-3'-fluoro-2-tiotymidyny i jej 5'-monofosforanu w stosunku do szczepu HIV-1 (cat#3) indukującego powstawanie syncytiów w komórkach CEM.

PUBLIKACJE: 3098, 3112, +3113, 3114, 3118, 3137, 3138, 3139, 3142, 3150, 974/A.

Temat 2: Mechanizmy działania fotochemoterapii PUVA (psoralen + UVA).

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

Od kilku lat zespół zajmuje się wyjaśnianiem mechanizmu leczniczego działania psoralenów. Psoraleny w połączeniu ze światłem ultrafioletowym (PUVA) stosuje się w leczeniu chorób skórnych z objawami hyperprolifracji (np. łuszczyca) lub hypopigmentacji (np. bielactwo) naskórka. Ostatnio, pozaustrojowa odmiana terapii PUVA zw. fotoferezą znalazła zastosowanie w leczeniu zaburzeń układu immunologicznego, m.in. do zmniejszenia

objawów odrzutu przeszczepu towarzyszących zabiegom transplantacji. Ogólnie uważa się, że nośnikiem przemian, prowadzących do immunosupresji, jest błona **limfocytów** krążących w krwi obwodowej.

Nasze badania skupiły się nad charakterystyką fotoproduktów powstających w fosfolipidach błonowych. Zbadano kinetykę powstawania adduktów kwas oleinowy - psoralen ($d1 \rightleftharpoons PSO$) w lecytynie PCd1pal (1-palmitynian-2-oleinian-fosfatydylocholina). Fotoprodukty powstałe po naświetleniu dawkami fizjologicznymi rozdzielano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej TLC60 oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) w fazie odwróconej. Lecyтынę-PSO poddano hydrolizie kwaśnej i enzymatycznej z udziałem fosfolipazy PLA2 - uwolnione w ten sposób addukty kwasowe porównywano z adduktami otrzymanymi uprzednio przy naświetlaniu wolnych kwasów. Porównanie profili HPLC wskazuje na to, że w lecytynach powstają **cykloaddukty** (cztery izomery), podobne do tych uzyskanych przy naświetlaniu wolnego kwasu. Jeden z izomerów adduktów PC($d1 \rightleftharpoons PSO$)pal scharakteryzowano na podstawie widm NMR oraz spektrometrii masowej.

Powstawanie fotoadduktów śledzono w środowisku hydrofobowym - w roztworach etanolowych oraz w środowisku hydrofilnym - w micelach wodnych. Stwierdzono, że w micelach wodnych (PBS-m) powstaje inny typ adduktów psoralenowych, prawdopodobnie z przyłączeniem cząsteczki wody. Struktura nowego typu adduktu jest w trakcie identyfikacji. Badania powyższe wskazują na zmianę reaktywności psoralenów wobec lipidów w zależności od hydrofobowości środowiska.

Współpraca z zagranicą

Centrum Badań Produktów Biologicznie Aktywnych C.N.R. przy Wydziale Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Padewskiego, Włochy.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazano, że cztery izomery cyklobutanowe **kwas oleinowy** $\rightleftharpoons$ **psoralen** powstają zarówno w lecytynach jak i w wolnym kwasie tłuszczowym. Zbadano kinetykę powstawania w środowisku micelnym jednego z izomerów adduktu, **PC($d1 \rightleftharpoons PSO$)pal**.

PUBLIKACJE: + 3119, 806/A, 880/A, 896/A, 908/A

Temat 4.1: Badania konformacji peptydów wiążących wapń.

Zespół: doc. dr hab. Andrzej Bierzyński, dr Grażyna Goch, mgr Hanna Kozłowska, mgr Elżbieta Soszyńska, mgr Nadieżda Sabaneeva, Monika Siedlecka (magistrantka).

Kontynuowano badania konformacji peptydu o sekwencji:

1 3 5 7 9 11 13 15
Ac-Asp-Lys-Asp-Gly-Asp-Gly-Tyr-Ile-Ser-Ala-Ala-Glu-Ala-Ala-Ala-Gln-NH₂

wysyczonego jonami La^{3+} koordynowanego przez reszty aminokwasowe 1-12. Pomiar szybkości wymiany protonów amidowych metodą NMR oraz pomiary przesunięć chemicznych sygnałów Ha i Ca a także stałych sprzężenia $^3J(\text{HNCHa})$ potwierdziły obserwowaną uprzednio konformację helikalną C-terminalnego segmentu peptydu (reszty 10-16). Porównanie widm CD zmierzonych w wodzie i w 75% trójfluoroetanolu świadczy, że utworzona helisa jest bardzo trwała i jej populacja, nawet w 50°C jest bliska 100%.

Drogą mutacji punktowych genu podjednostki a białka S100A1 uzyskano plazmidy pAED4 zawierające geny mutantów Glu32→Gln i Glu73→Gln i uzyskano wysoką ekspresję (ok. 15mg/l) zmutowanych białek w *E.coli*. Wykazano, że odpowiednio N- i C-terminalne pętle wapniowe mutantów utraciły zdolność wiązania jonów metali Ca^{2+} i Ln^{3+} . Mutanty te zostaną wykorzystane w badaniach struktury białka S100A1 i mechanizmu wiązania jonów metali przez to białko.

Ponadto kontynuowano badania struktury białka S100A1 metodami modelowania teoretycznego.

Współpraca z zagranicą

The Scripps Research Institute, USA. Universitat Bayreuth, LS Biopolymere, RFN.

Najważniejszy wynik badawczy

Stwierdzenie niespodziewanie wysokiej stabilności helisy a w bardzo krótkim odcinku peptydowym. Jest to sprzeczne z dotychczasową wiedzą na temat powstawania helis i otwiera nowe perspektywy badawcze.

PUBLIKACJE: 3096, 3124, 3170, 970/A, 971/A, 903/A, 55/N, 2

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

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

Kontynuowano badania nad identyfikacją centrów redoks Trp/Tyr i dróg wewnątrzcząsteczkowego przenoszenia elektronu w modelowym białku - lizozymie białka jaja kury-uczestniczących w doświadczalnie obserwowanej przemianie rodnikowej $\text{Trp}^{\bullet} \rightarrow \text{Tyr}^{\bullet}$. W tym celu przeprowadzono obliczenia wielkości sprzężenia elektronowego, T_{DA} , między wszystkimi możliwymi parami Trp/Tyr utworzonymi z występujących w tym białku resztami Trp:28, 62, 63, 108, 111 oraz Tyr: 20, 23, 53. Obliczenia wykonano przy pomocy programu PATHWAYS (D.Beratan) i danych współrzędnych atomowych dla krystalicznego lizozymu (PDB). Wykazały one, że reszty Tyr53 i Tyr20 mogą tworzyć pary redoks o największej wartości T_{DA} z resztami Trp62, Trp63 i Trp123, których udział w reakcji: $\text{Trp}^{\bullet} + \text{Tyr} \rightarrow \text{Trp} + \text{Tyr}^{\bullet}$ ustalono na podstawie pomiarów jej wydajności radiacyjnej metodą impulsowej radiolizy w lizozymie: (i) natywnym, (ii) z selektywnie utlenionym do pochodnej kynureniny łańcuchem indolylowym Trp62 oraz (iii) skompleksowanym z inhibitorem - trichitotriozą, uniemożliwiającym utlenienie reszt Trp62 i Trp63 do stanu rodnikowego ($\text{Trp}^{\bullet}$). Tworzą one pary: Trp62/Tyr53, Trp63/Tyr53 i Trp123/Tyr20 o zbliżonej wartości $(T_{DA})^2$, proporcjonalnej do szybkości reakcji przeniesienia elektronu. Doświadczalne dane dla kinetyki badanej reakcji w natywnym lizozymie wskazują również na to, że w reakcji uczestniczy kilka par redoks o podobnej stałej szybkości. Pomiary kinetyki reakcji w funkcji temperatury i stanu protonacji lizozymu wykazały, że jej szybkość jest kontrolowana konformacyjnie, podobnie jak proces wymiany H/D w globularnych białkach. Wobec tego metodą molekularnej dynamiki przeprowadzono badania czasowej zależności wartości parameteru $(T_{DA})^2$ dla wytypowanych dróg przenoszenia elektronu w lizozymie, obejmujących jeden lub więcej przeskoków elektronu „przez przestrzeń”, tj. między kontaktującymi się atomami odległymi od siebie wzdłuż łańcucha peptydowego. Okazało się, że parametr ten może osiągać chwilowe wartości wielokrotnie wyższe od wartości średniej przy czym jego zmienność jest proporcjonalna do kwadratu liczby takich przeskoków wzdłuż danej drogi. Wskazuje to na konieczność uwzględniania w obliczeniach T_{DA} w cząsteczkach białek dynamiki ich budowy.

Współpraca z zagranicą

Department of Environmental Sciences, Risø National Laboratory, Dania.

Najważniejszy wynik badawczy

Identyfikacja w modelowym białku (lizozym) rodnikowych centrów redoks Trp^{*}/Tyr i dróg dalekozasięgowego przeniesienia między nimi elektronu.

PUBLIKACJE: 1, 3105⁺, 3156⁺, 966/A⁺.

Temat 4.3 Mechanizm inicjacji transkrypcji genów prokariotycznych.

Zespół: prof. Kazimierz L. Wierzchowski, dr Wiesław J. Smagowicz, dr Tomasz Łoziński, dr Krystyna Bolewska, mgr Iwona Kolasa, Teresa Rak

a) Opracowano ilościową metodę określania stopnia utlenienia reszt tyminy przez KMnO₄ w obszarze jednoniciowej domeny DNA promotora w otwartym kompleksie transkrypcyjnym *in vitro* w funkcji stężenia MgCl₂. Przy jej pomocy wykazano, że wiązanie jonów Mg²⁺ przez otwarty kompleks RP_O1, indukujące jego izomeryzację do kompetentnej transkrypcyjnie formy RP_O2, można opisać przy pomocy modelu zakładającego występowanie N równocennych miejsc wiążących o zbliżonej wartości stałej dysocjacji K_d. Wyznaczono wartość tej stałej dla kompleksów utworzonych przez polimerazę RNA *E. coli* na szeregu syntetycznych promotorach zawierających różnie położone zaginające oś DNA sekwencje A_n.T_n. Okazała się ona niezależna od budowy promotora w granicach doświadczalnego błędu: K_d ≈ 3 × 10⁻³ M, i o rząd wielkości większa od stałej dysocjacji Mg²⁺ związanego w centrum katalitycznym kompleksu. Indukujące izomeryzację RP_O1 ⇌ RP_O2 jony Mg²⁺ należą zatem do innej grupy, 6 kationów wiązanych przez kompleks i charakteryzujących się tego samego rzędu stałą równowagi wiązania do kompleksu transkrypcyjnego. Przygotowano do publikacji pracę dotyczącą topologii i stechiometrii wiązania Mg²⁺ do otwartego kompleksu transkrypcyjnego w obszarze domeny jednoniciowego DNA.

b) Zbadano wpływ obecności zaginających oś heliksu DNA sekwencji A_n.T_n w rejonie -35 promotora na proces powstawanie otwartego kompleksu transkrypcyjnego mierząc kinetykę abortywnej transkrypcji *in vitro* dla grupy syntetycznych promotorów (**a**, **g**, **m**) w funkcji stężenia polimerazy RNA *E. coli* metodą fluorymetryczną (γ-ANS -UTP jako jeden ze substratów). Wyznaczono na tej podstawie stałą równowagi powstawania zamkniętego kompleksu transkrypcyjnego, K_B, oraz stałą szybkości jego izomeryzacji, k_f, do kompleksu otwartego RP_O2 przy odpowiednio wysokim stężeniu jonów Mg²⁺. Względna moc *in vitro*

badanych promotorów, wyrażona iloczynem: $K_B \times k_f$, okazała się bardzo bliska ich względnej mocy *in vivo*. Analiza wartości wyznaczonych termodynamicznych i kinetycznych parametrów wykazała, że zastąpienie sekwencji TTATT(-34...-38) w kontrolnym promotorze **a** ciągiem T₅A₅ zaginającym oś DNA prowadzi do obniżenia mocy promotora (**g**) w wyniku zmniejszenia zarówno wartości stałej równowagi K_B (o ok. 50%) jak i stałej szybkości k_f (o współczynnik 2). Natomiast moc promotora **m**, zawierającego w tym samym rejonie ciąg T₈A₈ (-34...-41), okazała się obniżona w znacznie mniejszym stopniu i to tylko w wyniku niższej wartości K_B w stosunku do promotora kontrolnego. Tak więc pojedyncza punktowa mutacja A->T(-36), wywołująca zagięcie osi promotora w rejonie -35, zmniejsza specyficzność rozpoznawania promotora przez podjednostkę σ^{70} polimerazy RNA i utrudnia poważnie proces izomeryzacji kompleksu zamkniętego do kompleksu otwartego.

c) Podjęto prace nad otrzymaniem domeny HTH podjednostki σ^{70} polimerazy *E. coli*, odpowiedzialnej za specyficzne rozpoznawanie rejonu -35 promotora. W tym celu z dzikiego genu na na plazmidzie pHTT7f1-sigma wycięto fragment DNA *Xho*I...*Hind*III, kodujący 86 amonikwasową domenę σ^{70} . Fragment ten połączono z syntetycznym linkerem wprowadzającym 6 dodatkowych reszt His na N-końcu peptydu (dla oczyszczania rekombinacyjnego białka na złożu niklowym). Otrzymany w ten sposób fragment wklonowano do ekspresyjnego wektora pAED4 i transformowano do komórek *E. coli* DH5- α .

Trwają prace nad analizą otrzymanych transformantów.

Projekty badawcze KBN

„Związek między budową i aktywnością nieregulowanego promotora bakteryjnego w procesie inicjacji transkrypcji u *E. coli*” kierownik - prof. K.L. Wierzchowski

Najważniejszy wynik badawczy

Wyznaczenie stałej dysocjacji dla kationów magnezu specyficznie związanych w jednoniciowej domenie otwartego kompleksu transkrypcyjnego i warunkujących aktywność polimerazy RNA *E. coli*.

PUBLIKACJE: 3111.

Temat 4.4: Inhibitor proteaz serynowych z roślin dyniowatych.

Zespół: prof. dr hab Magdalena Fikus , dr Bożenna Rempoła*, dr Jolanta Topczewska, (*od kwietnia 1996 na stażu podoktorskim w Centre De Genetique Moleculaire, CNRS, Gif-sur-Yvette, Francja)

Skonstruowano syntetyczny gen, analog występującego w przyrodzie genu inhibitora trypsyny z roślin dyniowatych, CPTI II. Nowy, syntetyczny gen CPCI ma w obszarze miejsca reaktywnego fragment sekwencji występującej w regionie miejsca reaktywnego trzeciej domeny owomukoidu indyka, podczas gdy reszta genu, kodująca C-koniec inhibitora, pochodzi z genu kodującego CPTI II. Gen wprowadzono po połączeniu z odpowiednimi wektorami (pUC18 i pYET) do *E. coli*, a jego sekwencja potwierdzono.

Rozpoczęto prace zmierzające do opracowania układu ekspresji białek eukariotycznych w metylotropowych drożdżach *Pichia pastoris*.

PUBLIKACJE: 3110, 3117, 3145, 38/N, 40/N, 53/N

Temat 4.5: Modelowanie struktury i funkcji białek.

Zespół: dr Piotr Zielenkiewicz, dr Danuta Płochocka, mgr Andrzej Kierzek, mgr Siergiej Gavriuszow

TEORETYCZNE BADANIA MECHANIZMÓW KRYSTALIZACJI BIAŁEK.

Zbudowano komputerowy model umożliwiający badanie nukleacji oraz wczesnych stadiów wzrostu kryształów modelowego białka. Roztwór białka został przedstawiony jako trójwymiarowa siatka, której węzły są zajmowane przez punkty reprezentujące cząsteczki białka. Położenia sąsiednich węzłów wokół dowolnego węzła siatki odzwierciedlają położenia cząsteczek otaczających dowolną cząsteczkę białka w kryształach. Dyfuzja cząsteczek białka w roztworze jest modelowana jako losowe przemieszczanie punktów w siatce. Gdy punkty w siatce tworzą kompleks energia każdej cząsteczki jest obliczana jako różnica entropowego kosztu agregacji i energii oddziaływań z innymi cząsteczkami. Energie oddziaływań są wyznaczane na podstawie analizy środowiska cząsteczki białka w kryształach przy pomocy metod przeznaczonych do obliczania energii swobodnych agregacji kompleksów białek. Podczas symulacji oddziaływania były obliczane tylko pomiędzy punktami, które miały tę samą wartość zmiennej reprezentującej orientację cząsteczki w przestrzeni. Parametr ten modeluje anizotropię cząsteczek białek. Jako modelowego białka użyto lizozymu. Jako test modelu

wykonano symulacje zachowania się stopnia na ścianie (1,1,0) tetragonalnej formy kryształu tego białka. Wyniki były zgodne z obserwacjami wykonanymi przy pomocy mikroskopii elektronowej. Model zastosowano do badania nukleacji i wczesnych faz wzrostu tetragonalnego kryształu lizozymu. Zgodnie z wynikami symulacji najmniejszym stabilnym zarodkiem kryształu jest tetramer. Struktura powierzchni tego kompleksu uniemożliwia jego wzrost przez przyłączanie się pojedynczych cząsteczek. Z tego względu tetragonalny kryształ lizozymu rośnie przez łączenie się zarodków (tetramerów) w większe kompleksy a nie przez niezależny wzrost zarodków.

PRZESTRZENNY MODEL WIRUSOWEGO BIAŁKA VPg.

Opracowany wcześniej model białka VPg został zweryfikowany w ten sposób, że jego sekwencję zrandomizowano przy pomocy programu SHUFFLE pakietu GCG ver. 8.1. W wyniku przeprowadzonego modelowania otrzymano wyższą różnicę (r.m.s. 4.38 Å) z białkiem stanowiącym podstawę modelowania (dehydrogenaza jabłczanowa -MDH) niż dla białka VPg. Ponadto otrzymany ze zrandomizowanej sekwencji model zawiera znacznie mniej fragmentów struktury drugorzędowej (tylko jeden alpha heliks 116-118) niż VPg i MDH. Taki peptyd nie stwarza możliwości utworzenia wiązania między RNA i Tyr-64, jak również rozkład dodatnio naładowanych reszt na powierzchni jest niekorzystny dla oddziaływania z RNA. Ponadto, otrzymany model zweryfikowano przy użyciu metod: (i) profili 3D; (ii) "topologicznego odcisku palca"; (iii) sprawdzenia geometrii i otoczeń poszczególnych reszt. Otrzymane wyniki potwierdziły zgodność modelu ze znanymi zasadami budowy białek globularnych.

ODDZIAŁYWANIA MAKROcząSTECZEK Z ROZTWORAMI ELEKTROLITÓW.

Przeprowadzono obliczenia potencjału elektrostatycznego i rozkładu jonów dla układu DNA - roztwór elektrolitu przy użyciu formalizmu BBGY (Bogolyubow-Born-Green-Yvon) z uwzględnieniem nieciągłości dielektrycznych. Otrzymane wyniki porównano z klasycznymi obliczeniami Poissona- Boltzmana. Pokazano, że uwzględnienie korelacji pomiędzy jonami i nieciągłości dielektrycznych jest niezbędne dla właściwego opisu oddziaływań DNA z roztworami elektrolitów dwuwartościowych. Opracowany algorytm umożliwia wiarygodne obliczenia rozkładu jonów wokół makrocząsteczek o dowolnym kształcie dla niskich stężeń elektrolitu.

Współpraca z zagranicą

Institut für Kristallographie, Freie Universität, Berlin.

Najważniejszy wynik badawczy

Opracowanie algorytmów pozwalających na symulację tworzenia i wzrostu fazy uporządkowanej w przesyconych roztworach białek.

PUBLIKACJE:3153

Temat 4.6: Badanie wczesnych etapów związania białek.

Zespół: dr Michał Dadlez, mgr Konrad Zdanowski, mgr Zofia Podgórska

Zakończono pracę nad dwoma projektami dotyczącymi tworzenia szybkiej ścieżki związania we wczesnych stadiach związania BPTI. W ramach pierwszego projektu uzupełniono serię 24 mutantów o dodatkowe sześć mutantów (I18I19A, R20A, F33V34Y35A, I18I19F33V34Y35A, Y21F22Y23F33V34Y35A i A30V) wykonanych drogą mutagenazy kierowanej oligonukleotydem i nadekspresji w *E. coli*. Przeprowadzono pomiary kinetyki tworzenia mostka dwusiarczkowego w tych mutantach. Ustalono, że hydrofobowe aminokwasy przyspieszają tworzenie natywnej struktury w BPTI. Zebrane dane zostały przedstawione w publikacji przyjętej do druku w *Biochemistry*. Drugi projekt, obejmujący badania resztkowej struktury rozwiniętego BPTI przez pomiary stałej asocjacji z trypsyną, był prowadzony w kooperacji z zespołem prof. Jacka Otlewskiego. Ustalono, że stałe asocjacji korelują z zawartością resztkowej struktury. Wyniki podsumowano w pracy: Krokoszyńska, I., Dadlez, M., Otlewski, J. „Conformation of single disulfide variants of BPTI as probed by their binding to bovine trypsin”, która została wysłana do druku w *European Journal of Biochemistry*.

Prowadzono również badania struktury rozwiniętego BPTI metodami transferu fluorescencji, w kooperacji z zespołem prof. Elishy Haasa. Uzyskano selektywne przyłączanie różnego rodzaju donorów i akceptorów fluorescencji do cystein w wariantach BPTI i przeprowadzono wstępne pomiary transferu energii fluorescencji.

Przeprowadzono także doświadczenia pilotowe do projektu zastosowania bibliotek białkowych na fagu M13 do badań związania białek. Otrzymano fagemid, który umożliwia ekspozycję BPTI na białku cIII faga M13 i opracowano metodę selekcji sprawnie związających się wariantów z puli białek o częściowo losowej sekwencji. Projekt ten stanie się podstawą wniosku o subwencję KBN.

Współpraca z zagranicą

Uniwersytet Bar-Ilan, Izrael;

Najważniejszy wynik badawczy

Opracowanie nowej metody preparatywnego zwijania wariantów inhibitora trypsyny (BPTI) w warunkach *in vitro*.

PUBLIKACJE: 3170,4

5. Regulacja ekspresji niektórych genów w rozwoju osobniczym owada.

REGULACJA EKSPRESJI NIEKTÓRYCH GENÓW W ROZWOJU OSOBNICZYM OWADA.

Zespół: prof. Z. Lassota, dr hab. Joanna Michalik, dr Ewa Szołajska

Kontynuowano projekt dotyczący otrzymania rekombinanta AcMNPV, celem jego zastosowania jako pestycydu; niską ekspresję poneratoksyny w tradycyjnym systemie ekspresyjnym bakulowirusa usprawniono wprowadzając zmodyfikowany system ekspresyjny Bac to Bac, w którym uzyskano syntezę poneratoksyny i opisano kinetykę tej syntezy.

Prowadzono prace nad znalezieniem warunków do namnażania bakulowirusa białki wierzbówki SsMNPV w warunkach laboratoryjnych (u zastępczego gospodarza) jak również nad znalezieniem owadziej linii komórkowej umożliwiającej powtarzalne pasażowanie czystych linii wirusa, mogących służyć do dalszej analizy genomu SsMNPV.

Przygotowano konstrukcję DNA do syntezy białka Vpg, białka wirusa ziemniaczego Y, związanego z genomowym RNA. Ekspresja będzie prowadzona w systemie Bac to Bac.

Zmiany profilu białek mózgu *Galleria mellonella* związane z rozwojem tego owada w temperaturze suboptymalnej opisane zostały w pracy magisterskiej studentki UW. Pracę wykonaną w Zakładzie Biosyntezy Białka IBB przyjęto z wyróżnieniem.

Zespół bierze również udział w grantie Centrum Polsko-Francuskiego Biotechnologii Roślin „Application of Baculovirus for Control a Forest Pest Population”

Współpraca z zagranicą

NATO Linkage Grant: Introduction of the Baculovirus Expression System to Poland

Najważniejszy wynik badawczy

Synteza poneraksyny w systemie ekspresyjnym Bac-to-Bac.

PUBLIKACJE: 931/A, 951/A, 52/N

ROLA HORMONÓW W EKSPRESJI GENÓW U *GALLERIA MELLONELLA*.

Zespół: prof. Z. Lassota, dr hab. Krystyna Grzelak, dr Barbara Kłudkiewicz, techn. Krystyna Gocman

Kontynuowano badania nad wpływem stresu temperaturowego na syntezę grupy białek o c.c. od 74 do 82 kDa. Wykazano, że w ciecie tłuszczowym larw poddanych działaniu niskiej temperatury synteza białek o c.c. 74 i 76 kDa znacznie wyprzedza syntezę białka/białek o c.c. 81/82 kDa.

Wyniki naszych badań wskazują również, że ekdysteroidy (hormony steroidowe owadów) są negatywnym regulatorem ekspresji genów kodujących te białka u poddanych stresowi chłodzenia larw *Galleria*.

Projekty badawcze KBN

„Ekspresja białkowych składników funkcjonalnego receptora ekdysteroidowego w komórkach bakteryjnych i drożdżowych”; kierownik - K. Grzelak

Najważniejszy wynik badawczy

Ekspresja genów kodujących białka „zimnego” stresu temperaturowego u *Galleria* podlega kontroli hormonalnej.

PUBLIKACJE: 920/A, 969/A, 54/N

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

Zespół: prof. W. Zagórski, mgr Anna Chachulska, mgr Anna Góra-Sochacka, Anna Lipska, mgr Jerzy Pawłowicz, techn. Iwona Rosa, dr Janusz Stańczak, techn. Elżbieta Nowak

Prace nad sekwencjonowaniem regionu 3' terminalnego genomu wirusa PVY (genu białka płaszcza i regionu niekodującego 3') doprowadziły do uzyskania sekwencji trzech izolatów polskich - PVY^N-Ny, PVY^O-LW i PVY^N-Wi. Analiza sekwencji pozwoliła na rozwinięcie klasyfikacji molekularnej izolatów, pokrywającej się z klasyfikacją uzyskaną na podstawie sekwencji 5' końca genomu, na znalezienie prawdopodobnych epitopów specyficznych dla grup izolatów oraz na sformułowanie hipotezy, że determinanty nekrozy tytoniu znajdują się przypuszczalnie poza 3' i 5' terminalnymi sekwencjami genomu PVY.

Badania te zakończono przygotowaniem publikacji "Tobacco vein necrosis determinants are unlikely to be located within the 5' and 3' terminal sequences of the potato virus Y genome."

Prowadzono również badania infekcyjności i polimorfizmu pełnych kopii cDNA genomu trzech izolatów PVY oraz nad transformacją roślin tytoniu (odmian SR1 i Xanthi) i ziemniaka (odmiany Irga) w kierunku odporności na PVY. Wprowadzano do genomu roślin gen polimerazy RNA PVY i cDNA regionów niekodujących (NTR), uzyskując odporne linie tytoniu, zawierające niekompletny gen polimerazy PVY.

Zakończono badania genetycznej stabilności sześciu wariantów sekwencyjnych wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd): M, I2, I3, I4, S23, S27. Otrzymane wyniki zostały przedstawione w publikacji: "The genetic stability of potato spindle tuber viroid molecular variants", która została zaakceptowana do druku. Przeprowadziliśmy analizę komputerową struktur drugorzędowych RNA PSTVd i określiliśmy wpływ mutacji zlokalizowanych w domenie patogenności (P) wiroida na stabilność termodynamiczną tego regionu. Analizę zakończono napisaniem publikacji: "Structure of the pathogenicity domain and disease symptoms induced by potato spindle tuber viroid (PSTVd)." Praca została wysłana do Bulletin of the Polish Academy of Sciences.

Rozpoczęto prace w kierunku otrzymania roślin odpornych na infekcje PSTVd, jak dotąd bowiem nie stwierdzono naturalnej odporności na zakażenie tym patogenem. Wybrane fragmenty genomowego cDNA PSTVd sklonowano w wektorze pKYLX 71-35S² pod promotorem genu 35S wirusa mozaiki kalafiora (CaMV) w orientacji (+) i (-). Otrzymane plazmidy wprowadzono do *Agrobacterium tumefaciens* metodą elektroporacji i użyto do transformacji roślin ziemniaka odmiany Irga oraz Bintie.

WYKORZYSTANIE KOMÓREK JEDNOJĄDRZASTYCH (MONONUKLEARÓW) KRWI OBWODOWEJ W DIAGNOSTYCE ZAKAŻEŃ HCV I MONITOROWANIU SKUTECZNOŚCI LECZENIA INTERFERONEM.

Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) jest ostatnim, opisanym wirusem wywołującym wirusowe zapalenie wątroby. Diagnostyka genetyczna polega na wykryciu genomowego RNA w reakcjach RT PCR, często połączona jest z oznaczeniem typu genetycznego metodą odwrotnej hybrydyzacji z genotypowo swoistymi sondami. Najczęstszym badanym materiałem jest surowica; w uzasadnionych przypadkach (np. kwalifikowanie do leczenia) dokonuje się biopsji wątroby. Ten materiał jest uważany za bardziej wiarygodny w poszukiwaniu RNA HCV. Są spotykane przypadki, gdy ilość wirusów w obu tych materiałach jest poniżej poziomu

detekcji. W czasie jedynej zatwierdzonej terapii interferonem u większości pacjentów nie można znaleźć RNA HCV w surowicy, nie można też pobrać biopsatu, gdyż pacjenci nie wyrażają zgody na powtórne nakłucie.

Ukazała się też publikacja stwierdzająca występowanie HCV poza wątrobą, m.in. w mononuklearach. Podjęliśmy próbę wykorzystania tego źródła RNA HCV do rutynowej diagnostyki oraz kontroli skuteczności leczenia. Opracowaliśmy metodę diagnostyczną, w której izolujemy mononukleary poprzez wirowanie w gradiencie Ficollu, uzyskaną frakcję komórek dzielimy na dwie porcje:

- tzw. próbka „0” służy bezpośredniej izolacji RNA i identyfikacji w RT PCR,
- tzw. próbka „15”, która służy założeniu hodowli komórkowej.

Po pierwszych 24 godzinach zmieniamy podłoże odrzucając komórki, które nie przywarły do podłoża (np. limfocyty). Komórki przylegające ewoluują w makrofagi, po 15 dniach hodowli są zbierane i izolujemy totalny RNA, w którym szukamy RNA HCV. Wykazaliśmy, że mononukleary nie tylko „kolekcjonują” wiriony przez aktywną fagocytozę, ale są też miejscem ich namnażania - wykryliśmy w nich obecność nici ujemnej RNA HCV - najprawdopodobniej pośrednika replikacyjnego w namnażaniu się wirusa.

Wykazaliśmy, że ten system jest znacznie czulszy niż ocena obecności wirusa w surowicy i bardziej dostępny niż biopsat wątroby. Wprowadziliśmy tę metodę do rutynowej diagnostyki.

Uzyskaliśmy wyniki pozytywne w próbkach pobranych od osób z ewidentnym wirusowym zapaleniem wątroby (3 przypadki), gdy były nieobecne wszystkie markery zakażenia wirusowego. Stworzyliśmy system, który umożliwia wiarygodną ocenę obecności HCV w organizmie pacjenta, ułatwiając rokowanie skuteczności leczenia interferonem. Obecnie prowadzimy diagnostykę, opartą na naszym systemie, dla większości klinik i oddziałów hepatologicznych w Polsce (odpłatnie).

W uzasadnionych przypadkach wykonujemy również oznaczanie typu genetycznego HCV, nie sekwencjonując cDNA, lecz wykorzystując komercyjnie dostępny test.

WYKORZYSTANIE LUDZKICH MONONUKLEARÓW DO NAMNAŻANIA HCV *IN VITRO*

Prace nad biologią HCV i potencjalnymi lekami przeciwwirusowymi są hamowane brakiem modelu komórkowego, wydajnie namnażającego wirus *in vitro*. Publikowane wyniki wykazują niską sprawność istniejących systemów. Podjęliśmy próbę wykorzystania

mononuklearów jako komórek gospodarza dla HCV. Opracowaliśmy system przygotowywania mononuklearów do zakażenia, schemat zakażenia preparatami z HCV. Uzyskaliśmy wyniki świadczące o zakażeniu mononuklearów przez HCV oraz namnażaniu się w nich wirusa (obecność nici ujemnej HCV RNA). Jednak uzyskiwane wydajności nie są satysfakcjonujące, kontynuujemy prace nad zwiększeniem produktywności systemu.

PRACE NAD WIRUSEM ZAPALENIA WĄTROBY TYPU G (HGV)

HGV jest najnowszym odkrytym wirusem hepatotropowym. Prowadzone prace mają na celu stworzenie sprawnego systemu identyfikacji osób zakażonych. Podobnie jak w przypadku HCV preferowana jest metoda identyfikacji genomowego RNA w reakcjach RT PCR. Z pierwszych doniesień zjazdowych uzyskaliśmy sekwencje potencjalnie przydatnych primerów oraz sond. Otrzymaliśmy primery amplifikujące dwa różne regiony genomu HGV oraz sondy rozpoznające namnożone fragmenty. Stworzyliśmy bank próbek osób podwyższonego ryzyka (m.in. hemofilicy, osoby HCV lub HBV-dodatnie, IVDUs). Po wykryciu pierwszej próbki HGV-dodatniej zoptymalizowaliśmy protokół (warunki PCR i hybrydyzacji) uzyskując system, który swoiście i powtarzalnie wykrywa RNA HGV. Obecnie powiększamy grupy badanych w celu oceny częstości zakażeń tym wirusem w różnych populacjach.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Biologia molekularna zakażenia wiroidowego - diagnostyka patogena i konstrukcja roślin opornych”; kierownik - W. Zagórski
- 2) „Konstrukcja roślin transgenicznych odpornych na wirus Y ziemniaka (PVY)”; kierownik - A. Chachulska

Współpraca z zagranicą

INRA, Versailles, Francja, Station de Pathologie Végétale, INRA, Bordeaux.

Najważniejsze wyniki badawcze

1. Określenie położenia epitopów specyficznych dla grup izolatów PVY i regionu genomu związanego z indukcją symptomów. Amplifikacja pełnej kopii cDNA PVY pod promotorem 35S CaMV. Otrzymanie linii tytoniu odpornych na infekcje PVY.
2. Wiroid wrzecionowatości bulw ziemniaka stanowi typowy quasi-gatunek. Poziom zmienności struktury pierwszorzędowej RNA PSTVd jest wysoki.

PUBLIKACJE: 3107, 3159, 3163, 914/A, 921/A, 922/A, 945/A, 946/A, 958/A, 959/A

Temat 7: Cięcie i składanie genomu wiroida PSTVd.

Zespół: prof. P. Szafrński, mgr Jerzy Pawłowicz

Kontynuowano badania nad możliwością cięcia i składania genomu PSTVd przy zastosowaniu rybozymów, przeprowadzono syntezę DNA kodującego drugi z zaprojektowanych rybozymów (HH-1 typu „hammerhead”). Syntezę chemiczną DNA rybozymu (osobno nici (+) i nici (-) przeprowadzono metodą fosfoamidytową przy zastosowaniu syntetyzera Gene Assembler (Pharmacia LKB). Produkt syntezy oczyszczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej na kolumnie MONO Q w gradiencie NaCl w aparacie FPLC (Pharmacia LKB). Dwuniciowe RNA kodujące rybozym uzyskano poprzez denaturację termiczną nici „+” oraz nici „-” i powolną renaturację. Otrzymany duplex sklonowano w wektorze transkrypcyjnym pGEM4Z i poprawność konstruktu potwierdzono poprzez sekwencjonowanie. Aktualnie rybozym HH-1 jest testowany w reakcji *in vitro* z RNA PSTVd (liniowy transkrypt PSTVd RNA znakowany ³²P-UTP).

Temat 8: Sekwencjonowanie genomu drożdży i analiza sekwencyjna genomu drożdży.

Zespół: prof. Włodzimierz Zagórski-Ostoja, mgr Robert Gromadka, mgr Róża Kucharczyk, mgr Andrzej Migdalski, mgr Marek Zagulski, Beata Babińska, Danuta Sielska (we współpracy z proj. Joanną Rytką)

W ramach prac nad analizą funkcjonalną nowoodkrytych genów *S.cerevisiae* zainaktywowano metodą PCR sześć genów z chromosomu IX (YIL073c, YIL076c, YIL089w, YIL092w, YIL129c) oraz sześć genów z chromosomu II (YBR128c, YBR131w, YBR133c, YBR137w, YBR138c, YBR142w). Wykonano wstępną analizę genetyczną otrzymanych mutantów delecyjnych. Mutanty te stanowią materiał wyjściowy do dalszych badań zmierzających do poznania funkcji tych genów.

Wykazano, że ORF YCL059c koduje białko niezbędne dla życia komórki. Analiza przewidywanej sekwencji aminokwasowej tego białka wykazała obecność regionu o długości 131 aminokwasów zachowanego u roślin i człowieka. Ta konserwowana sekwencja zawiera motyw powtarzających się zasadowych aminokwasów, wskazujący na jądrową lokalizację białka. Gen nazwano *KRRI*. Stwierdzono wydajną ekspresję tego genu w komórkach rosnących na bogatym podłożu. Nadekspresja genu *KRRI* nie wpływa na wzrost komórek. Prowadzone są dalsze badania zmierzające do identyfikacji funkcji tego genu.

Projekty badawcze KBN

1) "Analiza strukturalna i funkcjonalna genomu drożdży *S.cerevisiae*"; kierownik - W. Zagórski

Współpraca z zagranicą

Centrum Biologii Molekularnej, CNRS, Gif-sur - Yvette.

Najważniejszy wynik badawczy

Identyfikacja nowego genu (*KRR1*) niezbędnego dla życia komórki drożdży. Udział w europejskim projekcie analizy funkcjonalnej genomu drożdży "EUROFAN".

PUBLIKACJE: 3125, 3128, 3135.

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

Zespół: prof. Jerzy Buchowicz, dr Marta Dobrzańska, dr Elżbieta Kraszevska, dr Maria Bucholc, dr Blanka Szurmak, dr Barbara Kroczyńska, mgr Cezary Krysiak (magistrant /doktorant)

W uzupełnieniu do wcześniej opisanego minichromosomu roślinnego sklonowano serię podobnych mu fragmentów jądrowego pozachromosomowego DNA pszenicy. Trwa ich sekwencjonowanie. Wstępne dane wykazują, że na obu końcach liniowych, dwuniciowych fragmentów są sekwencje telomerowe różnej długości.

Posługując się niedawno zakupionym urządzeniem do biolistycznej transformacji roślin, tzw. strzelbą genową, ustalono optymalne parametry techniczne wprowadzania obcego DNA do pszenicy. Jako obcy DNA w badaniach tych zastosowano dobrze scharakteryzowany plazmid pAHC25 (dar dr A. Christensena, Berkeley, USA). Zawarty w nim gen markerowy (*bar*) i reporterowy (*uidA*) pozwalają prowadzić selekcję transformantów i śledzić ich trwałość. Transformacji poddawano niedojrzałe zarodki embriogennej odmiany (Chinese Spring) pszenicy *Triticum aestivum*, a także wyprowadzone z nich linie kalusowe. Zregenerowane transformanty hodowano w warunkach fitotronowych przez cały okres wegetacyjny aż do osiągnięcia stadium pełnej dojrzałości ziarna. Opracowane warunki pozwalają na wydajną (ponad 90%), powtarzalną transformację przejściową. Wydajność trwałej transformacji nie przekraczała jednak 0,3%. Etapem obniżającym wydajność trwałej

transformacji najbardziej jest embriogeneza somatyczna. Postęp badań hamowany jest też przez niedoinwestowanie Instytutu w zakresie potrzeb fitotronowych.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Próba konstrukcji sztucznych chromosomów przydatnych do transformacji roślin jednoliściennych”; kierownik - M. Dobrzańska
- 2) „Izolacja, rekombinacje i zastosowanie plazmidów liniowych w transformacji roślin”; kierownik - M. Bucholc

Współpraca z zagranicą

Cell Genetics Laboratory, University of Wales, Aberystwyth, U.K., przy finansowym poparciu British Council.

Najważniejszy wynik badawczy

Z zastosowaniem tzw. strzelby genowej uzyskano trwale zmienioną, płodną pszenicę transgeniczną. Wprowadzone w celach eksperymentalnych dwa geny obce (bakteryjne) nie mają jednak istotnego wpływu na cechy użytkowe rośliny.

PUBLIKACJE: +3158, 3164, 51/N

Temat 12: Występowanie i rola lipidów terpenoidowych w tkankach roślinnych.

Badania struktury i biosyntezy.

Zespół: prof. dr Tadeusz Chojnacki, Józefina Hertel, dr Wiesław Jankowski, mgr Beata Kazimierczak, dr Ewa Kula-Świeżewska, mgr Małgorzata Szymańska, mgr Małgorzata Wanke, praktyki w pracowni odbywają studenci SGGW Marcin Houda i Karolina Skorupińska

Badano przebieg prenylacji białek u roślin. Charakteryzowano właściwości roślinnej farnezylotransferazy białkowej stosując syntetyczny nonapeptyd [3127, 947/A] oraz białko Ras z charakterystyczną dla geranylogeranylacji sekwencją -CaaL. W stosowanym systemie *in vitro* białko to ulegało zarówno farnezytacji jak i geranylogeranylacji (maszynopis publikacji w przygotowaniu). Trwają obecnie badania nad właściwościami innego enzymu prenylującego białka - Rab prenylotransferazy. Otrzymane w wyniku nadprodukcji prowadzonej w *E.coli* rekombinacyjne białko Rab 3a stosowane jest jako akceptor grup izoprenoidowych. Oczyszczono białko Rab oraz optymalizowano warunki przebiegu reakcji prenylacji *in vitro*. Badania te są kontynuowane.

Kontynuowano badania nad występowaniem poliprenoli w tkankach roślinnych. Stosowanie „widma poliprenoli” jako kryterium chemotaksonomicznego uzasadnione jest wieloletnimi obserwacjami stałości składu mieszaniny poliprenoli u roślin należących do jednego gatunku. Przeprowadzone doświadczenia potwierdzają, że widmo poliprenoli u wybranych roślin *Pinus mugo* cechujących się dużymi różnicami anatomiczno-morfologicznymi jest niezmiennione (zaobserwowano jedynie dyskretne różnice w zawartości poliprenoli nie będących dominującymi składnikami mieszaniny). Potwierdza to przynależność badanych roślin do gatunku *P.mugo* [928/A] (współpraca: mgr Andrzej Marczewski, Ogród Botaniczny PAN, Powsin). Prowadzono także badania nad występowaniem długołańcuchowych, kauczukopodobnych poliprenoli u roślin z rodziny *Combretaceae*. Stwierdzono, iż występowanie takich związków jest wśród przedstawicieli tej rodziny botanicznej dość powszechne [938/A, 939/A, 940/A] (współpraca: dr Vaecislav Kulcitski, Instytut Chemii, Kiszyniów).

Opracowano metodę niskotemperaturowej (-60°C) reakcji cyklizacji poliprenoli roślinnych stosując indukcję karbokationów superkwasami. Udokumentowana magnetycznym rezonansem jądrowym mnogość produktów cyklizacji wynika najprawdopodobniej z jednoczesnej cyklizacji wielu konformerów i/albo heterogenności roślinnych poliprenoli użytych do cyklizacji.

Zawartość dolicholi w tkance neuronalnej i organach endokryalnych wzrasta z wiekiem. Ten determinujący starzenie proces jest nasilony u zwierząt przebywających w silnie zdegradowanym środowisku. Nietoperze uważane są za bardzo czuły bioindykator skażenia środowiska przez pestycydy. Wykazano wielokrotne różnice w zawartości dolicholi w tkankach występujących w Polsce nietoperzy. Różnice te były niezależne od zawartości innych lipidów niezmydlalnych [953/A, 954/A]. W wątrobie większości badanych gatunków nietoperzy znaleziono niezwykłą, nie występującą u innych zwierząt mieszaninę dolicholi złożoną z dwu połączonych rodzin izoprenologów [3122].

Projekty badawcze KBN

„Poliprenolowe lipidy „kauczukopodobne” pochodzenia roślinnego”; kierownik - T. Chojnacki

Współpraca z zagranicą

- 1) Department of Biochemistry, Stockholms University
- 2) Karolinska Institutet, Stockholm
- 3) University of Louvain

4) Instytut Chemii, Kiszyniów, Moldova

Najważniejszy wynik badawczy

Udokumentowano występowanie Rab prenylotransferazy w liściach szpinaku.

Otrzymano cykliczne struktury z poliprenoli roślinnych.

PUBLIKACJE: 3127, 3157, 3122, 928/A, 938/A, 939/A, 940/A, 947/A, 37/N.

Temat 13: Właściwości wybranych enzymów przemiany purynowej.

Zespół: prof. dr hab. Maria M. Jeżewska, mgr Halina Trembacz, tech. Grażyna Jewdoszuk

Kontynuowano badania nad właściwościami i specyficznością substratową enzymów katabolizujących nukleozydy adeninowe w organizmach, zawierających fosforylaze adenozyne.

1. Za pomocą chromatografii kolumnowej preparatów białkowych z ekstraktu wątrobotrzustki *H. pomatia* oddzielono wykrytą uprzednio aktywność fosforylasy 5'-metylo-tioadenozyny (MTA) od aktywności fosforylasy i deaminazy adenozyne. Niska K_m dla MTA tego enzymu wskazuje na jego podobieństwo do fosforylaz MTA kręgowców.
2. Prowadzono badania specyficzności i kinetyki dwóch fosforylaz: Ado/dAdo i Ado/dAdo/MTA, wykrytych przez nas w pasożytniczej przywrze *F. hepatica*. Dane kinetyczne świadczą o braku oddziaływania między centrami aktywnymi tych enzymów, co odróżnia je od powszechnie występujących fosforylaz nukleozydów purynowych, zaś specyficzność substratowa jest odmienna od specyficzności fosforylaz MTA kręgowych żywicieli pasożytów.
3. Prowadzono biochemiczną identyfikację wrodzonych uszkodzeń genetycznych w przemianie purynowej u chorych dzieci (Zespół Lesch-Nyhana i zaburzenia oporności immunologicznej).

Najważniejszy wynik badawczy

Wykrycie specyficznej dla pasożytów fosforylasy Ado/dAdo/MTA, odrębnej od fosforylasy MTA kręgowych żywicieli, co mogłoby umożliwić chemioterapię wybiórczo hamującą enzym pasożyta.

PUBLIKACJE: 924/A

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

Zespół: prof. Grażyna Muszyńska, dr Grażyna Dobrowolska, dr Dali Gaganidze, dr Agnieszka Sirko (od 1 lipca 1996), mgr Jadwiga Szczegielniak, mgr Joanna Trojanek, mgr Małgorzata Musielak, mgr Monika Mikołajczyk, mgr Ireneusz Jurkowski i mgr Olubunmi S. Awotunde (stypendysta MEN); mgr Izabela Jagiełło odbywa staż naukowy (Uniwersytet w Leuven, Belgia)

Zewnątrz-komórkowe sygnały wzrostu, różnicowania oraz stresu przesyłane są w komórkach zwierzęcych i drożdżowych poprzez kaskady kinaz białkowych. Jednym z zadań naszego zespołu jest identyfikacja i charakterystyka kinaz białkowych uczestniczących w przewodzeniu sygnału stresu w roślinach. Modelem badawczym są siewki kukurydzy traktowane 250mM NaCl. We frakcji cytosolowej izolowanej z roślin kontrolnych (nie poddawanych stresowi) oraz roślin traktowanych NaCl, analizowano kinazy białkowe zależne od jonów wapnia, kinazy zależne od jonów wapnia i fosfolipidów, kinazy należące do rodziny kinaz MAP (z ang. Mitogen Activated Protein Kinases) oraz kinazy fosforylujące kazeinę (CK1 oraz CK2). Badania wykazały aktywację dwóch z badanych enzymów pod wpływem stresu - kinazy o Mr 43kDa przypominającej zwierzęce kinazy MAPK oraz kinazy białkowej zależnej od jonów wapnia i aktywowanej przez fosfolipidy o Mr 52kDa. Aktywacja powyższych enzymów ujawnia się po 10 min. traktowania roślin NaCl i utrzymuje się przez około 30 min. Po 60 minutach przetrzymywania roślin w warunkach stresu solnego aktywność badanych enzymów powraca do stanu wyjściowego (rośliny kontrolne nie traktowane solą). W naszych warunkach eksperymentalnych nie stwierdzono zmian aktywności kinaz fosforylujących kazeinę ani kinaz białkowych zależnych od jonów wapnia (CDPK, z ang. Calcium Dependent Protein Kinases). Przejściowa aktywacja kinazy przypominającej MAPK oraz kinazy białkowej zależnej od wapnia i fosfolipidów sugeruje udział tych enzymów w przesyłaniu sygnału stresu solnego w roślinach. Dokładna analiza powyższych enzymów, badanie ich wzajemnej zależności oraz ich oczyszczanie jest przedmiotem obecnej pracy.

Regulacja wielu procesów komórkowych przez odwracalną fosforylację wymaga skoordynowanego działania kinaz i fosfataz białkowych. W procesach tych w organizmach zwierzęcych istotną rolę pełni fosfataza białkowa 2A (PP2A), której funkcja w tych organizmach została stosunkowo dobrze poznana. W celu poznania struktury i funkcji PP2A w roślinach opracowano procedurę oczyszczania holoenzymu z siewek kukurydzy. Do

oczyszczania zastosowano techniki chromatograficzne na kolumnach jonowymiennych (kolejno: DEAE-cellulose, DEAE-Sepharose i Poly (L-lysine)-agarose). Kluczowym etapem oczyszczania PP2A była chromatografia powinowactwa z użyciem tiofosforylasy unieruchomionej na Sepharosie. Analiza elektroforetyczna wykazała, że enzym oczyszczono do stanu bliskiego homogenności. W różnych etapach oczyszczania roślinnej PP2A badano, techniką typu Western, reakcję immunologiczną z przeciwciałami skierowanymi przeciwko zwierzęcej podjednostce regulatorowej typu PR65/A, stanowiącej rdzeń zwierzęcej PP2A. Wykazano, że oczyszczona z siewek kukurydzy fosfataza białkowa typu 2A reaguje z przeciwciałami skierowanymi przeciwko zwierzęcej PR65/A. Wynik ten świadczy, że podjednostka regulatorowa typu PR65/A jest obecna w roślinnej fosfatazie PP2A. Ciężary cząsteczkowe holoenzymu roślinnego oznaczone przy zastosowaniu sączenia molekularnego (Superose 12/FPLC) wynosiły 188 i 100 kDa. Należy podkreślić, że takie same wartości uzyskano dla trimerycznej (188 kDa $\pm$ 6 kDa) i dimerycznej (108 $\pm$ 5 kDa) formy PP2A zwierzęcej, co świadczy o podobieństwie strukturalnym fosfataz białkowych typu 2A między ewolucyjnie odległymi organizmami. Badania dotyczące struktury, specyficzności substratowej i roli biologicznej roślinnej fosfatazy typu 2A są kontynuowane.

Badania dotyczące fosfataz białkowych są realizowane we współpracy z dr Stanisławem Żołnierowiczem z Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu i Akademii Medycznej w Gdańsku.

Projekty badawcze KBN

"Charakterystyka roślinnych kinaz białkowych C i kinaz tyrozynowych oraz badanie ich udziału w przekazywaniu sygnałów"; kierownik - G. Muszyńska

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazano przejściową aktywację kinazy przypominającej MAPK oraz kinazy zależnej od wapnia i fosfolipidów w warunkach stresu solnego, co sugeruje udział tych kinaz w przesyłaniu sygnału w roślinach.

PUBLIKACJE: +3099, +3160, +3161, 890A, 927A, 936A, 941A, 942A, 943A, 944A

Temat 16: Enzymy nukleolityczne roślin wyższych.

Zespół: prof. Jan W. Szarkowski, dr Elżbieta Kuligowska, dr Anna Przykorska, dr Maria A. Siwecka, dr Marek Tomaszewski, dr Grzegorz Przewłocki, mgr Maria Piszczyk, Danuta Klarkowska.

Dwa enzymy nukleolityczne wyizolowane przez nas z roślin wyższych: nukleazę Rn z jąder komórkowych żyta i nukleazę ChS z chloroplastów pszenicy zastosowaliśmy jako sondy w badaniach struktury kompleksu tRNA^{Trp} z *Bacillus subtilis* z aminoacylo-tRNA syntetazą. Dodatkowo użyliśmy nukleazę V1 jako sondę specyficzną wobec dwuniciowych odcinków w RNA.

Wykazano, że aminoacylo-tRNA syntetaza chroni przed działaniem enzymów nukleolitycznych region antykodonu, 5' stronę dwuniciowego fragmentu ramienia antykodonu, oraz pozycję 68 w ramieniu akceptorowym. Pewne odcinki tRNA^{Trp} w kompleksie z białkiem syntetazy są natomiast lepiej hydrolizowane przez nukleazę V1 niż te same regiony w wolnym tRNA^{Trp}. Pozwala to wnioskować, że tRNA^{Trp} po połączeniu z białkiem syntetazy ulega zmianom konformacyjnym.

Enzymatyczne badania struktury nietypowego tRNA(CAG) z *Candida albicans*, który posiada antykodon dla leucyny, a aminoacylowany jest seryną, wykazały, że RNA ten ma strukturę przestrzenną zbliżoną do innych tRNA serynowych, a nie leucynowych. Wykazaliśmy również, że obecność zasady G w pozycji 34 pętli antykodonu powoduje zmianę konformacji w tym obszarze RNA. Wpływa to na większą podatność pętli antykodonu na działanie enzymów nukleolitycznych.

Wykazano, że nukleaza częściowo oczyszczona przez nas z linii ludzkich komórek nowotworowych T84 wykazuje specyficzność do krótkich sekwencji nukleotydowych (Pu-U i A-G). Oznaczono poziom tego enzymu w komórkach pochodzących z różnych tkanek ludzkich.

Przeprowadzono badania specyficzności substratowej rybosomalnej nukleazy II, wyizolowanej i oczyszczonej z zarodków żyta, preferencyjnej do dwuniciowego RNA. Porównano wyniki trawień nukleazami S₁ i V₁ drożdżowego tRNA^{Phe} i 5S rRNA z łubinu z wynikami trawień nukleazą II z zarodków żyta. Wykazano, że w tRNA^{Phe} akceptor aminokwasów jest hydrolizowany przez nukleazę zarodków od końca 5', podczas gdy RNaza V₁ hydrolizuje go od 3'końca. Główne cięcia obserwowano w obszarze dwuniciowym ramienia antykodonu (C 28) i w ramieniu TYC (C63), zarówno gdy tRNA^{Phe} trawiono

nukleazą V₁ jak i nukleazą zarodków. W 5S rRNA z łubinu enzym rozpoznaje wyłącznie wiązania fosfodwuestrowe między C i A oraz U i A (od końca 5').

Rybosomalną nukleazę II zastosowano do badań eksonu 1 mRNA receptora androgenu człowieka. Okazało się, że enzym (w pH 8,5 i sile jonowej 0.01) w 102 nukleotydowym fragmencie zawierającym powtarzające się sekwencje CAG nacina wszystkie wiązania między C i A w dwuniciowym rejonie zawierającym te sekwencje. RNaza V₁ hydrolizowała wyłącznie dwuniciowe, silnie sparowane rejony tego fragmentu mRNA.

Rybosomalna nukleaza II okazała się enzymem wybiórczo rozpoznającym i hydrolizującym rejony dwuniciowe, zawierające powtarzające się sekwencje CAG, o strukturze nieco rozluźnionej. Uzyskane wyniki potwierdziły hipotezę, zakładającą, że obszary mRNA zawierające powtarzające się sekwencje, ze względu na swą rozluźnioną strukturę są mniej stabilne i łatwiej dostępne dla działania nukleaz.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Sondowanie przestrzennej struktury RNA z zastosowaniem nukleaz roślinnych. Klonowanie genów kodujących białka nukleazy Rn z żyta i nukleazy ChS z pszenicy.”; kierownik - A. Przykorska
- 2) „Nukleaza związana z rybosomami zarodków żyta, hydrolizująca dwuniciowe RNA: oczyszczanie, jej aktywatory i inhibitory”; kierownik - A. Siwecka

Współpraca z zagranicą

- 1) Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Strasbourgu, Francja
- 2) Zakład Biochemii i Biofizyki Uniwersytetu North Carolina, Chapel Hill, USA
- 3) INSERM U.323, Francja;

Najważniejszy wynik badawczy

Stosując enzymatyczne sondy strukturalne ustalono miejsca oddziaływania tRNA^{Trp} z białkiem aminoacylosyntetazy oraz wykazano, że tRNA ten po przyłączeniu do syntetazy ulega zmianom konformacyjnym.

PUBLIKACJE: 3162, 925/A, 933/A, 950/A, 952/A

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

Zespół: doc. dr hab. Bernard Wielgat, dr hab. Jacek Hennig, dr Urszula Maciejewska, dr Anna Szczerbakowa, mgr Maria Borkowska, mgr Magdalena Krzymowska, mgr Andrzej Talarczyk, mgr Robert Brodzik, mgr Marek Koter, prof. Kazimierz Kleczkowski (1/3 etatu), prof. Lidia D. Wasilewska (1/3 etatu).

W okresie sprawozdawczym kontynuowano realizację zadań a) dotyczących wyrzutu reaktywnych form tlenu (RFT) z komórek ziemniaka w odpowiedzi na przesącz z płynnej hodowli *Phytophthora infestans* jako elicytora. Poziom uwalnianych RFT mierzono metodą chemiluminiscencji zależnej od luminolu. Reakcja wyrzutu RFT w badanych komórkach różniła się pod względem intensywności kinetyki i odpowiedzi na egzogenne antyoksydanty. W komórkach *Solanum nigrum* produkcja RFT przebiegała w 2 fazach podczas, gdy w odmianie Bzura i Tarpan w jednej fazie. b) Opracowano warunki fuzji protoplastów ziemniaka przy użyciu PEG. Fuzji poddawano protoplasty z zawiesin komórkowych odmiany Tarpan i Bzura z protoplastami mezofilu *Solanum nigrum*. Prowadzi się badania nad regeneracją roślin poprzez kalusy z protoplastów i ich hybrydów. c) Izolowane linie transgeniczne ziemniaka odmiany Bzura i Tarpan zawierające gen 1,3- β -glukanazy z soi, wykazują zwiększoną odporność na infekcję przez *Phytophthora infestans*. Kontynuowano prace nad izolacją genu 1-3- β -glukanazy z ziemniaka. Wyizolowano i sekwencjonowano fragment DNA, który wykazuje 92% identyczności z sekwencją genu 1-3- β -glukanazy pomidora. Analiza ekspresji (wykonana metodą Northern) wykazała, że poziom m-RNA charakteryzowanego genu wzrasta wielokrotnie po infekcji roślin ziemniaka wirusem PVY oraz traktowaniu kwasem salicylowym. W chwili obecnej prowadzone są prace nad wyodrębnieniem pełnej kopii genu 1-3- β -glukanazy.

Kontynuowano również doświadczenia nad wpływem zmienionego poziomu nadtlenu wodoru na proces patogenezy roślin tytoniu po infekcji wirusa TMV. Wykazano, że ekspresja genu (CAT1) katalazy z *Saccharomyces cerevisiae*, w transgenicznych roślinach tytoniu, negatywnie reguluje ekspresję genów Pathogenesis Related (PR-s). W w/w roślinach stwierdzono natomiast niezmienny poziom kwasu salicylowego, wewnątrzkomórkowego regulatora ekspresji genów PR.

Projekty badawcze KBN

„Elementy regulacyjne zależne od kwasu salicylowego warunkujące odporność roślin na patogeny”; kierownik - J. Hennig

Najważniejszy wynik badawczy

Wyodrębnienie nowego genu 1-3- β -glukanazy z ziemniaka.

PUBLIKACJE: 3115, 3154, 3155, 913/A, 975/A

Temat 18: Molekularne regulacje syntezy glikokoniugatów w komórkach drożdży i niektórych grzybów nitkowatych.

Zespół: prof. dr hab. Grażyna Palamarczyk, dr Anna Szkopińska, dr Joanna Kruszewska, mgr Urszula Lenart, mgr Kariona Grabińska, mgr Anna Janik

BIOSYNTENZA DOLICHOLI W *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*: EFEKT NADEKSPRESJI SYNTAZY FARNEZYLO DWUFOSFORANU (FPP-SYNTAZY).

FPP, produkt reakcji katalizowanej przez syntazę, jest centralnym metabolitem szlaku biosyntezy izoprenoidów takich jak sterole, dolichole i łańcuch prenolowy ubichinonu. Dysrupcja genu *ERG20*, kodującego syntazę, jest dla drożdży letalna nawet w warunkach dostarczania ergosterolu w pożywce. To ostatnie sugeruje, że letalny efekt dysrupcji genu *ERG20* może być rezultatem wyłączenia możliwości syntezy dolicholi (i/ lub ubichinonu). Jednocześnie możliwe jest otrzymanie mutantów punktowych (*erg20*). Jednakże szczepy z taką mutacją przeżywają jedynie przy jednoczesnym ograniczeniu syntezy steroli na skutek wprowadzenia innej mutacji (np genu *erg9*, kodującego syntazę skwalenu).

Zastosowanie mutantów w FPP-syntazie oraz szczepów, w których wprowadzono na plazmidach wielokopijnych, pod indukowalnym promotorem, geny *ERG20* lub *erg20* pozwoliło na ustalenie, że:

- nadekspresja genu *ERG20* w warunkach indukcji promotora w mutancie *erg20,erg9* prowadzi do 10-cio krotnego podwyższenia syntezy dolicholi. Wprowadzenie w tych samych warunkach genu zmutowanego (*erg20*) powoduje dalsze podwyższenie syntezy (100-krotne w stosunku do kontroli) ale powstające związki zidentyfikowano jako α -dehydrodolichole, tak więc końcowa reakcja redukcji reszty izoprenowej - α jest w tych warunkach zaburzona..

Otrzymane wyniki mogą świadczyć, że biosynteza dolicholi jest zależna od wzajemnego oddziaływania kilku białek a FPP syntaza jest jednym z nich. Poszukiwanie białek biorących udział w tej reakcji będzie przedmiotem dalszych eksperymentów.

(Praca wykonywana we współpracy z Zakładem Genetyki i Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Poitiers, Francja)

GLIKOZYLACJA BIAŁEK W *TRICHODERMA RESEI*

Sklonowano fragment c-DNA *T. reesei* RUT C-30, kodujący guanylotransferazę (EC 2.7.7.13) (Mpg1-p). Transferaza katalizuje ostatnią reakcję w procesie biosyntezy GDPMan tj. przeniesienie Man-1-P na GTP. Sekwencja nukleotydowa klonu o wielkości 1,6 kb, zawiera ORF kodującą białko złożone z 364 aminokwasów. Miejsce startu translacji TCACCATGAA jest podobne do sekwencji „konsensus” dla tego obszaru w innych genach grzybów nitkowatych.

Porównanie sekwencji aminokwasowej białka Mpg-1 z *Trichoderma* z sekwencją jego funkcjonalnego homologu z *Saccharomyces cerevisiae* wskazuje na występowanie 81% podobieństwa i 71% identyczności. Otrzymany fragment c-DNA, wprowadzony do mutantu *S.cerevisiae* z termowrażliwą kopią genu *dpm1* (kodującego syntazę mannozofosfodolicholu (MPD)) powoduje supresję mutacji. Badanie kinetyki reakcji syntezy MPD w stransformowanym szczepie *S.cerevisiae* wskazuje na ok. 6-cio krotne zwiększenie powinowactwa MPD-syntazy do GDPMan. Przypuszczamy, że supresja termowrażliwej mutacji genu *dpm1* jest możliwa dzięki zwiększonemu, w zmutowanym szczepie drożdży, powinowactwu syntazy (białka Dpm1) do substratu (GDPMan).

(Praca wykonywana we współpracy z VTT Biotechnology and Food Research, Espoo, Finland)

BADANIE REGULATOROWEJ ROLI SYNTAZY MANNOZOFOSFODOLICHOLU (MPD-SYNTAZY) W SEKRECJI BIAŁEK.

MPD, produkt aktywności MPD- syntazy bierze udział w procesie syntezy glikokoniugatów takich jak typowe dla grzybów O-mannozylowane i N-glikozylowane białka a także kotwica glikozylofosfoinozytolowa (GPI-anchor) odpowiedzialna za zakotwiczenie niektórych białek błonowych.

Wcześniejsze prace naszego zespołu wskazywały na możliwość modulowania poziomu sekrecji białek w *T. reesei* poprzez zmiany aktywności syntazy MPD.

Celem naszych obecnych eksperymentów było stwierdzenie czy obserwowane zależności pomiędzy poziomem sekrecji białek a aktywnością MPD-syntazy występują również w innym grzybie nitkowatym jakim jest *Aspergillus nidulans* oraz podjęcie próby wyjaśnienia ich mechanizmu.

1. Badano sekrecję inwertazy w mutantach *A. nidulans* o obniżonej aktywności syntazy mannozofosfodolicholu (MPD-syntazy).

Stwierdzono, że mutanty te mają obniżony w stosunku do szczepu dzikiego poziom syntezy aktywnej inwertazy. Jednakże 61% enzymu (43% w szczepie dzikim) znajduje się w pożywce. Transformacja mutanta genem inwertazy powoduje podniesienie poziomu syntezy aktywnej inwertazy z której większość znajduje się w przestrzeni periplazmatycznej. Badania ruchliwości aktywnej inwertazy w żelach natywnych wskazuje, że poziom sekrecji inwertazy nie ma związku ze stopniem jej glikozylacji. Tematyka ta jest przedmiotem pracy magisterskiej i będzie kontynuowana.

2. Supresja niektórych mutacji *sec* w drożdżach *S. cerevisiae*

Termowrażliwe mutanty sekrecyjne *S. cerevisiae*, inkubowane w temperaturze niepermisyjnej, akumulują wewnątrzkomórkowe prekursory sekrecjonowanych białek. Mogą więc być wykorzystane do określenia lokalizacji ich modyfikacji posttranslacyjnych. Zbadano wpływ nadekspresji MPD-syntazy na zdolność mutantów do przeżywania w temperaturze niepermisyjnej. Stwierdzono, że wprowadzenie genu *DPM1* na plazmidzie centromerycznym powoduje przywrócenie zdolności do wzrostu w temperaturze niepermisyjnej trzech spośród siedmiu mutantów *sec* zaburzonych w transporcie z endoplazmatycznego retikulum do aparatu Golgiego oraz do błony plazmatycznej. Mutanty u których wprowadzenie dodatkowej kopii genu *DPM1* powoduje supresję bloku sekrecyjnego to *sec 7* i *sec14*, (obydwa zaburzone w transporcie wewnątrz aparatu Golgiego) oraz *sec59*, zaburzony w glikozylacji białek. Badanie mechanizm supresji oraz przebiegu transportu markerowych O- i N-glikozylowanych białek jest przedmiotem wykonywanych obecnie eksperymentów.

Współpraca z zagranicą

- 1) Instytut Biologii Molekularnej i Genetyki Uniwersytetu w Poitiers, Francja
- 2) Zakład Biochemii Mikroorganizmów Uniwersytetu Technicznego w Wiedniu, Austria
- 3) VTT- Biotechnologia i Badanie Żywności, Espoo, Finlandia

Najważniejszy wynik badawczy

Sklonowanie genu *mpg1* *T. kodującego guanylo transferazę w T. reesei*. Jest to pierwszy sklonowany w tym organizmie gen, kodujący białko bardzo istotnego dla fizjologii *T. reesei* szlaku metabolizmu glikokoniugatów. Poza genem z *Trichoderma* w bazie danych znajduje się

jedynie sekwencja analogicznego genu z *S.cerevisiae*. Enzymy kodowane przez sklonowane dotychczas geny, nie zostały scharakteryzowane pod względem biochemicznym.

PUBLIKACJE: 3132, 3134, 929/A, 930/A, 934/A, 935/A

Temat 19: Mechanizmy adaptacji bakterii do zmian środowiska: rola produktów genowych *csp* i *rsc* w reakcjach na czynniki zachowujące się odmiennie wewnątrz i na zewnątrz organizmu zwierzęcego.

Zespół: prof. dr hab. Tadeusz Kłopotowski, dr Krystyna Krajewska-Grynkiewicz, dr Małgorzata Łobocka; Doktorantki: mgr Aleksandra Janowicz, mgr Krystyna Kowalska; Magistrantki: Aneta Dobruk, Agnieszka Kowalska

A. Modelem do badań nad regulacją temperaturową był operon *wca* (dawniej *cps*), kodujący komplet enzymów syntezy egzopolisacharydu M *Escherichia coli* K-12 i czynników jego eksportu z cytoplazmy na zewnątrz komórek. Celem badań było poznanie mechanizmu działania zimna na transkrypcję tego operonu oraz genu *cspC* regulującego jej aktywność. Metodami rekombinacji DNA *in vitro* uzyskano fuzję silnego promotora położonego w górę od genu *cspC*. Stwierdzono, że uzyskane mutanty *csp::cam* są niezdolne do indukcji operonu *wca* oraz oporności na letalny efekt zamrożenia. Tworzą one nitkowate komórki, co może sugerować rolę białka CspC w procesie podziału komórkowego, replikacji DNA lub partycji chromosomu. Jednocześnie ustalono sekwencję dwu fuzji *wca::lacZ*. Wyniki przemawiają za tym, że z 21 otwartych ramek odczytu operonu *wca* co najmniej 12 podlega promotorowi reagującemu na regulację typu szoku zimnego. Doświadczenia z mutantami genu *rscC*, uzyskanymi przy pomocy zlokalizowanej mutagenyzy przemawiają za regulacyjną rolą autofosforylacji reszty histydyny w cytoplazmatycznym ogonie błonowego białka RcsC.

B. W ramach tego tematu rozpoczęto badania nad mechanizmami partycji. Modelem jest plazmid P1 *E.coli*. Dzięki odpowiedniej selekcji uzyskano dwa mutanty chromosomalne, z podejrzeniem defektu partycji plazmidu a bez defektu partycji chromosomu. Przy innym podejściu wyizolowano mutanty z możliwą nadprodukcją białka ParA. Rozpoczęto konstrukcję podłączenia genów *parA* i *parB* do promotorów pozwalających na eksperymentalną indukcję lub wygaszenia ich ekspresji.

Projekty badawcze KBN

„Regulacja metabolizmu enterobakterii przez temperaturę i jej aspekty biofizyczne i medyczne”; kierownik - T. Kłopotowski (zakończony 30 kwietnia 1996 r.)

Współpraca z zagranicą

- 1) Katedra Genetyki Państwowego Uniwersytetu Białoruskiego w Mińsku, Białoruś
- 2) National Cancer Institute, NIH, Bethesda, USA

Najważniejszy wynik

Mutant *cspC::cam* jest pierwszym i jedynym dotąd mutantem rodziny 7 genów szoku zimnego *E. coli*.

PUBLIKACJE: 3102

Temat 20.1: Kontrola funkcji mitochondriów przez jądro komórkowe u drożdży

S. cerevisiae.

Zespół: dr Magdalena Boguta, mgr Agata Konopińska, mgr Barbara Szczesniak, mgr Kamila Czerska (do listopada 1996), mgr Agnieszka Chacińska

KONTROLA FUNKCJI MITOCHONDRIALNYCH PRZEZ JĄDRO KOMÓRKOWE

NAM9 jest genem *S. cerevisiae* który kontroluje translację mitochondrialną. Analiza molekularna genu *NAM9* oraz jego supresorów (*HSP104*, *GDS1*, *GDS2* i *PAB1*) była przedmiotem badań w poprzednim okresie sprawozdawczym. Obecnie uzyskano następujące wyniki:

1. Ustalenie regulacji translacji białka Nam9p.

Szczep dziki transformowano plazmidem kodującym białko Nam9p z przyłączonym epitopem (HA) hemaglutyniny z wirusa grypy. Nam9p identyfikowano metodą hybrydyzacji Western stosując komercyjne przeciwciała anty-HA. Stwierdzono, że :

- ilość białka Nam9p zależy od poziomu ekspresji genu *NAM9*
- translacja Nam9p podlega regulacji przez źródło węgla
- ilość białka Nam9p nie zależy od obecności mitochondrialnego DNA w komórce
- mutacja *NAM9-1* powoduje znaczne obniżenie poziomu białka Nam9p

Otrzymane wyniki wskazują na brak koordynacji ekspresji genu *NAM9* z ekspresją innych genów, zarówno jądrowych, jak i mitochondrialnych, warunkujących funkcjonowanie mitorybosomów.

2. Badanie lokalizacji komórkowej białka Nam9p.

Fracjonowano ekstrakty komórkowe szczepu dzikiego z plazmidem kodującym Nam9p-HA. Metodą hybrydyzacji Western z użyciem przeciwciał anti-HA stwierdzono, że Nam9p zlokalizowany jest wyłącznie we frakcji mitochondrialnej.

Wynik ten potwierdza nasze poprzednie hipotezy.

3. Badanie interakcji genetycznej *NAM9-HSP104*

W poprzednim sprawozdaniu opisano wyniki genetyczne wskazujące na możliwość wpływu chaperonu Hsp104 na konformację białka Nam9. W obecnym okresie sprawozdawczym otrzymano następujące nowe wyniki potwierdzające tę hipotezę:

-zmiana poziomu chaperonu Hsp104 w komórce, realizowana przez nadekspresję lub inaktywację genu *HSP104* wpływa na fenotyp supresji mutantu *NAM9-1*. Efekt ten, badany w heterozygotycznym diploidzie, jest niesymetryczny (obserwujemy efekt fenotypowy dysrupcji genu *HSP104* jedynie w pozycji *cis* w stosunku do allelu *NAM9-1*).

-zmiany fenotypu mutantu *NAM9-1* pod wpływem plazmidu nadeksprymującego Hsp104 niekoniecznie są odwracalne po utracie tegoż plazmidu.

4. Badanie lokalizacji komórkowej białka Hsp104p

Fracjonowano ekstrakty z komórek szczepu dzikiego oraz szczepu, w którym zinaktywowano chromosomalną kopię genu *HSP104* (kontrola negatywna). Hybrydyzacja Western z wykorzystaniem komercyjnych przeciwciał specyficznych dla Hsp104p wykazała cytoplazmatyczną lokalizację tego chaperonu.

5. Identyfikacja białek współdziałających z Nam9p poprzez wykorzystanie systemu dwuhybrydowego.

Szczep zawierający opisany poprzednio plazmid, który przenosi fuzję *NAM9* z domeną *GAL4* wiążącą DNA transformowano bankiem fuzyjnym genów drożdży z domeną aktywującą genu *GAL4*. Bank ten otrzymano od P. James (USA). Otrzymano jeden klon pozytywny: jako białko oddziaływające z Nam9p wyizolowano Tfc4p (składnik kompleksu transkrypcyjnego RNA polimerazy III)

6. Badanie interakcji genetycznych *NAM9-GDS1* i *GDS1-HSP104*.

Pomimo że *GDS1* jest wielokopijnym supresorem mutantu *NAM9-1* (co opisano w poprzednim okresie sprawozdawczym), *NAM9* nie jest wielokopijnym supresorem mutantu *gds1::LEU2*. Natomiast nadekspresja *HSP104* znosi defekt wzrostu na pożywce glicerolowej spowodowany dysrupcją *gds1::LEU2*. Efekt ten zależy od dawki genu *HSP104*.

Nie stwierdzono defektu specyficznego dla podwójnych dysruptantów *gds1::LEU2 hsp104::LEU2* i *nam9-1::URA3 gds1::LEU2*

W celu sprawdzenia oddziaływania Nam9p i Gds1p w systemie dwuhybrydowym, gen *GDS1* przeklonowano z użyciem metody PCR do wektorów niosących domenę wiążącą i aktywującą *GAL4*. Fuzja *GAL4-GDS1* daje pozytywny sygnał aktywując promotor zależny od Gal4p. Wynik ten uniemożliwia testowanie oddziaływań Gds1p z innymi białkami.

7. Subklonowanie genu *GDS2*.

Stwierdzono, że *GDS2*, kolejny supresor *NAM9-1*, jest identyczny z genem *DAT1* kodującym białko specyficznie oddziaływające z obszarami DNA bogatymi w sekwencje AT.

8. Klonowanie innych genów drożdży związanych z translacją mitochondrialną.

Podjęto próbę klonowania mutantów R780 i R13, wyizolowanych przez T. Żołądek w 1981 roku jako recesywne supresory jądrowe mutacji mitochondrialnej. Selekcja transformantów (5000 dla R13 i 1250 dla R780), subklonowanie połączone z sekwencjonowaniem wykazało, że za komplementację fenotypu R13, jak i R780, odpowiadają homologiczne geny *AAC1* i *AAC2* kodujące przenośnik ADP/ATP. Oba geny przeklonowano na plazmid integracyjny, integrowano do chromosomu odpowiednio w locus *AAC1* i *AAC2*, krzyżowano z mutantami R13 i R780 i analizowano tetrady. Poprzez brak sprzężenia wykazano, że geny *AAC1* i *AAC2* są supresorami mutacji R13 i R780. Obecnie próbujemy sklonować te geny używając banku skonstruowanego na wektorze centromerycznym YCp50.

ANALIZA FUNKCJI GENU *MAF1* DROŻDŻY.

Szczep z mutacją w genie *MAF1* transformowano wielokopijnym bankiem genów drożdży otrzymanym od F. Lacroute. Wyizolowano 4 klony, w których obserwowano komplementację fenotypu ts mutantan *maf1*. Subklonowanie i sekwencjonowanie wykazało, że 3 z wyizolowanych klonów zawierają gen *TEF1* kodujący czynnik elongacyjny. Wynik ten, w połączeniu z faktem, że mutant *maf1* jest antysupresorem, pozwala na powiązanie funkcji genu *MAF1* z procesem elongacji-terminacji translacji.

KLONOWANIE GENÓW *Arabidopsis thaliana* metodą komplementacji mutantów drożdży.

Bank cDNA *Arabidopsis thaliana* w wektorze bakteryjno-drożdżowym pFL61 otrzymano od prof. F. Lacroute. Podjęto próby klonowania dwóch genów:

- genu *MOD5 Arabidopsis thaliana* poprzez komplementację fenotypu antysupresorowego mutantu *mod5::TRP1*. Przetestowano 40 000 transformantów z wynikiem negatywnym.
- genu *MAF1 Arabidopsis thaliana* poprzez komplementację fenotypu ts mutantu drożdżowego *maf1*. Przetestowano 50 000 transformantów z wynikiem negatywnym.

DZIAŁANIE β -AMYLOIDU NA DROŻDŻE.

Zbadano dokładniej efekt stymulacji hodowli drożdży przez β -amyloid. Stwierdzono zależność od stężenia oraz receptorowy charakter wiązania β -amyloidu do komórki drożdży.

Projekty badawcze KBN

„Rola genomu jądrowego w regulacji funkcjonowania mitochondriów *S.cerevisiae*. Charakterystyka genów odpowiedzialnych za translację mitochondrialną” kierownik - M. Boguta

Współpraca z zagranicą

- 1) Biozentrum der Universität, Abt. Biochemie, Basel, Switzerland.
- 2) Hershey Medical center Pensylwania State University USA.
- 3) Luville School of Medicine, Kentucky, USA.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie możliwości prionowego charakteru mutacji w genie *NAM9*.

PUBLIKACJE: 3094_a, 3152, 3104, 965/A

Temat 20.2: Regulacja biosyntezy hemu i hemoproteidów w drożdżach *S.cerevisiae*.

Zespół: prof. Joanna Rytka, dr Anna Kurlandzka, dr Teresa Żołądek, mgr Ewa Grzybowska, mgr Monika Góra, mgr Iwona Smaczyńska-de Rooij, Monika Wysocka

Kontynuowano badania nad rolą ferrochelatazy w procesach regulacji syntezy hemu oraz dystrybucji hemu pomiędzy różne przedziały komórkowe. Porównano sekwencje aminokwasowe ferrochelataz: drożdżowej, bakteryjnych, roślinnych i ssaków. C-końcowy fragment ferrochelatazy ssaków zawiera charakterystyczny motyw bogaty w reszty cysteinowe prawdopodobnie wiążący żelazo (ang. iron-sulfur cluster). Celem wyjaśnienia jego roli w funkcjonowaniu ferrochelatazy skonstruowano hybrydowe geny kodujące: ferrochelatazę drożdżową z C-końcowym fragmentem enzymu mysiego oraz ferrochelatazę mysią z C-końcowym fragmentem enzymu drożdżowego. Ekspresja tych genów w komórkach *E.coli* i *S.cerevisiae* będzie analizowana *in vivo* oraz *in vitro*.

Prowadzono doświadczenia zmierzające do wyjaśnienia funkcji białka kodowanego przez nowoodkryty przez nas gen (*ORFYIL026c*). Wykazano, że produkt tego genu jest niezbędny do życia komórki. Oryginalny promotor *ORFYIL026* zastąpiono promotorem genu *CTA1*, którego ekspresja jest regulowana przez źródło węgla. Analiza fenotypu tego mutantu hodowanego na różnych podłożach wskazuje, że produkt badanego genu może być

zaangażowany pośrednio lub bezpośrednio w oddziaływania pomiędzy komórkami i podłożem stałym.

W badaniach nad regulacją transportu białek analizowano mutanty *mdp1* o zmienionej wydajności importu białka Mod5p-I do mitochondriów. W czterech mutantach zidentyfikowano zmiany mutacyjne, wszystkie powodują podstawienie aminokwasów konserwowanych w centrum aktywnym białek należących do rodziny ligaz ubikwitynowo-białkowych. Wyniki badań wskazują na rolę systemu ubikwitynacji w transporcie białek do mitochondriów.

Projekty badawcze KBN

- 1) "Badanie mechanizmów regulujących proces kierowania białek do różnych kompartmentów komórki w drożdżach *S.cerevisiae*"; kierownik - T.Żołądek
- 2) "Poszukiwanie funkcji produktu genu U17918, niezbędnego dla życia komórki *S.cerevisiae*"; kierownik - A. Kurlandzka

Współpraca z zagranicą

- 1) Laboratorium Biochemii Porfiryn, Instytut J.Monod, CNRS, Paryż, Francja
- 2) Centrum Medyczne Uniwersytetu Stanowego Pensylwanii, Hershey, USA.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie udziału systemu ubikwitynacji w procesie transportu białek do mitochondriów.

PUBLIKACJE: 3094/I, 3100, 3126, 3128, 3129, 3130, 3135, 44/N.

Temat 20.3: Genetyczna kontrola szlaków metabolizmu siarkowego u grzybów.

Zespół: prof.dr Andrzej Paszewski, dr Małgorzata Piotrowska, dr Renata Natorff, dr Beata Burzyńska, dr Jerzy Brzywczy, dr Jacek Topczewski, mgr Marzena Sieńko, mgr Irmina Lewandowska, mgr Marcin Grynberg

W badaniach nad genami metabolizmu siarkowego u *Aspergillus nidulans* stwierdzono, że gen regulacyjny *SconB* ulega ekspresji w warunkach głodu i obfitości siarki, a także w pozostałych mutantach regulacyjnych *sconA*, *sconC*, *sconD*. Analiza komputerowa białka SCONB wykazała w jego części N-terminalnej obecność tzw. F-box - motywu znajdowanego w różnych eukariotycznych białkach regulacyjnych, a także domeny wskazującej na jego jądrową lokalizację. W końcu 5' sekwencji liderowej mRNA *sconB*, znajduje się krótka

otwarta ramka odczytu, co może wskazywać na posttranskrypcyjną regulację ekspresji tego genu.

Zsekwencjonowano kolejny gen regulacyjny *SconC*, który koduje białko homologiczne do drożdżowego skp.1. To ostatnie tworzy kompleksy z innymi białkami posiadającymi F-box. Istnieje duże prawdopodobieństwo, że białko SCON C tworzy kompleks z białkiem SCON B. Wykryto dwie mutacje punktowe w części konserwowanej genu *sconC*. Zakończono analizę genu *cysB Aspergillus nidulans* kodującego syntazę cysteinową. Wyznaczono miejsca startu i terminacji transkrypcji. Stwierdzono, że transkrypcja tego genu w niewielkim stopniu zależy od dostępności źródła siarki.

Przeprowadzono również analizę genetyczną i biochemiczną mutantów regulacyjnych dotyczących enzymów folianowych. Mutacje regulacyjne *meth2* i *metD10* powodujące stałą represję syntazy poliglutamylfolianu mają zróżnicowany efekt na poziom syntazy 4 innych enzymów folianowych. Uzyskano dalsze dowody, że synteza enzymów folianowych regulowana jest przez system, w którym homocysteina pełni rolę induktora, a metionina co-represora.

Projekty badawcze KBN

„Metabolizm aminokwasów siarkowych u grzybów: molekularna charakterystyka genów struktury i genów regulacyjnych” kierownik - A. Paszewski

Współpraca z zagranicą

Uniwersytet w Sheffield (grant w ramach British-Polish Joint Collaboration Scheme); sklonowaliśmy gen *metE Aspergillus nidulans*, którego analiza jest w toku. Stwierdziliśmy też, że transkrypcja kilku genów związanych z asymilacją siarczanu podlega ograniczonej metabolicznej represji siarkowej.

Najważniejszy wynik badawczy

Sklonowanie i analiza genu regulatorowego *SconC*, kontrolującego metabolizm siarkowy u *Aspergillus nidulans*.

PUBLIKACJE: 3140, 3147, 3148, 3149, 904/A

Temat 20.4: Rola polimeraz DNA w procesach naprawy DNA u drożdży.

Zespół: prof. dr Witold Jachymczyk , prof. dr Jerzy Żuk, dr Hanna Baranowska-Wyszomirska, dr Zbigniew Domiński (do 1 sierpnia 1996), mgr Agnieszka Hałas, mgr Arkadiusz Ciesielski

UDZIAŁ POLIMERAZ DNA W PROCESACH NAPRAWY DNA W KOMÓRKACH DROŻDŻY.

Badano rolę jądrowych polimeraz DNA w naprawie uszkodzeń indukowanych działaniem MMS i promieniowaniem UV. Naprawa DNA była analizowana za pomocą fizycznych pomiarów zmian w wielkości cząsteczek DNA po działaniu czynników mutagennych oraz po naprawie *in vivo* w alkalicznym gradiencie sacharozy. Stwierdzono, że w naprawie uszkodzeń powstałych w DNA pod wpływem promieni UV, naprawianych w systemie NER (nucleotide excision repair), niezbędne są dwie polimerazy replikacyjne - δ i ϵ , natomiast inne polimerazy DNA nie biorą udziału w tym procesie. Polimeraza DNA δ jest również zaangażowana w naprawę uszkodzeń powodowanych działaniem MMS i naprawianych w systemie BER (base excision repair) jednakże zamiast polimerazy ϵ , uczestniczy w tym procesie polimeraza Rev3. Oba enzymy działają w sposób kooperatywny i są niezbędne w tej naprawie. Polimerazy DNA α i β nie uczestniczą w obu badanych typach naprawy DNA.

ROLA POLIMERAZ DNA W PROCESIE MUTACJI ADAPTACYJNYCH.

Po ustaleniu wpływu polimerazy DNA δ na poziom mutacji w locus *LYS2* indukowanej przez presję selekcyjną, rozszerzono prowadzone badania na wszystkie polimerazy DNA występujące w jądrach komórek drożdży, oraz na gen *MSH* odpowiedzialny za system naprawy postreplikacyjnej. Stwierdzono, że mutacje w dwóch polimerazach DNA δ i ϵ , odpowiedzialnych za proces elongacji w replikacji DNA wywierają silny wpływ na częstość występowania mutacji adaptacyjnych w badanym locus *LYS2*. Podobnie, delecja genu *MSH* powoduje wzrost pojawiania się tych mutacji w drożdżach. Mutacje w genach innych badanych polimerazach DNA tego efektu nie wywołują. Wyniki te sugerują, że błędy powstałe w czasie elongacji oraz ich utrwalanie przy braku systemu naprawy postreplikacyjnej stanowią ważną przyczynę pojawiania się mutacji adaptacyjnych w komórkach drożdży.

UDZIAŁ POLIMERAZ DNA W INDUKOWANEJ KONWERSJI GENÓW

W komórkach drożdży istnienie szeregu termo wrażliwych niekomplementarnych mutantów trzech polimeraz DNA odpowiedzialnych za replikację genomu drożdżowego umożliwia zastosowanie technik genetycznych do badania udziału tych polimeraz w

indukowanej konwersji genetycznej. Skonstruowano homo- i heteroalleliczne diploidy zawierające mutacje w genach *pol1*(α) *pol2*(ϵ) i *pol3*(δ). W diploidach heteroallelicznych badano konwersje w genach polimerazowych a w diploidach homoallelicznych konwersję w genie treoninowym. Komórki były naświetlane promieniami UV lub traktowane MMS i inkubowane w warunkach restrykcyjnych (37⁰) lub preinkubowane w warunkach permissywnych (23⁰). Stwierdzono znacznie zwiększoną częstość występowania konwertantów w komórkach preinkubowanych w warunkach permissywnych przed przeniesieniem do warunków restrykcyjnych niż w komórkach inkubowanych tylko w warunkach restrykcyjnych, jednakowo dla mutacji we wszystkich trzech badanych polimerazach DNA. Wyniki te świadczą o istotnej roli badanych polimeraz DNA w mitotycznej konwersji genów.

BADANIA KRYSTALOGRAFICZNE WPŁYWU RÓŻNYCH PODSTAWNIKÓW NA AKTYWNOŚĆ MUTAGENNĄ FUROKUMARYN.

Furokumaryny są związkami tworzącymi z dwuniciowym DNA połączenia krzyżowe oraz monoaddukty. Przeprowadzono badania krystalograficzne sześciu pochodnych furokumarynowych zawierających podstawniki karboetoksy- i karbometoksy- dołączone do aktywnych wiązań szkieletu. Stwierdzono, że podstawniki te układają się w płaszczyźnie szkieletu furokumaryny, podczas gdy grupa metoksy- odchyła się od płaszczyzny. Na podstawie pomiarów krystalograficznych przeprowadzono analizę różnic we własnościach mutagennych tych związków. Badania są we wstępnej fazie i będą dalej kontynuowane.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Rola polimeraz DNA w naprawie różnych rodzajów uszkodzeń DNA w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*”; kierownik - W. Jachymczyk
- 2) „Rola polimeraz DNA w konwersji wewnątrzgenowej w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*”; kierownik - A. Hałas

Najważniejszy wynik badawczy

- 1) Ustalenie w komórkach drożdży, które polimerazy DNA są zaangażowane w procesy naprawy DNA przez wycinanie nukleotydów (NER) i przez wycinanie zasad (BER).

Praca przyjęta do druku w *Current Genetics* w 1996;

- 2) Wykazanie, że w drożdżach tylko błędy powodowane przez polimerazy DNA w procesie elongacji oraz ich utrwalanie przez zablokowanie systemu naprawy postreplikacyjnej są istotną przyczyną powstawania mutacji adaptacyjnych.

Cz. pierwsza opublikowana w 1995r. (Curr. Genet. 28: 521-525) Cz. druga w przygotowaniu do druku.

PUBLIKACJE: 3095,3120

Temat 21: Regulacja metabolizmu siarczanowego u prokariotów.

Zespół: prof. Danuta Hulanicka, dr Monika Hryniewicz, dr Agnieszka Sirko (do lipca 1996), mgr Roksana Iwanicka-Nowicka, mgr Anna Węgleńska.

W ostatnim roku kontynuowano badania nad rolą produktu genu regulatorowego *cbl* w metabolizmie siarkowym *E. coli*. Stwierdziliśmy, że funkcja genu *cbl* jest niezbędna dla wykorzystania alkilosulfonianów jako źródła siarki. Genetyka procesów związanych z asymilacją siarki sulfonianowej jest słabo poznana; zidentyfikowano dotychczas jeden operon, *tauABCD* kodujący białka zaangażowane w procesie transportu i początkowego etapu rozkładu tauryny. Stosując fuzję *tauA-lacZ* wykazaliśmy, że produkt genu *Cbl* jest niezbędnym, pozytywnym czynnikiem dla ekspresji operonu *tau in vivo*. Badania te zostały potwierdzone w układzie *in vitro* przez wiązanie białka *Cbl* do DNA regionu promotorowego *tauA*. Stwierdziliśmy ponadto, że rola regulacyjna produktu genu *cbl* dotyczy również genów kodujących składniki systemu transportu siarczanu: *Cbl* wpływa na ekspresję operonu *cysPTWAM* z wewnętrznych promotorów a także ekspresję genu *sbp*, kodującego białko wiążące siarczan. Ponieważ operon *tauABCD* a także gen *sbp* należą do genów indukowanych specyficznie w warunkach głodu siarczanowego, (stymulonu *ssi* - „sulfate starvation inducible”), *Cbl* jest kandydatem wspólnego regulatora transkrypcyjnego dla tego stymulonu. Wykazaliśmy, że w regionach regulatorowych przynajmniej dwóch genów *ssi* (*tauA* i *sbp*) wiążą się dwa białka regulatorowe: *CysB*, główny regulator transkrypcyjny genów *cys* a także *Cbl*. Wzajemne relacje oddziaływania tych białek z regionami regulatorowymi wymienionych genów będą przedmiotem dalszych badań.

Kontynuowano również badania nad supresorami mutacji *rpoA341* (mutacja w podjednostce α polimerazy RNA, uniemożliwiająca m.in. interakcję z regulatorem *CysB* w aktywacji transkrypcji w promotorze *cysP*). Sklonowano 7 wewnątrzgenowych supresorów *rpoA341* oraz i zidentyfikowano mutacje suprymujące pierwotny defekt jako substytucje E271(RpoA341, Cys⁻)→A271 (Cys⁺). Badania te wskazują na kluczowe znaczenie kodonu 271 *rpoA* w interakcji z *CysB*. Dalsze prace nad identyfikacją pozagenowych supresorów *rpoA341* (zmapowanych uprzednio w regione *cysB*) są w toku.

Sklonowano i scharakteryzowano nieznany wcześniej gen *E. coli*, oznaczony *ucpA*, położony w regionie 52' chromosomu, bezpośrednio przed operonem *cysPTWA*. Gen ten koduje białko należące do rodziny krótkołańcuchowych dehydrogenaz/reduktaz; funkcja tego białka nie jest niezbędna dla *E. coli* w standartowych warunkach wzrostu. Ekspresja *ucpA* (jako fuzji *ucpA-lacZ*) *in vivo* jest kontrolowana przez kilka globalnych białek regulatorowych: Crp, FruR i IHF.

Projekty badawcze KBN

"Nowe aspekty regulacji między funkcją genu *cbl* a regulonem cysteinowym" kierownik - dr Monika Hryniewicz

Najważniejszy wynik badawczy

Ustalenie funkcji regulatora Cbl w metabolizmie siarkowym jako niezbędnego czynnika transkrypcyjnego w ekspresji genów związanych z wykorzystaniem innych niż siarczany źródeł siarki.

PUBLIKACJE: 46/N, 919/A, 937/A

Temat 22: Regulacja ekspresji genomu wirusa liściozwoju.

Zespół: prof. dr hab. Danuta Hulanicka, mgr Marek Juszcuk, dr Andrzej Pałucha, mgr Krzysztof Pluta, mgr Ewa Sadowy.

I. Kontynuując prace nad transformacją ziemniaka, otrzymano dalsze linie transgeniczne. Wszystkie, uprzednio otrzymane konstrukty, zawierające cDNA genu białka płaszcza wirusa wraz z sekwencjami granicznymi o różnej długości, zostały wprowadzone do chromosomu ziemniaka cv. Bzura w dwóch orientacjach, sensownej i antysensownej. W otrzymanych liniach stwierdzono obecność transgeny metodą Southerna i jego ekspresję na poziomie RNA metodą Northern. Po przeprowadzeniu tych analiz, linie przekazano do Instytutu Ziemniaka w Młochowie celem sprawdzenia ich odporności na infekcję wirusem liściozwoju ziemniaka.

W poprzedniej grupie transgenicznych linii znaleziono linie odporne, których odporność utrzymywała się w pierwszym pokoleniu wegetatywnym (bulwowym). Ponieważ cv. Bzura jest naturalnie odporna na 2 wirusy atakujące ziemniak, PVX i PVY, i odporność ta została utrzymana w liniach transgenicznych odpornych, dysponujemy ziemniakiem odpornym na 3 najbardziej groźne wirusy atakujące ziemniak.

II. W poprzednim okresie otrzymano pełną kopię genomu PLRV podłączoną pod promotor faga T7. Syntetyzowany *in vitro* transkrypt elektroporowany do protoplastów tytoniu ulegał replikacji. Stwierdzono również w protoplastach metodami immunologicznymi syntezę białek wirusowych. PLRV jest przenoszony jedynie przez wektory, niemożliwa jest infekcja mechaniczna roślin tym wirusem. W związku z tym podjęto prace mające na celu konstrukcję agroinfekcyjnego klonu.

Do konstrukcji agroinfekcyjnego klonu PLRV wykorzystano otrzymaną wcześniej pełną cDNA kopię genomu wirusa znajdującą się na plazmidzie pPF. Dokonano jej modyfikacji metodą PCR w celu usunięcia części nukleotydów, w tym promotora T7, z obszaru powyżej 5'końca genomu. Zmodyfikowaną kopię przeklonowano do wektora pRT104 zawierającego promotor 35S wirusa mozaiki kalafiora i terminator genu nopalinowej syntetazy (NOS-t). Otrzymany konstrukt: 35S promotor - cDNA PLRV - NOS-t przeklonowano do wektora binarnego Bin19 pomiędzy sekwencje graniczne T-DNA. Otrzymany binarny plazmid pB-PF wprowadzono do *Agrobacterium*, a następnie po sprawdzeniu jego obecności w bakteriach, zawiesinę transformantów używano do inokulacji *Nicotiana clevelandii* i *N. benthamiana*. Obecnie prowadzona jest analiza białek roślinnych (metodą immunoblotu) oraz RNA (techniką Northern).

III. Konstrukcja fuzji transferazy glutationowej z białkami wirusowymi: replikazą i białkiem 17K

Otrzymanie przeciwciał dla poszczególnych białek wirusowych jest niezbędne do badania ekspresji genów wirusowych na poziomie translacji. Handlowo dostępne przeciwciała są specyficzne jedynie wobec kapsydu wirusa w skład, którego wchodzi białko płaszczka i białko RT. W związku z tym podjęto prace mające na celu nadprodukcję i izolację replikazy i 17K białka. Białka te będą użyte dla otrzymania przeciwciał. Zastosowano system fuzji genu transferazy glutationowej (GST) z fragmentami cDNA odpowiednich genów wirusowych. Fuzje genowe są pod kontrolą promotora *tac*, co umożliwia indukcję ekspresji zrekombinowanych genów. Otrzymano konstrukty, w których do GST podłączono, z zachowaniem ramki odczytu cDNA wirusa kodujące pełny gen replikazy, oraz dwie jego zmodyfikowane wersje (z delecją w środkowej części genu lub bez 3'końca). Otrzymano również trzy konstrukty, w których do GST podłączono w fazie fragmenty cDNA kodujące białko 17K, cDNA z delecją 5'końca i fragment cDNA 3'końca tego genu. Następnie ustalono optymalne warunki dla wydajnego zwiększenia ekspresji białek fuzyjnych z użyciem konstruktów pGEXORF2/3 (fuzja GST z replikazą) i pGEX17K (fuzja GST z białkiem 17K).

IV. Próby replikacji PLRV w drożdżach.

Ostatnio wykazano, że wirus BMV może replikować się w drożdżach. W związku z tym podjęto prace mające na celu stwierdzenie czy możliwa jest replikacja PLRV w drożdżach. W tym celu pełna kopia genomu, znajdującego się na plazmidzie pFCK pod promotorem faga T7, została użyta dla konstrukcji dwóch wahadłowych wektorów (pYFC i pYFT). W wektorze pYFT, genom PLRV znajduje się między drożdżowym ADHI promotorem a 35S terminatorem, plazmid pYFC nie zawiera terminatora. Produkty replikacji wirusa PLRV w komórkach drożdżowych analizowano metodami Northern i Western. Stosując jako sondę cDNA subgenomowego RNA (sgRNA), znaleziono dwa prążki RNA, jeden odpowiadający gRNA a drugi zbliżony wielkością do sgRNA. Wynik ten sugeruje replikację PLRV w komórce drożdżowej ponieważ sgRNA powstaje na nici ujemnej RNA tylko w komórce zainfekowanej. Prowadzone są prace mające na celu potwierdzenie możliwości replikacji PLRV w drożdżach.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Mechanizm ekspresji genomu wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV)”; kierownik - D. Hulanicka - zakończony 30.06.1996r.
- 2) „Analiza ekspresji transgenów wirusowych w liniach ziemniaka transformowanych cDNA wirusa liściozwoju (PLRV)”; kierownik - D. Hulanicka.

Współpraca z zagranicą

Institute for Plant Protection IPO-DLO Wageningen

Najważniejszy wynik badawczy

Otrzymanie transgenicznego ziemniaka odpornego na infekcję PLRV.

PUBLIKACJE: 3144, 42/N, 50/N, 948/A, 949/A, 953/A, 955/A, 956/A, 957/A.

Temat 23. Efekty pól elektrycznych na żywe komórki.

Zespół: prof. dr hab Magdalena Fikus, dr Piotr Pawłowski* (*Dr. Pawłowski przez półtora roku 1995/96 odbywał staż w Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, USA.)

W roku 1996 przygotowano i wysłano do druku artykuł: P. Pawłowski, A. Poznańska, M. Fikus. Bioelectrorheological model of the cell. 7. Cellular deformation in the presence of Cytochalasin B.

PUBLIKACJE: 3109, 954/A

Temat 24: Mutageneza, naprawa i ekspresja DNA

Zespół: prof.dr Celina Janion, dr Elżbieta Grzesiuk, dr Anna Fabisiwicz, dr Barbara Tudek, dr Jarosław Cieśla, mgr Maria Grażewicz, mgr Anna Wójcik, mgr Elżbieta Speina.

Kontynuowano badania nad naturą zjawiska MFD (mutation frequency decline) - obniżenia częstości mutacji w *E. coli*, gdy w bakteriach, natychmiast po mutagenizacji (UV254nm, MMS, światło halogenowe (HL)) zahamowana zostaje przejściowo synteza białek. MFD jest wynikiem zróżnicowanej naprawy uszkodzeń w transkrybowanej i kodującej nici DNA i dotyczy naprawy w genach tRNA. Stwierdzono że na efekt MFD obserwowany po działaniu MMS nie ma wpływu białko TRCF (MFD) lub UvrABC endonukleaza. Nie ma też wpływu system MMR, który wycina niesparowane zasady z DNA. Brak wpływu systemu MMR na MFD może być wynikiem zmiany w specyficzności mutacji i braku indukcji supresora supL. Natomiast brak wpływu białek TRCF i UvrABC, może świadczyć o udziale innego systemu niż system TRCF-UvrABC, w preferencyjnej naprawie uszkodzeń indukowanych MMS lub innego mechanizmu działania MFD. Badania MFD w bakteriach *E. coli* K-12 naświetlanych światłem halogenowym wykazują podobną charakterystykę indukcji i spadku mutacji w szczepach *E.coli* K-12 naświetlanych HL, i w szczepach *E.coli* B naświetlanych UV. HL powoduje głównie mutacje typu tranzykcji GC do AT, a spadek mutacji w czasie MFD jest wynikiem spadku mutacji zachodzących poprzez wytwarzanie supresora supB. Obecność białka TRCF powoduje 5-krotne zmniejszenie występowania mutacji. Z proporcji występowania supresorów supB/supEochre w bakteriach mutowanych HL wynika, że naprawa zachodzi już w czasie naświetlania i sugeruje na udział fotolizazy w tym procesie. Być może, że TRCF, w sposób pośredni, lub bezpośredni, przyspiesza fotolityczny rozpad dimerów T-C.

Badania prowadzone *in vitro* na plazmidowych DNA wskazują na prewencyjne działanie białka UmuD' i ochronę przed spontaniczną konwersją form *ccc* do *oc* i *oc* do formy liniowej. Działanie UmuD' wydaje się być specyficzne. Stwierdzono też, że w tkankach rakowych płaskonabłonkowych komórek płuc aktywność O6metylo-G-DNA-transferazy i N-metylopuryn glikozylazy jest wyraźnie mniejsza, niż w tkankach zdrowych. Nie obserwowano natomiast aktywności Fpg-glikozylazy usuwającej reszty fapy-7-meG z DNA. Badano też właściwości kodujące reszt Fapy w DNA w replikacji z polimerazą T7 i zaobserwowano, że reszty Fapy słabiej hamują replikację niż reszty glikolotyminy.

Projekty badawcze KBN

„Modyfikacja zasad - indukcja stabilnej replikacji DNA”; kierownik - C. Janion.

Współpraca z zagranicą

Institut Gustave Roussy, Villejuif - Francja.

Najważniejszy wynik badawczy

Dotychczas naprawę preferencyjną z transkrybowanej nici DNA obserwowano dla uszkodzeń indukowanych UV i EMS w *E.coli* B. Wykazaliśmy, że ten typ naprawy zachodzi w *E.coli* K-12 po działaniu MMS i światłem halogenowym. Z naszych badań wynika, że w tym procesie naprawy mogą brać udział inne enzymy poza białkami TRCF - UvrABC.

PUBLIKACJE: 3106; 3108; 3169; 905/A; 906/A; 960/A; 961/A; 962/A; 963/A;

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

Zespół 1: dr Iwona Fijałkowska, dr Piotr Jonczyk, mgr Magdalena Maliszewska-Tkaczyk, mgr Adrianna Nowicka, techn. Małgorzata Podsiadła.

Zespół 2: prof. dr hab. Zygmunt Cieśla, dr Ewa Śledziewska-Gójska, mgr Marta U. Fikus, mgr Piotr Mieczkowski, mgr Adrianna Nowicka

1.

Prowadzono badania nad mechanizmami zapewniającymi wierność replikacji DNA w bakterii *E. coli*. Przy użyciu drożdżowego systemu dwuhybrydowego badaliśmy interakcję białko-białko pomiędzy podjednostkami (α , ϵ i θ) tworzącymi rdzeń polimerazy III DNA. Celem pracy było sprawdzenie czy zmiany w prawidłowej interakcji pomiędzy podjednostkami α i ϵ mogą być jedną z przyczyn zmienionej wierności replikacji w szczepach *E. coli* niosących mutacje w genach *dnaE* (gen kodujący podjednostkę α , odpowiedzialną za aktywność polimerazy DNA) lub *dnaQ* (gen kodujący podjednostkę ϵ , odpowiedzialną za aktywność 3' - 5' egzonukleazy edytorskiej). Do badań użyto 7 różnych mutantów *dnaE* o fenotypie antymutatora, tj. wykazujących zmniejszoną częstość powstawania błędów w trakcie replikacji DNA. Jedną z hipotez tłumaczących antymutatorowy charakter badanych mutantów *dnaE* sugeruje zmienioną interakcję pomiędzy podjednostką α i ϵ . Zmiana tej interakcji mogłaby np. umożliwiać bardziej efektywne usuwanie przez egzonukleazę DnaQ (ϵ) błędnie wstawionych zasad w trakcie syntezy DNA. Prowadzone badania wykazały niezmienną, w porównaniu do szczepu dzikiego, interakcję pomiędzy podjednostką DnaQ i różnymi zmutowanymi

podjednostkami DnaE powodującymi fenotyp antymutatorowy. Badano również 3 allele genu *dnaQ* wykazujące fenotyp silnych mutatorów. Stwierdzono, że białka MutD5 i DnaQ926, w których mutacje inaktywują aktywność 3' - 5' egzonukleazy, mają niezmienną siłę interakcji z białkami DnaE i HolE (podjednostka θ). Natomiast produkt allelu *dnaQ49* wykazuje 5-krotnie słabszą interakcję z DnaE i 10-krotnie słabszą interakcję z HolE. Sugeruje to, że za mutatorowy charakter szczepu *dnaQ49* jest odpowiedzialna taka modyfikacja struktury przestrzennej białka *DnaQ49*, która zmienia prawidłową jego interakcję z dwoma pozostałymi białkami tworzącymi rdzeń polimerazy III DNA (DnaE i HolE). Powyższy wynik sugeruje, że nie tylko zmiany aktywności enzymatycznych podjednostek polimerazy III DNA, ale również prawidłowa interakcja pomiędzy podjednostką polimeryzującą a edytorską, jest niezbędna dla zapewnienia komórce *E. coli* optymalnej wierności syntezy DNA. Obecnie prowadzone są badania innych mutantów *dnaQ* o fenotypie mutatorowym, mające na celu ustalenie rejonu białka DnaQ który jest odpowiedzialny za interakcję z podjednostką polimeryzującą *dnaE*.

W trakcie replikacji chromosomalnego DNA, w widełkach replikacyjnych obie nici replikowane są równocześnie przez holoenzym polimerazy III DNA. Nici prowadząca syntetyzowana jest w sposób ciągły, natomiast nici opóźniona syntetyzowana jest w postaci fragmentów Okazaki. Naszym celem było stworzenie nowego systemu doświadczalnego pozwalającego na zbadanie, czy podczas syntezy chromosomalnego DNA *E. coli*, wierność replikacji nici prowadzącej jest różna od wierności replikacji nici opóźnionej. Projekt dotyczy zarówno mutagenезы spontanicznej (bez traktowania czynnikami mutagennymi), jak również mutagenезы będącej wynikiem replikacji nici uszkodzonej. W tym celu skonstruowano serię par szczepów *E. coli* niosących różne allele genu *lacZ*. W każdej parze szczepów wintegrowano w chromosom operon *lac* w dwóch różnych orientacjach w stosunku do miejsca startu replikacji DNA. Obecność w skonstruowanych szczepach testowych określonych alleli genu *lacZ* pozwala na badanie zarówno częstości jak i specyficzności mutagenезы. Badano mutagenезę w szczepach typu dzikiego, szczepach ze zmienioną funkcją korektorską 3'→5' egzonukleazy i w szczepach z wyłączoną postreplikacyjną reperacją błędnie sparowanych zasad. Wstępne badania poziomu mutagenезы wskazują na różnice w wierności replikacji DNA pomiędzy obu syntetyzowanymi niciami DNA.

2.

W badaniach nad mechanizmami regulującymi odpowiedź komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* na uszkodzenia DNA, kontynuowano prace nad charakterystyką

nowych genów, których ekspresja jest indukowana przez te uszkodzenia. Stwierdzono, że w komórkach traktowanych czynnikami mutagennymi indukcja ekspresji genu *DIN7* zachodzi na poziomie transkrypcji. Ekspresja genu *DIN7* była badana w mutantach defektywnych w funkcjonowaniu szlaku przewodzącego sygnały od uszkodzonego DNA do promotorów genów *DIN*. Indukowalność genu *DIN7* jest zniesiona w traktowanych MMS komórkach mutantu *rad53-21* i wyraźnie obniżona w komórkach *pol2-11* niosących defektywną polimerazę ϵ , która utraciła zdolność detekcji uszkodzeń DNA. Interesująca wydaje się obserwacja, że inaktywacja genu *DUN1*, który jako ostatni bierze udział w kaskadzie procesów regulujących transkrypcyjną aktywację genów *DIN* w odpowiedzi na uszkodzenia DNA, powoduje podwyższoną ekspresję *DIN7*. Sugeruje to, że *Dun1* może być negatywnym regulatorem ekspresji *DIN7*. W rejonie promotera *DIN7* zidentyfikowano regulatorową sekwencję URS (upstream repressing sequence). Badana jest zależność funkcjonowania tego URS od produktu genu *DUN1*. Okazało się również, że ekspresja *DIN7* ulega indukcji podczas mejozy.

Rozpoczęliśmy badania nad regulacją ekspresji genu *MAG* kodującego drożdżową glikozylazę 3-metyloadeniny. Jest to enzym reperacyjny o szerokiej specyficzności, który obok szeregu modyfikacji DNA powstających pod wpływem mono- i bifunkcyjnych środków alkilujących usuwa z DNA etenoaddukty powstające pod wpływem polichlorku winylu a także produkty dezaminacji DNA. *MAG* należy do rodziny genów *DIN* i poziom jego transkrypcji jest indukowany przez czynniki uszkadzające DNA takie jak MMS czy UV. Nasze wyniki z użyciem fuzji genowej *MAG::lacZ* wykazują, że indukcja *MAG*, w komórkach traktowanych MMS, nie jest zależna od regulatorowych genów *POL2*, *RAD53* i *DUN1*, tworzących wspomniany wyżej szlak przekazywania sygnału od uszkodzonego DNA do promotorów genów *DIN*.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Wierność replikacji nici opóźnionej i prowadzącej, podczas syntezy chromosomu *Escherichia coli*”; kierownik - I. Fijałkowska
- 2) „Charakterystyka nowych genów *S. cerevisiae* zaangażowanych w odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA”; kierownik - Z. Cieśla

Współpraca z zagranicą

National Institute of Environmental Health Sciences, North Caroline, USA

Najważniejszy wynik badawczy

1) Przy użyciu systemu dwuhybrydowego stwierdzono, że za mutatorowy charakter szczepu *dnaQ49* jest odpowiedzialna taka modyfikacja struktury przestrzennej białka DnaQ49, która zmienia prawidłową jego interakcję z dwoma pozostałymi białkami tworzącymi rdzeń polimerazy III DNA (DnaE i HolE).

2) Stwierdzono, że indukowalność genu *DIN7* *S. cerevisiae* zależy od genów *RAD53* i *POL2*, których produkty uczestniczą w przewodzeniu sygnału o uszkodzeniu DNA. Wykazano, że delekcja genu *DUN1* prowadzi do konstytutywnej ekspresji *DIN7*.

PUBLIKACJE: 3123, 3141, 3143, 967/A, 968/A

Temat 26: Mechanizmy mutagenyzy indukowanej przez promienie UV.

Zespół: prof. dr Irena Pietrzykowska, mgr Anna Bębenek, mgr Anna Czajkowska, mgr Magdalena Felczak.

Kontynuowano badania nad mechanizmem UV-indukowanej mutagenyzy niezależnej od replikacji DNA. Wcześniej wykazaliśmy, że UV-mutageniza faga λ_{susO8} w warunkach niepermissywnych dla replikacji fagowego DNA wymaga wysokiego poziomu białka UmuD' i podstawowego (nie indukowanego) poziomu białka UmuC. Mechanizmy powstawania mutacji ani charakter uszkodzeń przedmutacyjnych nie są znane.

Jako hipotezę przyjęto, że mutacje mogłyby powstawać jako błędy w naprawie przez wycinanie zasad (BER) lub w przypadku uszkodzeń typu miejsc AP (apirymidynowych/apurynowych) na drodze błędnej insercji zasady lub nukleotydu z udziałem UmuD'. W przypadku promieniowania UV, głównymi uszkodzeniami są fotodimery pirymidyn i 6-4 fotoprodukty, a uszkodzenia zasad (fotohydraty cytozyny, glikole tyminy i fotoprodukty puryn) stanowią znacznie mniejszą część uszkodzeń i powstają po wyższych dawkach UV. Natomiast MMS powoduje głównie uszkodzenia DNA poprzez modyfikację zasad, które mogą być również źródłem miejsc AP.

Porównywano wydajność rewersji faga λ_{susO8} do *sus+* pod wpływem MMS i UV w warunkach niepermissywnych dla replikacji DNA faga w obecności wysokiego poziomu białka UmuD'.

Wykazano, że w obecności wysokiego poziomu białka UmuD', produkowanego z plazmidu pGW2122, częstość mutacji indukowanych przez MMS jest znacznie wyższa niż indukowanych przez promienie UV. Efekt ten jest szczególnie wyraźny w szczepie niezdolnym do naprawy przez wycinanie (*uvrA*), w którym obserwowano bardzo wysoką mutagenezę pod

wpływem MMS i niską pod wpływem UV. Wykazano ponadto zależność poziomu UV-indukowanej mutagenazy faga λ_{susO8} od dawki UV. W szczepie *uvrA*, UmuD'-zależna UV-mutagenaza występuje tylko pod wpływem wysokich dawek. Sugeruje to, że uszkodzeniami przedmutacyjnymi w procesie mutagenazy niezależnej od replikacji DNA są najprawdopodobniej modyfikacje zasad a nie fotodimery pirymidyn. Jest to zgodne z obserwacją, że MMS indukuje wyższy poziom mutacji niż promieniowanie UV.

Ponadto skonstruowano fuzję *umuD::lacZ* do dalszych badań nad funkcją białka UmuD w procesie mutagenazy.

Przygotowano do recenzji rozprawę doktorską mgr A. Bębenek podsumowującą wyniki badań nad mutacją *isfA*, istotną w regulacji systemu SOS.

Najważniejszy wynik badawczy

Uzyskanie wstępnych informacji o charakterze uszkodzeń przedmutacyjnych w procesie mutagenazy niezależnej od replikacji DNA oraz potwierdzenie znaczenia białka UmuD' w tym procesie.

PUBLIKACJE: 3103, 909/A, 919/A, 911/A, 912/A

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

Zespół: dr hab. Piotr Cegłowski, dr Jacek Bardowski, dr Katarzyna Lewicka (od 1.IX), mgr Izabela Kern (do 30.IX), mgr Renata Pankiewicz (do 30.IV), mgr Izabela Sitkiewicz (od 1.VII), mgr Urszula Zielenkiewicz

W ramach badań nad plazmidem pSM19035 szczegółowej analizie poddano region *segB*, który głównie odpowiada za wysoką stabilność segregacyjną plazmidu. Stabilność ta jest ok. 1000-krotnie wyższa, niżby to wynikało z losowego rozdziału plazmidów do dzielących się komórek bakterii. Region *segB* zawiera 4 geny: δ , ω , ϵ oraz ζ , z których dwa ostatnie stanowią jeden operon. Z wcześniejszych badań było wiadomo, że genu ϵ nie można uszkodzić w obecności funkcjonalnego genu ζ oraz, że samego genu ζ nie można sklonować ani w *B. subtilis* ani w *E. coli*. Obecnie w różnorodny sposób wykazano, że geny ϵ i ζ można rozdzielić, przy czym w warunkach *in trans* obniżenie ekspresji genu ϵ lub podwyższenie ekspresji genu ζ jest dla komórek *E. coli* toksyczne i prowadzi do wytwarzania filamentów. Obserwacje te wskazują na stabilizacyjne funkcjonowanie operonu ϵ - ζ na zasadzie trucizna-antidotum. W przypadku utraty plazmidu ustaje dopływ labilnego produktu genu ϵ , co

antidotum. W przypadku utraty plazmidu ustaje dopływ labilnego produktu genu ϵ , co prowadzi do ujawnienia toksycznego działania stabilnego produktu genu ζ . W ten sposób z populacji bakterii eliminowane są komórki pozbawione plazmidu. Operon ϵ - ζ reprezentuje pierwszy opisany dla plazmidów bakterii Gram dodatnich system uzależnienia komórek gospodarza od plazmidu, który one zawierają (plasmid addiction system).

Zbadano również regulację ekspresji genów regionu *segB*. Stwierdzono, że transkrypcja z promotorów genów δ i ω podlega represji przez białkowy produkt genu ω . Obydwa promotory poprzedzone są kilkakrotnie bezpośrednio powtórzoną charakterystyczną sekwencją heptanukleotydową, stanowiącą prawdopodobnie miejsce wiązania białka kodowanego przez gen ω . Podobna sekwencja poprzedza promotor genu negatywnego regulatora liczby kopii pSM19035, *copS*. Wykazano, że również promotor genu *copS* jest reprimowany przez produkt genu ω . Uzyskane rezultaty wskazują na rolę genu ω w procesach regulacji liczby kopii plazmidu i jego lepszej niż losowa dystrybucji do komórek potomnych.

Obiektem zainteresowania naszego Zespołu jest także *Lactococcus lactis*, bezpieczna dla zdrowia bakteria szeroko stosowana w przemyśle spożywczym (zwłaszcza mleczarskim), w tym w nowoczesnych biotechnologiach. Badania skoncentrowano na poznaniu u *L. lactis* nowych, dotychczas nie scharakteryzowanych szlaków metabolizmu cukrowego. Wykazano, że u bakterii pozbawionych plazmidu warunkującego zdolność do wykorzystywania do wzrostu laktozy (główny cukier występujący w mleku), można zaindukować β -galaktozydazę dodatkiem do pożywki cellobiozy. Oznacza to, że u bakterii tej występuje dodatkowy szlak asymilacji β -glukozydów. Rozpoczęto już klonowanie i sekwencjonowanie genów tego szlaku.

Kolekcję szczepów *L. lactis* przetestowano pod kątem zdolności do degradacji skrobi. Znaleziono jeden szczep pochodzenia roślinnego o wyraźnej aktywności amylolitycznej. Wykazano, że gen(y) warunkujący degradację skrobi występuje u tego szczepu na 30-kb plazmidzie. Technikami subklonowania zlokalizowano ten gen na fragmencie DNA o wielkości 8 kb. Wykazano, że gen ten: (a) - jest indukowany przez skrobię, a reprimowany przez glukozę, (b) - najprawdopodobniej nie ulega ekspresji w *Bacillus subtilis*.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Badania nad funkcjonowaniem genów regionu stabilności *segB* plazmidu pSM19035”;
kierownik - P. Ceglowski

Współpraca z zagranicą

- 1) Max-Planck Institut für molekulare Genetik, Berlin, Niemcy;
- 2) Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy en Josas, Francja.

Najważniejszy wynik badawczy

Odkrycie systemu uzależnienia komórek bakterii od plazmidu pSM19035 a także ustalenie roli genu ω w regulacji kontroli liczby kopii tego plazmidu i lepszego niż losowy rozdziału do komórek potomnych.

PUBLIKACJE: 3097, 3101, 35/N, 891/A, 893/A, 894/A, 895/A, 896/A, 898/A, 899/A, 900/A, 901/A, 902/A, 970/A, 972/A

Temat 28: Chemiczne podstawy mutagenyzy i reperacja adduktów cyklicznych.

Zespół: prof. dr hab. Jarosław Kuśmierek, mgr Agnieszka Bukowska, mgr Ewa Borys.

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI KODUJĄCYCH MODYFIKOWANYCH ZASAD.

Syntetyzowano matryce oligodeoksynukleotydowe o zadanej sekwencji zawierające 2-chloro-2'-deoksyadenozynę (2CDA, lek przeciwbiałaczkowy) w określonej pozycji. Wyznaczono parametry kinetyczne (K_m i V_{max}) katalizowanej przez AMV odwrotną transkryptazę inkorporacji dTTP, dCTP, dGTP i dATP naprzeciwko 2CDA i niemodyfikowanej A w kilku różnych sekwencjach. Uzyskane wyniki prowadzą do wniosku, że obecność 2CDA w matrycy DNA spowalnia replikację DNA, ale nie prowadzi do mutacji typu substytucji.

Przeprowadzono badania nad doбором optymalnych grup chroniących dla 2'-deoksyizoguanozyny w celu syntezy odpowiedniej pochodnej fosfoamidytowej, a następnie matryc oligodeoksynukleotydowych zawierających izoguaninę w określonych pozycjach.

REPERACJA ADDUKTÓW CYKLICZNYCH.

Prowadzono dalsze poszukiwania inhibitorów glikozylazy II 3-metyloadenina-DNA z *E. coli* (alk A). Przebadano ponad 50 modyfikowanych zasad i nukleozydów i nie znaleziono inhibitora o zadowalających właściwościach ($IC_{50} \ll 1mM$).

Przeprowadzono badania nad mutagenizacją i reperacją adduktów cyklicznych tworzonych przez akroleinę, aldehyd krotonowy, glioksal oraz benzochinon w układzie faga M13mp19 (IB7)/*E. coli* JM 105 pozwalającym na selektywną detekcję tranzykcji G- $\rightarrow$ A. Wstępne wyniki wskazują, że indukcja alkA nie zmienia w istotny sposób mutagenyzy i przeżycia faga traktowanego wyżej wymienionymi mutagenami. Natomiast addukty aldehydu

Wstępne wyniki wskazują, że indukcja *alkA* nie zmienia w istotny sposób mutagenyzy i przeżycia faga traktowanego wyżej wymienionymi mutagenami. Natomiast addukty aldehydu chlorooctowego (CAA), których reperację przez *alkA* stwierdziliśmy poprzednio w różnych układach doświadczalnych, są reperowane w badanym układzie. Rozpoczęto analogiczne próby z dwualdehydem malonowym (MDA), którego addukty posiadają strukturę podobną do struktury adduktów CAA.

Projekty badawcze KBN

- 1) „Molekularne podstawy mutagenyzy: badanie wpływu sąsiadujących zasad na właściwości kodujące modyfikowanych zasad podczas replikacji DNA”; kierownik - J. Kuśmierek
- 2) „Mechanizm działania i potencjalne inhibitory glikozylazy 3-metyloadenina-DNA pochodzenia bakteryjnego i ludzkiego” (grant promotorski dla mgr Ewy Borys)

Najważniejszy wynik badawczy

2-Chloro-2'-dezoksyadenozyna (2CDA, lek przeciwbiałaczkowy) obecna w matrycy DNA utrudnia replikację DNA, ale nie prowadzi do mutacji typu podstawienia.

PUBLIKACJE: 3121

Temat 29: Analiza molekularna genów kodujących enzymy katabolizmu argininy u

Aspergillus.

Zespół: Prof. dr hab. P. Węgleński, dr P. Borsuk, dr A. Dzikowska, dr R. Kucharski, mgr J. Empel, mgr A. Grzelak

Zakończono sekwencjonowanie klonów genomowych i cDNA dla genów struktury kodujących arginazę (*agaA*) i transaminazę ornitynową (*otaA*) oraz genu *arcA*, kodującego główny regulator pozytywny dla katabolizmu argininy. Ustalono miejsce startu i terminacji transkrypcji dla obu w/w genów struktury oraz miejsca wiązania białek regulacyjnych AREA i CREA z promotorami tych genów.

Zbadano ilość i rodzaj transkryptów genu *agaA* w zależności od warunków wzrostowych, a w szczególności od źródła azotu w podłożu. Sklonowano i zsekwencjonowano gen *pet*, którego locus znajduje się w sąsiedztwie genu kodującego arginazę i w obrębie którego mieści się przynajmniej jedno z miejsc startu transkrypcji tego genu.

Najważniejszy wynik badawczy

Sklonowanie i scharakteryzowanie genu regulatorowego *arcA*.

PUBLIKACJE: 3165

Temat 30. Analiza mutantów typu *suv3* u *S. cerevisiae*.

Zespół: doc. dr hab. Piotr P. Stepień, prof. dr hab. E. Bartnik, dr A. Dmochowska,
mgr P. Golik

Gen *SUV3* jest kodowany przez genom jądrowy *S. cerevisiae* i jego produkt - helikaza RNA funkcjonuje w mitochondriach jako regulator stabilności transkryptów. Mutanty w genie *SUV3* mają zaburzony metabolizm mitRNA. Nasze badania koncentrowały się na zmianach poziomu akumulacji intronu omega w zależności od warunków fizjologicznych wzrostu komórek drożdży. Stosując metodę ilościowego badania hybrydyzacji typu Northern udało się nam ustalić, że aktywność degradosomu mitochondrialnego osiąga maksimum na pożywce pełnej.

Nasze badania koncentrowały się także na fenotypach dysruptanta genu *DSS-1*, który został przez nas sklonowany jako supresor dysrupcji genu *SUV3*. Analiza ilościowa hybrydyzacji typu Northern wykazała, że silnie akumulowany jest intron omega. Wynik ten potwierdza naszą hipotezę, że produkty obu genów: Suv3p i Dss-1p funkcjonują w mitochondriach w jednym kompleksie i pełnią tę samą funkcję w regulacji stabilności messengerów mitochondrialnych u *S. cerevisiae*.

Współpraca z zagranicą

Centre de Genetique Moleculaire CNRS Gif-sur-Yvette, Francja

Temat 32.1: Składanie, dziedziczenie i rozpad kompleksu replikacyjnego bakteriofaga λ .

Zespół: dr Alicja Węgrzyn, prof. Karol Taylor

Uzupełnieniem naszych badań nad dziedziczeniem kompleksu replikacyjnego plazmidu λ w głodzonych aminokwasowo komórkach *Escherichia coli relA* była praca, w której wykazaliśmy, że w tych warunkach funkcja genu *dnaJ* jest zastępowana funkcją genu *cbpA*. Białko CbpA (curved DNA-binding protein) jest niedawno wykrytym funkcjonalnym analogiem białka opiekuńczego DnaJ, a gen *cbpA* znajduje się pod kontrolą promotora zależnego od aktywności podjednostki σ^S polimerazy RNA, której funkcjonowanie ujawnia się przy przejściu bakterii do fazy stacjonarnej wzrostu.

zależnego od aktywności podjednostki σ^S polimerazy RNA, której funkcjonowanie ujawnia się przy przejściu bakterii do fazy stacjonarnej wzrostu.

Replikacja DNA plazmidu λ zachodząca w wyniku aktywności dziedzicznego kompleksu replikacyjnego (badana przez nas obecnie w komórkach *E.coli* wt rosnących w pełnej pożywce) wymaga funkcji genów kodujących białka opiekuńcze DnaK, DnaJ i GrpE oraz genu kodującego białko inicjatorowe DnaA. Wcześniej wykazaliśmy, że funkcja DnaA aktywuje transkrypcyjną aktywację *origin* replikacji, *ori λ* . W pracy wykazaliśmy, że niezdolność plazmidu λP^+ do replikacji w temperaturze 30°C we wrażliwych na temperaturę mutantach *dnaK756*, *dnaJ259*, *grpE280*, *dnaB(groPA15)*, *dnaA508*, *dnaA46* i *dnaA204* ulega supresji w wyniku pojedynczej mutacji π w genie λP . Udokumentowane wcześniej w badaniach *in vitro* przez I. Koniecznego i J. Marszałka słabsze oddziaływanie zmutowanego białka λP ($\lambda\pi$) z DNA helikazą DnaB (w porównaniu z interakcją λP -DnaB) jest prawdopodobnie odpowiedzialne za przedstawioną wyżej supresję. Ważnym wnioskiem z naszych badań jest to, że regulowana przez DnaA transkrypcyjna aktywacja *ori λ* zachodzi na etapie, w którym wszystkie te białka współdziałają, a więc podczas umieszczania struktury zawierającej helikazę DnaB (pre-primosom, dziedziczny kompleks replikacyjny) między komplementarnymi niciami λ DNA - czemu towarzyszy uwolnienie helikazy DnaB od działania jej inhibitora, białka λP .

Badania nad dziedziczeniem kompleksu replikacyjnego λ w komórkach *E.coli* wt rosnących w pełnej pożywce wymagają podwyższania temperatury celem inaktywacji białek z mutacją wrażliwości na temperaturę. Okazało się, że w tych warunkach kompleks replikacyjny plazmidu λ^+ (λcro^+) ulega rozpadowi, o czym można wnioskować z tego, że zawarte w tym kompleksie białko inicjatorowe, λO , staje się wrażliwe na działanie proteazy ClpP/ClpX. Wykryliśmy, że do rozpadu kompleksu replikacyjnego λ wywołanego szokiem cieplnym niezbędna jest indukcja operonu *groE*, kodującego białka opiekuńcze GroEL i GroES. Wywołana szokiem cieplnym indukcja operonu *groE* obecnego w wielokopiowym plazmidzie hamowała wzrost faga zakażającego.

Podstawą badań nad dziedziczeniem kompleksu replikacyjnego λ w warunkach "standardowych", t.j. w komórkach *E.coli* wt rosnących w pełnej pożywce było odkrycie, że kompleks replikacyjny plazmidu $\lambda crots$ nie ulega rozpadowi podczas szoku cieplnego. Wykazaliśmy, że mutacja *ts1* w genie λP inaktywuje w 43°C funkcję białka λP niezbędną do składania nowego kompleksu replikacyjnego. A zatem po podwyższeniu temperatury z 30 do 43°C replikacja DNA plazmidu $\lambda crots Pts1$ mogła zachodzić wyłącznie w wyniku aktywności kompleksu replikacyjnego, który został złożony jeszcze w 30°C. Przedstawiliśmy szereg dowodów, że w tym układzie kompleks replikacyjny złożony przed podwyższeniem temperatury jest dziedziczony przez jedną z dwu potomnych kopii plazmidowych po każdym cyklu replikacji, przez więcej niż 30 generacji komórkowych. Replikacja napędzana przez "stary" kompleks replikacyjny jest niewrażliwa na chloramfenikol, co tłumaczymy tym, że

przy pomocy mutacji *Ots*). Replikacja ta ulega zahamowaniu przez rifampicynę, co interpretujemy koniecznością transkrypcyjnej aktywacji *ori* λ . Zjawisko to, a także zależność badanej replikacji od funkcji DnaK, DnaJ i GrpE sugerują, że i w przypadku dziedzicznego kompleksu replikacyjnego ta struktura zawierająca helikazę DnaB musi zostać umieszczona pomiędzy komplementarnymi niciami λ DNA w wyniku współdziałania wymienionych białek opiekuńczych i transkrypcji aktywującej *ori* λ . Nasza praca przedstawiła pierwszy przypadek dziedziczenia kompleksu replikacyjnego; być może, zjawisko to ma charakter ogólny. Zawierający białko inicjatorowe λ O kompleks replikacyjny jest dziedziczony razem z DNA i zawiera informację dotyczącą inicjacji nowego cyklu replikacji w *ori* λ , uważamy zatem, że ten proces może być uznany jako dziedziczenie białka.

W pracy przeglądowej, poświęconej pamięci profesora Władysława Kunickiego-Goldfingera porównałem rolę funkcji DnaA w kontroli replikacji DNA plazmidu λ i chromosomu *E.coli*. DnaA aktywuje transkrypcyjną aktywację *origin* replikacji λ DNA. Na podstawie naszych jeszcze nieopublikowanych prac zasygnalizowałem rolę DnaA w blokadzie reinicjacji replikacji plazmidu λ podczas cyklu komórkowego.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazaliśmy po raz pierwszy, że komórkowy system Hsp60 (GroEL) bierze udział w rozkładzie naturalnej (lecz obcej) struktury białkowej o wysokim stopniu organizacji pod wpływem stresu wywołanego szokiem cieplnym. Jeśli okaże się, że zjawisko to dotyczy innych układów "wirus-komórka", może stać się ono podstawą nowego podejścia w leczeniu chorób wirusowych.

Wykazaliśmy, że w warunkach bezstresowych białkowy kompleks replikacyjny może być dziedziczony wspólnie z DNA po każdym cyklu replikacyjnym bez ograniczeń w czasie. Ponieważ kompleks ten zawiera białko inicjatorowe swoście rozpoznające *origin* replikacji, a więc informację jak swoście zainicjować replikację, proces ten można nazwać dziedziczeniem białka. Nasze modelowe doświadczenia mogą zainicjować analogiczne badania w komórkach eukariotycznych.

PUBLIKACJE: 3166, 3167, 3168, 3169, 915/A, 916/A, 918/A, 919/A, 926/A, 5, 6

Temat 32.2: Udział białek szoku termicznego w modulacji aktywności DNA-zależnej polimerazy RNA z bakterii *Escherichia coli*.

Zespół: prof. dr hab. Maciej Żylicz, mgr Adam Błaszczak, dr hab. Krzysztof Liberek

W wyniku naszych badań nad molekularnym mechanizmem autoregulacji odpowiedzi szoku termicznego zaproponowaliśmy model obejmujący:

1. oddziaływanie białek szoku termicznego z czynnikiem σ^{32} , co blokuje oddziaływanie σ^{32} z rdzeniem polimerazy RNA i w konsekwencji doprowadza do obniżenia transkrypcji genów szoku termicznego, a także
2. reaktywację zainaktywowanej σ^{70} , co poprzez odbudowanie puli aktywnej σ^{70} przywraca konkurencję pomiędzy σ^{70} i σ^{32} i w efekcie hamuje transkrypcję genów szoku termicznego.

Celem naszej pracy było zbadanie roli białek szoku termicznego DnaK, DnaJ i GrpE w procesie degradacji czynnika σ^{32} warunkującego ekspresję genów kodujących białka szoku termicznego co mogłoby wskazywać na następny poziom autoregulacji odpowiedzi szoku termicznego, na którym to białka szoku termicznego modulują stabilność czynnika σ^{32} . Zrekonstruowano system *in vitro* inicjacji transkrypcji genów kodujących białka szoku termicznego a także opracowano dwa systemy testowania degradacji czynnika σ^{32} . W tym celu, w oparciu o system transkrypcji/translacji uzyskano radioaktywną σ^{32} , którą po odpowiednim oczyszczeniu wykorzystano w jednym z systemów specyficznej degradacji σ^{32} . Wykazano, iż efektywne współzawodnictwo czynników σ^{32} i σ^{70} o wiązanie z rdzeniem RNA polimerazy może mieć wpływ na stabilność σ^{32} . Okazało się, że obecność rdzenia DNA-zależnej RNA polimerazy chroni czynnik transkrypcyjny σ^{32} przed degradacją. Proces ten może ulec odwróceniu poprzez dostarczenie nadmiaru czynnika σ^{70} lub też przez obecność białek DnaK, DnaJ i GrpE. Zwiększona wydajność degradacji σ^{32} powodować będzie hamowanie transkrypcji genów szoku termicznego co w efekcie popiera hipotezę autoregulacji odpowiedzi szoku również na poziomie proteolizy.

Celem naszych dalszych badań stało się poszukiwanie nowych proteaz specyficznie degradujących czynnik σ^{32} oraz pełniejsze zbadanie roli białek szoku termicznego w tym procesie.

Współpraca z zagranicą

Universite de Geneve, Faculte de Medecine, Departement de Biochimie Medicale, Szwajcaria.

Najważniejszy wynik badawczy

Zrekonstruowano system *in vitro* inicjacji transkrypcji genów kodujących białka szoku termicznego.

Wykazano że obecność rdzenia DNA-zależnej RNA polimerazy chroni czynnik transkrypcyjny σ^{32} przed degradacją. Proces ten może ulec odwróceniu poprzez dostarczenie nadmiaru σ^{70} lub też przez obecność białek DnaK, DnaJ i GrpE.

PUBLIKACJE: 974/A, 975/A, 956/A, 7

Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów

Sprawozdanie z działalności usługowej

W ramach działalności usługowej zsyntetyzowano 275 oligonukleotydów oraz zsekwencjonowano 597 matryc DNA, co przy średniej długości odczytu 350 bp daje 208950 par zasad.

Syntezy oligonukleotydów i sekwencjonowanie matryc wykonano dla następujących zakładów IBB:

1. Zakład Genetyki	305 matryc	47 oligonukleotydów
2. Zakład Biochemii Drobnoustrojów	79 matryc	27 oligonukleotydów
3. Zakład Biosyntezy Białka	104 matryce	83 oligonukleotydy
4. Zakład Biochemii Roślin	47 matryc	16 oligonukleotydów
5. Zakład Biochemii Lipidów	37 matryc	11 oligonukleotydów
6. Zakład Biologii Molekularnej	8 oligonukleotydów	
7. Zakład Biofizyki	4 matryce	2 oligonukleotydy
8. Zakład Genetyki UW	2 matryce	46 oligonukleotydów
9. Pracownia Mutagenезy i Reperacji DNA	19 matryc	35 oligonukleotydów
10. Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów	104 matryce	71 oligonukleotydów

Oprócz zamówień z Instytutu Biochemii i Biofizyki zrealizowane zostały zamówienia dla zlecniodawców spoza Instytutu:

1. Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa (Skierniewice)	17 matryc
2. Państwowy Instytut Weterynaryjny (Puławy)	
dwa konsensusy: 1920 par zasad oraz 607 par zasad	10 oligonukleotydów
3. Instytut Technologii Żywności (Warszawa)	
konsensus - 2450 par zasad	
4. Instytut Mikrobiologii Wydziału Biologii UW	
konsensusy: 1100, 1264, 3358, 4338 par zasad	
5. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego (Warszawa)	
26 matryc	
6. Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego	
2 matryce	8 oligonukleotydów
7. Zakład Wirusologii UW	10 oligonukleotydów
8. Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (Błonie)	
konsensus - 694 pary zasad	

Środowiskowe Laboratorium NMR

Zespół: doc. dr hab. Andrzej Bierzyński, dr Jacek Wójcik, mgr Igor Żukow, dr Beata Toczyłowska (1/4 etatu), mgr Beata Mikołajek (1/2 etatu).

Zgodnie ze swymi zadaniami statutowymi Laboratorium wykonywało pomiary widm NMR dla szeregu laboratoriów. Wykorzystanie przyrządu przedstawia się następująco:

Kierownik projektu	Instytucja	Czas pracy przyrządu
prof. J. Mokrzycki	UW, Filia w Białymstoku, Instytut Chemii	2,5 h
prof. S. Tyrlik	Wyższa Szkoła Rolnicza, Siedlce	56,0 h

doc. M.Pietraszkiewicz	ICHO PAN, Warszawa	30,0 h
dr hab. R.Stolarski	UW, Instytut Fizyki Doświadczalnej	200,0 h
dr P.Glinkowska	AM, Zakład Farmakognozji	15,0 h
dr W.Jankowski	IBB PAN, Zakład Biochemii Lipidów	35,0 h
prof. K.Kamieńska-Trela	ICHO PAN, Warszawa	85,0 h
dr J.Poznański	IBB PAN, Zakład Biofizyki	200,0 h
dr Z.Zarębska	IBB PAN, Zakład Biologii Molekularnej	50,0 h
prof. J.Otlewski	U.Wr. Inst. Biochemii i Biologii Molekularnej	120,0 h
Usługi-zlecenia razem		793,0 h
Prace własne		ok. 1250 h
Razem ok.		2040 h

W celu opanowania nowych sekwencji pulsów, metod pomiaru ^{15}N i ^{13}C oraz metod analizy strukturalnej przeprowadzono pomiary kilku peptydów, w szczególności analogów wazopresyny, co zajęło ok. 600 h pracy przyrządu.

Przeprowadzono pełne badania (widma NOESY, COSY i TOCSY) i określono strukturę mutantu Met8→Leu białka CMTI. (400 h pracy przyrządu).

We współpracy z Wydziałem Anestezjologii i Intensywnej Terapii Akademii Medycznej w Warszawie dr B.Toczyłowska prowadziła badania NMR płynu mózgowo-rdzeniowego mające na celu opracowanie metod diagnostyki chorób mózgu (250 h pracy aparatu).

Działalność dydaktyczna polegała na prowadzeniu cyklu seminariów poświęconych metodom magnetycznego rezonansu jądrowego (w sumie 10 godzin) w których uczestniczyli pracownicy Laboratorium i kilku pracowników Zakładu Biofizyki IFD UW. Ponadto przeprowadzono szkolenie dwu pracowników doc. M.Pietraszkiewicza z ICHO PAN.

PUBLIKACJE: 971/A, 973/A.

SZKOŁA BIOLOGII MOLEKULARNEJ/STUDIA DOKTORANCKIE

(Temat 31: prof. Grażyna Palamarczyk, prof. Joanna Rytka, prof. Andrzej Jerzmanowski)

Pierwszego października br. powołano, w ramach Szkoły Biologii Molekularnej przy IBB PAN, Studia Doktoranckie. Prawa i obowiązki doktorantów odbywających studia zostały podane w regulaminie wewnętrznym IBB PAN, opartym na rozporządzeniu Ministra Edukacji Narodowej z dn. 10 czerwca 1991r.

Wszystkie osoby przyjęte do Instytutu po 1 października br., z zamiarem wykonania pracy doktorskiej, są doktorantami odbywającymi Studia Doktoranckie. Stali się nimi również dotychczasowi uczestnicy Szkoły Biologii Molekularnej, którzy byli zatrudnieni na etatach biologów lub chemików, a także słuchacze, którzy na własną prośbę chcieli otrzymać status doktoranta.

Zgodnie z regulaminem Studia Doktoranckie trwają 4 lata, z możliwością przedłużenia o jeden rok.

W chwili obecnej SBM/Studia Doktoranckie liczy 66 osób, w tym 22 na Studiach Doktoranckich. W roku bieżącym przyjęto na Studia 12 osób. Stopień doktora otrzymało sześć osób.

Działalność dydaktyczna

W dniach 18-22 stycznia 1996r. zorganizowano przy współpracy IBB PAN i Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin konferencję nt.: "Gene Structures and Expression in Plant Pathogenes". W konferencji wzięło udział siedmiu naukowców z Francji, którzy wygłosili następujące wykłady:

1. Dr. Christophe ROBAGLIA (Laboratoire de Biologie Cellulaire INRA) "Strategy for constructing virus resistant transgenic plants"
2. Dr. Thierry CANDRESSE (Station de Pathologie Vegetale, Centre de Recherches de Bordeaux, INRA) "Strategy for constructing virus resistant transgenic plants"
3. Dr. Christian BOUCHER (Laboratoire de Biologie Moleculaire des Relations Plantes - Micro - Organismes INRA-CNRS) "Role of hrp genes in the control of pathogenicity in plant pathogenic bacteria"
4. Prof. Francis KARST (Laboratoire des Microorganismes, Universite de Poitiers) "The isoprenoid pathway in *S. cerevisiae*"

5. Dr. Anne-Lise HAENNI (Universite de Paris VII - CNRS) "The remarkable features of Tenuiviruses, plant viruses that resort to the "ambisense" strategy"
6. Dr. Françoise BERNARDI (Universite de Paris VII - CNRS) "The amazing diversity of mechanisms used by viruses for their expression"
7. Prof. François LACROUTE (Centre de Genetique Moleculaire du CNRS, Associee a l'Universite Pierre et Marie Curie) "Uses of yeast complementation for plants cDNA cloning"

Ponadto zorganizowano pięć dyskusji „okrągłego stołu” z udziałem zaproszonych wykładowców, na których doktoranci IBB PAN związani z prezentowaną tematyką przedstawili wyniki swoich prac.

Tematy dyskusji:

1. Strategy for constructing virus resistant transgenic plants.
2. The amazing diversity of mechanisms used by viruses for expression.
3. The role of hrp genes in the control of pathogenicity in plant pathogenic bacteria.
4. Uses of yeast complementation for plant cDNA cloning.
5. Isoprenoid pathway in *Saccharomyces cerevisiae* as a target for designing antifungal agents.

W ramach SBM/Studia Doktoranckie odbyły się, a także są prowadzone obecnie następujące zajęcia teoretyczne:

1. Biologia molekularna i genetyka grzybów, - 30 godz. wykładów prowadzonych przez pracowników Z-du Genetyki i Z-du Biochemii Lipidów IBB.
2. Biotechnologia Roślin, - 30 godz wykładów, które prowadził Prof. Malepszy z Katedry Genetyki i Hodowli Roślin SGGW-Akademia Rolnicza.

W każdym z cyklów wykładów uczestniczyło 25-30 osób.

W październiku br. rozpoczęto cykl seminariów dla doktorantów w grupach około 10-osobowych. Słuchacze wybrali z 6. zaproponowanych tematów dwa. Pierwszy prowadzony przez Roberta Gromadkę (Pracownia Sekwencjonowania Białek, słuchacz SBM), to „Sekwencjonowanie Genomów”. W ramach cyklu, każdy z uczestników przygotowuje seminarium. Przewidziane tematy to: „Genom *S.cerevisiae*”, „Analiza funkcji otwartych ramek odczytu w genomie drożdży”, „Genomy: *E.coli*, faga P₁, *Haemophilus influenza*, *Bacillus subtilis* oraz genom chloroplastowy roślin wyższych i genom człowieka”. Ponadto „Wykorzystanie systemu dwuhybrydowego do badania interakcji białek”.

W styczniu 1997 roku przewidziane jest rozpoczęcie następnego cyklu seminariów na temat: „Transkrypcja w trzech wymiarach”.

Finanse

Uczestnictwo doktorantów w Zjeździe PTBioch (Kraków, 17-20.20.96) a także w Konferencji pt.: „Regulacyjne funkcje fosforylacji białek” (Kazimierz Dolny, 20-21.06.96) było finansowane z funduszy SBM.

Ponadto SBM pokryła koszty wyjazdu A.Chacińskiej (Z-d Genetyki) na FEBS (Barcelona, 07-12.07.96), a także na staż naukowy do Szwajcarii.

Kierownictwo SBM/SD przyznało 13 stypendiów na sfinansowanie pracy naukowej (zakup odczynników i drobnego sprzętu) doktorantom, którzy rozpoczęli pracę w naszym Instytucie. Stypendia zostały przyznane na podstawie krótkich projektów badawczych przygotowanych przez doktorantów.

Działalność naukowa doktorantów

Uczestnicy SBM wzięli udział w Zjazdach Krajowych i Zagranicznych, takich jak: FEBS 1 osoba; PTBioch. 11 osób; Konferencji pt.: „Regulacyjne funkcje fosforylacji białek” - 6 osób. Warunkiem sfinansowania wyjazdu było przedstawienie wyników prac w formie ustnej lub plakatu. Ponadto 47 doktorantów przedstawiło wyniki prac na Sympozjum sprawozdawczym IBB PAN pt.: „Genes and their Products in Basic Research and Biotechnology”. Trzydziestu jeden doktorantów jest współautorami prac eksperymentalnych opublikowanych w 1996r.

W dniach 9 i 10 grudnia 1996r. została zorganizowana, przy udziale Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin, międzynarodowa konferencja na temat: „Molekularna analiza genomów mikroorganizmów”. W ramach konferencji 10. doktorantów przedstawiło wyniki swoich prac badawczych w formie 15. minutowych ustnych komunikatów wygłoszonych w języku angielskim.

Działalność dydaktyczna doktorantów

1. Prowadzenie cykli seminaryjnych dla doktorantów rozpoczynających Studia Doktoranckie (obecne i planowane): Anna Bębenek, Jan Brzeski, Arkadiusz Ciesielski, Monika Góra, Maria-Anna Grązewicz, Robert Gromadka, Marcin Grynberg, Roksana Iwanicka, Piotr Mieczkowski, Anna Wójcik.

2. Prowadzenie ćwiczeń dla studentów MISMAP UW.

W przygotowaniu skryptu do ćwiczeń oraz prowadzeniu zajęć (ok. 10 godz. każdy) z Biologii Molekularnej dla studentów UW (grupa MISMAP) wzięli udział: Robert Gromadka, Ewa Grzybowska, Agata Konopińska, Andrzej Migdalski i Marzena Sieńko. Skrypt do ćwiczeń: „Biologia Molekularna dla studentów MISMAP” został przygotowany przy współpracy Z-du Genetyki UW i pomocy finansowej (podobnie jak organizacja pracowni do ćwiczeń) funduszu PHARE SCI-TECH dla IBB PAN i UW.

POLSKO - FRANCUSKIE 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 dotowało w 1996 r. realizację następujących programów badawczych prowadzonych w Polsce przy współpracy z placówkami francuskimi:

A. Kontynuacja programów z 1995 r.:

Dr Anna Przykorska, Dr Elżbieta Kuligowska, Mgr Maria Piszczek (IBB PAN), Zastosowanie enzymów nukleolitycznych z roślin wyższych do ustalenia struktury przestrzennej niestandardowego tRNA^{Ser} z *Candida albicans* - współpraca z Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire w Strasbourg.

Dr Ewa Świeżewska, Mgr Beata Kazimierczak, Mgr Małgorzata Szymańska (IBB PAN), Badanie biosyntezy i właściwości wybranych izoprenoidów - współpraca z Laboratoire de Chimie Organique des Substances Naturelles CNRS w Strasbourg.

Prof. Grażyna Palamarczyk, Dr Anna Szkopińska, Mgr Kariona Grabińska, Mgr Dorota Grabowska (IBB PAN), Regulacja biosyntezy dolicholi i ich glikozylowanych pochodnych w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae* - współpraca z uniwersytetem w Poitiers.

Prof. Joanna Rytka, Mgr Marek Zagulski, Mgr Andrzej Migdalski, Mgr Robert Gromadka, Mgr Jolanta Sulicka, Mgr Monika Góra (IBB PAN), Sekwencjonowanie genomu drożdży -

analiza funkcjonalna nowo zidentyfikowanych otwartych ramek odczytu - współpraca z Centre de Génétique Moléculaire CNRS w Gif-sur-Yvette.

Dr Teresa Żołądek, Prof. J. Rytka, Mgr Monika Góra, Mgr Ewa Grzybowska, Mgr Marcin Grynberg (IBB PAN), Regulacja biosyntezy hemu w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae* - współpraca z Institut J. Monod w Paryżu.

Prof. Danuta M. Hulanicka, Mgr Marek Juszczuk, Dr Andrzej Palucha, Mgr Krzysztof Płuta, Mgr Ewa Sadowy (IBB PAN), Konstrukcja infekcyjnych klonów cDNA wirusa liściozwoju ziemniaka i badanie ich aktywności w roślinie gospodarza - współpraca z Institut des Sciences Végétales CNRS w Gif-sur-Yvette.

Mgr Anna Chachulska (IBB PAN), Badanie polimorfizmu genomu wirusa Y ziemniaka (PVY) metodą otrzymywania pełnych kopii cDNA genomu i analizy restrykcyjnej (RFLP) - współpraca z INRA Versailles.

Mgr Anna Góra (IBB PAN), Uzyskanie roślin ziemniaka odpornych na zakażenie wiroidem wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd) - współpraca z INRA Bordeaux.

Dr Joanna Michalik, Mgr Ewa Szołajska (IBB PAN), Zastosowanie bakulowirusa w kontroli populacji szkodników leśnych - współpraca z Institut de Biologie Structurale w Grenoble.

Prof. Andrzej Jerzmanowski, Mgr Marta Prymakowska-Bosak, Mgr Jacek Iwkiewicz, Mgr Marcin Przewłoka (Instytut Biologii Eksperymentalnej Roślin UW), Identyfikacja genów odpowiedzialnych za defekty rozwojowe w roślinach tytoniu z nadekspresją histonu H1 - współpraca z Institut de Biologie Moléculaire des Plantes CNRS w Strasbourgu.

Prof. Anna Rychter, Mgr Szecherezada Rydz (IBER UW), Regulacja ekspresji genu kodującego karboksylazę fosfoenolopirogronianu u sorga - współpraca z Université Paris XI.

Prof. Alina Kacperska, Mgr Danuta Solecka (IBER UW), Przemiany związków fenolowych w liściach rzepaku w odpowiedzi na działanie niskiej temperatury - współpraca z Université Paul Sabatier w Toulouse.

Prof. Piotr P. Stępień, Prof. Ewa Bartnik, Dr Aleksandra Dmochowska, Mgr Paweł Golik (Zakład Genetyki UW), Badanie wpływu genów jądrowych na metabolizm RNA w mitochondriach - współpraca z Centre de Génétique Moléculaire CNRS w Gif-sur-Yvette.

Prof. Piotr P. Węgleński, Dr Piotr Borsuk, Dr Agnieszka Dzikowska, Dr Joanna Empel, Mgr Anna Grzelak (Zakład Genetyki UW), Regulacja katabolizmu argininy i proliny u *Aspergillus* - współpraca z Institut de Microbiologie Université Paris XI.

Dr Jan Podkowiński (IChB PAN), Charakterystyka genu ENOD40 *Lupinus luteus* - struktura genu i jego ekspresja w trakcie rozwoju brodawki - współpraca z Institut des Sciences Végétales CNRS w Gif-sur-Yvette.

Dr Michał Sikorski, Mgr Alina Akuszevska (Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu), Analiza produktów ekspresji genów kodujących białka klasy PR10 metodą RT-PCR podlegających transkrypcyjnej aktywacji po infekcji rośliny patogenami bakteryjnymi lub grzybowymi - współpraca z Institut des Sciences Végétales CNRS w Gif-sur-Yvette.

B. Programy rozpoczęte w 1996 r.:

Dr Barbara Tudek, Prof. Jarosław Kuśmierek, Mgr Maria Grażewicz, Mgr Ewa Borys (IBB PAN), Uszkodzenia DNA i ich naprawa jako podłoże zmian chorobotwórczych i ewolucji gatunków - współpraca z Institut Gustave Roussy w Villejuif.

Dr Grzegorz Przewłocki (IBB PAN), Badanie roślinnych RNA nową RNazą specyficzną do sekwencji - współpraca z INSERM - CHU Necker w Paryżu.

Dr Renata Bogatek, Dr Bożena Maciejewska (IBER UW), Katabolizm materiałów zapasowych w nasionach słonecznika (*Helianthus annuus* L.) poddanych osmotycznemu prekondycjonowaniu - współpraca z Université Pierre et Marie Curie w Paryżu i z INRA Bordeaux.

Dr Paweł Stróżycki, Mgr Elżbieta Czarnecka (IChB PAN), Elementy gospodarki żelazem w tkankach roślinnych - czy istnieją ferrytyny "symbiotyczne"? - współpraca z Institut des Sciences Végétales CNRS w Gif-sur-Yvette i INRA-ENSAM w Montpellier.

Mgr Joanna Jeleńska (IChB PAN), Ekspresja genów cyklu komórkowego (cyklin) w łubinie żółtym - współpraca z Institut des Sciences Végétales CNRS w Gif-sur-Yvette.

Dr Pierre Berbezy (IChB PAN), Identyfikacja genów roślinnych o indukowanym charakterze uczestniczących w symbiotycznym wiązaniu azotu - staż podoktorski francuskiego doktora w polskiej placówce naukowej.

Ponadto, Centrum pośredniczy w organizacji współpracy między Pracownią Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów IBB PAN z zespołem prof. Piotra Słonimskiego z CGM CNRS w Gif-sur-Yvette przy sekwencjonowaniu genomu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i z zespołem prof. Régisa Mache'a z Université Fourier w Grenoble przy sekwencjonowaniu genomu *Arabidopsis thaliana*.

Środki znajdujące się w dyspozycji Centrum przeznacza się również na organizację i finansowanie łączonej polsko-francuskiej opieki naukowej nad pracą sześciu polskich doktorantów (IBB PAN, Uniwersytet Warszawski, IChB PAN, Uniwersytet Wrocławski).

Działalność Centrum w 1996 r. objęła również współorganizację konferencji i kursów naukowych dla doktorantów i młodych pracowników naukowych z udziałem naukowców francuskich.

W symposium "Gene Structures and Expression in Plant Pathogenesis", zorganizowanym w Warszawie 18 i 19 stycznia 1996 r., wzięło udział siedmiu naukowców z Francji oraz polscy doktoranci i naukowcy.

W dn. 3-5 czerwca 1996 r., odbył się w Warszawie polsko-francuski kurs bioinformatyki, w którym wzięło udział około pięćdziesięciu osób, w tym wykładowcy z INRA i firmy Infobiogen. W ramach kursu, 25 osób wzięło udział w zajęciach praktycznych.

W dn. 9-10 grudnia 1996 r. odbyła się w Warszawie konferencja zatytułowana "Molecular Analyses of Genomes of Microorganisms" z udziałem trzech naukowców z Instytutu Biologii Fizyko-Chemicznej w Paryżu. W konferencji wzięło udział 13-u magistrantów i doktorantów z IBB i UW.

Spektakularnym wynikiem organizowanej przez Centrum współpracy polsko-francuskiej jest ukazanie się specjalnego zeszytu międzynarodowego czasopisma "Biochimie", wydawanego we Francji. Zeszyt ten, zatytułowany "Biologia molekularna w Polsce" zawiera oryginalne prace naukowe wykonane w polskich laboratoriach (IBB PAN, IChB PAN, Uniwersytet Warszawski, Uniwersytet Jagielloński, Uniwersytet Gdański, Śląska Akademia Medyczna, Akademia Rolnicza w Poznaniu) w większości przypadków przy współpracy z kolegami francuskimi.

Ponadto Centrum wielokrotnie uczestniczyło w organizacji pobytów naukowców polskich (IBB PAN, IChB PAN, Uniwersytet Warszawski) w placówkach francuskich - Université Paris VI, Université Paris XI, INSERM, Institut J. Monod w Paryżu, Laboratoire de Biologie Cellulaire INRA w Wersalu, Centre de Génétique Moléculaire i Institut de Biologie Végétale CNRS w Gif-sur-Yvette, Institut G. Roussy w Villejuif, Université J. Fourier i Institut

de Biologie Structurale w Grenoble, INRA w Bordeaux, Centre de Biophysique Moléculaire CNRS w Orleanie, Institut de Biologie Moléculaire des Plantes CNRS w Strasbourgu, Université P. Sabatier w Tuluzie, ORSTOM w Montpellier - ogółem w 1996 r. 14 wyjazdów do Francji oraz wizyta 4 osób z Francji w Polsce).

W tym okresie przy współudziale Centrum opublikowano 10 prac polsko - francuskich w czasopismach międzynarodowych (Biochimie, Gene, Journal of Biological Chemistry, Molecular and General Genetics, Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, Yeast).

Doroczne zebranie Komitetu Naukowego Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin odbyło się dn. 2 grudnia 1996 r. w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie.

OGÓLNOINSTYTUTOWE SEMINARIA NAUKOWE 1996R.

09.01.96

Mgr J. Topczewska (Z-d Biofizyki)

„Synteza i sekrecja w drożdżach ludzkiego czynnika wzrostowego komórek epidermalnych”

16.01.96

Dr J. Michalik (Z-d Biosyntezy Białka)

„Ekspresja obcych białek i peptydów w systemie bakulowirusa”

16.01.96

Dr C. Herbert (Centrum Genetyki Molekularnej, Gif-sur-Yvette, Francja)

„*Saccharomyces cerevisiae*, an economical genome”

30.01.96

Mgr R. Kucharski (Z-d Genetyki UW)

„Gen kodujący TBP (TATA Binding Protein) u *Aspergillus nidulans*”

26.01.96

Dr M. Kozłowski (University of Arkansas, Medical Sciences, USA)

„NKAM - nowy gen w komórkach cytotoksycznych (Killer cells)”

13.02.96

Mgr M. Prymakowska-Bosak (Pracownia Biologii Molekularnej Roślin UW)

„Nadekspresja genu histonu H1 w tytoniu”

20.02.96

Dr Z. Domiński (Z-d Genetyki)

„Dojrzewanie prekursorów mRNA. Analiza genetyczna i manipulacje za pomocą antysensownych oligonukleotydów”

27.02.96

Dr J. Poznański (Z-d Biofizyki)

„Modelowanie dalekozasięgowego przeniesienia elektronu wewnątrz peptydów”

05.03.96

Dr Tim Langdon (Institute of Biological Sciences, The University of Wales, Aberystwyth, U.K.)

„Progress in the molecular analysis of the rye B-chromosome”

12.03.96

Dr Timothy O'Connor (Institut Gustave Roussy, Villejuif, Francja)

„DNA base excision repair”

14.03.96

Dr A. Pokrovski (Institute of Molecular Biology, Novosibirsk, Rosja)

„Synthesis of linear and circular forms of human immunodeficiency virus proviral DNA”

02.04.96

Dr M. Dadlez (Z-d Biofizyki)

„Wczesne etapy zwijania się inhibitora trypsyny z trzustki wołu”

16.04.96

Mgr A. Nowicka i dr P. Jończyk (Pracownia Mutagenezy i Reperacji DNA)

„Specyficzne interakcje między białkami "mutasomu" *Escherichia coli*”

19.04.96

Dr J. Chroboczek (Institut de Biologie Structurale, Grenoble, Francja)

„Penton adenowirusa”

23.04.96

Mgr I. Kern (Z-d Biochemii Drobnoustrojów)

„Wydzielanie streptokinazy ze *Streptococcus equisimilis* H46A przez bakteryjny system homologiczny i heterologiczny”

24.04.96

Dr P. Lassota (American Cyanamid Company, Pearl River, N.Y, USA)

„Poszukiwanie nowych leków przeciwnowotworowych w oparciu o profil cytotoksyczności wobec odpowiednio dobranego zestawu linii komórkowych”

07.05.96

Mgr M. Góra (Z-d Genetyki)

„Ukierunkowana mutageneza genu *HEM 15* kodującego ferrochelatazę w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*. Fizjologiczna i biochemiczna charakterystyka mutantów.”

14.05.96

Mgr M. Bretner (Z-d Biologii Molekularnej)

„Synteza tiopochodnych fluorodeoksyurydyny, potencjalnych środków antyrakowych”

15.05.96

Prof. Roel Schaaper (NIEHS, Research Triangle Park, USA)

„Mechanisms of mutagenesis in *E. coli*”

21.05.96

Dr K. Grzelak (Z-d Biosyntezy Białka)

„Molekularne mechanizmy działania ekdysteroidów”

28.05.96

Z. Zarębska (Z-d Biologii Molekularnej)

„Lipidowe fotoprodukty psolarenu powstające w błonach w czasie terapii PUVA”

27.05.96

Prof. Bruce Kemp (St. Vincent's Institute of Medical Research, Australia)

„Regulation of calcium dependent protein kinases”

11.06.96

Mgr R. Iwanicka (Z-d Biochemii Drobnoustrojów)

„Nowy gen regulonu cysteinowego u *Escherichia coli-cbl*”

17.06.96

Dr A. Barbin (International Agency for Research on Cancer, Francja)

„DNA etheno adducts as critical exposure markers and as markers of genotoxic effects associated with oxidative stress (lipid peroxidation)”

18.06.96

Dr J. Smagowicz (Z-d Biofizyki)

„Indukowana przez magnez asymetria otwarcia DNA w kompleksach promotorowych o różnym zagięciu osi helisy”

19.06.96

Prof. Norman J. Pieniążek (Parasitic Disease Branch, Atlanta, USA)

„Zastosowanie biologii molekularnej w referencyjnej diagnostyce nowych chorób infekcyjnych”

14.06.96

Dr R. Korona (Uniwersytet Jagielloński, Kraków)

„Koewolucja układów pasożyt-gospodarz: zarys teorii i wybrane przykłady”

25.06.96

Dr R. Natorff (Z-d Genetyki)

„Klonowanie i charakterystyka genów regulacyjnych metabolizmu siarkowego u *Aspergillus nidulans*”

26.06.96

Dr K. Lewicka (absolwentka Uniwersytetu Montpellier, Francja)

„Badanie różnorodności genetycznej w populacjach mikroorganizmów przy pomocy techniki Multilocus Enzyme Electrophoresis”

24.06.96

Prof. D. Guerra (University of Idaho, Moscow, USA)

„Biochemistry and Molecular Biology of Cold Adaptation in Plants: Antifreeze Proteins and Mechanisms of Gene Targeting”

01.07.96

Dr P. Czernik (University of Arkansas, USA)

„Białka transkrypcyjne - mechanizmy specyficznego oddziaływania z DNA”

25.07.96

Prof. Steven Spiker (Dept. of Genetics, N.Carolina University, USA)

„Nuclear Matrix Attachment Regions (MARs) and Their Function in Transgene Expression in Plant Cells”

08.08.96

Dr Piotr Chomczyński (Molecular Research Center, INC, Cincinnati OHIO, USA)

„Izolacja i analiza RNA”

02.08.96

Dr Wojciech Ardelt (ALFACELL Corporation Bloomfield, NJ, USA)

„Rybonukleazy o działaniu antynowotworowym”

03.09.96

Dr Magdalena Konarska (The Rockefeller University, New York, USA)

„Uproszczony układ bezkomórkowy do badania mechanizmu splicingu pre-mRNA”

24.09.96

Prof. Paweł Liberski (Akademia Medyczna, Łódź)

„Choroby wywołane przez priony”

30.09.96

Prof. J. Jeljaszewicz (Państwowy Zakład Higieny, Warszawa)

„Zakażenia przyszłości”

09.10.96

Prof. Neil Jones (Cell Genetics Laboratory, The University of Wales, U.K.)

„Do chromosomes need genes?”

10.10.96

Prof. Ervin Balázs (Agricultural Biotechnology Center, Gödöllő, Węgry)

„Strategies for engineering plant virus resistance”

29.10.96

Dr P. Zielenkiewicz (Zakład Biofizyki)

„Metody przewidywania struktur białek”

05.11.96

Prof T. Kłopotowski (Zakład Biochemii Drobnoustrojów)

„Zanim pojawiło się życie”

12.11.96

Dr J. Hennig (Zakład Biochemii Roślin)

„Receptor etylenu w komórkach roślinnych”

03.12.96

Dr M. Łobocka (Zakład Biochemii Drobnoustrojów)

„Nowe perspektywy badań nad partycją niskokopiiowych plazmidów w czasie podziału komórkowego”

16.12.96

Dr Alexander Włodawer (NCI-FCRDC, Frederick, USA)

„Retroviral integrase-crystal structure of a new target for designing drugs against AIDS”

17.12.96

Prof. Alina Kacperska (Instytut Biologii Eksperymentalnej Roślin UW)

„Synteza i rola etylenu w reakcjach roślin na czynniki stresowe”

**INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**

**LISTA PUBLIKACJI
za 1996r.**

3094. ŻOŁĄDEK T., VADUVA G., HUNTER L.A., BOGUTA M., GO B.D., MARTIN N.C., HOPPER A.K.
Mutations altering the mitochondrial-cytoplasmic distribution of Model 5p implicate the actin cytoskeleton and mRNA 3' ends and/or protein synthesis in mitochondrial delivery.
Mol.Cell.Biol. (1995) 15, 6884-6894
3095. BARANOWSKA H., POLICIŃSKA Z., JACHYMCZYK W.J.
Effects of the *CDC2* gene on adaptive mutation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*
Curr.Genet. (1995) 28, 521-525
3096. BOLEWSKA K., KROWARSCH D., OTLEWSKI J., JAROSZEWSKI Ł., BIERZYŃSKI A.
Synthesis ,cloning and expression in *Escherichia coli* of a gene coding for the Met 8 →Leu CMTII - a representative of the squash inhibitors of serine proteinases.
FEBS Lett. (1995) 377, 172-174
3097. CEGŁOWSKI P.
Konsekwencje powstawania w komórkach *Bacillus subtilis* różnorodnych form plazmidowego DNA.
Post.Mikrobiol. (1995) 34 , 121-141
3098. SHUGAR D.
Protein kinase inhibitors-potential chemotherapeutic agents.
Acta Biochim. Polon. (1995) 42, 405-418
3099. TROJANEK J., EK P., SCOBLE J., MUSZYŃSKA G., ENGSTRÖM L.
Phosphorylation of plant proteins and the identification of protein tyrosine kinase activity in maize seedlings.
Eur. J.Biochem. (1996) 235 , 338-344
3100. SKONECZNY M., RYTKA J.
Saccharomyces cerevisiae as a model organism for studying function and biogenesis of peroxisomes.
Acta Microbiol. Polon. (1995) 44, 209-218
3101. BARDOWSKI J.
A role of molecular biology in the dairy industry.
Przegląd Mleczarski (Dairy Review) (1995) 11, 315-318
3102. HECHT K., ZHANG S., KŁOPOTOWSKI T., AMES G.F.-L.
D-Histidine utilization in *Salmonella typhimurium* is controlled by the leucine-responsive regulatory protein (Lrp).
J.Bacteriol. (1996) 178 , 327-331

3103. BĘBENEK A., PIETRZYKOWSKA I.
The *isfA* mutation inhibits mutator activity and processing of UmuD protein in *Escherichia coli* *recA730* strains.
Mol.Gen.Genet. (1996) 250, 674-680
3104. KONOPIŃSKA A., SZCZEŚNIAK B., BOGUTA M.
XV Yeast sequencing reports.
Nucleotide sequence of the *GDS1* gene of *Saccharomyces cerevisiae*.
Yeast (1995) 11, 1513-1518
3105. BOBROWSKI K., SCHÖNEICH CH.
Decarboxylation mechanism of the N-terminal glutamyl moiety in γ -glutamic acid and methionine containing peptides.
Radiat.Phys.Chem. (1996) 47, 507-510
3106. GRZESIUŁ E., JANION C.
MMS-induced mutagenesis and DNA repair in *Escherichia coli* *dnaQ49*: Contribution of UmuD' to DNA repair.
Mutation Res. (1996) 362, 147-154
3107. GÓRA A., ZAGÓRSKI W.
Wiroid wrzecionowatości bulw ziemniaka - struktura a patogenność.
Kosmos (1995) 44, 535-545
3108. JANION C.
Mechanism of action of methyl methanesulfonate on *Escherichia coli*: mutagenesis, DNA damage and repair.
Post. Biochem. (Adv. Biochem.) (1995) 41, suppl. 308-315
3109. PAWŁOWSKI P., SZUTOWICZ I., RÓŻYCKI S., ZIELIŃSKI J., FIKUS M.
Bioelectrorheological model of the cell. VI. Experimental verification of the rheological model of cytoplasmic membrane.
Biophys. J. (1996) 70, 1024-1026
3110. TOPCZEWSKA J., REMPOŁA B., FIKUS M.
Expression of small synthetic genes coding for hEGF, human epidermal growth factor, and CPTI II, serine proteinase inhibitor from *Cucurbitacea*, cloned in a novel expression/secretion vector in *Saccharomyces cerevisiae*.
Acta Biochim.Polon. (1996) 43, 255-264
3111. ŁOZIŃSKI T., WIERZCHOWSKI K.L.
Effect of reversed orientation and length of $A_n \cdot T_n$ DNA bending sequences in the -35 and spacer domains of a consensus-like *Escherichia coli* promoter on its strength *in vivo* and gross structure of the open complex *in vitro*.
Acta Biochim.Polon. (1996) 43, 265-280

3112. DZIK J.M., BRETNER M., KULIKOWSKI T., GOŁOS B., JARMUŁA A., POZNAŃSKI J., RODE W., SHUGAR D.
Synthesis and interactions with thymidylate synthase of 2,4-dithio analogues of UMP and 5-fluoro-dUMP.
Biochim.Biophys.Acta (1966) 1293, 1-8
3113. STOLARSKI R., SITEK A., STEPIŃSKI J., JANKOWSKA M., OKSMAN P., TEMERIUŚ A., DARŻYŃKIEWICZ E., LÖNNBERG H., SHUGAR D.
¹H-NMR studies on association of mRNA cap-analogues with tryptophan-containing peptides.
Biochim.Biophys.Acta (1996) 1293, 97-105
3114. FELCZAK K., DRABIKOWSKA A.K. VILPO J.A., KULIKOWSKI T., SHUGAR D.
6-substituted and 5,6-disubstituted derivatives of uridine: stereoselective synthesis, interaction with uridine phosphorylase, and *in vitro* antitumor activity.
J.Med.Chem. (1996) 39, 1720-1728
3115. HENNIG J.
Elements of signal leading to activation of plant defense.
Biotechnologia (1996) 32, 40-51
3116. WĘGRZYN A., WĘGRZYN G., TAYLOR K.
Disassembly of the coliphage λ replication complex due to heat shock induction of the *groE* operon.
Virology (1996) 217, 594-597
3117. FIKUS M.M., REMPOŁA B.
Secretion of proteins by *Escherichia coli* and its application in production of recombinant proteins.
Post. Biochem. (Adv. Biochem.) (1995) 41, 313-317
3118. SHUGAR D.
The NTP phosphate donor in kinase reactions: Is ATP a monopolist?
Acta Biochim. Polon. (1996) 43, 9-24
3119. CAFFIERI S., ZARĘBSKA Z., DALL 'ACQUA F.
Psoralen photosensitization: damages to nucleic acid and membrane lipid components.
Ibid.: 241-246
3120. DOMIŃSKI Z., KOLE R.
Effects of exon sequences on splicing of model pre-mRNA substrates *in vitro*
Ibid.: 161-174
3121. BUKOWSKA A.M., KUŚMIEREK J.T.
Miscoding properties of isoguanine (2-oxoadenine) studied in an AMV reverse transcriptase *in vitro* system.
Ibid.: 247-254

3122. JANKOWSKI W., DĘBICKI M., WOŁOSZYN B.W.
Stwierdzenie występowania w wątrobie nietoperzy nietypowej dla ssaków mieszaniny dolicholi.
W: Aktualne problemy ochrony nietoperzy w Polsce. Mat. z IX Ogólnopolskiej Konf. Chiropterologicznej. Kraków 25-26 listopada 1995 red. B.W. Wołoszyn 57-67
Publ. Centrum Informacji Chiropterologicznej. ISEZ PAN Kraków
3123. JONCZYK P., NOWICKA A.,
Specific *in vivo* protein-protein interactions between *Escherichia coli* SOS mutagenesis proteins.
J.Bacteriol. 1996 178 2580-2585
3124. PAWŁOWSKI K., BIERZYŃSKI A., GODZIK A.
Structural diversity in a family of homologous proteins.
J.Mol.Biol. (1996) 258 349-366
3125. GALIBERT F., ALEXANDRAKI D., BAUR A., BOLES E., CHALWATZIS N., CHUAT J.C., COSTER F., CZIEPLUCH C., DE HAAN M. DOMDEY H., DURAND P., ENTIAN K.D., GATIUS M., GOFFEAU A., GRIVELL L.A., HENNEMANN A., HERBERT C.J., HEUMANN K., HILGER F., HOLLENBERG, C.P., HUANG M.E., JACQ C., JAUNIAUX J.C., KATSOULOU C., KIRCHRATH L., KLEINE K., KORDES E., KÖTTER P., LIEBL S., LOUIS E.J., MANUS V., MEWES H.W., MIOGA T., OBERMAIER B., PEREA J., POHL T., PORTETELLE D., PUJOL A., PURNELLE B., RAMEZANI RAD M., RASMUSSEN S.W. ROSE M., ROSSAU R., SCHAFF-GERSTENSCHLÄGER I., SMITS P.H.M., SCARCEZ T., SORIANO N., TOVAN D., TZERMIA M., VAN BROEKHOVEN A., VANDENBOL M., WEDLER H., VON WETTSTEIN D., WAMBUTT R., ZAGULSKI M., ZÖLLNER and KARPFFINGER-HARTL L.
Complete nucleotide sequence of *Saccharomyces cerevisiae* chromosome X.
EMBO J. (1996) 15, 2031-2049
3126. GÓRA M., GRZYBOWSKA E., RYTKA J., LABBE-BOIS R.
Probing the active-site residues in *Saccharomyces cerevisiae* ferrochelatase by directed mutagenesis.
J.Biol. Chem. (1996) 271, 11810-11816
3127. SKOCZYLAS E., ŚWIEŻEWSKA E.,
Protein farnesyltransferase in plants.
Biochimie (1996) 78, 139-143
3128. GROMADKA R., GÓRA M., ZIELENKIEWICZ U., SŁONIMSKI P.P., RYTKA J.
III Yeast Sequencing Reports.
Subtelomeric duplications in *Saccharomyces cerevisiae* chromosomes III and XI: Topology, arrangements, corrections of sequence and strain-specific polymorphism.
Yeast (1996) 12, 583-591
3129. SKONECZNY M., RYTKA J.
Maintenance of the peroxisomal compartment in glucose-repressed and anaerobically grown *Saccharomyces cerevisiae* cells.
Biochimie (1996) 78, 95-102

3130. GÓRA A., CHACIŃSKA A., RYTKA J., LABBE-BOIS R.
Isolation and functional characterization of mutant ferrochelatases in *Saccharomyces cerevisiae*.
Ibid: 144-152
3131. WÓJCIK A., GRZESIUK E., TUDEK B., JANION C.
Conformation of plasmid DNA from *Escherichia coli* deficient in the repair systems protecting DNA from 8-oxyguanine lesions.
Ibid.: 85-89
3132. SZKOPIŃSKA A., KARST F., PALAMARCZYK G.
Products of *S.cerevisie* cis-prenyltransferase activity *in vitro*.
Ibid.: 111-116
3133. JANKOWSKI J.M., CANNON P.D. van der HOORN F., WASILEWSKA L.D., WONG N.C.W., DIXON G.H.
Regulation of protamine gene expression in an *in vitro* homologous system.
Acta Biochim.Polon. (1996) 43, 369-378
3134. KRUSZEWSKA J.S., PERLIŃSKA-LENART U., PALAMARCZYK G.
Solubilization and one-step purification of mannosylphosphodolichol synthase from *Trichoderma reesei*.
Acta Biochim. Polon. (1996) 43, 397-402
3135. GROMADKA R., KANIAK A., SŁONIMSKI P.P., RYTKA J.
A novel cross-phylum family of proteins comprises a *KRR1* (YCLO59c) gene which is essential for viability of *Saccharomyces cerevisiae* cells.
Gene (1996) 171, 27-32
3136. KAMIŃSKA-TRELA K., WÓJCIK J.
Applications of spin-spin couplings.
Magn.Reson.Chem. (1996) 25, 177-228
3137. WIERZCHOWSKI J., WIELGUS-KUTROWSKA B., SHUGAR D.
Fluorescence emission properties o 8-azapurines and their nucleosides, and application to the kinetics of the reverse synthetic reaction of purine nucleoside phosphorylase.
Biochim. Biophys. Acta (1996) 1290, 9-17
3138. BZOWSKA A., KULIKOWSKA E., POOPEIKO N.E., SHUGAR D.
Kinetics of phosphorolysis of 3- (β -D-ribofuranosyl) adenine and 3-(β -D-ribofuranosyl) hypoxanthine, non-conventional substrates of purine-nucleoside phosphorylase.
Eur. J.Biochem. (1996) 239, 229-234
3139. SZYSZKA R., BOGUSZEWSKA A., SHUGAR D., GRANKOWSKI N.
Halogenated benzimidazole inhibitors of phosphorylation, *in vitro* and *in vivo*, of the surface acidic proteins of the yeast ribosomal 60S subunit by endogenous protein kinases CK-II and PK60S.
Acta Biochim.Polon. (1996) 43, 389-396

3140. PASZEWSKI A., BALINSKA M.K.
Regulation of folate metabolism in fungi: *Aspergillus nidulans* as a experimental model.
Post. Biochem. (Adv. Biochem.) (1996) 42, 129-132
3141. FIJAŁKOWSKA I.J., SCHAAPER R.M.
Mutants in the Exo I motif of *Escherichia coli* *dna Q*: Defective proofreading and inviability due to error catastrophe.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996) 93, 2856-2861
3142. POOPEIKO N.E., DRABIKOWSKA A.K., POZNANSKI J., SHUGAR D., KULIKOWSKI T.
Synthesis, conformation and biological properties of 2', 3'-dideoxy- 3'-fluoro-5-chloro-4-thiouridine, potential anti-HIV agent.
10 th Symposium on the Chemistry of Nucleic Acid Components. September 1st-7st 1996 Třešť Castle Czech Republic.
Collect. Czech.Chem. Commun. (1996) 61, S16-S19
3143. ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E.
Repair of O⁶-methylguanine-DNA.
Post.Biochem. (Adv.Biochem)42, 21-30
3144. SADOWY E., ZAGÓRSKI W., HULANICKA D.
Infections of cDNA clones of plant viruses.
Biotechnologia (1996) 34, 60-68
3145. STANKIEWICZ M., REMPOŁA B., FIKUS M.
3'noncoding sequences of the *CTA I* gene enhance expression of the recombinant serine protease inhibitor, CPTI II, in *Saccharomyces cerevisiae*.
Acta Biochim.Polon. (1996) 43, 525-530
3146. PRYMAKOWSKA-BOSAK M., PRZEWŁOKA M.R., IWKIEWICZ J., EGIERSZDORFF S., KURAŚ M., CHAUBET N., GIGOT C., SPIKER S., JERZMANOWSKI A.
Histone H1 overexpressed to high level in tobacco affects certain developmental programs but has limited effect on basal cellular functions.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996) 93, 10250-10255
3147. ONO B.-I., KIJIMA K., ISHII N., KAWATO T., MATSUDA A., PASZEWSKI A., SHINODA S.
Regulation of sulphate assimilation in *Saccharomyces cerevisiae*.
Yeast (1996) 12, 1153-1162
3148. LEWANDOWSKA I., BALIŃSKA M., NATORFF R., PASZEWSKI A.
Regulation of folate-dependent enzyme levels in *Aspergillus nidulans*: studies with regulatory mutants.
Biochim. Biophys Acta (1996) 1290, 89-94

3149. BURZYŃSKA B., TOPCZEWSKI J.
Genotyping of *Bison bonasus* κ -casein gene following DNA sequence amplification.
Animal Genetics (1996) 26, 335-336
3150. LAPIŃSKI L., PRUSINOWSKA D., NOWAK M.J., BRETNER M., FELCZAK K.,
MAES G., ADAMOWICZ M.
Infrared spectra of 6-azathiouracils: an experimental matrix isolation and theoretical
ab initio SCF/ 6-311 G study.
Spectrochimica Acta Part A (1996) 52, 645-659
3151. CALIKOWSKI T.T.
Chromatin complexes in regulation of gene expression during development.
Post. Biochem. (Adv. Biochem.) (1996) 42, 238-243
3152. BOGUTA M.
Nuclear control of mitochondrial functions in *Saccharomyces cerevisiae*.
Post. Biochem. (Adv. Biochem.) (1996) 42, 259-268
3153. PŁOCHOCKA D., WELNICKI M., ZIELENKIEWICZ P., ZAGÓRSKI-OSTOJA W.
Three-dimensional model of the potyviral genome-linked protein.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996) 93, 12150-12154
- +3154. MALAMY J., SÁCHEZ-CASAS P., HENNIG J., GUO A., KLESSIG D.F.
Dissection of the salicylic acid signaling pathway in tobacco.
Mol.Plant-Microbe Interact. (1996) 9, 474-482
3155. BRODZIK R., HENNIG J.
Effect of DNA methylation on transient expression of PR-s genes in tobacco
protoplasts.
Genet.Pol. (1996), 37A, 105-109
3156. HUG G.L., MARCINIAK B., BOBROWSKI K.
Acid-base equilibria involved in secondary reactions following the
4-carboxybenzophenone sensitized photooxidation of methionylglycine in aqueous
solution. Spectral and time resolution of the decaying $(S^{\bullet}, N)^{+}$ radical cation.
J.Phys. Chem. (1996), 100, 14914-14921
3157. WOLUCKA B.A., ROZENBERG R., de HOFFMAN E., CHOJNACKI T.
Desorption chemical ionization tandem mass spectrometry of polyprenol and dolichyl
phosphates.
J.Am. Soc.Mass Spectrom. (1996) 7, 958-964
3158. KROCZYŃSKA B., ZHOU R., WOOD C., MIERNYK J.A.,
AtJ1, a mitochondrial homologue of the *Escherichia coli* DnaJ protein.
Plant Mol. Biol. (1996) 31, 619-629

3159. GÓRA A., CANDRESSE T., ZAGÓRSKI W.
Use of intramolecular chimeras to map molecular determinants of symptom severity of potato spindle tuber viroid (PSTVd).
Arch. Virol. (1996) 141, 2045-2055
- +3160. LI D., DOBROWOLSKA G., KREBS E.G.
The physical association of casein kinase 2 with nucleolin.
J.Biol. Chem. (1996) 271, 15662-15668
- +3161. MEGGIO F., DEANA A.D., RUZZENE M., BRUNATI A.M., CESARO L., GUERRA B., MAYER T., METT H., FABB D., FURET P., DOBROWOLSKA G., PINNA L.A.
Different susceptibility of protein kinases to staurosporine inhibition. Kinetic studies and molecular bases for the resistance of protein kinase CK2.
Eur. J. Biochem. (1995) 234, 317-322
3162. PRZYKORSKA A.
Analiza przestrzennej struktury kwasów rybonukleinowych za pomocą nukleaz pochodzenia roślinnego.
Ed: Fundacja . Rozwój SGGW. Warszawa (1996) .59s.
3163. CHACHULSKA A.M., ZAGÓRSKI W.
Analiza sekwencyjna genomów izolatów wirusa Y ziemniaka.
W: "Wybrane zagadnienia biotechnologii roślin" Materiały dla studentów biotechnologii pod red. K.Wypijewskiego. Referaty wygłoszone w ramach Otwartych Seminariów Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii UAM Poznań 16 luty - 1 czerwca (1995) 71-83.
3164. BUCHOWICZ J.
Minichromosomy roślinne.
Ibid : .149-158
3165. KUCHARSKI R., BARTNIK E.
TBP - struktura, funkcje oraz interakcje z innymi czynnikami transkrypcyjnymi.
Post.Biol.Komórki (1996) 23, 67-80.
3166. WĘGRZYN A., TAYLOR K., WĘGRZYN G.
The *cbpA* chaperone gene function compensates for *dnaJ* in λ plasmid replication during amino acid starvation of *Escherichia coli*.
J.Bacteriol. (1996) 178, 5847-5849
3167. WĘGRZYN G., WĘGRZYN A., PANKIEWICZ A., TAYLOR K.
Allele specificity of the *Escherichia coli dnaA* gene function in the replication of plasmids derived from phage λ .
Mol.Gen.Genet. (1996) 252, 580-586

3168. SZALEWSKA-PALASZ A., WĘGRZYN A., OBUCHOWSKI M., PAWŁOWSKI R., BIELAWSKI K., THOMAS M.S., WĘGRZYN G.
Drastically decreased transcription from CII-activated promoters is responsible for impaired lysogenization of the *Escherichia coli* *rpoA341* mutant by bacteriophage λ .
FEMS Microbiol. Lett. (1996) 144, 21-27
- +3169 WEICHSEL A., MONTFORD W. R., CIEŚLA J., MALEY F.
Promotion of purine nucleotide binding to thymidylate synthase by a potent folate analogue inhibitor, 1843U89
Proc.Natl. Acad. Sci.USA (1995) 92, 3493 - 3497
3170. DADLEZ M., KIM P.S.
Rapid formation of the native 14 -38 disulfide bond in the early stages of BPTI folding .
Biochemistry (1996) 35, 16153-16164
3171. BARDOWSKI J.
Biologia molekularna w produkcji zdrowej żywności .
Przemysł Spożywczy (Dairy Review) (1996) 50, 41-43

TYTUŁY ROZPRAW HABILITACYJNYCH

- 34/N JARUZELSKA JADWIGA
 Molekularne podłoże fenyloketonurii: mutacje genu i zaburzenia dojrzewania pre-mRNA hydroksylazy fenyloalaninowej. (Molecular basis of phenylketonuria: gene mutations and maturation defects of pre-mRNA phenylalanine hydroxylase.)
 Presented January 23, 1996
 Research done in the Department of Human Genetics PAS. Poznań 1995 .54s.
 Publ.: Post.Biol.Kom. (1989), 16 , 165-175: Post. Bioch.(1990) 36 , 24-31:
 Hum.Genet. (1991), 86 , 247-250: Hum.Mol.Genet. (1992), 9 , 763-764.:
 J.Med.Genet. (1993), 232-234: Kosmos (1994), 431-443
- 35/N CEGŁOWSKI PIOTR
 Konsekwencje występowania w komórkach *Bacillus subtilis* monomerycznych form plazmidów. (Consequences of generation of monomeric plasmid forms in *Bacillus subtilis* cells.)
 Presented March 12 ,1996
 Research done in the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS
 Publ.: Mol.Gen.Genet. (1983), 192 149-155: Mol.Gen.Genet. (1984), 197, 522-524: FEMS Microbiol. Lett. (1993), 109, 145-150: Gene (1993), 136, 1-12:
 Gene (1994), 145, 33-39: Mol.Gen.Genet.(1993), 241, 579-585:
 Mol.Gen.Genet.(1990), 222 441-445: Post.Microbiol. (1995), 34, 121-141
- 36/N HENNIG JACEK
 Udział kwasu salicylowego w odpowiedzi roślin na czynniki chorobotwórcze. (Role of salicylic acid in plant response to pathogen attack).
 Presented July 2,1996
 Research done in the Department of Plant Biochemistry IBB PAS
 Publ.: Plant Cell (1992), 4 359-363: Induction, modification and reception of the salicylic acid signal in plant defense. W: Mechanism of Plant Defense Responses. eds.B.Fritig i M.Lengrad vol. 2 ,(Kluwer) Dordrecht. 185-195
 Polish J. Chem. (1993), 67 1251-1254: The Plant J. (1993), 4 593-600
 Curr.Topics Plant Physiol. (1993) , 11 230-232 eds.J.C.Schultz, I.Raskin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995), 92, 4134-4137: Adv.Mol.Gen. Plant-Microbe Interactions (1994) 3 349-354 , eds. M.J.Daniels, J.A.Downie, A.E.Osbour.(Kluwer)
 The Plant J. (1993), 4 481-493
- 37/N KULA-ŚWIEŻEWSKA EWA
 Rola związków izoprenoidowych w komórkach roślinnych. Biosynteza, funkcje biologiczne i występowanie. (Role of isoprenoid compounds in plant cells. Biosynthesis, biological function and occurrence.)
 Presented October 8, 1996
 Research done in the Department of Lipid Biochemistry IBB PAS
 Publ.: Biochem.Biophys.Res.Comm. (1993), 192, 161-166: J.Biol.Chem. (1995), 270 , 566-572: J.Biol.Chem. (1993), 268, 1494-1499:
 Biochem.Biophys.Res.Comm. (1994), 205 , 714-721: Plant Physiol. Biochem:(1994),32, 825-829: Post Bioch. (1995),41, 51-58

TYTUŁY PRAC DOKTORSKICH

- 33/N POZNAŃSKI JAROSŁAW
 Analiza konformacyjna peptydów zawierających mostek prolinowy i jej zastosowanie w modelowaniu przeniesienia elektronu między stanami rodnikowymi końcowych aminokwasów (Trp, Tyr, Met).
 (Conformational analysis of oligoproline -bridged peptides and its application in modeling of electron transfer between terminal aminoacids /trp , Tyr , Met /)
 Presented January 23, 1996
 Research done in the Department of Biophysics IBB PAS Warszawa, 1995
- 38/N REMPOŁA BOŻENNA
 Synteza inhibitora proteinaz serynowych CPTI II w *Escherichia coli* i *Saccharomyces cerevisiae*. (Synthesis of serine proteinases inhibitor CPTI II in *Escherichia coli* and *Sacharomyces cerevisiae*.)
 Presented March 12, 1996
 Research done in Department of Physics IBB PAS
- 39/N AWAN MALIK FATH MUHAMMAD
 Odpowiedź tkanek ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na *Phytophthora infestans* lub ich elicitory. (Response of potato (*Solanum tuberosum* L.) tissues to *Phytophthora infestans* or its elicitors.)
 Presented June 2, 1996
 Research done in Department Plant Biochemistry IBB PAS
- 40/N TOPCZEWSKA JOLANTA
 Synteza ludzkiego czynnika wzrostowego komórek epidermalnych-hEGF przez drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. (Synthesis of human epidermal growth factor - hEGF in yeast *Saccharomyces cerevisiae*.)
 Presented June 14, 1996
 Research done in Department of Biophysics IBB PAS.
- 41/N TOPCZEWSKI JACEK
 Klonowanie i charakterystyka genu *cys B Aspergillus nidulans* kodującego syntazę cysteinową. (Cloning and characterisation *Aspergillus nidulans cys B* gene encoding cysteine synthase.)
 Presented June 14, 1996
 Research done in Department of Genetics IBB PAS.
- 42/N PAŁUCHA ANDRZEJ
 Transformacja wybranych odmian ziemniaka metodą agroinfekcji plazmidami zawierającymi cDNA genomu wirusa liściozwoju ziemniaka. (Agroinfection of selected potato cultivars by binary plasmids carrying fragments of cDNA PLRV genome.)
 Presented October 8, 1996
 Research done in the Department of Microbial Biochemistry, IBB PAS.

43/N WIDŁAK WIESŁAWA

Analiza struktury i funkcji promotora genu hst70 szczura z wykorzystaniem modelu myszy transgeniczných.

Presented October 8, 1996

Research done in Department of Molecular Biology, The Maria Skłodowska -Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice.

44/N NOWICKA ADRIANNA

Interakcja między białkami wchodzącymi w skład mutasomu *Escherichia coli*.
(Protein-protein interactions between *Escherichia coli* " mutasome" proteins.)

Presented December 17, 1996

Research done in Laboratory of Mutagenesis and DNA Repair , IBB PAS

TYTUŁY PRAC MAGISTERSKICH

45/N TOBIASZ ANNA

Analiza genetyczna, molekularna i fenotypowa mutantów i supresorów mutacji *mdp1*. (Genetic, molecular and phenotypic analysis of *mdp1* mutants and their suppressors.)

Presented March 29, 1996

Research done in the Department of Genetics, IBB PAS. and Chair and Department of Clinical Biochemistry and Chemistry of Medical Academy in Warsaw

46/N BYKOWSKI TOMASZ

Rola heterodimerskiego histonopodobnego białka IHF *Escherichia coli*: charakterystyka mutantów oraz badanie możliwości funkcjonowania homodimerów. (The role of heterodimeric histone like protein IHF of *E. coli*: characterization of mutants and examination of possible homodimer functionality)

Presented July 5, 1996

Research done in the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS and the Department of Biology, University of Warsaw.

47/N KAWALEC MAGDALENA

Izolacja, oczyszczanie oraz charakterystyka, nowej endonukleazy restrykcyjnej z niezidentyfikowanego szczepu morskiej bakterii psychrofilnej. (Isolation, purification and characterization of a novel restriction enzyme from an unidentified strain of psychrofilic bacteria.)

Presented December 18, 1995

Research done in the Department of Genetics, UW.

48/N RACKI WALDEMAR

Analiza sekwencji intronu omega u mutantów $Su\Omega$ *Saccharomyces cerevisiae*. (Analysis of sequence of the omega intron in the $Su\Omega$ *Saccharomyces cerevisiae*.)

Presented 1996

Research done in the Department of Genetics, UW

49/N PALCZEWSKA MAŁGORZATA

Badanie funkcji jądrowych genów *Saccharomyces cerevisiae*: *mss 116* i *dss1* (Studies of functions of the nuclear genes *mss 116* i *dss1* *Saccharomyces cerevisiae*.)

Presented July 9, 1996

Research done in the Department of Genetics UW.

50/N TKACZYK MARTA

Wpływ sekwencji liderowej subgenomowego TNA wirusa liściozwoju ziemniaka na gen reporterowy *uidA* kodujący β - glukuronidazę (GUS).

The influence of the potato leaf roll virus subgenomic RNA leader sequence on the reporter gene *uidA* coding β -glucuronidase (GUS).

Presented October 9, 1996

Research done in the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS and the Department of Biology, University of Warsaw.

- 51/N KRYSIK CEZARY
Przełciowa i trwała transformacja pszenicy z zastosowaniem strzelby genowej.
(Transient and stable transformation of wheat with the use of a gene gun).
Presented September 27, 1996
Research done in the Department of Plant Biochemistry IBB PAS and Chair of Plant Physiology Warsaw Agriculture University
- 52/N CHECHŁACZ MAGDALENA
Wpływ temperatury indukujcej diapauz na funkcję mózgu larw mola woskowego, *Galleria mellonella*
(Changes in the profile of brain proteins as a result of low temperature stress in *Galleria mellonella*).
Presented June 13, 1996
Research done in the Department of Invertebrate Physiology of Inst. of Zoology UW and Department of Protein Synthesis IBB PAS.
- 53/N NOWOSIELSKA ANETTA
Opracowanie układu ekspresji syntetycznego, chimerycznego genu *CPCI* w *Saccharomyces cerevisiae*. (Development of *S. cerevisiae* expression system for the synthetic chimeric gene CPCI.)
Presented September 27, 1996
Research done in the Department of Biophysics IBB PAS and Department of Biology and Earth Sciences, The Maria Curie-Skłodowska Memorial University.
- 54/N GODLEWSKI JAKUB
Wpływ diapauzy na synteze białek u larw mola woskowego, *Galleria mellonella*.
(Influence of diapause on the synthesis of some *Galleria mellonella* larvae proteins.)
Presented July 16, 1996
Research done in the Department of Invertebrate Physiology of Institute of Zoology UW and Department of Protein Synthesis IBB PAS..
- 55/N SIEDLECKA MONIKA
Badania strukturalne analogu trzeciej pętli wiążcej jony wapnia z kalmoduliny.
(Structural investigations of a peptide analogous to the third calcium binding loop of calmodulin)
Presented May , 1996
Research done in the Department of Chemistry of Politechnical University and Department of Biophysics IBB PAS
- + Prace publikowane przez laboratoria zagraniczne, których współautorami są pracownicy IBB PAN.

STRESZCZENIA. RÓŻNE

- 888/A STAŃCZAK J.J., OPOKA-KEGLER J., BARAN J., LIPNIACKI A., PIASEK A., HORBAN A.
Peripheral blood mononuclear cells as a source of HCV RNA for the monitoring of response to interferon therapy.
VII Intern. Symp. on Viral Hepatitis Madrid - January 25-27 1996
- +889/A STAŃCZAK J.J., MEDYŃSKA J., RADLIŃSKA M., BARAN J., BROJER E.
Genotypic analysis hepatitis C viruses isolated in Poland.
Basel Liver Week, Acute and Chronic Liver Diseases: Molecular Biology and Clinics.
Basel, 17-24 October 1995
- 890/A MIKOŁAJCZYK M., SZCZEGIELNIAK J., GAGANIDZE D., JURKOWSKI I., DOBROWOLSKA G., MUSZYŃSKA G.
Protein kinases involved in stress signalling in plants.
Intern. Summer School on "Molecular Mechanisms of Signaling and Targeting".
Island of Spetsai, Greece, August 18-30 1996 post. Abstr. p.42
- 891/A BARDOWSKI J.
Bakterie mlekowe - od badań podstawowych do nowatorskich zastosowań.
Europ. Confer. pod auspicjami Programu "Biotechnologia" 22-26 października 1995,
Cork, Irlandia. Przegląd Mleczarski 1 styczeń 1996 24-25
- 892/A KRZYMOWSKA M.
Wolne rodniki a patogenezę roślin.
Konf. "Dwa oblicza tlenu" P.Tow.Bot. Sekc. Biol. Exp.Rośl. U.W. i IBB PAN W-wa
26.04.1996
- 893/A BARDOWSKI J.
Współczesne metody diagnostyki bakterii fermentacji mlekowej.
Szkoła Letnia "Bakterie Fermentacji Mlekowej: klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie".
Dobieszków k./Łodzi, 19-23.05.1996 program W.2
- 894/A BARDOWSKI J.
Podstawy genetyki bakterii.
Ibid.: program W.7
- 895/A BARDOWSKI J.
Wykorzystanie technologii rekombinacji DNA do ulepszania bakterii mlekowych.
Ibid.: program W.11
- 896/A BARDOWSKI J.
Charakterystyka operonu laktozowego bakterii mlekowych i jego potencjalne wykorzystanie.
Ibid.: program W.9

- 897/A FRANK S., CAFFIERI S., VEDALDI D., ZAREBSKA Z., DALL'ACQUA F.
Structure activity relationship between psoralen-oleic acid photocycloadducts and PKC activity.
Photochem. Photobiol. 1996 63 Special Issue
24th Annual Meeting June 15-20, 1996 Atlanta, Georgia Abstr. MPM-H1 p.55S
- 898/A RAYA R.R., BARDOWSKI J., EHRLICH S.D., CHOPIN A.
Multiple transcriptional control of the tryptophan biosynthetic operon of *Lactococcus lactis*.
5th Symposium on Lactic Acid Bacteria Genetics, Metabolism on Lactic Acid Bacteria Genetics, Metabolism and Applications. FEMS Veldhoven, The Netherlands, September 8-12 (1996) Abstr. H 28
- 899/A ALEKSANDRZAK T., BARDOWSKI J.
Cellobiose-induced β -galactosidase activity in *Lactococcus lactis* IL 1403
Ibid.: H 36
- 900/A CZERNIEC E., BARDOWSKI J.
Plasmid-encoded starch-degrading enzyme in *Lactococcus lactis* strain of non dairy origin.
Ibid.: H 37
- 901/A BARDOWSKI J.
Mechanizmy regulacji ekspresji genów u *Lactococcus lactis*.
XXIII Zjazd Pol. Tow.Mikrobiol. Łódź 1996 Mat. Nauk. s.76
- 902/A ALEKSANDRZAK T., CZERNIEC E., BARDOWSKI J.
Lokalizacja genów kodujących kryptyczną β -galaktozydazę i amylazę w komórkach *Lactococcus lactis*.
Ibid.: P-006 s.84
- 903/A BIERZYŃSKI A.
Struktura przestrzenna białek globularnych.
XXXII Zjazd P.T.Bioch. 17-20 września, 1996 Kraków Abstr. IV-1 s.110 referat sympoz.
- 904/A NATORFF R., PIOTROWSKA M., PASZEWSKI A.
SCONB, an *Aspergillus nidulans* sulphur metabolism regulatory gene encodes a β -transducin-like protein.
ECFG3 3rd European Conference on Fungal Genetics Münster, Germany, March 27-30, 1996 p.64 nr 43:B
- 905/A GRZESIUK E., JANION C.
MMS-induced mutagenesis and DNA repair in *E.coli* defective in mismatch repair.
DNA repair.
DNA Repair Network Workshop. Smolenice Castle, Slovakia 29 April-1 May, 1996 p.15, L 5

- 906/A WÓJCIK A., JANION C.
Halogen light induced mutagenesis and mutation and mutation decline in *E.coli* AB 1157 strains.
Ibid.: p.46, P 12
- 907/A MACIEJEWSKA U., AWAN M.F.M.
Oxidative response to *Phytophthora infestans* elicitor in *Solanum tuberosum* and *S. nigrum* suspension cells.
10th FESPP Congress "From Molecular Mechanisms to the Plant: An Integrated Approach". Florence, Italy September 9-13 1996 p.285 S19-12
- 908/A ZAREBSKA Z., WASZKOWSKA E., POZNAŃSKI J.
Photoadducts of psoralen to lecithins: their possible role in the photochemotherapy PUVA.
12th International Congress on Photobiology (ICP'96) September 1-6 1996 Hofburg Congress Center Vienna, Austria abstr. p.206, 038
- 909/A PIETRZYKOWSKA I., CZAJKOWSKA A.
A possible mechanism of UV-induced mutagenesis of λ *sus* 08 in the nonpermissive for phage DNA replication host.
Ibid: p.216, 080
- 910/A PIETRZYKOWSKA I., BĘBENEK A., CZAJKOWSKA A.
Mechanisms of UV induced mutagenesis in *Escherichia coli*.
"DNA Repair Network Workshop" Cancer Res. Instit. Slovak Academy of Sci. Smolenice Castle, Slovakia 29 April-1 May, 1996 abstr. L7 p.17
- 911/A PIETRZYKOWSKA I.
Mechanizmy naprawy DNA-obrona organizmów przed mutagenami środowiskowymi.
XXXII Zjazd P.T.Bioch. 17-20 września 1996, Kraków Abstr. II-2 referat sympozjalny p.31.
- 912/A BĘBENEK A., PIETRZYKOWSKA I.
Mutacja *isfA* powoduje zahamowanie UV-indukowanych tranzycji GC→AT i AT→GC w szczepach *recA*⁺ oraz transwersji GC→TA oraz AT→TA szczepach *recA*730.
Ibid.:abstr. II -7 p.35
- 913/A HENNIG J., BRODZIK R.
Methylation of deoxyadenosine affect on transient expression the tobacco PR-1A promoter.
8th Intern.Congress "Molecular Plant-Microbe Interactions". Knoxville, TN July 14-19, 1996. Abstr. M-12
- 914/A CHACHULSKA A.M., ROBAGLIA C., DINANT S., ROSA I., ZAGÓRSKI W.
Construction of full-length cDNA copies of potato virus Y (PVY) isolates.
XXXII Zjazd P.T.Bioch. 17-20 września 1996, Kraków .Abstr.

- 915/A OBUCHOWSKI M., SZALEWSKA-PALASZ A., WĘGRZYN A.
 Udział podjednostki α polimerazy RNA *Escherichia coli* w antyterminacji transkrypcji.
 Ibid.: IV-25 p.124
- 916/A WĘGRZYN A., TAYLOR K., WĘGRZYN G.
 Funkcja genu *cbpA* w replikacji bakteriofaga i plazmidu λ .
 Ibid.: IV-20, p.122
- 917/A WĘGRZYN G., WĘGRZYN A., PANKIEWICZ A., TAYLOR K.
 Allelo-specyficzność *dnaA* w replikacji plazmidów λ .
 Ibid.: IV-19, p.121
- 918/A WĘGRZYN A., WĘGRZYN G., TAYLOR K.
 Mechanizm rozpadu kompleksu replikacyjnego bakteriofaga λ po szoku termicznym.
 Ibid.: IV-18, p.121
- 919/A WĘGLEŃSKA A., SIRKO A., HULANICKA D.
 Charakterystyka nowego genu *ucpA* zlokalizowanego w obrębie 52' chromosomu *Escherichia coli*.
 Ibid.: XI-102, p.310
- 920/A KŁUDKIEWICZ B., GRZELAK K.
 Wpływ 20-hydroksyekdyzonu na syntezę białek u larw *Galleria mellonella*.
 Ibid.: XI-101, p.310
- 921/A GÓRA A., PAWŁOWICZ J., ROSA I., ZAGÓRSKI W.
 Phenotypically different potato spindle tuber viroid molecular variants vary in the secondary structure of the P domain.
 Ibid.: IV - 43, p. 133
- 922/A PAWŁOWICZ J.M., GÓRA A., ROSA I., CHACHULSKA A.M., WEŁNICKI M.
 Konstrukcja plasmidów do transformacji roślin w celu otrzymania odporności na zakażenia PSTVd.
 Ibid.: IV -42, p.133
- 923/A GRAŻIEWICZ M.A., ZASTAWNY T.H., OLIŃSKI R., JANION C., TUDEK B.
 Replikacja DNA na matrycach modyfikowanych układem generującym rodniki nadtlennkowe -hipoksantyna /oksydaza ksantynowa.
 Ibid.: VIII- 7, p. 209
- 924/A TREMBACZ H., JEŻEWSKA M.M.
 Różnorodność fosforylaz nukleozydów adeninowych.
 Ibid.: XI- 13, p. 266
- 925/A SIWECKA M.A., TOMASZEWSKI M., NAPIERAŁA M., KRZYŻOSIAK W.J.
 Specyficzność rybosomalnej nukleazy zarodków żyta .
 Ibid.: XI -123, p.321

- 926/A WĘGRZYN A., WĘGRZYN G., TAYLOR K.
Czy podjednostka β polimerazy RNA *E.coli* jest miejscem kontaktu z aktywatorami transkrypcji?
Ibid.: IV - 28, p.126
- 927/A SZCZEGIELNIAK J., JURKOWSKI I., DOBROWOLSKA G., MUSZYŃSKA G.
Charakterystyka zależnej od wapnia i fosfolipidów kinazy białkowej z siewek kukurydzy.
Ibid.: VI-19, p.171
- 928/A KAZIMIERCZAK B., MARCZEWSKI A., ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
Wpływ zmienności morfologiczno-anatomicznej populacji kosodrzewiny tatrzańskiej (*Pinus mugo* Turra) w OB PAN w Powsinie na widmo poliprenoli.
Ibid.: VI - 18, p. 171
- 929/A SZKOPIŃSKA A., GRABIŃSKA K., PALAMARCZYK G.
Mutacje drożdżowego genu syntazy FPP powoduje nagromadzenie nietypowych .prenoli.
Ibid.: VI - 16 , p.170
- 930/A GRABOWSKA D., SKONECZNY M., SZKOPIŃSKA A.
Obecność struktur peroksysomalnych nie jest konieczna do syntezy poliprenoli u *Saccharomyces cerevisiae*.
Ibid.: VI - 17 , p.170
- 931/A SZOŁAJSKA E., MICHALIK J.
Rekombinant bakulowirusa jako insektycyd.
Ibid.: II-63 p. 63
- 932/A HOFFMAN- ZACHARSKA D., PAPWORTH M., STĘPIEŃ P.
Klonowanie i analiza genu kodującego glukoamylazę *Aspergillus awamori*.
Ibid.: I - 17, p.13
- 933/A PRZEWŁOCKI G., EDELMAN A., PRZYKORSKA A.
New RNase from colonic carcinoma cell line.
Ibid.: III - 20, p.81
- 934/A LENART U., LIWOS A., PALAMARCZYK G.
Sekrecja inwertazy w mutantach *Aspergillus nidulans* o obniżonej aktywności syntazy mannozofosfodolicholu.
Ibid.: VI - 10, p.167
- 935/A KRUSZEWSKA J., PALAMARCZYK G.
Mutacja zdolności sekrecyjnych *Trichoderma reesei* poprzez nadekspresję drożdżowego genu syntazy mannozofosfodolicholu.
Ibid.: VI - 2, p.159
- 936/A MUSZYŃSKA G.
Fosforylacja białek u roślin.
Ibid.: VI - 8, p.165 referat sympozjalny.

- 937/A IWANICKA-NOWICKA R., HRYNIEWICZ M.M., HULANICKA M.D.
Rola białka regulatorowego Cbl w ekspresji operonu cys PTWAM *E. coli*.
Ibid.: XI - 107, p.313
- 938/A ŚWIEŻEWSKA E., SZYMAŃSKA M., SKORUPIŃSKA K., CHOJNACKI T.
The occurrence of long chain polyprenols in leaves of plants.
12th Intern.Symp.on Plant Lipids. July 7 - 12,1996 Toronto Kanada .Abstr.B49
- 939/A ŚWIEŻEWSKA E., CHOJNACKI T.
The occurrence of long chain polyprenols in leaves of plants.
Inter.Symp. on Isoprenoid Biochemistry. Zao, Japan, August 20 - 24, 1996 referat sympozjalnych.
- 940/A ŚWIEŻEWSKA E., SZYMAŃSKA M., SKORUPIŃSKA K., HERTEL J., KULCITSKY V., CHOJNACKI T.
The occurrence of the longest chain polyprenols in leaves of plants.
37th Intern.Conf. on the Biochemistry of Lipids . Antwerp (Belgium)- September 4-7, 1996 Abstr. P222 p.89
- 941/A TROJANEK J., MUSIELAK M., MUSZYŃSKA G.
Tyrosine phosphorylation in proteins of maize seedlings.
15th Annual Symp. Current Topics in Plant Biochem. Physiol.and Mol.Biol.
"Phosphorylation - Dephosphorylation of Plant Proteins. Abstr. poster 1-63 p.144
- 942/A DOBROWOLSKA G., SZCZEGIELNIAK J., MIKOŁAJCZYK M.,GAGANIDZE D., JURKOWSKI I., MUSZYŃSKA G.
Salt stress responsive protein kinases from maize seedlings.
Ibid.: poster 1-62 p.143
- 943/A AWOTUNDE O.S., ŻOŁNIEROWICZ S., MUSZYŃSKA G.
Identification of protein phosphatase type 2A (PP2A) 65 kDa regulatory subunit in maize seedlings.
Workshop : "the Structural Basis for the Phosphate Signaling". Tatra Mountains 20-26 May,1996 Zakopane , Poland Abstr. 28
- 944/A MIKOŁAJCZYK M., SZCZEGIELNIAK J., GAGANIDZE D., JURKOWSKI I., DOBROWOLSKA G., MUSZYŃSKA G.
Protein kinases involved in stress signaling in plants.
Ibid .: 30
- 945/A GÓRA A., PAWŁOWICZ J., KIERZEK A., CANDRESSE T., ZAGÓRSKI W.
Pedigree analysis of potato spindle tuber viroid genome.
Xth International Congress of Virology. Jerusalem ,Israel , August 11-16, 1996
Abstr.PW09 - 5
- 946/A CHACHULSKA A.M., ROBAGLIA C., CHRZANOWSKA M., ZAGÓRSKI W.
Tobacco veinal necrosis determinants and group specific epitopes in PVY genome.
Ibid.: PW12-1

- 947/A ŚWIEŻEWSKA E.
Prenylacja i acylacja białek.
Ibid.: VI - 4 p.161, referat sympozjalny
- 948/A HULANICKA D., JUSZCZUK M.
Expression of genes located on the subgenomic RNA of potato leafroll virus.
Xth International Congress of Virology 11-16 August 1996, Jerusalem.
Abstr.:PW50-5, p.235
- 949/A SADOWY E., GRONENBORN B., HULANICKA D.
Infections transcripts of potato leafroll virus.
Ibid.: PW11 - 18, p.133
- 950/A SIWECKA M.A.
Rye germ ribosomal nuclease degrading double-stranded RNA: purification and specificity.
"Ribonucleases: Chemistry, Biology, Biotechnology." 4th Intern.Meeting Groningen July 14-18, 1996. Abstr.S2 P4
- 951/A MICHALIK J., SZOŁAJSKA E.
Bakulowirusy - alternatywne do chemicznych pestycydów.
Letnia Szkoła "Chemii i aktywności biologicznej pestycydów"
Uniwersytet Wrocławski , Łądek Zdrój 24-28 czerwca 1996 abstr.: s. 3
- 952/A PRZEWŁOCKI G., EDELMAN A., PRZYKORSKA A.
New sequence specific human RNase.
4th Intern.Meeting-Groningen , July 14-18 1996 "Ribonucleases: Chemistry, Biology, Biotechnology." Abstr.: S3 P11
- 953/A HULANICKA D., PAŁUCHA A., SADOWY E., ZAGÓRSKI W.
Potato leafroll virus: the engineering resistance to this virus and mechanisms of its genome expression.
The second Japanese-Polish Seminar on Biotechnology. Organized by JSPS and PAS "Plant Biotechnology" 23-25 October 1996. Osaka, Japan . Abstr. p.10
- 954/A FIKUS M., PAWŁOWSKI P.
Fatigue of the cellular membrane of *Neurospora crassa* (Slime) cells subjected to mechanical stress.
6th Conf. Cell Biology . 12-14 September ,1996 . Lublin ,Poland.
Folia Histochem. Cytobiol. (1996) 34 suppl. 2 p. 9
- 955/A PAŁUCHA A., CHRZANOWSKA M., ZAGÓRSKI W., HULANICKA D.
Otrzymanie transgenicznych klonów ziemniaka odpornych na infekcję wirusem liściozwoju ziemniaka (PLRV).
Seminarium "Molekularne Podstawy Interakcji pomiędzy Patogenem a Rośliną Uprawną" 14. 11.1996, Poznań. Instytut Genetyki Roślin PAN

- 956/A JUSZCZUK M., HULANICKA D.
 Ekspresja genów zlokalizowanych na subgenomowym RNA wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV)
 Ibid.
- 957/A HULANICKA D., PAŁUCHA A., SYLLER J., CHRZANOWSKA M.
 Transgeniczne linie ziemniaka zawierające sekwencje CP PLRV.
 XXIX Sesja Naukowa 5-6 03. 1996. Ojrzanów "Genetyczno -Hodowlane Podstawy Postępu Biologicznego w Produkcji Ziemniaka " Instytut Ziemniaka Bonin. Abstr. s. 16-17
- 958/A CHRZANOWSKA M., CHACHULSKA A.
 Postęp wiedzy o zróżnicowaniu szczepów PVY.
 Ibid.: s.25
- 959/A CHRZANOWSKA M., CHACHULSKA A.
 Skład populacji wirusa Y występującej ostatnio w Polsce. Charakterystyka izolatów.
 Ibid.: s.49
- 960/A JANION C.
 The MFD effect and DNA repair in E.coli K-12 strains.
 5th International Conference on Mechanism of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (5th ICMAA) December 2-6, 1996, Okayama, Japan Abstr. 2-6 p.33
- 961/A MOSPAN O., ZASTAWNY T.H., TUDEK B.
 DNA repair enzyme activity and oxidative DNA damage in the tumor and non-tumorous tissues from lung cancer patients.
 II Konf. "Aktualne kierunki badań w biochemii i biotechnologii" Abstr. III. 77
- 962/A GRAZIEWICZ M.A., LAVAL J., TUDEK B.
 Imidazole ring-opened purines as potentially premutagenic lesions.
 "DNA Repair Network Workshop" Cancer Res. Inst. SAS, Smolenice Castle, Slovakia 29 April - 1 May, 1996 Abstr. L4, P27
- 963/A GRAZIEWICZ M.A., ZASTAWNY T.H., TUDEK B.
 Thymine glycols are more potent inhibitors of DNA replication than imidazole ring opened purines.
 II Konf. "Aktualne kierunki badań w biochemii i biotechnologii" Łódź 12-13 grudnia 1996 Abstr. III.88
- 964/A CHACIŃSKA A., BOGUTA M.
 Interaction of yeast mitochondrial ribosomal protein Nam 9 with chaperone Hsp 104.
 24th Intern. Confer. FEBS, Barcelona July 10-12 1996
 Abstr. 27

- 965/A MIECZKOWSKI P., FIKUS M., CIEŚLA Z.
 Characterization of a novel gene of *Saccharomyces cerevisiae*, *DIN7*, the expression of which is induced by DNA damage.
 "DNA Repair Network Workshop" Cancer Res. Inst. SAS, Smolenice Castle, Slovakia 29 April - 1 May, 1996
- 966/A ADAMCZYK M., ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA E.
 Pol2-RAD53-DUN1 regulatory pathway is not involved in damage-inducible expression of the *Saccharomyces cerevisiae* *MAG* gene.
 26th EEMS Annual Meeting. Workshop on chromosome instability and cell cycle control. September 3-7, 1996 Rome.
 Abstr. p.80
- 967/A KLUDKIEWICZ B., GODLEWSKI J., GRZELAK K., CYMBOROWSKI B.
 Effect of ecosteroid on the synthesis of some proteins in diapausing *Galleria larvæ*.
 XIIth Ecdysone Workshop Dept. of Agrobiolgy (CID, CSIC) Jordi Girona 18, Barcelona, July 22-26, 1996
 Abstr. 69
- 968/A EJCHART A., SIEDLECKA M., STICHT H., BIERZYŃSKI A.,
 NMR Studies of secondary structure in calcium binding peptide AcDKDGDGYISAA-EAAAQNH₂.
 XIIIth European Experim. NMR Conference, Paryż, 19-24 maja 1996 Mat. Zjazd. s.252
- 969/A EJCHART A., SIEDLECKA M., STICHT H., BIERZYŃSKI A.,
 Secondary structure of calcium binding peptide AcDKDGDGYISAAEAAAQNH₂
 International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems. Keystone, USA, 18-23 sierpnia 1996
- 970/A CEGŁOWSKI P., PANKIEWICZ R., AYORA S., ALONSO J.C.
 Regulation of gene expression in the regions involved in stable maintenance of pSM19035
 ESF Network Workshop "Molecular Biology and Ecology of Plasmid-mediated Gene Transfer. II Workshop. June 28- July 1, 1996 Potsdam, Germany.
 Abstr. p.34
- 971/A TOCZYŁOWSKA B., ZHUKOV I., DĘBICKI G.
 High resolution ¹H NMR spectroscopy of human cerebrospinal-fluid; preliminary study.
 XXIX Ogólnopolskie Seminarium na temat Magnetyczny Rezonans Jądrowy i Jego Zastosowanie Kraków 2-3 grudzień 1996.
 Mat.Semin. plakat nr 72

- 972/A BRETNER M., FELCZAK K., DRABIKOWSKA A., POZNAŃSKI J., KRAWIEC K., RODE W., PIASEK A., SHUGAR D., KULIKOWSKI T.
Thiated pyrimidine deoxynucleoside analogues, potential chemotherapeutic agents, and substrates/ inhibitors in various enzyme systems.
XII International Roundtable "Nucleosides, Nucleotides and Their Biological Applications" "Making Drugs Out of Nucleosides and Oligonucleotides"
September 15 - 19, 1996 Hyatt Regency, La Jolla, California USA Abstr.p.99
- 973/A KLECZKOWSKI K.
Rośliny transgeniczne ziemniaka

II Konf.Naukowa poświęcona Prof.A.Dmochowskiemu. Łódź, 12-14 grudnia 1996
Abstr. p.144-146
- 974/A KRZYMOWSKA M., TALARCZYK A., HENNIG J.
Udział kwasu salicylowego w procesie odpowiedzi roślin ziemniaka na infekcję wirusem PVY
Seminarium "Molekularne Podstawy Interakcji pomiędzy Patogenem a Rośliną Uprawną" 14.11.1996, Poznań, Instytut Genetyki Roślin PAN
- 975/A GÓRA-SOCHACKA A., CANDRESSE Th., ZAGÓRSKI W.
Pojedyncze mutacje punktowe w RNA wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd) powodujące konwersje fenotypowe.
Ibid.
- 976/A PAWŁOWICZ J., GÓRA -SOCHACKA A., CANDRESSE Th., ZAGÓRSKI W.
Wpływ struktury domeny P wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd) na ostrość symptomów porażenia.
Ibid.
- 977/A LIPSKA A., CHACHULSKA A.M., ROBAGLIA Ch., ZAGÓRSKI W.
Wprowadzenie cDNA kodującego replikazę wirusa PVY do genomu rośliny jest jedną ze strategii otrzymywania roślin odpornych na infekcję tym wirusem
Ibid.
- 978/A HUG G.L., MARCINIAK B., BOBROWSKI K.
Acid-base equilibria involved in secondary reactions following the carboxybenzophenone sensitized photooxidation of methionyl-glycine in aqueous solution. Spectral and time resolution of the decaying $(S \cdot \cdot N)^+$ radical cation.
Proc.of the Twentieth Doe Solar Photochemistry . Res.Conference
French Lick Springs Conf. Center ,French Lick,Indiana, June 8- 12, 1996
Poster 21, p.119
- 979/A BANECKI B., MARSZAŁEK J., WAWRZYNÓW A., LIBEREK K., BŁASZCZAK A., BARSKI B., JAKÓBKIEWICZ J., OGRODNIK D., ŻYLICZ M.
The role of various molecular chaperones in DNA replication and proteolysis.
Zjazd EMBO: Molecular biology of DNA replication.
Weggis, Szwajcaria, 8 - 13 wrzesień 1996, abstr. s.23

PUBLIKACJE W DRUKU

1. BOBROWSKI K., HOLCMAN J., POZNAŃSKI J., WIERZCHOWSKI K.L.
Pulse radiolysis studies of intramolecular electron transfer in model peptides and proteins. 7. Trp[•]→TyrO[•] radical transformation in hen egg-white lysozyme.
Biophys Chem. (1996) 63 000-000

2. PAWŁOWSKI K., JAROSZEWSKI Ł., BIERZYŃSKI A., GODZIK A.
Multiple model approach dealing with alignment ambiguities in comparative protein modeling.
Proceedings of the Second Pacific Symp. on Biocomputing, Kapalua, Maui, USA (1996)

3. DADLEZ M.
Hydrophobic interactions accelerate early stages of the folding of BPTI.
Biochemistry (1996) 35 000-000

4. WÓJCIK J., GÓRAL J., PAWŁOWSKI K., BIERZYŃSKI A.
Isolated calcium-binding loops of EF-hand proteins can dimerize forming a native-like structure.
Biochemistry (1996) 35 000-000

5. WĘGRZYN A., WĘGRZYN G., HERMAN A., TAYLOR K.
Protein inheritance: λ plasmid replication perpetuated by the heritable replication complex.
Genes to Cells 1 (1996) 000-000.

6. TAYLOR K., WĘGRZYN G., WĘGRZYN A., SZALEWSKA-PALAŚ A., HERMAN A., OBUCHOWSKI M., ŚRUTKOWSKA S., KONOPA G.
Escherichia coli initiator protein DnaA, cell-cycle and control of λ plasmid replication. Mini Review.
Bull. Polish Acad.Sci. Biological Scienc. (1996) 44: 000-000

7. TOMASZEWSKI R., JERZMANOWSKI A.: The AT-rich flanks of the oocyte - type 5S RNA gene of *Xenopus laevis* act as a strong local signal for histone H1-mediated chromatin reorganization in vitro.
Nucl. Acids Res. (1997) 25 : 000-000

PATENTY

- P. 4 SKRZECZKOWSKI L.J., ZAGÓRSKI-OSTOJA W., WEŁNICKI M.
Sposób wytwarzania sondy polinukleotydowej do wykrywania wiroida
wrzecionowatości bulw ziemniaka.
Uprawniony do patentu : Instytut Biochemii i Biofizyki PAN
Opis Patentowy PL 161561 B1. Nr zgłoszenia : 280261, Int Cl⁵:
C12N 15/11 GO1N 33/50
- P.5 ŻEKANOWSKI C., WEŁNICKI M., SKRZECZKOWSKI L.J.,
ZAGÓRSKI - OSTOJA W.
Sposób wykrywania patogenów i test diagnostyczny do wykrywania patogenów.
Uprawniony do patentu: Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa
Opis Patentowy: PL 170018 B1 Nr zgłoszenia: 288397, IntCl⁶:
C12Q 1/68 C12N 15/10