

INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI

Polskiej Akademii Nauk

ul. Pawińskiego 5A

02-106 Warszawa

SPRAWOZDANIE Z DZIAŁALNOŚCI
za 1999 r.

1921 THE BIRMINGHAM JOURNAL

SPIS TREŚCI

Wstęp	1-4
Zatrudnienie	5
Działalność naukowa	5
Przychody	5
Wybrane wyniki	6-7
Tytuły i stopnie naukowe	8
Zgłoszenia patentowe	9
Ekspertyzy naukowe	9
Recenzje	9-10
Działalność dydaktyczna	10
Realizowane projekty badawcze	11-14
Współpraca naukowa z zagranicą	15
Bezpośrednia współpraca z partnerami zagranicznymi	15-20
Współpraca w ramach wymiany bezdewizowej	21
Udział w międzynarodowych konferencjach naukowych oraz szkoleniach zagranicznych	22-24
Imprezy z udziałem gości zagranicznych organizowane przez IBB PAN	25
Ocena merytoryczna. Wnioski	25
Wykaz umów o współpracy naukowej IBB PAN z placówkami zagranicznymi	26
Wykaz placówek zagranicznych współpracujących z IBB bez umów	26-27
Kontakty zagraniczne (według krajów)	28
Współpraca z placówkami krajowymi	29-30
Udział w krajowych imprezach naukowych	30-31
Nagrody Rady Naukowej IBB PAN	31-32
Nagrody i wyróżnienia uzyskane poza IBB PAN	32-33
Członkostwo z wyboru w krajowych/międzynarodowych organizacjach naukowych lub akademiach	33-34
Członkostwo w radach naukowych innych placówek	34
Udział w komitetach/radach redakcyjnych krajowych lub zagranicznych czasopism naukowych	35
Sprawozdanie merytoryczne	37-68
Seminaria naukowe IBB PAN	69-72
Publikacje	73-106

Uwagi wstępne

Przedstawione sprawozdanie zawiera dane pozwalające ocenić merytoryczną działalność Instytutu w 1999 roku. Komisja Nagród naszej Rady Naukowej wskaże nam niebawem, które z prac opublikowanych w roku sprawozdawczym uważa za godne wyróżnienia. Nie warto więc tych „Uwag” przetwarzać na przykład w listę klasyfikującą zeszłoroczne publikacje Instytutu. Jest tu za to miejsce na wspomnienie o kilku sprawach, nie ujętych w formalnym sprawozdaniu a mających istotne znaczenie dla pracy Instytutu w minionym roku.

Pobieżny przegląd sprawozdania prowadzi do co roku powtarzanego - stającego się już więc banalnym, stwierdzenia, że liczba pełnych publikacji nie do końca odzwierciedla potencjał intelektualny Instytutu. Znow – jak w uprzednich latach, porównując liczbę i treść komunikatów oraz pełnych publikacji - widać, że przetwarzanie ciekawych wyników doświadczalnych w końcowe publikacje nie jest w IBB prostą sprawą. Wynika to zapewne z kilku powodów, takich jak na przykład swoisty perfekcjonizm. Akurat ten motyw opóźniania przekazania do druku publikacji właściwie trudno jest krytykować. Dążenie do otrzymania wyniku niekontestowalnego jest oczywistością. Warto jednak wspomnieć, że perfekcjonizm powinien być racjonalny, a jego racjonalizacją jest publikowanie etapowe, a nie dążenie do tego by zamknąć całe działanie poznawcze w postaci jednego „hauptwerk”. Istnieją też i inne motywy, często trudniej uchwytnie, związane ogólnie z umiejętnością pisania prac. Jest ona oczywiście niewysoka z przyczyn naturalnych u doktorantów. W ich przypadku odpowiedzialność za publikacje spoczywa na promotorach. Pytanie o efektywność publikacyjną doktorantów winno być w tym roku postawione promotorom przez kierownictwo szkoły doktorantów w sposób formalny.

Zespoły Instytutu publikowały w roku sprawozdawczym prace o różnej wadze, ich wartość zwykle, ale nie zawsze, znajduje odbicie w Impact Factor pisma, w którym były umieszczane. Uwaga ta dotyczy problemu żywo dyskutowanego w naszym środowisku w roku sprawozdawczym.

W naszym własnym odczuciu, ale też zapewne – środowiskowym, Instytut znajduje się wśród placówek mających istotne znaczenie w krajobrazie naukowym kraju. Wiemy przy tym, że oceny znaczenia instytucji naukowej dokonać można stosując kilka sposobów. Jeden z nich, oparty jest o parametry naukometryczne, w systemie stosowanym w tej chwili w Polsce, związane w istocie z liczbą publikacji. Taki czy podobny system oceny preferowany jest przez organizatorów nauki, chcących mieć obraz klasyfikacji zespołów pozwalający na rozdział środków na badania. Zakłada się, że system taki jest obiektywny. Podobnie jak i w poprzednim roku, pozwolę sobie tu na pewne uwagi. Nie jest dla mnie jasne czy da się ustalić jeden uniwersalny wskaźnik wartości pracy, obejmujący wszystkie dziedziny nauki, oparty na jednolitym kryterium wydajności publikacyjnej. Różne dziedziny nauki mają odmienne paradygmaty. Nie wspominając o różnicy między naukami humanistycznymi a ścisłymi, przecież nawet w obrębie biologii, istnieje poważna chizma między naukami opisowymi a eksperymentalnymi. Jest też oczywiste, że teoretycy publikują częściej niż doświadczalnicy – choćby ze względu na różne koszty ich badań. W naszym przypadku zgrupowanie odmiennych w istocie dziedzin nauki w jednej komisji KBN utrudnia wypracowanie jednolitego systemu punktacji. Tymczasem przez ostatnie dwa lata kwestia owego systemu punktacji była dominującym zagadnieniem dyskusji środowiskowych dotyczących administracji nauką. Moim zdaniem były to dyskusje zastępcze. Rozmowy o strategii badań

przerodziły się bowiem w „kabenologię stosowaną”, rozważania nad systemami klasyfikacji zastąpiły rozmowę o programach badawczych. Intensywność tych dyskusji wynikała nie tyle z rzeczywistego przywiązania do owych systemów klasyfikacji, ile z mizerności finansowej KBN.

Dyskusje te jakby zatępiły świadomość istnienia drugiego sposobu oceny nauki, stanowiącego przecież esencję naszego działania. Ten drugi system opiera się na znajomości rzeczy, zdaniu fachowca, na uznaniu przez grupę specjalistów o szerszych horyzontach, iż to a to jest nowe i warte podtrzymania zaś tamto jest nieciekawe, wtórne, bez wartości. Na jakimś zebraniu, usłyszałem z ust prelegenta, że oceny indywidualne są w nauce podobnie jak w sztuce niepewne, bo subiektywne. Któż bowiem (zdaniem owego referenta) byłby w stanie powiedzieć kto był większym malarzem – Matejko czy Styka. Otóż jednak wśród znających się na sztuce są tacy co to potrafią i mówią bez wahania: obaj to pacykarze. Oczywiście ocena taka nie odbiera wspomnianym mistrzom znaczenia kulturotwórczego ważnego w danym miejscu i czasie. Podobnie rzecz ma się i w nauce. Codziennie tu są oceny indywidualne, dokonywane przez recenzentów prac i projektów badawczych. I oceny te nie są oparte o odpowiednie algorytmy – lecz o znajomości rzeczy. Tu warto wspomnieć, że w V Programie Ramowym, recenzenci, zgodnie z obowiązującą zasadą anonimowości, nie znają nazwisk autorów projektów ani ich afiliacji. Proszeni są więc o swoje zdanie – zdanie specjalistów na temat właśnie wyłącznie jakości naukowej przedłożonych propozycji. Klasyfikują projekty na podstawie swojej najlepszej – własnej wiedzy.

Prawdę powiedziawszy, warto by było - po okresie jakoś tam zapewne potrzebnego zajęcia się arytmetyką naukometryczną, przejść do esencji dyskusji nad rozwojem współczesnej biologii.

Masywne sekwencjonowanie genomów, genomika, masywne analizy transkryptów, proteomika to pojęcia tworzące nową, kilka jeszcze lat temu niemożliwą do przewidzenia rzeczywistość naszej dziedziny. Wpływ tych nowych domen choćby na bakteriologię, lekarską, biomedycynę czy biologię molekularną roślin nie mówiąc o biologii rozwoju czy ewolucjonizmie wart jest poważnych dyskusji środowiskowej.

Nie przeceniając tego sposobu oceny nauki – oceny opartej o zdanie dobrego specjalisty czy grupy specjalistów, trzeba jednak powiedzieć, że próba całkowitego odejścia od wartościowania w oparciu o własne zdanie, może mieć cechy braku odwagi intelektualnej.

Co z tych, może nadto ogólnych rozważań wynika *pro domo sua*? Zespół Instytutu przyjmuje do wiadomości iż zasady hierarchizacji instytucji naukowych, oparte są na wskaźnikach numerycznych. I bez tego bodźca, będziemy oczywiście dbać o wzrost liczby publikacji (patrz wstępne akapity tych uwag) nie zaniedbując jednak starań o ich jakość, ale jednocześnie nie będziemy się pozbywać własnego, indywidualnego zdania o tym co w nauce dobre, co nowe, co warte poważnego wysiłku eksperymentatora.

Rozwój nauki często wymaga rozbudowy warsztatu badawczego. Ekonomia myślenia skłania do tego by owa rozbudowa oparta była na ile tylko możliwe – o współpracę z innymi zespołami, dysponującymi komplementarnym *savoir-faire*. To naturalne podejście znajduje odbicie np. w strukturze europejskich programów badawczych. Wracając do naszych spraw, krótki przegląd publikacji Instytutu wskazuje, że w roku sprawozdawczym, na 87 pełnych publikacji, 44 powstały wyłącznie wewnątrz zespołów tematycznych, 23 we współpracy z ośrodkami zagranicznymi, 19 z krajowymi a tylko 1 w wyniku współpracy międzyzakładowej.

Oczywiście codziennością w Instytucie jest wzajemne udostępnianie sobie technik i aparatury i istnienie ścisłych kontaktów między grupami zajmującymi się zbliżoną tematyką.

Tym niemniej ta pobieżna statystyka skłania do zastanowienia się czy wszyscy wykorzystujemy w pełni potencjał intelektualny macierzystej instytucji. Wspólne działania oprócz tego, że ułatwiają pracę, są ważne dla koherencji naszej wspólnoty naukowej. Takie działania są już od kilku lat promowane poprzez wprowadzenie przy zakupie ciężkiej aparatury zasady wspólnych wystąpień kilku zespołów. W połowie roku sprawozdawczego Dyrekcja postanowiła jednakże wesprzeć aktywnie współpracę międzyzespołową. W związku z tym, poważna część zysku Instytutu w 1999 roku została przeznaczona na sfinansowanie tzw. programów wyprzedzających. Chodzi tu o projekty znajdujące się we wstępnej fazie, zbyt wczesnej by stały się podstawą do klasycznego wystąpienia o granty ze źródeł zewnętrznych. O takie granty występuje się zwykle mając już zasób wstępnych (a często w istocie zaawansowanych) danych świadczących iż projekt zostanie zakończony pomyślnie. A ta praktyka jest na tyle asekuracyjna, iż może prowadzić do banalizacji badań i powielania dotychczasowych tematów. Chcemy więc by pojawił się sposób finansowania badań opartych o nowe pomysły. Uważamy też, że programy wyprzedzające odzwierciedlają istotę finansowania działalności statutowej instytutu badawczego – finansowania przeznaczonego właśnie na rozwój nowych badań. By wykorzystać przy tym możliwie potencjał Instytutu, w założeniu programy te mają mieć charakter międzyzakładowy. W wyniku konkursu ocenianego przez Dyrekcję i członków Prezydium Rady Naukowej przyznano finansowanie 6 wymienionym programom wyprzedzającym:

Projekt 1: Zastosowanie drożdży *Saccharomyces cerevisiae* do wyjaśnienia molekularnych podstaw wybranych dziedzicznych chorób ludzkich; koordynator dr Anna Chelstowska, udział zespołów z Zakładu Genetyki, Zakładu Biofizyki, Zakładu Bioinformatyki, Pracowni Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów.

Projekt 2: Genomika plazmidowa; koordynator doc. dr hab. Piotr Cegłowski, udział zespołów z Zakładu Biochemii Drobnoustrojów i Pracowni Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów.

Projekt 3: Nowoczesne techniki nadekspresji i inżynierii białek; koordynator dr hab. Michał Dadlez, udział zespołów z Zakładu Biofizyki, Zakładu Bioinformatyki, Zakładu Biosyntezy Białka.

Projekt 4: Klonowanie roślinnych genów naprawy DNA metodą komplementacji mutacji bakteryjnych; koordynator dr Elżbieta Kraszewska, udział zespołów Zakładu Biochemii Roślin, Pracowni Mutagenyzy i Reperacji DNA, Zakładu Biologii Molekularnej.

Projekt 5: Symulacja szlaków metabolicznych *in silico* - wartość dodana w projektach eksperymentalnych IBB PAN; koordynator: doc. dr hab. Piotr Zielenkiewicz, udział zespołów z Zakładu Bioinformatyki, Zakładu Genetyki i Zakładu Biochemii Drobnoustrojów.

Projekt 6: Zależności funkcjonalne pomiędzy szlakiem biosyntezy izoprenoidów i biosyntezy tRNA a regulowaną degradacją białek; koordynator: prof. Grażyna Palamarczyk, udział zespołów z Pracowni Glikobiologii Grzybów i Zakładu Genetyki.

Liczymy na to, że programy wyprzedzające wzmocnią więzi międzyzakładowe, a ich pomyślny przebieg wyłoni nowe dominanty tematyczne w pracach Instytutu.

Sformułowane przez zespoły programy wyprzedzające, w istotny sposób ułatwiły przedstawienie zamierzeń Instytutu w konkursie Unii Europejskiej przewidującym utworzenie w V-ym Programie Ramowym centrów doskonałości w krajach aspirujących do członkostwa Unii. Opierając się w znacznym stopniu również na doświadczeniach Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin, Instytut złożył w tym konkursie projekt zatytułowany „Excellence in Molecular Biotechnology – Getting European Dimension”. Za wysiłek włożony w zredagowanie tego projektu należy się podziękowanie prof. Stanisławowi

Lewakowi - Dyrektorowi Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin - i Sekretariatowi Naukowemu.

Warto też w tym miejscu wspomnieć, że zespoły Instytutu zareagowały aktywnie na przystąpienie Polski do V-ego Programu Ramowego Unii Europejskiej. Z Instytutu wyszło 8 propozycji badawczych złożonych w kolejnych konkursach tego Programu.

W roku sprawozdawczym mieliśmy w Instytucie do czynienia z kilku zmianami organizacyjnymi.

Prof. Danuta Hulanicka i prof. Kazimierz Wierzchowski przekazali kierownictwo zakładów swoim następcom – doc. Piotrowi Cegłowskiemu (Zakład Biochemii Drobnoustrojów) i prof. Andrzejowi Bierzyńskiemu (Zakład Biofizyki). Pracownia kierowana dotąd przez prof. Monikę Jeżewską weszła w skład Zakładu Biochemii Lipidów. Doc. Andrzej Ejchart objął kierownictwo Środowiskowego Laboratorium Magnetycznego Rezonansu Jądrowego. Doc. Piotr Zielenkiewicz objął kierownictwo nowo utworzonego Zakładu Bioinformatyki, pierwszej takiej jednostki w placówkach PAN. Na przełomie roku doc. Piotr Zielenkiewicz zastąpił doc. Bernarda Wielgata na stanowisku Dyrektora ds. Ogólnych.

Warto podkreślić, że profesorowie, którzy w tym roku osiągnęli wiek emerytalny, pozostają dalej czynnymi członkami naszej społeczności naukowej. Wdzięczni Im jesteśmy za chęć dzielenia się z nami Ich doświadczeniem.

W roku sprawozdawczym Instytut rozbudował znacznie potencjał sekwencjonowania DNA. Wynika to z naszego dążenia do podtrzymania udziału w programach genomicznych. Udział ten w naszej skali, wyraża się pełnym sekwencjonowaniem genomów wybranych fagów (P1, P7) i plazmidów. Wiedza o pełnych sekwencjach tych replikonów uzupełni w istotny sposób rozumienia działania genomów bakteryjnych.

Na zakończenie warto wspomnieć, iż Instytut obraca się również w określonej rzeczywistości prawnej. Z tego punktu widzenia rok 1999 miał niewątpliwie cechy roku kończącego tysiąclecie. Pluskwa milenijna co prawda nie spełniła swoich gróźb, ale swoisty stan podniecenia wyraził się np. w działaniu struktur administracyjnych. W związku z głębokimi zmianami w systemach ubezpieczeniowych, ZUS zdecydował się przygotować odpowiedni program „Płatnik” i przysłał nam stosowną dyskietkę, niestety z błędami. Operację wobec tego powtórzono, znów nie ustrzegając się błędów. Wobec tego, znów ją powtórzono i to kilkakrotnie. Dziś ZUS przekazał już szóstą wersję owego programu, ciągle przy tym nie jest jasne czy właściwą. W rezultacie Księgowość, zgrzytając zębami, przeszła na ręczne opracowania.

Bank PKO BP, gdzie większość z nas ma konta, zmienił ich numery, przy czym stare są czynne do dnia X, w którym zapewne rozpęta się piekło. Ma to swoje znaczenie bo płace w Instytucie są od dawna wpłacane na konta – między innymi właśnie w PKO BP.

Choroba interpretowania ustawy o PAN weszła w fazę ostrą, ilość opinii prawnych na temat na przykład uposażenia Instytutów, zaczyna być zastanawiająca.

Dość interesujący sposób rozumienia ustawy o tajemnicy państwowej zakłada, że instytucje statutowo powołane do upubliczniania swoich badań mają działać tajnie. Zapewne te tajne – powinny działać publicznie... Wreszcie uznano, że pieniądze grantowe przyznawane zespołom badawczym przez KBN to własność Instytutów, a nie - co wydaje się oczywistym – grantodawcy. I tyle anegdot mających przecież zgodnie z regułami swoje miejsce właśnie w zakończeniu tekstu.

W. Zagórski 16.02.2000

DYREKTOR: **prof. dr hab. Włodzimierz ZAGÓRSKI-OSTOJA**
PRZEWODNICZĄCY RADY NAUKOWEJ: **prof. dr hab. Andrzej PASZEWSKI**

Zatrudnienie

(średnioroczne w przeliczeniu na pełne etaty)

194 pracowników, w tym: **104** naukowych oraz **24** pracowników z wykształceniem wyższym na stanowiskach inżynieryjno-technicznych.

Ponadto **71** uczestników Studium Doktoranckiego.

Działalność naukowa

opublikowano – łącznie: **205** prac, z tego **73** prac w recenzowanych czasopismach naukowych o zasięgu światowym, **132** pozostałych; realizowano **48** projektów badawczych, w tym **8** zagranicznych; we współpracy z zagranicą realizowano **38** tematów.

Przychody

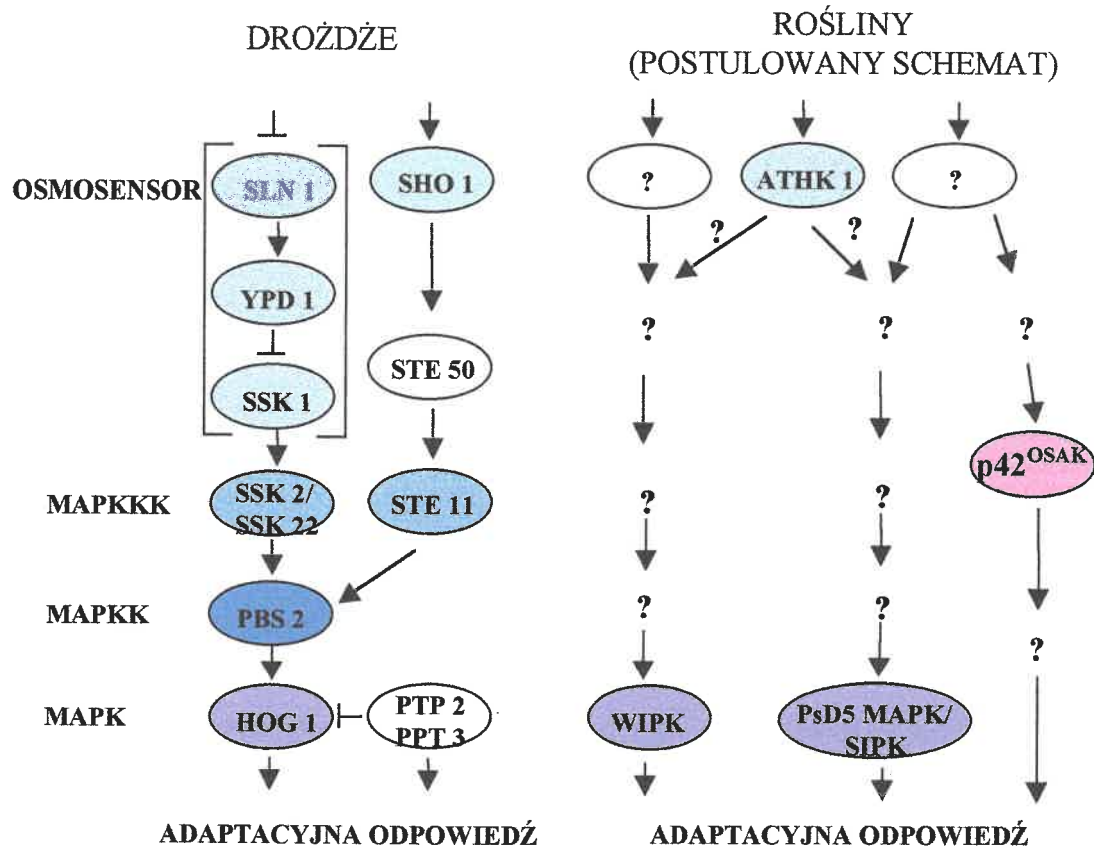
✓ <u>z środków KBN na:</u>	
działalność statutową	12 033 000 zł
współpracę z zagranicą	145 000 zł
import czasopism naukowych	304 787 zł
łączność komputerową (krajową i zagraniczną)	185 000 zł
projekty badawcze	2 135 034 zł
SPUB-M (dofinansowanie udziału w programie INCO-COPERNICUS)	37 080 zł
SPUB - Międzynarodowe Sieci Naukowe	70 000 zł
dofinansowanie zakupów aparaturowych	610 000 zł
✓ <u>z innych na:</u>	
działalność ogólnotechniczną	30 000 zł
współpracę z zagranicą (wymianę bezdewizową)	8 500 zł
projekty PHARE-SCI TECH II	238 536 zł
ICCBnet UNESCO	52 368 zł
program INCO-COPERNICUS	104 893 zł
projekt Wellcome Trust	90 529 zł
✓ <u>z działalności gospodarczej (plan)</u>	2 700 000 zł
razem:	18 744 727 zł

Wybrane wyniki

Zespoły Instytutu prowadziły badania nad strukturami i funkcjami biologicznie czynnych związków drobno- i wysokocząsteczkowych oraz nad biologią molekularną wirusów, bakterii, grzybów niższych, roślin i owadów. W wyniku tych badań m.in.:

- Użyto kombinacji metod enzymatycznych oraz chemicznych w badaniach nad ewolucją kodu genetycznego. Jako model użyto tRNA serynowy, który u wielu gatunków *Candida* odczytuje kodon leucynowy CUG. Nietypowy serynowy tRNACAG posiada w poz. 33 guanozynę (G33) zamiast powszechnie występującej urydyny. Wykazano, że drugo- i trzeciorzędowa struktura przestrzenna tego tRNA przypomina bardziej strukturę tRNA serynowego niż leucynowego, a jedynym wyjątkiem jest ramię antykodonu, które dzięki zamianie U33→G33, charakteryzuje się dużym rozluźnieniem odcinka dwuniciowego. Obserwacje te prowadzą do wniosku, że rozluźnienie w ramieniu antykodonu wpływa na obniżenie zdolności dekodowania przez badany tRNA, a tym samym umożliwia ewolucję kodu genetycznego. *Powyższe wyniki uzyskano przez Zespół dr hab. A. Przykorskiej (IBB PAN) we współpracy z Zespołem prof. G. Keitha (Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Strasburgu) częściowo w ramach Programu Polonium oraz we współpracy z Zespołem prof. M. Tuit'a (Canterbury, Uniwersytet w Kent)*
- Poznano mechanizm stabilnego dziedziczenia plazmidu pSM19035 w bakteriach Gram-dodatnich. Zapewnia je przede wszystkim operon *omega-epsilon-zeta*. Koduje on stabilne, toksyczne białko Zeta, labilne białko „odtrutki” Epsilon, które wiążąc się z Zeta neutralizuje jego aktywność oraz regulatorowe białko Omega. W przypadku utraty plazmidu, a więc wstrzymania stałej dostawy odtrutki ujawnia się letalne działanie białka Zeta: eliminowane są komórki bezplazmidowe. Stabilne utrzymywanie plazmidu odbywa się więc na poziomie populacyjnym a nie komórkowym. Analizując gen *omega* wykazano, że jest on globalnym regulatorem kilku ważnych funkcji plazmidu, m.in. jego stabilnego dziedziczenia i kontroli liczby kopii. Wskazuje to na wzajemne powiązania replikacji z innymi, dotychczas uważanymi za odrębne, funkcjami plazmidu. *Powyższe wyniki uzyskano przez Zespół doc. P. Ceglowskiego (IBB PAN) we współpracy z Zespołem dr. J.C. Alonso (Narodowe Centrum Biotechnologii w Madrycie) częściowo w ramach Programu EU-BIOTECH BIO4-CT-0099*
- Zidentyfikowano i scharakteryzowano dwie kinazy białkowe biorące udział w przesyłaniu sygnału stresu osmotycznego w roślinach. Pierwsza z kinaz, o masie cząsteczkowej 48 kD, należy do rodziny kinaz MAP (z ang. Mitogen Activated Protein Kinase). Na podstawie identyfikacji biochemicznej i immunologicznej wykazano, że jest to kinaza SIP (z ang. Salicylic Acid Induced Protein Kinase) wcześniej poznana jako enzym zaangażowany w przesyłanie sygnału związanego z atakiem patogenów. Druga kinaza białkowa aktywowana przez stres osmotyczny, o masie cząsteczkowej 42 kD (p42^{OSAK}), należy do rodziny roślinnych kinaz serynowo/treoninowych SnRK2b (z ang. SNF1 Related Protein Kinase 2b). Jest to pierwsze doniesienie o zaangażowaniu kinazy należącej do tej grupy w bezpośrednie przesyłanie sygnału stresu. Dotychczasowa wiedza na temat przesyłania sygnałów stresu w komórkach roślinnych jest bardzo znikoma. W tej sytuacji, proponując usytuowanie obydwu nowo-odkrytych kinaz w kaskadzie przekazywania sygnału posłużono się dobrze scharakteryzowanym modelem drożdżowym (patrz rysunek). *Powyższe wyniki uzyskano przez Zespół: mgr M. Mikołajczyk, prof. G. Muszyńska i dr G. Dobrowolska, IBB PAN, częściowo w ramach Programu INCO-COPERNICUS IC15-CT96-0901.*

PRZESYŁANIE SYGNAŁU STRESU OSMOTYCZNEGO



Użyte skróty odpowiadają powszechnie stosowanym nazwom poszczególnych ogniw ścieżki sygnałnej, która składa się z osmosensora (○), kinazy kinazy kinazy MAP (● MAPKKK), kinazy kinazy MAP (● MAPKK) oraz kinazy MAP (● MAPK).

Tytuły i stopnie naukowe nadane pracownikom placówki

- **doktora habilitowanego:**

Iwona FIJAŁKOWSKA

„Mechanizmy kontrolujące wierność replikacji DNA w komórkach *Escherichia coli*”.

Piotr JONCZYK

„Mechanizmy indukowalnej mutagenyzy w komórkach *Escherichia coli*”.

Agnieszka SIRKO

„Rola białka IHF w regulacji ekspresji genów *Escherichia coli*”.

Teresa ŻOŁADEK

„Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* jako organizm modelowy w badaniu biosyntezy hemu i fototoksycznego działania porfiryn”.

- **doktora:**

Jan BRZESKI

„Klonowanie i analiza funkcjonalna homologa drożdżowego genu *SNF5* z *Arabidopsis thaliana*”

Andrzej KIERZEK

„Teoretyczny opis procesu krystalizacji białek. Siatkowa symulacja powstawania i wzrostu fazy uporządkowanej”

„Theoretical description of the protein crystallisation process. Lattice simulations of the formation and growth of the ordered phase”.

Ewa SADOWY

„Konstrukcja infekcyjnych klonów wirusa liściozwoju ziemniaka i analiza ich aktywności”

„Construction of the infectious clones of potato leafroll virus and analysis of their activity”.

Jadwiga SZCZEGIELNIAK

„Kinaza białkowa z siewek kukurydzy zależna od wapnia i fosfolipidów”

Ewa WASZKOWSKA

„Produkty fotoaddycji furokumaryn do fosfatydylocholiny”

Maria Anna GRAZIEWICZ

„Wpływ wolnych rodników na biologiczne właściwości DNA i aktywność T4 DNA ligazy”.

„Free radicals effect on biological properties of DNA and T4 DNA ligase activity”.

Anna WÓJCIK

„Efekty biologiczne indukowane światłem halogenowym w szczepach *Escherichia coli* K-12”

Agata CZYŻ

„*Vibrio harveyi* jako potencjalny bioinduktor mutagennych zanieczyszczeń środowiska morskiego oraz rola bioluminescencji w naprawie uszkodzeń DNA”

Ochrona własności intelektualnej

Zgłoszenie patentowe (tytuł)	Autorzy:
„Nowe analogi 6-fenyloselenenyloacyklourydyny, sposób ich wytwarzania i zawierające je środki farmaceutyczne” (zgłoszenie z dnia 03.09.1999 r.)	Felczak K., Miazga A., Piasek A., Kulikowski T.
„Sposób wytwarzania prolaktyny ludzkiej” (zgłoszenie z dnia 03.09.1999 r.)	Michalik J., Szołajska E., Strokowskaja L., Sołomko A., Kalinina N., Kikhno I., Shved A., Markelova E.

Ekspertyzy naukowe

Wykonawca	Rodzaj ekspertyzy	Zleceniodawca
Tudek B. (przewodnicząca Komisji Biotechnologii)	Weryfikacja tłumaczenia Normy Europejskiej 12468	Polski Komitet Normalizacyjny
Tudek B. (członek zespołu)	Genetycznie modyfikowane organizmy w kontekście ustawy o ochronie środowiska i dostosowania polskiego prawa do wymogów Unii Europejskiej	Ministerstwo Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – Zespół ds. Organizmów Transgeniczných

Recenzje naukowe

Wykonawca	Recenzje projektów badawczych (liczba)	Recenzje manuskryptów do publikacji (liczba)	Inne recenzje (liczba)
Bardowski J.	1	1	
Bartnik E.	16	5	
Bierzyński A.	8	15	
Cegłowski P.	1	2	1
Cieśla Z.	3	3	
Fijałkowska I.J.	3		
Fikus M.	4	2	
Grzesiuk E.	1		
Hennig J.	8	3	
Hulanicka D.	12	3	3
Jachymczyk W.	2	2	
Janion C.	2	1	2
Kuśmerek J.	1	5	
Łobocka M.	1	1	

Łobocka M.	1	1	
Maciejewska U.	1	1	
Michalik J.	2	1	
Muszyńska G.	4	3	
Palamarczyk G.	2	5	
Pietrzykowska		1	1
Rytka J.		3	
Shugar D.		80 (głównie dla czasopism zagranicznych)	
Stępień P.P.	12		
Sledziwska-Gójska E.	2		
Sledziwska-Gójska E.	2	3	
Tudek B.	1		
Tudek B.		2	
Wielgat B.	7	1	
Wierzchowski K.L.	5	15	50
Zołądek T.		1	
Zagórski W.	4	2	2

Działalność dydaktyczna

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	38	1387	10	32	2	5
na podstawie umowy	2	105	1	30	/	/
pozostałe	/	/	/	/	/	/
b) inne	/	/	/	/	/	/
2. za granicą:						
	1	University of Luisville Medical School, USA				
	1	Howard Hughes Medical Institute, University of Chicago, USA				
	1	Cardiology Research Center, Moskwa, Rosja				

Realizowane projekty badawcze

L.p.	Rodzaj projektu/Tytuł projektu	Kierownik	Okres realizacji (od-do)
FINANSOWANE Z ŚRODKÓW KBN • własne			
1	„Badanie przestrzennej struktury RNA przy użyciu nukleaz z roślin wyższych”	dr hab. A. Przykorska	1996-1999
2	„Klonowanie i analiza genów indukowanego cellobiozą katabolizmu laktozy u <i>Lactococcus lactis</i> ”	dr J. Bardowski	1996-1999
3	„Izolacja, rekombinacje i zastosowanie plazmidów liniowych w transformacji roślin”	dr M. Bucholc	1996-1999
4	„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
5	„Wykorzystanie technik inżynierii genetycznej do podniesienia poziomu syntezy/sekrecji białek <i>Trichoderma reesei</i> ”	prof. G. Palamarczyk	1997-2000
6	„Badania nad partycją niskokopiiowych plazmidów do komórek potomnych w czasie podziału komórkowego”	dr M. Łobocka	1997-2000
7	„Udział kinaz białkowych w przenoszeniu sygnałów stresu osmotycznego u roślin”	dr G. Dobrowolska	1997-1999
8	„Wykorzystanie mutantów <i>hem</i> -drożdży <i>S.cerevisiae</i> w badaniu wewnątrzkomórkowego transportu i regulacyjnej roli hemu”	prof. J. Rytko	1997-2000
9	„Molekularne podłoże chorób mitochondrialnych”	prof. E. Bartnik	1997-1999
10	„Doustne szczepionki roślinne: Konstrukcja transgeniczných roślin produkujących zrekombinowaną ureazę <i>Helicobacter pylori</i> ”	dr hab. A. Sirko	1997-2000
11	„SOS zależna mutageniza: mechanizm regulacji wyłączania systemu SOS oraz rola białek UmuD' i C w mutagenizie niezależnej od replikacji DNA”	prof. I. Pietrzykowska	1997-1999
12	„Prenylacja białek roślinnych”	doc. E. Kula-Świeżewska	1997-1999

13	„Somatyczna hybrydyzacja - odporność ziemniaka na patogeny”	dr U. Maciejewska	1997-2000
14	„Charakterystyka genomu i wirulencji bakulowirusa poliedrozy jądrowej celem pozyskania bardziej efektywnego biopestycydu”	dr hab. J. Michalik	1997-2000
15	„Genetyczna i biochemiczna charakterystyka syntezy poliprenoli w układach eukariotycznych”	dr hab. A. Szkopińska	1997-2000
16	„Określenie funkcji histonu H1 w komórce eukariotycznej oraz identyfikacja białkowych czynników regulujących dostępność DNA chromatyny dla transkrypcji u roślin i analiza mechanizmu zależnej do SWI/SNF inicjacji transkrypcji”	prof. A. Jerzmanowski	1997-2000
17	„Selekcja z bibliotek białkowych prezentowanych na fagu M13 zastosowana do wytworzenia nowych inhibitorów proteinaz i optymalizacji ich specyficzności strukturalnej i związania”	dr hab. M. Dadlez	1997-2000
18	„Analiza molekularna genów struktury i genów regulacyjnych metabolizmu siarkowego u grzybów”	prof. A. Paszewski	1998-2001
19	„Analiza populacji żubra przy wykorzystaniu metod genetyki molekularnej ze szczególnym uwzględnieniem choroby występującej u samców”	dr B. Burzyńska	1998-2001
20	„Poszukiwanie funkcji nowoodkrytych genów <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ”	dr A. Chelstowska	1998-2001
21	„Białka o właściwościach prionu u drożdży”	dr hab. M. Boguta	1998-2000
22	„Ustalenie funkcji produktów ramek odczytu (ORF0 i ORF1) wirusa liściozwoju ziemniaka; konstrukcja infekcyjnego klonu wirusa pod kontrolą promotora 35S Ca MV”	prof. D. Hulanicka	1998-2000
23	„MAF1, nowy gen drożdżowy: analiza funkcji”	mgr K. Pluta	1998-1999
24	„Charakterystyka plazmidów występujących w kolekcji szczepów <i>Pseudomonas aeruginosa</i> izolowanych z zakażeń u ludzi”	doc. G. Jagura-Burdzy	1999-2002
25	„Wyznaczenie struktury białka S100A1 i badania konformacji peptydów wiążących jony wapnia metodą NMR”	doc. A. Ejchart	1999-2000
26	„Molekularny mechanizm kontroli ekspresji genów metabolizmu siarkowego <i>Escherichia coli</i> ”	doc. M. Hryniewicz	1999-2000
27	„Badanie wierności replikacji nici prowadzącej i opóźnionej DNA w komórkach <i>Escherichia coli</i> ”	doc. I. Fijałkowska	1999-2001
28	„Wpływ ubikwintynacji na transport białek w komórce drożdże <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ”	dr hab. T. Żołądek	1999-2002
29	„Nowowyzolowane geny DIN7 i DIN8/UMPI zaangażowane w odpowiedź komórek <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na uszkodzenia DNA”	prof. Z. Cieśla	1999-2001

30	„Otrzymanie infekcyjnego cDNA wirusa Y ziemniaka (PVY) oraz konstrukcja chimerowych kopii cDNA wirusowego zawierających geny reporterowe”	dr A. Palucha	1999-2001
31	„Badanie mechanizmów obronnych uruchamianych w roślinach podczas procesu infekcji”	doc. J. Hennig	1999-2002
• promotorskie			
1	„Mechanizm działania i potencjalne inhibitory glikozylazy 3-metyloadenina-DNA pochodzenia bakteryjnego i ludzkiego”	prof. J. Kuśmierek	1996-1999
2	„Wykorzystanie genu replikazy wirusa PLRV dla konstrukcji roślin ziemniaka niewrażliwych na infekcję wirusową”	doc. J. Hennig	1997-2000
3	„Rola H ₂ O ₂ w procesach odpowiedzi roślin tytoniu na infekcję wirusem TMV”	doc. J. Hennig	1998-2000
4	„Charakterystyka procesu aktywacji transkrypcyjnej przez regulator CysB <i>Escherichia coli</i> ”	prof. D. Hulanicka	1998-2000
PROJEKTY FINANSOWANE Z ŚRODKÓW ZAGRANICZNYCH			
1	Projekt finansowany przez II Fundusz im. M.Skłodowskiej-Curie: "Mutageneza zachodząca na nici prowadzącej i opóźnionej podczas replikacji DNA"	doc. I.Fijałkowska	1996-1999
2	Projekt w ramach programu COPERNICUS: "Metabolic Regulation in Plants. Specificity of Signal Transduction by the Phospholipid- and Ca ²⁺ - Dependent Protein Kinase from Maize Seedling and Prediction of Potential Substrates of the Enzyme Among Plant Proteins"	prof. G. Muszyńska prof. P. Ek (Szwecja)	1997-1999
3	Projekt w ramach programu COPERNICUS: "Manipulation of the Lipid Composition and Physical State of Plant Membranes for Improving Tolerance to Temperature Stress".	prof. G. Muszyńska prof. A. Leone (Włochy)	1997-1999
4	Projekt w ramach programu PHARE SCI-TECH: „Komercjalizacja molekularnych metod diagnozowania i przeciwdziałania wirusowym chorobom ziemniaka i tytoniu oraz szkolenie studentów w komercyjnym wykorzystaniu biologicznych baz danych o sekwencjach genów i ich produktów”	doc. P. Zielenkiewicz	1998-1999

5	Projekt Unii Europejskiej finansowany za pośrednictwem International Agency for Research on Cancer pt. „Exocyclic Adducts as New Risk Markers for DNA Damage to Man”	dr B. Tudek, prof. H. Bartesh (Niemcy)	1998-2000
6	Projekt w ramach programu „Biotechnology” Unii Europejskiej: „Mobile elements’ contribution to bacterial adaptability and diversity” (MECBAD)	doc. P. Ceglowski dr K. Smalla (Niemcy)	1998-2000
7	Projekt finansowany przez Wellcome Trust Collaborative Research Initiative Grants: „Partitioning in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ”	doc. G. Jagura-Burdzy prof. C. M. Thomas (Wielka Brytania)	1999-2001
8	Projekt finansowany przez United States Department of Agriculture: „Developement of techniques fo agriculturally valuable crops to create able vaccines”	dr hab. A. Sirko dr Hilary Koprowski (USA)	1999-2001
9	Grant FNP na przygotowanie do uczestnictwa w VPR finansowany przez PHARE SCI-TECH II: „Nowe cele molekularne w walce z bakteriami chorobotwórczymi”	doc. P. Ceglowski	1999
10	Grant FNP na przygotowanie do uczestnictwa w VPR finansowany przez PHARE SCI-TECH II: „Helikazy Flaviviridae jako cel terapii przeciwwirusowej; Poszukiwania nowych, selektywnych inhibitorów wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) oraz wirusa Dengue”	prof. T. Kulikowski	1999
11	Grant FNP na przygotowanie do uczestnictwa w VPR finansowany przez PHARE SCI-TECH II: „Mechanizmy biosyntezy poliizoprenoidów roślinnych”	doc. E. Kula- Świeżewska	1999
12	Grant FNP na przygotowanie do uczestnictwa w VPR finansowany przez PHARE SCI-TECH II: „Badanie mechanizmów obronnych uruchamianych w roślinach podczas procesu infekcji”	doc. J. Hennig	1999
13	Projekt finansowany przez Bio-Traces Inc.: Developenet of a new supersensitive techniques in food qality, diagnostic tests and therapeutic agents”	prof. W. Zagórski dr A. Drukier (USA)	1998-1999

WSPÓŁPRACA NAUKOWA Z ZAGRANICĄ

W 1999 r., podobnie jak w latach ubiegłych, dominowała współpraca naszego Instytutu z Francją. Znaczny odsetek wszystkich wyjazdów naszych pracowników, które odbywały się w ramach współpracy z zagranicą, przypada właśnie na Francję. Duże znaczenie ma tu aktywność Polsko-Francuskiego Centrum Biotechnologii Roślin, które dba o właściwą dynamikę współpracy. Jej właściwym wyrazem jest objęcie finansowaniem 8 nowych projektów badawczych. Należy także odnotować stale rozszerzającą się paletę ośrodków francuskich, z którymi nawiązywana jest współpraca. Wymiernymi efektami współpracy z Francją są nie tylko wspólne publikacje naukowe, ale także prace doktorskie realizowane przez naszych doktorantów po części w IBB, a częściowo w ośrodkach francuskich ("these en co-cutelle"). W 1999 r. zakończono pomyślną obronę, w obecności recenzenta francuskiego, kolejną dysertację doktorską tego typu.

Kontynuowana jest współpraca z innymi ośrodkami europejskimi. Bardzo dynamicznie rozwija się współpraca z Niemcami, zwłaszcza z odległymi tylko o 600 km ośrodkami z Berlina. Na uwagę zasługują również intensywne kontakty naukowe pracowników IBB PAN z ośrodkami skandynawskimi, zwłaszcza z uniwersytetami w Sztokholmie i Instytutem Karolińskim. Odnotować tu należy nową tendencję przejawiającą się w licznych wizytach gości szwedzkich w naszym Instytucie. Widoczna jest też intensyfikacja kontaktów naukowych naszego Instytutu z różnymi ośrodkami z USA.

Na szczególną uwagę zasługuje coraz bardziej widoczna i ciągle powiększana współpraca naukowa z Unią Europejską. Przybiera ona różne formy: realizowane są programy naukowe finansowane w ramach IV Programu Ramowego (np. Biotech, INCO-Copernicus) i coraz bardziej dostrzegalne są przygotowania pracowników IBB do udziału w V Programie Ramowym, w którym Polska uczestniczy już w pełnym wymiarze. Przygotowaniom tym towarzyszyły liczne wyjazdy organizacyjne do Brukseli i Paryża (prof. Zagórski, doc. Ceglowski, doc. Hennig), Strasburga (doc. Świeżewska), Lyonu (dr Tudek), Barcelony (prof. Muszyńska), Lundu (dr hab. Grzesiuk).

Europejski Fundusz Stypendialny (EFS) przy IBB PAN funkcjonuje od 1 października 1992 r. Do chwili obecnej stypendia przyznano 106 pracownikom naukowym, głównie z Białorusi, Ukrainy i Rosji, z których 74 osoby pracowały w IBB PAN. Pozostali stypendyści pracowali w takich ośrodkach naukowych jak: Uniwersytet Warszawski, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Jagielloński, Uniwersytet Gdański, Akademia Medyczna w Gdańsku, Akademia Rolnicza we Wrocławiu, Uniwersytet Łódzki, Centrum Diagnostyki i Terapii AIDS w Warszawie, Centrum Mikrobiologii i Wirusologii w Łodzi. W 1999 r. roku przyznano 14 stypendiów naukowcom z Europy Wschodniej, w tym do realizacji w IBB PAN 10 stypendiów.

BEZPOŚREDNIA WSPÓŁPRACA Z PARTNERAMI ZAGRANICZNYMI

Polsko-Francuskie Centrum Biotechnologii Roślin

Dr Anna Przykorska podczas 3 tygodni pobytu w Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS (Strasbourg) przeprowadzała badania nad strukturą RNA i kompleksów RNA - białka przy użyciu enzymów nukleolitycznych różnego pochodzenia. Efektem tych badań było zaproponowanie modelu przestrzennego tRNA z *Candida albicans*

wyjaśniającego nietypowe reakcje kodon-antykonon obserwowane w ewolucji kodu genetycznego.

Dr Maciej Szymański przebywał miesiąc w Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS, (Strasbourg). Celem badań podjętych podczas tego pobytu było określenie struktury trzeciorzędowej rejonu « internal B loop » 5S RNA. Otrzymane wyniki sugerują, że 5S RNA prokariotyczne i eukariotyczne mogą mieć taką samą strukturę nawet z niestandardowymi nukleotydami.

Mgr Wojciech Podstolski odbył miesięczny staż w Laboratoire de Virologie Végétale, IBVM, INRA w Bordeaux, podczas którego pracował nad konstruowaniem banku mutantów wirida ziemniaczanego.

Prace koncentrowały się nad:

- Określeniem ogólnej strategii postępowania oraz określeniem rejonów, które mają być zastąpione sekwencjami losowymi.
- Przygotowaniem i oczyszczaniem właściwych fragmentów restrykcyjnych pochodzących z infekcyjnego cDNA wiroida PSTVd.
- Tworzenie hybryd z oligonukleotydami syntetycznymi niosącymi rejony zmienione mające zastąpić obszary przewidziane do zmutowania.

Mgr Małgorzata Milner podczas dwóch 3-miesięcznych pobytów w Institut J. Monod, CNRS, Université Paris 7 pracowała nad konstruowaniem klonów zawierających geny PVY i gen reporterowy (glukuronidazę - GUS, lub białko GFP) celem umożliwienia śledzenia migracji wirusa w roślinie.

Dr Bożenna Rempoła przebywała 5 miesięcy w Centre de Génétique Moléculaire, CNRS w Gif-sur-Yvette, gdzie kontynuowała badania nad funkcjami dwóch nowoodkrytych genów zlokalizowanych na chromosomie IX *S. cerevisiae*: YIL153w/RRD1 i YPL152w/RRD2. Otrzymane wyniki sugerują, że białka kodowane przez geny RRD biorą udział w bardzo wielu funkcjach komórkowych i mogą wchodzić w interakcje z innymi białkami.

Mgr Robert Gromadka podczas miesięcznego pobytu w Centre de Génétique Moléculaire, CNRS (Gif-sur-Yvette) analizował funkcje dwóch genów drożdżowych (*S. cerevisiae*): YBR133C et YCL059C. Celem tych badań było poszukiwanie supresorów funkcjonalnych deficytu produktu genu KRR1

Prof. Joanna Rytka w trakcie 2 tygodni pobytu w Institut J. Monod, CNRS, Université Paris 7 przygotowywała maszynopis publikacji podsumowującej prace prowadzone wspólnie z laboratorium francuskim. Prof. Rytka i J-M. Camadro opracowali także program wspólnych badań na kolejny rok dotyczących funkcji enzymu ferrochelatazy i hemoglobiny w drożdżach.

Mgr Róża Kucharczyk przebywała 3 miesiące w Centre de Génétique Moléculaire, CNRS (Gif-sur-Yvette), podczas których analizowała funkcje genu *YBR13w* w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*. Efektem tych prac było przypisanie białku *ccz1* roli w utrzymaniu homeostazy kationowej w komórce a być może także roli w dojrzewaniu wakuoli.

Mgr Kariona Grabińska podczas 3-miesięcznego stażu w Université de Poitiers IFR CNRS (Poitiers) pracowała nad identyfikacją biochemiczną i genetyczną cis-prenylotransferazy z drożdży. Badania dotyczyły także poszukiwania białek wchodzących w interakcje z *FPPS* poprzez tworzenie podwójnych hybryd. Wyniki badań zostały zebrane w pracy: «Induced expression encoding farnesyl pyrophosphate synthase and sequiterpene cyclase in cotton suspension cultured cells treated with fungal and abiotic elicitors».

Dr Agnieszka Dzikowska przebywała miesiąc w Institut de Génétique et Microbiologie, CNRS, Université Paris-Sud, w Orsay. Podczas tego stażu pracowała nad regulacją ekspresji genu *otaA* z *Aspergillus nidulans*. Doświadczenia dotyczyły

wprowadzenia mutacji do promotora tego genu i oceny *in vivo* roli wprowadzonych sekwencji.

Prof. Piotr Węgleński podczas dwutygodniowego pobytu w Institut de Génétique et Microbiologie, CNRS, Université Paris-Sud w Orsay brał udział w obronie pracy doktorskiej M. Golika zatytułowanej „Interakcje jądrowe i mitochondrialne u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.”

Dr Wiesław Smagowicz i mgr Krzysztof Pluta przebywali miesiąc w Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, CEA, Saclay w ramach współpracy z prof. André Sentenac. Podczas tego pobytu pracowali nad regulacją bisyntesy tRNA przez polimerazę C z drożdży.

Mgr Paweł Golik odbył dwa 4-miesięczne staże w Centre de Génétique Moléculaire, CNRS (Gif sur Yvette), podczas których badał aktywność maturazy białka kodowanego przez intron *bi2* z *Saccharomyces cerevisiae*, stosując pre-mRNA zsyntetyzowane *in vitro*.

Mgr Ewa Maciaszczyk podczas 3-miesięcznego pobytu w Centre de Génétique Moléculaire, CNRS w Gif sur Yvette prowadziła analizę molekularną rewertantów celem wyselekcjonowania supresorów mutacji zlokalizowanych w białku kodowanym przez intron genu *cyt b* z drożdży.

Dr Ewa Szolajska przebywała 4 miesiące w Institut de Biologie Structurale, CNRS, w Grenoble, gdzie kontynuowała prace nad utworzeniem bakulowirusa rekombinacyjnego wyrażającego poneratoksynę celem otrzymania insektycydu biologicznego efektywniejszego od bakulowirusa dzikiego.

Mgr Monika Kamińska w trakcie trwającego 3 miesiące pobytu w Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurale, CNRS, (Gif-sur-Yvette) przeprowadzała badania dotyczące opracowania systemu ekspresji MetRS z roślin.

Mgr Jacek Biesiadka przebywał 3 miesiące w Laboratoire de Biologie Structurale, l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS, w Strasbourg. Podczas tego stażu badał strukturę trzeciorzędową białka PR10. Przeszukiwał banki danych wykorzystując w tym celu profil tego białka.

Dania

IBB PAN odwiedził prof. H. Lehnerr z Uniwersytetu w Odense. Używając ustalone przez siebie sekwencje 12 tzw. późnych promotorów faga P1 wymagające współpracy białka LPA przeprowadził analizę całego genomu P1 pod tym kątem. W wyniku analizy zidentyfikowano 9 nowych genów znajdujących się pod kontrolą LPA.

Francja

Dr E. Sadowy odbyła tygodniowy pobyt w Instytucie Badań Roślinnych (Gif-sur-Yvette), gdzie przygotowywała wspólnie z Zespołem dr B. Gronenborna wspólną publikację naukową o funkcjach replikacyjnych wirusa liściozwoju ziemniaka.

Mgr B. Gajewska spędziła 3 tygodnie w Instytucie J. Monoda VII Uniwersytetu Paryskiego przeprowadzając analizę mutacyjną genu drożdżowej ligazy ubikwitynowo-białkowej, RSP 5.

Dr A. Pałucha w trakcie 4-miesięcznego pobytu w Instytucie J. Monoda VII Uniwersytetu Paryskiego przeprowadzał m.in. eksperymenty w celu uzyskania pełnej, infekcyjnej kopii DNA genomu wirusa PVY, a także fuzji technikami inżynierii genetycznej genu poliproteiny tego wirusa z genami kodującymi GUS i GFP.

Dr B. Tudek przy okazji tygodniowej wizyty w Agencji Badań nad Rakiem w Lyonie odwiedziła laboratorium dr. Boiteux, z którym omawiała perspektywy współpracy naukowej nad właściwościami i mechanizmem działania glikozylaz 8-oksy-guaniny.

Dr J. Bardowski oraz mgr M. Domań, w ramach współpracy z Laboratorium Genetyki Drobnoustrojów w Jouy-en-Josas, objętej Programem POLONIUM, odbyli odpowiednio 4- i 6-tygodniowe wizyty robocze w laboratorium francuskim przeprowadzając badania nad amylazą kodowaną przez plazmid bakterii mlekowych.

Dr hab. A. Przykorska, w ramach Programu POLONIUM, spędziła trzy tygodnie w Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Strasburgu wykorzystując dwa enzymy nukleolityczne z roślin wyższych do badania struktury przestrzennej DNA plazmidowego i krótkich sekwencji oligonukleotydowych.

W IBB PAN przebywał dr T. Berges z Instytutu Genetyki Molekularnej Uniwersytetu w Poitiers w celu omówienia dotychczas uzyskanych rezultatów przez mgr K. Grabińską, która realizuje w Poitiers i w Warszawie pracę doktorską na temat biosyntezy izoprenoidów w drożdżach ("these en co-cutelle"), (krajowy promotor: prof. G. Palamarczyk).

Prof. B. Gronenberg z Instytutu Badań Roślinnych (Gif-sur-Yvette), odbył wizytę jako recenzent pracy doktorskiej ("these en co-cutelle") E. Sadowy. Przy tej okazji gość wygłosił referat naukowy oraz omówił wyniki badań, które zostaną opisane we wspólnej publikacji naukowej.

Dr. P. Renault i dr E. Jamet z Laboratorium Genetyki Drobnoustrojów w Jouy-en-Josas, odbyli objętą Programem POLONIUM wizytę w IBB PAN, w trakcie której przedyskutowali dotychczas uzyskane wspólnie wyniki nad genetycznymi modyfikacjami katabolizmu skrobi u *Lactococcus lactis*. Dyskutowano m.in. możliwość wspólnego zgłoszenia patentowego dotyczącego pullulanazy.

Prof. Anne-Lise Haenni z Instytutu J. Monoda VII Uniwersytetu Paryskiego spędziła w IBB miesiąc pracując nad ekspresją genetyczną wirusów roślinnych.

Hiszpania

Dr J. Brzywczy odbył 3-miesięczny pobyt na Uniwersytecie Leon, gdzie przeprowadzał charakterystykę mutantów *Acremonium* niezdolnych do wzrostu na cysteinie i metioninie. Badania obejmowały oznaczanie aktywności szeregu enzymów zaangażowanych w metabolizm siarkowy.

Indie

Prof. dr hab. T. Chojnacki spędził 2-tygodniowy pobyt organizowany przez Indyjską Narodową Akademię Nauk. W trakcie wizyty odwiedził 3 ośrodki badawcze specjalizujące się w tematyce roślinnej, gdzie odbył rozmowy na temat wykorzystania indyjskich surowców roślinnych w różnych gałęziach gospodarki, zwłaszcza w farmakomedycynie. Przeprowadzono także rozmowy sondażowe na temat możliwości nawiązania współpracy w dziedzinie analizy poliprenoli w indyjskim materiale roślinnym.

Izrael

Prof. M. Edelman z Instytutu Weizmanna w Rehovot, w trakcie wizyty w IBB PAN przeprowadził rozmowy z kilkoma zespołami naszego Instytutu nt. zasad dalszej współpracy w dziedzinie badań strukturalnych i bioinformatyki oraz wygłosił referat naukowy.

Niemcy

Doc. dr hab. P. Cegłowski odbył 2-miesięczny pobyt w Instytucie Genetyki Molekularnej im. M. Plancka (Berlin), w trakcie którego realizował wspólne projekty badawcze z dziedziny biologii molekularnej *Bacillus sp.*, w szczególności nad strukturą metylotransferaz DNA.

Doc. dr hab. P. Zielenkiewicz odbył tygodniową wizytę w Instytucie Krystalografii Wolnego Uniwersytetu w Berlinie, gdzie dyskutował nad zakresem i formami realizacji wspólnych badań nad procesami krystalizacji białek.

Prof. dr hab. G. Palamarczyk odwiedziła Uniwersytet w Regensburg, gdzie przeprowadziła rozmowy nt. możliwości nawiązania współpracy w dziedzinie wykorzystania drożdży *S. cerevisiae* upośredzonych w szlaku O-glikozylacji białek do ekspresji genów kodujących niektóre białka sekrecyjne *Trichoderma reesei*.

Doc. dr hab. G. Jagura-Burdzy odbyła 3-dniowe robocze spotkanie w Instytucie M. Plancka w Berlinie, w trakcie którego 4 grupy robocze zajmujące się białkiem KorB z plazmidu RK2 dyskutowały możliwość intensyfikacji badań strukturalnych w celu zrozumienia złożonych funkcji jakie pełni to białko.

Prof. dr hab. A. Paszewski odwiedził Instytut M. Plancka w Marburgu, gdzie wygłosił zaproszony referat nt. genetycznej regulacji metabolizmu siarkowego u *Aspergillus nidulans*. Dyskutowano także możliwość nawiązania współpracy w powyższej dziedzinie.

Mgr A. Chacińska w trakcie 2-tygodniowej wizyty w Centrum Biologicznym Instytutu M. Plancka w Halle kontynuowała objęte współpracą badania nad wpływem białek szoku cieplnego na mitochondrialne białko Nam9 drożdży *S. cerevisiae*.

Dr A. Kierzek odbył miesięczny pobyt w Instytucie Krystalografii Wolnego Uniwersytetu w Berlinie opracowując szczegółowy plan swojego stażu podoktorskiego. Dotyczył on teoretycznego opisu procesu krystalizacji białek i jego weryfikacji za pomocą spektroskopii rozpraszania światła widzialnego.

Mgr M. Przewłoka spędził miesiąc w Instytucie Biologii Uniwersytetu we Freiburgu poszukując technikami hybrydyzacyjnymi genów reprezentujących różne warianty sekwencyjne histonów łącznikowych tytoniu w bibliotekach cDNA tytoniu, znajdujących się w ww. Instytucie. Znalezione kilka interesujących genów, które obecnie są sekwencjonowane.

W naszym Instytucie przebywał dr J. Georgalis z Instytutu Krystalografii Wolnego Uniwersytetu w Berlinie. Kontynuowano dyskusję nad procesami krystalizacji białek.

Rosja

Doc. dr hab. M. Boguta odbyła 3-dniową wizytę w Instytucie Kardiologii Eksperymentalnej w Moskwie wygłaszając referat nt. białek prionowych u drożdży i przeprowadzając szczegółowe dyskusje na ten temat z zespołem prof. Ter-Awanesyana, który ma światową renomę w tej dziedzinie.

Szwajcaria

Gościem IBB PAN był prof. G. Schatz z Bio-Centrum Uniwersytetu w Bazylei, który jest światowej sławy badaczem transportu białek do mitochondriów. Gość odbył szereg rozmów z pracownikami Instytutu, a także wygłosił wspólnie referat naukowy nt. białek mitochondrialnych.

Szwecja

Doc. dr hab. E. Świeżewska odbyła 2 pobyty (łącznie 6 tygodni) na Wydziale Biochemii Uniwersytetu Sztokholmskiego, przeprowadzając m.in. badania nad metabolizmem farnesolu w komórkach zwierzęcych oraz nad katabolizmem ubichinonu. W trakcie pobytu przygotowano też finalną wersję maszynopisu wspólnej publikacji naukowej.

Prof. dr hab. T. Chojnacki w trakcie 4-tygodniowego pobytu na Wydziale Biochemii Uniwersytetu Sztokholmskiego zajmował się udoskonalaniem technik syntezy i analizy izoprenoidów.

Goście szwedzcy bardzo licznie odwiedzali w br. nasz Instytut. W sumie w IBB PAN odbyło 9 wizyt, z których każda trwała ok. tygodnia. Tematyka wizyt była ściśle związana z realizowaną współpracą Zespołu prof. T. Chojnackiego z Wydziałem Biochemii Uniwersytetu Sztokholmskiego nt. biosyntezy i funkcji lipidów izoprenoidowych (wizyty prof. G. Dallnera, dr. M. Bentingera, dr. J. Mattssona, dr. P. Sindelara i dr. E. Forsman) oraz z Oddziałem Patologii Instytutu Karolińskiego (Szpital Uniwersytetu Huddinge) nt. roli izoprenoidów w modyfikacjach białek komórek eukariotycznych (wizyty dr. H. Teclebrhana, dr. M. Bjrnstedta, J. Olssona).

Stany Zjednoczone Ameryki

Mgr J. Kamińska spędziła 10 tygodni w Centrum Medycznym Stanowego Uniwersytetu Pennsylvania (Filadelfia), gdzie przeprowadziła obserwacje nad lokalizacją w komórkach drożdży ligazy ubikwityno białkowej Rsp5p, ze szczególnym uwzględnieniem mutantów zaburzonych w prawidłowej lokalizacji tego białka (pobyt w ramach stypendium przyznanego przez Journal of Cell Science).

Dr hab. A. Sirko w trakcie 10-dniowej wizyty w Laboratoriach Fundacji Biotechnologicznej w Filadelfii przeprowadziła szereg rozmów m.in. z prof. H. Koprowskim na temat przebiegu wspólnie realizowanych prac nad konstrukcją roślinnej, doustnej szczepionki przeciwko wrzodowej chorobie żołądka i dwunastnicy.

W IBB PAN złożył wizytę prof. M. Yarmolinsky z Narodowego Instytutu Raka w Bethesda. Gość jest wybitnym specjalistą z dziedziny genetyki drobnoustrojów. Wygłosił referat naukowy oraz przeprowadził rozmowy na temat możliwości rozszerzenia bezpośredniej współpracy w badaniach nad genomem plazmidu P1 i jego rozdziałem do komórek potomnych.

Instytut odwiedziła prof. A. Hopper z Centrum Medycznego Stanowego Uniwersytetu Pennsylvania (Filadelfia), przeprowadzając szereg roboczych dyskusji na temat biologii molekularnej drożdży, ze szczególnym uwzględnieniem tematyki objętej bezpośrednią współpracą. Prof. Hopper wygłosiła też referat naukowy.

Prof. B. Shane ze Stanowego Uniwersytetu Luizjana Baton Rouge w trakcie wizyty w IBB PAN wygłosiła referat naukowy oraz prowadziła rozmowy nt. możliwości nawiązania współpracy naukowej w dziedzinie mutagenazy i naprawy DNA w procesach rakotwórczych.

Wielka Brytania

Doc. dr hab. Jagura-Burdzy 3-krotnie odbyła krótkie, robocze wizyty na Uniwersytecie w Birmingham. Celem spotkań było przedyskutowanie przebiegu badań objętych współpracą naukową, częściowo finansowanych przez Wellcome Trust, których koordynatorem jest prof. Thomas z ww. uniwersytetu.

Współpraca w ramach wymiany bezdewizowej (tygodnie wymienne)

Finlandia

Dr J. Kruszewska, w ramach bezdewizowej wymiany pomiędzy PAN a Fińską Akademią Nauk, odbyła 3-tygodniowy pobyt w Laboratorium Biotechnologii ESPOO w Helsinkach. Celem wizyty było badanie sekrecji białek przez *Trichoderma reesei* po transformacji genem *dpm1*.

Francja

W ramach bezdewizowej wymiany PAN z narodowymi Akademiami Nauk wizytę w CNRS-INSA w Tuluzie odbył dr J. Bardowski. Przeprowadził badania fizjologiczne nad wpływem inaktywacji genu *ccpA* na katabolizm wybranych cukrów *Lactococcus lactis*. W ramach tej wymiany doc. dr hab. E. Świeżewska oraz mgr K. Skorupińska-Tudek, odwiedzając Uniwersytet Pasteura w Strasburgu analizowały mechanizmy wczesnych etapów biosyntezy poliizoprenoidów roślinnych, natomiast dr M. Zagulski przedyskutował zasady współpracy w ramach pilotażowego projektu sekwencjonowania genomu *Paramecium*. W ramach wymiany bezdewizowej gośćmi naszego Instytutu byli dr P. Loubiere i dr A. Marty z CNRS-INSA w Tuluzie. Goście przedyskutowali wyniki wspólnych badań oraz zasady dalszej współpracy naukowej. W ramach tej wymiany dr H. Cvejz z Uniwersytetu Pasteura w Strasburgu przedyskutowała w naszym Instytucie zakres i formy dalszej współpracy nad identyfikacją wczesnych etapów biosyntezy poliprenoli u roślin.

Holandia

W ramach wymiany bezdewizowej PAN z Holenderską Akademią Nauk 2-tygodniowy pobyt w Uniwersytecie w Groningen odbył dr J. Bardowski. W trakcie wizyty przedyskutowano możliwości dalszej współpracy naukowej, zwłaszcza nad bakteriami mlekowymi przy użyciu najnowocześniejszych metod badawczych, w tym tzw. technologii opartej na tzw. DNA-chips.

Rosja

W ramach wymiany bezdewizowej pomiędzy PAN i Rosyjską Akademią Nauk w IBB PAN przebywały przez dwa tygodnie dr O. Sizova z Instytutu Chemii Organicznej w Moskwie oraz dr T. Drużinina z Rosyjskiej Akademii Nauk przeprowadzając w laboratorium prof. T. Chojnackiego badania nad poliprenolami i ich pochodnymi.

Włochy

W ramach bezdewizowej wymiany pomiędzy PAN i Włoską Akademią Nauk doc. dr hab. Z. Zarębska spędziła miesiąc w Centrum Badania Produktów Biologicznie Aktywnych CNR (Padwa), gdzie pracowała nad wspólnymi publikacjami przeglądowymi nt. fotochemii lecytyn w obecności psoralenów, stanowiącej podsumowanie 9-letniej współpracy pomiędzy obydwoma ośrodkami.

W ramach ww. wymiany pomiędzy PAN i Włoską Akademią Nauk odbyła miesięczny pobyt w IBB PAN dr L. Sergio z Instytutu Przetwórstwa Warzyw w Bari. Celem wizyty było zbadanie roli roślinnych białek opiekuńczych w reaktywacji niektórych enzymów oddechowych.

Udział w międzynarodowych konferencjach naukowych oraz szkoleniach zagranicznych

Liczni (ponad 70 osób) pracownicy naukowcy i doktoranci IBB PAN uczestniczyli w konferencjach naukowych organizowanych w Europie, Ameryce Północnej i Australii. Na konferencjach przedstawiano w różnych formach (wykłady plenarne, komunikaty ustne, plakaty naukowe, udział w tzw. dyskusjach okrągłego stołu) wyniki badań naukowych realizowanych w naszym Instytucie.

Mgr T. Bykowski, mgr K. Zdanowski oraz mgr Sz. Kaczanowski odbyli organizowane w Instytucie Weizmanna w Rehovot (Izrael), pod auspicjami ICCBnet 10-dniowe szkolenie nt. zaawansowanych metod bioinformatycznych. Szkolenie miało charakter teoretyczny i praktyczny. Szczególną uwagę zwracano na najnowsze narzędzia badawcze w bioinformatyce.

Data	Kraj, Miasto	Nazwa imprezy	Uczestnicy	Informacje uzupełniające		
				czł. kom. organizac.	Prze-wodn. sesji	referat zamawiany
09-16.08.99	Australia, Sydney	11th International Congress of Virology	Hulanicka D.			
23-27.09.99	Austria, Garmisch-Partenkirchen	Protein Society meeting	Zdanowski K.			
04-09.07.99	Dania, Kopenhaga	29th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society	Tudek B., Grzesiuk E., Speina E., Kowalczyk P., Janion C., Nowosielska A.			
11-13.06.99	Finlandia, Espoo	International Trichoderma-Gliocladium Workshop	Kruszewska J.			
23-27.04.99	Francja, Le Mont St. Odile,	1st Symposium of the EU-concerted action on „Mobile elements' contribution to bacterial adaptability and diversity” (MECBAD)	Ceglowski P. Sitkiewicz I.			
14-18.03.99	Francja, Aussois	Septièmes Rencontres de Virologie Végétale	Sadowy E.			
09-12.05.99	Francja, Aussois	MitoAussoi99 tel. 2247	Bartnik E., Mroczek K.			x
04.10.99	Francja, Lyon	Sesja sprawozdawcza Programu Unii Europejskiej ENV4-CT97-0505	Tudek B.			
19-24.06.99	Francja, Nicea	26th Meeting of the federation of European Biochemical Societies (FEBS)	Przykorska A., Szkopińska A., Olszak K., Liwosz A., Kulikowski T., Koprowski P., Maliszewska-Tkaczyk M., Gawel D., Gałuszewska A., Krwawicz J., Michalik J., Zagórski W.			

14-18.03.99	Francja, Strasbourg	Conference „Septiemes Recontres de Virologie Vegetale”	Milner M.			
18.06.99	Francja, Villejuif	Conference „Réplication Récombinaison Réparation. Troisième colloque des 3R”	Sadowy E.			
01-06.07.99	Grecja, Iraklion	Symposium „Selfassembling systems in biology”	Dadlez M.			
29.08-09.09.99	Grecja, Spetsai	International Summer School on Molecular and Cellular Biology	Dobruk A.			
21-23.04.99	Hiszpania, Barcelona	4th European Symposium on Plant Isoprenoids	Skorupińska K. Świeżewska E.			
03-08.09.99	Hiszpania, Grenada	8th Congress of European Society for Photobiology	Waszkowska E., Pietrzykowska I.,			
18-23.09.99	Holandia, Velhoven	6th Symposium on Lactic Acid Bacteria – geneics, metabolism and application	Bardowski J. Aleksandrak T.			
25-30.07.99	Holandia, Amsterdam	9th International Congress Molecular Plant-Microbe Interactions	Hennig J., Koter M.			
11-20.07.99	Izrael, Rehovot	ICCBnet Bioinformatics Training Workshop	Bykowski T.			
24-27.06.99	Kanada, Vancouver	Yeast Genetics and Human Disease II	Chelstowska A.			
29-31.0.99	Niemcy, Berlin	Workshop on „KorB structure and function”	Jagura-Burdzy G.			
03-08.08.99	Niemcy, Bonn	6th International Congress on Amino Acids	Paszewski A. ✓ 13381A			x
19-22.09.99	Niemcy, Garmisch-Partenkirchen	The Protein Society Third European Symposium	Bierzyński A.			
06-08.05.99	Polska, Gdańsk	7th International Student's Scientific Conference	Speina E., Kowalczyk P.			
08-11.09.99	Polska, Gdańsk	7th International Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy	Kulikowski T., Miazga A., Bretner M., Felczak K., Siwecka M. A., Shugar D.		x x	
15-19.09.99	Polska, Gdańsk	7th Symposium of the European Society for the Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man (ESSPPMM)	Kulikowski T., Shugar D., Jeżewska M. M.		x	x.
08-11.09.99	Polska, Gdańsk	7th International Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy	Poznański J.			
13-18.06.99	Polska, Mragowo	NATO Advanced Research Workshop „Plant Tolerance to Abiotic Stresses in Agriculture: Role of Genetic Engenireering”	Mikołajczyk M. Jurkowski I. Dobrowolska G, Muszyńska M., Sirko A.	x x		
10-11.06.99	Polska, Warszawa	Molecular mechanisms of gene expression 5 years of Polish-French common research	Góra-Sochacka A., Milner. M., Podstolski, W., Liszewska F. Rosa I., Zagórski W.			

			Tudek B., Grązewicz M. A., Speina E., Cieśla J., Kowalczyk P., Przykorska A., Olszak K.	x		
09-12.05.99	Polska, Zakopane	An International Symposium: Food Biotechnology (European Federation of Biotechnology)	Bardowski J., Kowalczyk M., Sirko A.	12.05.99		x
04-09.09.99	Republika Czeska, Špindlerovy Mlyn	11th Symposium on the Chemistry of Nucleic Acid Components	Kulikowski T.		x	
22-26.06.99	Rosja, Moskwa	Annual Meeting of Howard Hughes Medical Institute	Jerzmanowski A. 13.06.99			x
23-27.05.99	Słowacja, Smolenice	20th Specialized Symposium on Yeast	Palamarczyk G. Kruszewska J.			
06-10.04.99	Szwajcaria, Wengen	4th Workshop on Sulfur Metabolism	Paszewski A.			x
18-14.09.99	Turcja, Antalya	Workshop „Free radicals and nitric oxide in health and disease”	Hennig J.			
23-28.03.99	USA, Asilomar	20th Fungal Genetics Conference	Natorff R., Paszewski A			
01-07.11.99	USA, Hilton Head	ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis: „Mechanism, Control, and Biological Consequences”	Maliszewska- Tkaczyk M., Jonczyk P., Fijałkowska I.J. Mieczkowski P.			
20-24.06.99	USA, Long Beach	21st Congress of Bioelectromagnetic Society	Grzesiuk E.			
14-17.04.99	USA, Missouri	Conference on Plant Hormones	Dobrowolska G.			
17-21.10.99	Węgry, Szeged	Use of agriculturally important genes in agricultural biotechnology – NATO Advances Research Workshop	Podstolski W., Zagórski W., Błaszczak A.			
11-14.04.99	Wlk. Brytania, New Castle	3rd Carbohydrate Bioengineering Meeting	Palamarczyk G. Kruszewska J.			
21-28.05.99	Włochy, Acquafredda di Maratea	Biology of Molecular Chaperones	Kroczyńska B.			
25-30.05.99	Włochy, Rimini	19th International Conference of Yeast Genetics and Molecular Biology	Kamińska J., Białkowska A., Żołądek T., Chacińska A., Pluta K., Szcześniak B., Boguta M., Fikus M., Sledziwska- Gójska E., Rempola B., Gromadka R., Rytka J.			

Imprezy z udziałem gości zagranicznych organizowane przez IBB PAN

W dniach 10-11 czerwca 1999 r. Polsko-Francuskie Centrum Biotechnologii Roślin, IBB PAN i Ambasada Francji zorganizowały konferencję naukową pt. "Molecular mechanisms of gene expression - 5 years of French-Polish common research (1993-1998)", w której wzięło udział 70 uczestników z różnych ośrodków naukowych. Na konferencji przedstawiono 9 wykładów plenarnych (w tym 3 przez gości zagranicznych), 17 komunikatów ustnych oraz 36 plakatów. Konferencji towarzyszyło posiedzenie Komitetu Naukowego Centrum.

W dniach 8-11 września 1999 r. odbyło się w Gdańsku 7 międzynarodowe sympozjum "Molecular Aspects of Chemotherapy", które było częściowo finansowane przez IBB PAN. W Komitecie organizacyjnym tego sympozjum aktywnie uczestniczył prof. D. Shugar z naszego Instytutu.

W dniach 15-19 września 1999 r. odbyło się w Gdańsku międzynarodowe sympozjum zatytułowane "7-th Symposium of the European Society for the Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man", które było częściowo finansowane przez IBB PAN. Znaczącym wkładem naukowym naszego Instytutu w ww. Sympozjum był m.in. wykład inauguracyjny prof. D. Shugara poświęcony funkcjom i zastosowaniom w chemioterapiach fosforylaz purynowo nukleozydowych.

W dniu 1 grudnia 1999 r., w ramach obchodów Dni Nauki Fińskiej w Polsce, odbyło się w IBB PAN sympozjum naukowe „Biologia molekularna mikroorganizmów o znaczeniu przemysłowym”. W sympozjum wzięło m.in. udział 5 naukowców z Finlandii reprezentujących Centrum Badań Biotechnologicznych VTT-Espoo oraz Instytut Biotechnologii Uniwersytetu w Helsinkach.

Ocena merytoryczna. Wnioski

Liczni pracownicy IBB PAN, zwłaszcza doktoranci, odbywali staże naukowe w różnych laboratoriach oraz aktywnie uczestniczyli w różnych międzynarodowych konferencjach i szkoleniach organizowanych w kraju i za granicą. Konferencje naukowe, których IBB PAN by organizatorem lub współorganizatorem, niewątpliwie dobrze spełniły swoją rolę. Te różnorodne formy współpracy z zagranicą mają wyraźny wpływ na stale wzrastający poziom komunikatów naukowych przedstawianych przez naszych doktorantów i pracowników.

Wyraźnie dostrzegalna jest aktywność pracowników Instytutu w staraniach o udział w programach naukowych finansowanych przez V Program Ramowy Unii Europejskiej.

Owocnie kontynuowana jest współpraca naukowa z zagranicą. Dotyczy to w szczególności współpracy z Francją, zwłaszcza w ramach Centrum Polsko-Francuskiego. Podobnie jak w latach ubiegłych, wymiernym efektem współpracy są wspólne publikacje w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych oraz wspólnie realizowane prace doktorskie ("these en co-cutelle").

Pomyślnie rozwijana jest także współpraca z innymi ośrodkami naukowymi, zarówno europejskimi jak i z USA.

Wykaz umów o współpracy naukowej zawartych przez IBB PAN z placówkami zagranicznymi

1. IBB PAN - Max Planck Institut fur Moleculare Genetik Berlin (Niemcy)
2. IBB PAN - Laboratory of Terpenoid Chemistry Institute of Chemistry of Moldova Academy of Science (Mołdawia)
3. IBB PAN - State Scientific Center Russia - NPO "VECTOR", Koltsovo, Novosibirsk Region (Rosja)
4. IBB PAN - Institute of Plant Sciences of Lieden University (Holandia)
5. Kontynuowane są prace Centrum Polsko-Francuskiego Biotechnologii Roślin, wiążącego PAN, KBN i CNRS opartego organizacyjnie o Instytut Biochemii i Biofizyki PAN.

Wykaz placówek zagranicznych współpracujących z IBB PAN bez umów

Kraj, Miasto	Nazwa placówki	Liczba wspólnych publikacji w 1999 roku
Austria, Wiedeń	Uniwersytet Techniczny w Wiedniu, Zakład Biochemii Mikroorganizmów	1
Bazylea, Szwajcaria	Biozentrum, University of Basel	
Dania, Odense	Syddansk Universitet	
Finlandia, Helsinki	Biotechnology and Food Research	
Francja Paryż	Instytut J. Monod CNRS	
Francja, Bordeaux	INRA	
Francja, Colmar	Universite Louis Pasteur, INRA, Oenologie	
Francja, Gif-sur-Yvette	Institut des Sciences Végétales CNRS	3
Francja, Gif-sur-Yvette	Centre de Genetique Moleculaire CNRS	3
Francja, Gif-sur-Yvette	Centre d'Etudes Nucleaires de Saclay	
Francja, Jouy-en-Josas	Institut National de Recherches Agronomiques	
Francja, Lyon	International Agency for Research on Cancer	
Francja, Orlean	Institut de Biophysique Moleculaire CNRS	1
Francja, Paryż	Instytut J. Monod CNRS	
Francja, Poitiers	Uniwersytet w Poitiers, Instytut Biologii Molekularnej i Genetyki	
Francja, Strasbourg	Institut de Biologie Moleculaire et Cellulaire	1
Francja, Strasbourg	Uniwersytet Ludwika Pasteura	
Francja, Tuluza	CNRS-INSA	
Francja, Villejuif	Instytut Gustave Roussy CNRS	1
Holandia, Amsterdam	University of Amsterdam	

Holandia, Groningen	Groningen University	
Holandia, Utrecht	Uniwersytet w Utrechcie	
Niemcy, Berlin	Max-Planck Institut für molekulare Genetik	1
Niemcy, Freiburg	Instytut Biologii III, Uniwersytet Freiburg	
Niemcy, Hamburg	Uniwersytet w Hamburgu, Instytut Botaniki – Zakład Genetyki Molekularnej i Fitopatologii	
Mołdawia, Kiszyniów	Instytut Chemii Mołdawskiej Akademii Nauk	
Rosja, Moskwa	Cardiology Research Center	
Rosja, Moskwa	N.D.Zelinsky Institute of Organic Chemistry	
Rosja, Petersburg	State Technical University	
Szwajcaria, Zurich	ETH (Eidgenössische Technische Hochschule)	1
Szwecja, Lund	Dept. of Animal Physiology University of Lund	
Szwecja, Sztokholm	Uniwersytet Sztokholmski	1
Szwecja, Sztokholm	Karolinska Institutet	
Szwecja, Uppsala	University. Biomedical Center	
USA, Bethesda	National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda	
USA, Filadelfia	Biotechnology Foundation Laboratories	
USA, Gainesville	University of Florida	
USA, Hershey	Hershey Medical Center, Pennsylvania State University	
USA, Hershey	Centrum Medyczne Uniwersytetu Stanowego Pensylwanii	
USA, Louisville,	University of Louisville Medical School	
USA, New Jersey	Waksman Institute and Dep. of Mol. Biology and Biochemistry	
USA, Raleigh, NC	North Carolina State University	
USA, Research Triangle Park	National Institute of Environmental Health Sciences	
USA, Seattle	University of Washington	2
Wlk.Brytania, Birmingham	University of Birmingham	2
Włochy, Bari	Institute of Vegetable Crops Processing, CNR	
Włochy, Padwa	Centrum Badań Produktów Biologicznie Aktywnych CNR przy Wydziale Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Padewskiego	

Wymiana osobowa (według krajów)

Kraje	Liczba		Ogółem		w tym:							
					badawcze		szkole- niowe		kongresy i konferencje		organiza- cyjne	
	umów	placó- wek	przy- jazdy	wyja- zdy	p	w	p	w	p	w	p	w
Australia		1		1						1		
Belgia		4		4				2		1		1
Białoruś		1	3		3							
Czechy		2	5	1			5			1		
Dania		2	1	6						6	1	
Finlandia		2		2		1						1
Francja		20	7	34	6	16		2		13	1	3
Francja (Centrum Polsko- Francuskie Biotechnologii Roślin)	1	9	6	22		16				6	6	
Grecja		3		3						3		
Gruzja		1	1		1							
Hiszpania		3		6		1				5		
Holandia	1	3		3		1				2		
Indie		4	1	1	1	1						
Izrael		3	2	5				1		4	2	
Kanada		1		1						1		
Litwa		1		1						1		
Niemcy	1	9	2	13	1	7		1		2	1	3
Rosja	1		3	1	3							1
Słowacja		1		2						2		
Stany Zjednoczone Ameryki		13	4	14		4	1			9	2	1
Szwajcaria		2		2				1		1		
Szwecja		2	9	4		4			9			
Turcja		1		1				1				
Ukraina		1	8		8							
Węgry		3	1	6		1				5	1	
Wielka Brytania		3		4		3				1		
Włochy		5	1	15	1	2				12		1
RAZEM:		99	53	152	24	57	6	8	9	76	15	11

Współpraca z placówkami krajowymi

Nazwisko pracownika IBB	Nazwa placówki	Miasto	Liczba wspólnych publikacji w 1999 roku
Tudek B.	Akademia Medyczna im. L. Rydygiera	Bydgoszcz	2
Świeżewska E., Skorupińska K.	Akademia Medyczna, Wydział Farmacji	Warszawa	
Pałucha A.	Akademia Rolnicza	Poznań	1
Jagura-Burdzy G.	Centralne Laboratorium Surowic i Szczepionek	Warszawa	
Jankowski W.	Centralny Szpital Kliniczny MSWiA	Warszawa	
Jankowski W.	Centrum Medycznego Kształcenia Poddyplomowego	Warszawa	
Paszewski A.	Centrum Medycznego Kształcenia Poddyplomowego	Warszawa	1
Jonczyk P.	Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN	Łódź	
Tudek B.	Centrum Onkologii	Warszawa	1
Jankowski W.	Instytut – Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN	Warszawa	
Jankowski W.	Instytut Badawczy Leśnictwa	Warszawa	2
Jankowski W.	Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN	Warszawa	
Bolewska K., Wierzchowski K. L.	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN	Poznań	
Bierzyński A.	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN	Poznań	
Poznański J.	Instytut Chemii Fizycznej PAN	Warszawa	2
Dobrowolska G.	Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin	Radzików	
Wielgat B.	Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin	Młochów	
Hulanicka D.	Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin	Młochów	1
Hennig J.	Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin	Młochów	
Pawłowicz J.	Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin	Młochów	
Palamarczyk G.	Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN	Wrocław	
Wielgat B.	Instytut Leków, Pracownia Cytometrii Przepływowej	Warszawa	1
Bartnik E.	Instytut Matki i Dziecka	Warszawa	1
Grzesiuk E.	Instytut Matki i Dziecka	Warszawa	
Michalik J.	Instytut Ochrony Roślin	Poznań	
Łobocka M. B.	Instytut Onkologii, Zakład Biologii Nowotworów	Gliwice	
Łobocka M. B.	Instytut Onkologii, Zakład Biologii Nowotworów	Gliwice	
Muszyńska G.	Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-AMG	Gdańsk	
Chojnacki T.	Ogród Botaniczny PAN	Powsin	
Bardowski J.	Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii	Łódź	
Bardowski J.	Rhodia-Biolacta-Textel	Olsztyn	
Krzymowska M.	SGGW, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin	Warszawa	1
Paszewski A.	SGGW, Zakład Genetyki Zwierząt	Warszawa	1

Bierzyński A.	Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii	Gdańsk	
Chacińska A., Boguta M.	Uniwersytet Gdański, Zakład Biologii Molekularnej	Gdańsk	1
Dadlez M.	Uniwersytet Warszawski	Warszawa	1
Muszyńska G.	Uniwersytet Warszawski, Instytut Biologii Eksperymentalnej Roślin	Warszawa	
Bierzyński A.	Uniwersytet Warszawski, Instytut Fizyki Doświadczalnej	Warszawa	
Świeżewska E.	Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii	Warszawa	1
Hennig J.	Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii	Warszawa	
Dadlez M.	Uniwersytet Wrocławski	Wrocław	3
Bierzyński A.	Uniwersytet Wrocławski, Instytut Biochemii	Wrocław	
Bierzyński A.	Uniwersytet Wrocławski, Instytut Chemii	Wrocław	

Udział w krajowych imprezach naukowych

Data	Miejsce imprezy	Nazwa imprezy	Uczestnicy	Informacje uzupełniające		
				czł. Kom. Organiz	Prze- wodn. sesji	referat zamaw.
05.02. 1999	Poznań	Bakulowirusy w biotechnologii	Michalik J., Szolajska E. 1261/1			x
03-05.03. 1999	Muszyna	Multidyscyplinarna Konferencja o Leku	Kulikowski T. 1332/1	1	x	x
24-26.05. 1999	Poznań	Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka	Bartnik E., Mroczek K.			
26-30.05. 1999	Rynia	VIII Ogólnopolskie Sympozjum Konformacja peptydów, białek i kwasów nukleinowych	Wierzchowski K. L., Bierzyński A., Poznański J., Bolewska K., Goch G. Dadlez M. Wysłouch-Cieszyńska A. Zdanowski K. Dyczkowski J. Remiszewska E. Garaś M.	x x	x	x x
23-25.06. 1999	Gdańsk	Technika PCR i jej zastosowanie - kurs	Speina E., Kowalczyk P.			
09-11.09. 1999	Kraków	VII Ogólnopolska Konferencja Biologii Komórki	Białkowska A., Kurlandzka A., Gajewska B.			
16-17.09. 1999	Warszawa	Kongres witalności - od młodości do starości	Bartnik E. 1308/1	1		x
13-16.09. 1999	Olsztyn	XXXV Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	Gromadka R., Buchowicz J., Krysiak C., Mazuś B., Szolajska E., Wielgat B., Polkowska L., Maciejewska U., Kłudkiewicz B.,			

			Jankowski W., Skorupińska K., Swieżewska E., Vo Si Hung			
16-17.09. 1999	Warszawa	VII Sympozjum Sekcji Wirusologicznej PFiT i XXIX Konferencji Grupy Roboczej Wirusów Roślin KOR PAN	Sadowy E.			X
20-25.09. 1999	Wrocław	I Krajowy Kongres Biotechnologii	Wierzchowski K. L., Poznański J., Shugar D., Jerzmanowski A., Wielgat B., Szczerbakowa A., Grzelak K., Michalik J., Pałucha A.	X 1255/17 1256/17		X X X X X X
17-26.09. 1999	Warszawa	III Festiwal Nauki	Fikus M. Zarębska Z.	X		
11-12.10. 1999	Warszawa	Nowotwory, biologia, genetyka, immunologia	Bartnik E.			X
26-27.11. 1999	Gliwice	Gliwickie Spotkania Naukowe 1999	Tudek B., Grązewicz M. A.	1333/17 1334/17		X
10-12.06. 1999	Puławy	Basic Sciences in Gynecology II 13 03/17	Bartnik E.		X	X

Nagrody Rady Naukowej IBB PAN

Nazwisko osoby nagrodzonej	Rodzaj nagrody/wyróżnienia	Dane o nagrodzonej pracy
Fijałkowska I., Jończyk P., Maliszewska-Tkaćzyk M., Białokórska M., Schaaper R.M.	Pierwsza nagroda za pracę doświadczalną	„Unequal fidelity of leading strand and lagging strand DNA replication on the <i>Escherichia coli</i> chromosome”. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998, <u>95</u> , 10020-10025
Tomaszewski R., Mogielnicka E., Jerzmanowski A.	Druga nagroda za pracę doświadczalną	„Both the 5S rRNA gene and the AT-rich flanks of <i>Xenopus laevis</i> oocyte -type 5S rDNA repeat are required for histone H1-dependent repression of transcription of pol III-type genes in <i>in vitro</i> reconstituted chromatin”. Nucleic Acids Research 1998, <u>26</u> , 5596-5601.
Sirko A., Węgleńska A., Hulanicka D.	Druga nagroda za pracę doświadczalną	„Integration host factor positively regulates <i>cysJ1H</i> transcription”. Mol. Gen. Genet. 1998, <u>258</u> , 174-177.
Natorff R., Piotrowska M., Paszewski A.	Trzecia nagroda za pracę doświadczalną	„The <i>Aspergillus nidulans</i> sulphur regulatory gene <i>sconB</i> encodes a protein with WD40 repeats and an F-box”. Mol. Gen. Genet. 1998, <u>257</u> , 255-263

Pałucha A., Zagórski W., Chrzanowska M., Hulanicka D.	Trzecia nagroda za pracę doświadczalną	„An antisense coat protein gene confers immunity to potato leafroll virus in a genetically engineered potato”. Europ. J. of Plant Pathology 1998, <u>104</u> , 287- 293
Węgrzyn A.	Druga nagroda za cykl ośmiu prac opubliko- wanych w 1998 r.	
Palamarczyk G., Maras M., Contreras R., Kruszewska J.	Pierwsza nagroda za pracę przeglądową	„Protein secretion and glycosylation in <i>Trichoderma</i> ”. Trichoderma and Gliocladium 1998, <u>1</u> , 121- 138.
Zagulski M., Herbert C.J., Rytka J.	Druga nagroda za pracę przeglądową	„Sequencing and functional analysis of the yeast genome” Acta Biochim. Polon. 1998, <u>45</u> , 627-643
Góra M.	Nagroda za pracę doktorską	„Physiological and biochemical consequences of mutations in the HEM15 gene encoding ferrochelatase in the yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ” <i>Praca obroniona 28.04.1998 na posiedzeniu Rady Naukowej</i>
Góra-Sochacka A.	Nagroda za pracę doktorską	„The genetic stability of potato spindle tuber viroid (PSTV)” <i>Praca obroniona 23.06.1998 posiedzeniu Rady Naukowej</i>
Krzymowska M.	Nagroda za pracę doktorską	„Mechanizmy indukcji promotora genu <i>PR-2d</i> w transgenicznym roślina ziemniaka”. <i>Praca obroniona 23.06.1998 na posiedzeniu Rady Naukowej</i>

Nagrody i wyróżnienia uzyskane poza IBB PAN

Nazwisko osoby nagrodzonej	Rodzaj Nagrody/wyróżnienia	Dane o pracy nagrodzonej
Hulanicka D., Sadowy E., Juszczuk M., Zagórski Wl., Pałucha A., Góra-Sochacka A., Chachulska A. M.	Wyróżnienie Wydziału II Nauk Biologicznych PAN	RNA genomy patogenów roślin użytkowych – struktury, funkcje, kontrola, rozprzestrzenianie.
Fijałkowska I. J., Jonczyk P.	Nagroda II Wydziału Nauk Biologicznych PAN	Cykl 5 prac dotyczących mechanizmów wierności replikacji DNA
Jerzmanowski A.	Nagroda Sigma-Aldrich i Polskiego Towarzystwa Biochemicznego za najlepszą pracę z dziedziny kwasów nukleinowych wykonaną w Polsce w 1998r.	Tomaszewski, R., Mogielnicka E., and Jerzmanowski, A. (1998) Both the 5S rRNA gene and the AT-rich flanks of <i>Xenopus laevis</i> oocyte- type 5S rDNA repeat are required for histone H1- dependent repression of transcription of pol III-type genes in in vitro reconstituted chromatin. Nucleic Acids Res. 26, 5596-5601.

Krzymowska M.	Nagroda Prezesa Rady Ministrów	Za wyróżniający się doktorat dla młodego pracownika naukowego
Tomaszewski R.	Nagroda Prezesa Rady Ministrów	Za wyróżniający się doktorat dla młodego pracownika naukowego
Wierzchowski K.L.	Członkostwo honorowe: Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika	W uznaniu pracy jako redaktor kwartalnika KOSMOS od 1972 r, redaktor naczelny od 1992 r.
Bierzyński A., Goch G.	Nagroda II Wydziału Nauk Biologicznych PAN nagroda zespołowa	Analiza oddziaływań między jonami wapnia i wiążącymi je peptydowymi fragmentami białek
Palucha A.	Nagroda Zespołowa I stopnia Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie	Za osiągnięcia w dziedzinie badań naukowych

Członkostwo z wyboru w krajowych/międzynarodowych organizacjach naukowych lub akademiach

Nazwisko i imię	Data wyboru	Nazwa organizacji lub akademii	Funkcja
Bierzyński A.	06.1999	Komitety Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Ceglowski P.	1999	Komitety Biotechnologii przy Prezydium PAN	członek
Chojnacki T.	1991	Polska Akademia Nauk	członek
Chojnacki T.	1996	Komitety Biotechnologii przy Prezydium PAN	członek
Fikus M.	06.1999	Komitety Biochemii i Biofizyki PAN	przewodnicząca
Fikus M.	06.1999	Komitety Biotechnologii przy Prezydium PAN	członek
Fikus M.	06.1999	Komitety Mikrobiologii PAN	członek
Hennig J.	05.1999	Komitety Biotechnologii przy Prezydium PAN	członek
Hennig J.	03.1999	Sekcja Biotechnologii KBN	członek
Hulanicka D.	1997	Komitety Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Hulanicka D.	1996	Komitety Biotechnologii przy Prezydium PAN	członek
Jerzmanowski A.	1996	Towarzystwo Naukowe Warszawskie	członek
Łobocka M.	1995	American Society for Microbiology	członek
Łobocka M.	1999	Komitety Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Muszyńska G.	1997	Centralna Komisja do Spraw Tytułu Naukowego i Stopni Naukowych	członek
Paszewski A.	1998	Polskie Towarzystwo Genetyczne	wiceprzewodniczący zarządu głównego
Paszewski A.	1993	Komitety Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Paszewski A.	1994	Towarzystwo Naukowe Warszawskie	wiceprzewodniczący
Paszewski A.	1993	Komitety Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Paszewski A.	1996	Komitety Prognoz PAN	członek
Paszewski A.	1998	Komitety Biologii Ewolucyjnej i Teoretycznej PAN	członek

Paszewski A.	1996	Komitet Etyki w Nauce	członek
Pietrzykowska I.	1985	European DNA Repair Net Work	przedstawiciel polski
Przykorska A.	1998	Polskie Towarzystwo Biochemiczne	członek zarządu oddziału warszawskiego
Shugar D.	1980	Polska Akademia Nauk	
Shugar D.	1993	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Sirko A.	11.1998	Polskie Towarzystwo Biochemiczne	członek zarządu oddziału warszawskiego
Szafrński P.	1957	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Szafrński P.	1969	Polska Akademia Nauk	członek
Tudek B.	03.1999	Europejskie Towarzystwa Mutageny Środowiskowej	przewodnicząca polskiej sekcji
Węgleński P.	1995	Polska Akademia Nauk	członek
Węgleński P.	1989	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Węgleński P.	1981	Towarzystwo Naukowe Warszawskie	członek
Wierzchowski K. L.	1976	Polska Akademia Nauk	członek rzeczywisty (od 1991)
Wierzchowski K. L.	1991	Polska Akademia Umiejętności	członek
Wierzchowski K. L.	1966	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Wierzchowski K. L.	1966	Komitet Biotechnologii przy Prezydium PAN	członek
Zagórski W.	1992	Towarzystwo Naukowe Warszawskie	członek
Zagórski W.	1993	Komitet Biochemii i Biofizyki PAN	członek
Zagórski W.	10.1999	Komitet Programowy 5. PR Unii Europejskiej	delegat polski
Zagórski W.	1993	Polska Akademia Umiejętności	członek

Członkostwo w radach naukowych innych placówek

Nazwisko i imię	Nazwa placówki
Bartnik E.	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Bartnik E.	Zakład Genetyki Człowieka PAN
Buchowicz J.	Ogród Botaniczny PAN
Chojnacki T.	Ogród Botaniczny PAN
Fikus M.	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Fikus M.	Instytut Paleobiologii PAN
Grzesiuk E.	Instytut Matki i Dziecka
Jerzmanowski A.	Wydział Biologii UW
Jerzmanowski A.	Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej UNESCO-PAN
Paszewski A.	Instytut Biologii Eksperymentalnej im.M.Nenckiego PAN
Paszewski A.	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Pietrzykowska I.	Instytut Genetyki Człowieka PAN
Wierzchowski K. L.	Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Przewodniczący
Wierzchowski K. L.	Instytut Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego
Zagórski W.	Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Matematycznego UW

Udział w komitetach/radach redakcyjnych krajowych lub zagranicznych czasopism naukowych

Nazwisko i imię	Nazwa czasopisma	Funkcja
Barszcz D.	Leksykon nowych pojęć i nazw w biochemii i biologii molekularnej w wersji internetowej	członek redakcji
Barszcz D.	Acta Biochimica Polonica	członek redakcji
Chojnacki T.	Cellular & Molecular Biology Letters	członek redakcji
Fijałkowska I. J.	Postępy Biochemii	członek redakcji
Hulańska D.	Acta Biochimica Polonica	członek rady redakcyjnej
Jachymczyk W.	Postępy Biochemii	członek rady redakcyjnej
Janion C.	Journal of Biomedicine and Biotechnology	członek redakcji
Jerzmanowski A.	Acta Biochimica Polonica	członek redakcji
Jerzmanowski A.	Postępy Biochemii	członek redakcji
Jerzmanowski A.	The Plant Journal	członek rady redakcyjnej
Kuśmerek J. T.	Acta Biochimica Polonica	członek redakcji
Palamarczyk G.	Postępy Biochemii	członek redakcji
Paszewski A.	Postępy Mikrobiologii	członek rady redakcyjnej
Stępień P. P.	Acta Biochimica Polonica	członek redakcji
Wierzchowski K. L.	Acta Biochimica Polonica	członek redakcji
Wierzchowski K. L.	Biophysical Chemistry (Elsevier)	członek doradczego komitetu redakcyjnego
Wierzchowski K. L.	KOSMOS	redaktor naczelny

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

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

Zespół: prof. dr hab. Tadeusz Kulikowski, dr Maria Bretner (od sierpnia 1999),
dr Krzysztof Felczak, dr Maria A. Siwecka, mgr Agnieszka Miazga,
mgr Katarzyna Wyszyńska, prof. dr David Shugar

Kontynuowano poszukiwania nowych analogów N⁴-hydroxy-2'-deoksycytyny (N⁴OH-dCyd) oraz jej 5'-monofosforanu (N⁴OH-dCMP) potencjalnych inhibitorów syntazy tymidylanowej (TS) oraz potencjalnych środków przeciwbiałaczkowych. Syntetyzowano i zbadano właściwości fizykochemiczne i biologiczne szerokiego wachlarza 5-podstawionych analogów N⁴OHdCyd i N⁴OH-dCMP z podstawnikami o różnych właściwościach elektronowych, hydrofobowych i sterycznych. Zbadano oddziaływania tych ostatnich z dwoma odmianami TS izolowanymi ze zwykłej i odpornej na FdUMP linii komórkowej białaczki L1210. Wykazano, że wszystkie 5-podstawione analogi są kompetycyjnymi (w stosunku do dUMP), wolno wiążącymi inhibitorami TS o zróżnicowanej, zależnej od hydrofobowego charakteru podstawnika, wartości $K_i = 10^{-8} - 10^{-4}$ M, na ogół skorelowanej z aktywnością przeciwbiałaczkową ich macierzystych nukleozydów. Stosując wysokorozdzielczą spektroskopię ¹H i ¹⁹F NMR zbadano mechanizm oddziaływania N⁴OH-5F-dCMP z syntazą tymidylanową (TS). Wykazano, że w roztworze wodnym związek ten wykazuje konformację podobną do innych deoksynukleozydów 5'-monofosforanów (ale z większą stabilizacją konformacji S (C2'-endo). W buforze boraksowym o pH=7.5 występuje jednak równowaga dwóch stanów konformacyjnych grupy N⁴OH (cis-trans), podczas gdy w wodzie (pH=6.5) istnieje tylko izomer cis. N⁴OH-5F-dCMP podobnie jak FdUMP tworzy kowalencyjny trójskładnikowy kompleks ze szczurzą TS tylko w obecności nadmiaru metylenotetrahydrofolianu (współpraca z Instytutem Biologii Doświadczalnej PAN).

Kontynuowano badania nad selenowanymi w pierścieniu heterocyklicznym analogami nukleozydów pirymidynowych. Stosując metodę bezpośredniego selenowania 2- i 4-aminonukleozydów selenowodorem w środowisku polarnym otrzymano szereg 4-seleno- i 2-seleno-2'-deoksurydyn o aktywności przeciwbiałaczkowej ($IC_{50} 10^{-5} - 10^{-6}$ M), przy czym 5'-monofosforany inhibowały syntazę tymidylanową ($K_i = 10^{-5} - 10^{-7}$ M) (współpraca z Instytutem Biologii Doświadczalnej PAN). Drogą regioselektywnej syntezy otrzymano i zbadano szereg nowych acyklo 6-fenyloselenenylouracyli, niekompetytywnych, wiążących się allosterycznie, inhibitorów odwrotnej transkryptazy z HIV, potencjalnych nowych środków przeciwko HIV/AIDS. Wstępne badania aktywności przeciwko retrowirusowi HIV-1 wykazały wysoką i selektywną aktywność przeciwwirusową związku EP11 z tej serii. (współpraca z Centrum Diagnostyki i Terapii AIDS).

Najważniejszy wynik badawczy

Synteza oraz wykazanie wysokiej i selektywnej aktywności przeciwko HIV nowego acyklofenyloselenenylouracylu EP11, allosterycznego inhibitora odwrotnej transkryptazy HIV.

PUBLIKACJE: 3405, 3406, 3407, 3421, 3422, 1302/A, 1303/A, 1326/A, 1328/A, 1329/A, 1330/A, 1332/A

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

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

Zakończono cykl badań mających na celu poznanie fotoreakcji psoralenu z lipidami występującymi w błonie komórkowej. W badaniach modelowych użyto wolne nienasycone kwasy tłuszczowe oraz kwasy związane z lecytyną. Stwierdzono, że przeważającej reakcji cykloaddycji psoralenów do nienasyconych wiązań kwasu olejowego lub linolowego towarzyszy fotoutlenianie tych wiązań jak również odczepianie adduktu kwasowego od lecytyny. Widma masowe udokumentowały powstawanie podwójnych cykloadduktów: przyłączenie dwóch cząsteczek psoralenu lub 8-metoksypsoralenu do kwasu linolowego w lecytynie, potwierdzając uprzednie wyniki widm NMR wyizolowanych chromatograficznie związków.

Wyniki 6-letnich doświadczeń przedstawiono w pracy doktorskiej Ewy Waszkowskiej pt. "Produkty fotoaddycji furokumaryn do fosfatydylocholiny".

Najnowsze wyniki doświadczeń przedstawiono na 8-ym Europejskim Kongresie Fotobiologicznym w Grenadzie. Publikację nt. fotoproduktów 8-metoksypsoralenu używanego w terapii PUVA wysłano do druku.

Charakterystyka cykloadduktów nienasyconych kwasów tłuszczowych umożliwia ich zastosowanie w dalszych badaniach na hodowli ludzkich limfocytów *in vitro*.

Najważniejszy wynik badawczy

Stwierdzenie powstawania podwójnych cykloadduktów przez przyłączenie dwóch cząsteczek psoralenu lub 8-metoksypsoralenu do kwasu linolowego w lecytynie.

PUBLIKACJE: 3362, 123/N, 1239/A

Temat 4. Molekularne i termodynamiczne podstawy biologicznej specyficzności sząsteczek białek nukleinowych

prof. Kazimierz L. Wierzchowski

Temat 4.1 Badania konformacji peptydów i białek wiążących wapń

Zespół: prof. dr hab. Andrzej Bierzyński, dr Grażyna Goch, mgr Hanna Kozłowska, mgr Elżbieta Soszyńska, Lilia Żukow, dr Sergiusz Wdowienko (6 mies.)

Prowadzono badania serii syntetycznych peptydów skoordynowanych z jonami lantanowców o sekwencji: Ac-Asp-Lys-Asp-Gly-Asp-Gly-Tyr-Ile-Ser-Ala-Ala-Glu-(Ala)_n-NH₂ gdzie n = 1÷4. Widma CD tych peptydów w wodzie i w roztworach o zmiennym stężeniu trójfluoroetanolu wykazały, jak spodziewano się na podstawie uprzednich badań, że C-końcowe segmenty tych peptydów, począwszy od reszty Ala 10 tworzą niezwykle stabilną strukturę helikalną. Strukturę tę potwierdzono metodami NMR. Otrzymano widma CD b. krótkich helis zawierających od 4 do 8 grup peptydowych. Metodami fluorescencyjnymi prowadzone są systematyczne pomiary stałych wiązania lantanu do peptydów. We współpracy z prof. J. Otlewskim z Instytutu Biochemii Uniwersytetu Wrocławskiego podjęto badania kalorymetryczne mające na celu wyznaczenie ciepła tworzenia krótkich helis peptydowych.

We współpracy z dr. Wojciechem Balem z Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego kontynuowane są prace prowadzące do wklonowania i ekspresji w *E.coli* genów kodujących protaminę ludzką i jej fragmenty. Protamina jest peptydem o ogromnym znaczeniu biologicznym, wiążącym jony metali.

Zakończono porównawcze badania struktury białka CMTI-I i jego mutantu Met8→Leu. Wykazano, że konserwatywna mutacja reszty hydrofobowej usytuowanej na powierzchni białka może prowadzić do destabilizacji struktury i utrudniać w znacznym stopniu proces zwijania się białka. Wyjaśniono mechanizmy strukturalne odpowiedzialne za ten efekt.

Kontynuowano pomiary fluorescencyjne stałych wiązania jonów lantanowców do białka S100A1 i jego mutantów Glu32→Gln i Glu73→Gln oraz we współpracy z dr. Antosiewiczem z Instytutu Fizyki Doświadczalnej UW rozpoczęto pomiary kinetyki wiązania lantanowców przez białko S100A1.

Najważniejszy wynik badawczy

Określenie natury nowego mechanizmu destabilizacji struktury białek w wyniku konserwatywnych mutacji reszt hydrofobowych znajdujących się na jego powierzchni.

PUBLIKACJE: 3368, 3417, 1306/A, 1310/A

Temat 4.2. Analiza konformacyjna wybranych układów białkowych

dr Jarosław Poznański

- a) Struktura owadziej poneratoksyny (współpraca z dr hab. J. Michalik, Zakład Biosyntezy Białka)

Metodą spektroskopii CD zbadano konformację tego 25 aminokwasowego peptydu w wodnych roztworach SDS i fosfatydylocholiny, imitujących środowisko komórki. Stwierdzono indukcję przez te rozpuszczalniki konformacji α-helikalnej, analogicznej do obserwowanej wcześniej (1998) w roztworze 30% trifluoroetanolu. Wyniki badań CD i wcześniejszych ¹H NMR przygotowywano do publikacji.

- b) Struktura i stabilność białka z ryżu transportującego lipidy (współpraca z Centre de Biophysique Moleculaire, Orlean, Francja)

Przeprowadzono modelowanie ekspansji hydrofobowej wnęki białka ukierunkowanej na związanie modelowego liganda $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ i określono maksymalną wielkość jaką wnęka ta może osiągać.

c) Lokalne struktury w białkach

W Protein Data Bank dla aminokwasów $X = \text{Trp}, \text{Tyr}, \text{Phe}$ i His poprzedzających prolinę o konfiguracji *cis* stwierdzono występowanie preferencji do przyjmowania konformacji umożliwiającej pseudowarstwowe oddziaływanie między łańcuchami bocznymi X i Pro . Struktury te są tożsame z otrzymanymi na drodze modelowania danych doświadczalnych ^1H NMR dla trzech grup peptydów: $\text{Trp}-(\text{Pro})_n\text{-Tyr}$, $\text{Trp}-(\text{Pro})_n\text{-Met}$ i $\text{Tyr}-(\text{Pro})_n\text{-Met}$ (Poznański, Praca doktorska 1995).

d) Struktura kompleksów ddA, ddG i ddI z β -cyklodekstryną (współpraca z prof. W. Zielenkiewiczem) Metodą widm ^1H NMR wyznaczono stechiometrię i stałe równowagi dla tytułowych kompleksów.

e) Wiązanie inhibitorów przez syntazę tymidylanową – TS (współpraca z prof. T. Kulikowskim) Metodami spektroskopii NMR wykazano istnienie trwałego, trójskładnikowego kompleksu Ts z 5-F- N^4 -OH-dCMP i tetrahydrofolianem. Prowadzono też spektroskopowe NMR i modelowe badania nad konformacyjnymi własnościami pochodnych N^4 -OH-cytozyny.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie występowania w łańcuchach polipeptydowych białek lokalnych struktur stabilizowanych pseudowarstwowymi oddziaływaniami aromatycznego pierścienia aminokwasu (Trp , Tyr , Phe , His) z cyklicznym łańcuchem bocznym następującej po nim w sekwencji proliny o konfiguracji *cis*.

PUBLIKACJE: 3373, 3395, 3443, 1325/A, 1326/A

Temat 4.3 Mechanizm inicjacji transkrypcji genów prokariotycznych

Zespół: prof. Kazimierz L. Wierchowski, dr Krystyna Bolewska, dr Tomasz Łoziński, dr Wiesław J. Smagowicz (do 31.08), dr Jarosław Poznański, mgr Iwona Kolasa, mgr Krystyna Majcher i Teresa Rak

a) Ilościowy „footprinting” KMnO_4 otwartego kompleksu transkrypcyjnego (*E. coli*) na promotorze *Pa* oraz promotorowego dsDNA *in vitro*.

Opracowaną wcześniej metodą (1998) przeprowadzono analizę footprintów KMnO_4 matrycowej nici DNA otwartego kompleksu na promotorze *Pa*, otrzymanych w nieobecności i w obecności 10 mM MgCl_2 , i na tej podstawie wyznaczono stałe szybkości reakcji utlenienia dla poszczególnych reszt tyminy w obszarze bąbla transkrypcyjnego ($T: +1, -1, -5, -8, -9, -11$). Okazało się, że wzrost reaktywności $T+1$ i $T-1$ spowodowany obecnością Mg^{2+} jest znacznie wyższy, niż pozostałych reszt T , podobnie jak to zaobserwowaliśmy poprzednio (1998) dla $T+3$, $T+2$ i $T-2$ na nici niematrycowej tego samego kompleksu. Otrzymane dane potwierdzają, że obserwowany wzrost reaktywności reszt T w pobliżu miejsca startu transkrypcji w obecności 10 mM MgCl_2 jest wynikiem występowania w obszarze centrum katalitycznego polimerazy RNA specyficznie związanych jonów Mg^{2+} .

Tą samą metodą przeprowadzono footprinting dsDNA plazmidu pDS3 z promotorem *Pa* w nieobecności i w obecności 10 mM MgCl_2 . Wizualna analiza footprintów pokazała, że najbardziej reaktywne są reszty T położone na 3'-końcu sekwencji T_n , zgodnie z wcześniejszymi obserwacjami (McCarthy i inni, 1985). Ilościowa analiza footprintów niematrycowej nici arbitralnie wybranych fragmentów dsDNA, potwierdziła zależność uśrednionej reaktywności reszt pirymidynowych od sekwencji zasad; wykazała ponadto, że współczynnik wzrostu reaktywności wywołany obecnością jonów Mg^{2+} również zależy od lokalnej sekwencji zasad i waha się w granicach 0-2.5 oraz, że reaktywność reszt T w dsDNA jest o 2-3 rzędów wielkości mniejsza niż reszt T w obszarze bąbla transkrypcyjnego w otwartym kompleksie.

Wyniki tytułowych badań przygotowano do publikacji.

b) Wpływ sekwencji A_nT_n promotora na powierzchnię kontaktu z polimerazą RNA *E. coli*.

W celu pełniejszej interpretacji wyznaczonych wcześniej (1998) parametrów kinetyki powstawania kompleksu otwartego ($k_a = K_B \times k_i$; K_B – stała równowagi zamkniętego kompleksu a k_i – stała szybkości jego izomeryzacji do kompleksu otwartego) dla kompleksów tworzonych przez polimerazę RNA na syntetycznych promotorach zawierających sekwencje zaginające oś heliksu DNA, przeprowadzono mezoskopowe modelowanie wyjściowych, zderzeniowych kompleksów. Fragmenty DNA zawierające badane promotory i promotor kontrolny *B-UP* (o dużej mocy i silnie zagięty powyżej rejonu -35) wymodelowano programem DIAMOD, następnie przy pomocy programu SYBYL utworzono pary promotorów: badany + kontrolny, zorientowanych względem siebie tak aby ich rejony -35 i -10 maksymalnie pokrywały się, i obliczono średnie standardowe odchylenie między odpowiadającymi sobie

atomami C1' reszt dezoksyrybozy w znanych rejonach powierzchni styku polimeraza-promotor. Wartość tego odchylenia okazała się najmniejsza dla najsilniejszych promotorów z badanej grupy: P1 i Pk, zawierających przeciwnie zorientowaną sekwencję A₅T₃ bezpośrednio powyżej rejonu -35 promotora. Dla promotorów tych nie udało się bezpośrednio określić stałej K_B. Stwierdzona odwrotna korelacja między tym odchyleniem i mocą promotora *in vitro* (której miarą jest $k_a = K_B \times k_i$) wskazuje, że główną przyczyną dużej mocy promotorów jest większa wartość stałej K_B, proporcjonalna do powierzchni kontaktu enzym-DNA.

c) Badania struktury białkowej domeny 4.2 podjednostki σ^{70} polimerazy RNA z *E.coli*.

Wcześniejsze pomiary TOCSY ¹H NMR białka 4.2 (His₆ na N-końcu) pokazały (1998), że zarówno przesunięcia chemiczne protonów NH jak i H α wykazują małe zróżnicowane w obszarze charakterystycznym dla struktury α -helisy, co uniemożliwiało analizę jego struktury. Otrzymano więc z wysoką wydajnością rekombinacyjne białko znakowane ¹⁵N i zarejestrowano jego widmo ¹⁵N HSQC NMR. Jednak z tych samych co wyżej powodów widmo to nie cechowało się odpowiednio wysoką rozdzielczością, konieczną dla strukturalnej analizy. Otrzymano więc z kolei białko wyznakowane dwoma izotopami: ¹⁵N i ¹³C. Dotychczas udało się zidentyfikować wszystkie reszty Gly, Thr i Ala oraz grupy amidowe Asn i Gln. Dalsze badania 3D NMR są obecnie w toku.

Podjęto też próby krystalizacji białka 4.2 σ^{70} zarówno z resztami histydynowymi jak i po ich usunięciu trombiną (współpracy z grupą prof. M. Jaskólskiego z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu). Do krystalizacji używano początkowo gotowych (standardowych) zestawów krystalizacyjnych firmy Hampton Research. Po stwierdzeniu na podstawie badań CD i NMR, że białko 4.2 z resztami histydynowymi w różnych pH nie ulega agregacji tylko w niskim pH, nastawiono próby krystalizacyjne obu rekombinowanych białek w buforze glicynowym pH 3.0 przy różnych stężeniach czynników strącających: (NH₄)₂SO₄, PEG 4000 oraz PEG 6000). Dotychczas nie zaobserwowano pojawiania się form krystalicznych białek, lecz jedynie wypadanie ich w postaci tzw. sferolitów.

Rozpoczęto prace nad wyznaczeniem stałych wiązania białka 4.2(His₆) z fragmentami promotorowego DNA.

Wyniki dotychczasowych badań przedstawiono w formie komunikatu plakatowego na VIII Ogólnopolskim Sympozjum „Konformacja peptydów, białek i kwasów nukleinowych (Rynia, 26-29.05.1999)

Uzupełnienie do zamkniętego (1998) tematu: **Transport elektronów między rodnikowymi centrami w modelowych peptydach i białkach** (prof. K.L. Wierzchowski i dr J. Poznański).

Metodą molekularnej dynamiki przeprowadzono modelowanie konformacji peptydów H-Trp-(Pro)_n-Tyr-OH i zaproponowano model wyjaśniający zaobserwowany wcześniej wpływ długości mostka oligoprolinowego i pola elektrostatycznego grupy COOH na kinetykę przeniesienia elektronu między Tyr i rodnikiem indolylowym Trp oraz na pK protonacji rodnika. Całość wyników opracowano do publikacji.

Najważniejszy wynik badawczy

Ilościowe określenie zależnej od sekwencji zasad reaktywności z nadmanganianem reszt pirymidynowych w dwuniciowym DNA oraz wpływu jonów Mg²⁺ na tą reaktywność.

PUBLIKACJE: 3444

Temat 4.5 Modelowanie struktury i funkcji białek

Zespół: dr hab. Piotr Zielenkiewicz, dr Danuta Płochocka, dr Andrzej Kierzek

A. Siatkowe symulacje powstawania i wzrostu tetragonalnego kryształu lizozymu.

Kontynuowano badania mechanizmu krystalizacji białek na przykładzie tetragonalnego kryształu lizozymu. Wykonano obliczenia dotyczące kinetyki tworzenia pierwszych kompleksów o uporządkowaniu kryształu. Umożliwiło to uzupełnienie istniejącego modelu o analizę czasową poszczególnych etapów procesu krystalizacji – od tworzenia pierwszych uporządkowanych kompleksów do powstania makroskopowego kryształu.

B. Potencjał elektrostatyczny biopolimerów w roztworach elektrolitów.

Rozwiązano numerycznie równania zmodyfikowanej teorii Poissona-Boltzmanna dla cylindrycznego DNA w roztworach elektrolitów jedno- i wielowartościowych z uwzględnieniem polaryzacji jonów. Pokazano, że efekt polaryzacji musi być uwzględniany w obliczeniach oddziaływań elektrostatycznych takich układów dla jonów wielowartościowych.

C. Modelowanie dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PD).

Na podstawie podobieństwa G6PD człowieka z G6PD z *Leuconostoc mesenteroides*, której struktura krystalograficzna jest znana, zaproponowano przestrzenny model G6PD człowieka.

Niedobór enzymu G6PD w krwinkach czerwonych jest powszechnym, genetycznie uwarunkowanym defektem. G6PD katalizuje pierwszy etap szlaku pentozowego. W metabolizmie krwinek czerwonych G6PD redukuje NADP do NADPH. Choroba powoduje zniszczenie krwinek czerwonych, ponieważ nie zawierają one mitochondriów i, w związku z tym, nie posiadają alternatywnej drogi wytwarzania NADPH. Enzym ten działa w postaci dimeru i większość zaobserwowanych dotychczas mutacji ułożona była na powierzchni styku monomerów. Znaleziono dwie nowe mutacje tego enzymu: R227W oraz T336A, powodujące objawy chorobowe. Na podstawie otrzymanego modelu enzymu zaproponowano zmiany strukturalne białka wywołane tymi mutacjami. Mutacja R227W nie powoduje zasadniczych zmian struktury białka (łańcuch główny pozostaje niezmieniony), ponieważ ułożona jest na jego powierzchni. Druga mutacja: T336A jest usytuowana wewnątrz domeny $\alpha+\beta$, w dużej odległości zarówno od powierzchni styku monomerów, jak też od obszaru centrum aktywnego enzymu. Zmiany strukturalne spowodowane tą mutacją dotyczą jej okolic: największe zaburzenia występują dla łańcucha głównego 326 - 335, przez co ten fragment białka jest bardziej eksponowany do roztworu powodując destabilizację enzymu.

PUBLIKACJE: 3385, 3393, 3397

Temat 4.6 Badanie wczesnych etapów związania białek

Zespół: dr Michał Dadlez, dr Aleksandra Wysłouch-Cieszyńska, mgr Konrad Zdanowski, mgr Agnieszka Jabłonowska, mgr Jerzy Dyczkowski, mgr Elżbieta Remiszewska, mgr Monika Garaś

Kontynuowano badania inicjacji związania BPTI (peptydowego inhibitora trypsyny). Wykonano serię pomiarów zależności stabilności zarodka związania w BPTI od stężenia trójfluoroetanolu (TFA) dla czterech wariantów BPTI. Otrzymano spodziewaną zależność, w niskich stężeniach TFA wzrost stabilności, a w wyższych destabilizację. Stanowi to dodatkowe potwierdzenie proponowanego modelu. Otrzymano, w ilości kilkunastu mg, preparaty wariantów BPTI znakowanych azotem ^{15}N dla celów badań metodami NMR. Wykonano widma dwuwymiarowe typu COSY i TOCSY. Obecnie dane te są analizowane aby ocenić możliwość wykonania pomiarów czasów relaksacji sygnałów określonych protonów cząsteczki, które powinny pozwolić na oznaczenie ruchliwości segmentów białka w obrębie postulowanej struktury inicjującej związanie. W celu otrzymania białka, w którym stabilność zarodka związania jest zwiększona przygotowano dwa nowe warianty BPTI metodą QuickChange (Stratagene).

W ramach przygotowania do badań własności agregacyjnych peptydów $\text{A}\square$ związanych z chorobą Alzheimera wykonano gen pierwszego z nich obejmującego pozycje 10-30 peptydu $\text{A}\square$. Obecnie trwają testy poziomu ekspresji tego peptydu.

W ramach współpracy z zespołem doc. P. Zielenkiewicza wykonano syntezę permutowanej wersji domeny viliny i wykonano pomiary kołowego dichroizmu. Przygotowano również 5mg szybko krystalizującego wariantu I1,13 Ala BPTI przeznaczonego do badań metodami rozpraszania światła (A. Kierzek).

W ramach współpracy z zespołem doc. E. Darzyńkiewicza (Z-d Biofizyki, UW) wykonano syntezę dwu peptydów, fragmentów białka eIF4E, w tym jeden zawierający fosforylowaną serynę. Obecnie testowane jest sprzęganie tego peptydu z pozostałą częścią białka (otrzymywaną w bakteriach) metodą ligacji białkowej w systemie Impact (NEB). Tak wykonane białko będzie służyć do celów analizy strukturalnej (w zespole prof. S. Burley'a z Rockefeller University, USA).

W ramach współpracy z zespołem prof. Jacka Otlewskiego (U. Wr.) wykonano dodatkową serię siedmiu mutantów BPTI. Pozwoli to na zebranie dodatkowych danych o oddziaływaniach inhibitor-proteinaza i uzupełnienie przyjętej do druku publikacji. Przy współudziale prof. A. Godzika (Burnham Institute, USA) wykonano również przypisanie strukturalne dla nardilizyny, metalloproteazy o nieznanej strukturze. Badanie struktury i własności tego białka stanowi treść wspólnego projektu grantowego złożonego do ICGB.

Najważniejszy wynik badawczy

Opracowanie modelu indukcji związania białek przez słabo stabilne struktury zarodkowe.

PUBLIKACJE: 3370, 3380, 3382, 3383, 3394, 3413, 119/

Temat 5. Regulacja ekspresji niektórych genów w rozwoju osobniczym owada
dr hab. Krystyna Grzelak

Temat 5.1. Bakulowirusy i ich rekombinanty

Zespół: **dr hab. Joanna Michalik**, dr Ewa Szolajska, mgr Katarzyna Rybicka

Opracowano warunki zakażenia linii komórkowej IPL-LD-65Y bakulowirusem SsMNPV. Umożliwia to pozyskanie materiału do badań (DNA wirusowe) w warunkach laboratoryjnych bez ograniczeń sezonowych, selekcję czystego klonu i możliwości dokładniejszej interpretacji wyników. Zakończono sekwencjonowanie genu poliedryny wraz z sekwencją promotorową i na tej podstawie określono stopień podobieństwa naszego izolanta do innych znanych bakulowirusów. Analizowany obszar genomu jest na tyle podobny do wirusa OpMNPV, że można uznać wyizolowany w Polsce SsMNPV za wariant OpMNPV, występującego wyłącznie na terenie Ameryki Północnej. Zakończono prace nad wydajną ekspresją prolaktyny, syntetyzowanej zarówno w komórkach jak i uwalnianej do medium. Opracowano metodę czyszczenia produktu. Ekspresja genu prolaktyny w systemie bakulowirusa została zgłoszona jako patent, a uzyskane wyniki będą przedmiotem publikacji. Opracowywany jest ponad to sposób oczyszczania heterologicznego białka Vpg z wirusa Y ziemniaka z wykorzystaniem systemu HisTag.

Najważniejszy wynik badawczy

1. Charakterystyka genu poliedryny w bakulowirusie SsMNPV.
 2. Synteza i oczyszczanie heterologicznej prolaktyny w systemie bakulowirusa.
- PUBLIKACJE: 3404, 3424, 1231/A, 1232/A, 1251/A, 1257A, 1258/A, 1261/A, 146/N.

Temat 5.2. Rola hormonów w ekspresji genów u *Galleria mellonella*

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

W ramach wspólnego projektu badawczego z Zakładem Biochemii Politechniki Wrocławskiej kontynuowano badania nad ekspresją białek EcR i USP w komórkach drożdży *Pichia pastoris*. Opracowano warunki wydajnej syntezy i sekrecji białek EcR i USP z komórek *Pichia* transformowanych plazmidami pPICZαC-EcR i pPICZαC-USP. Otrzymano ok. 15mg/l rekombinowanego białka EcR i ok. 20mg/l USP. Masa cząsteczkowa rekombinowanych białek EcR i USP otrzymanych w systemie ekspresji opartym na wektorze sekrecyjnym wynosi odpowiednio ok. 108 kDa i 74 kDa. Podjęto również próbę uzyskania rekombinowanych białek EcR i USP w systemie ekspresji opartym na wektorze pPICZB w przypadku którego produkty ekspresji gromadzone są we wnętrzu komórki. Przy pomocy techniki Western-blottingu i użyciu przeciwciał anti-his i anti-USP wykazano obecność rekombinowanego białka USP w lizatach komórkowych *Pichia*. Masa cząsteczkowa tego białka wynosi ok. 66 kDa.

W ramach współpracy z Zakładem Fizjologii Bezkręgowców UW kontynuowano badania nad wpływem stresu temperaturowego na syntezę białek u larw *Galleria mellonella*. Identyfikowano produkty transkryptów Lhp76 i Lhp 82, których obecność u diapauzujących (przebywających w obniżonej temperaturze) larw wykazano wcześniej. Przy pomocy techniki Western-blottingu i użyciu przeciwciał anti-LHP76 wykazano obecność białka LHP76 u diapauzujących larw *Galleria*. Natomiast wyniki sekwencjonowania białka o m.cz. ok.82 kDa, oczyszczonego z hemolimfy diapauzujących larw, wskazują, że jest to białko LHP 82.

Najważniejszy wynik badawczy

1. Otrzymanie znaczących ilości rekombinowanych białek EcR i USP w systemie ekspresyjnym *Pichia pastoris*.
 2. Identyfikacja produktów transkryptów Lhp76 i Lhp82 u diapauzujących larw *Galleria*.
- PUBLIKACJE: 1252/A, 1260/A

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

Zespół: prof. Włodzimierz Zagórski-Ostoja, dr Andrzej Pałucha, dr Anna Góra-Sochacka, dr Anna Maria Chachulska, mgr Jerzy Pawłowicz, mgr Małgorzata Milner, mgr Wojciech Podstolski, techn. Iwona Rosa, techn. Elżbieta Nowak

Kontynuowano prace dotyczące stabilności genetycznej wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd). Uzyskane wyniki potwierdziły wysoką stabilność genetyczną wariantu sekwencyjnego S23.

Przeprowadzono analizę molekularną transgeniczných roślin ziemniaka niosących niepełną kopię cDNA PSTVd pod kontrolą promotora 35S CaMV. Delecja zlokalizowana jest w silnie konserwowanym, istotnym w procesie replikacji RNA wiroidowego, regionie genomu PSTVd. Przeprowadzone testy biologiczne wskazywały na możliwość powstawania infekcyjnych kopii RNA PSTVd w kilku roślinach linii transgeniczných niosących konstrukt w orientacji sensownej (+). Przeprowadzona hybrydyzacja typu Northern potwierdziła obecność RNA PSTVd w badanych roślinach. Analiza molekularna roślin z kilku linii transgeniczných wykazała obecność RNA wiroidowego o pełnej genomowej długości. Rozpoczęto analizę transgeny metodą Southern.

Kontynuowano prace nad charakterystyką molekularną wybranych roślin transgeniczných odpornych na infekcje wirusem PVY. Wśród 15 analizowanych roślin, zawierających cDNA genu replikazy wirusa, charakteryzujących się różnym stopniem odporności na PVY stwierdzono obecność zrekombinowanych kopii wprowadzanego transgeny oraz ustalono, że ilość jego kopii w roślinach była zgodna z oczekiwaniami i wynosiła od jednej do kilku.

Ponadto przeprowadzono analizę ekspresji transgeny na poziomie mRNA. Wykazano różnicowanie ekspresji cDNA wirusowego w analizowanych roślinach transgeniczných.

Przy współpracy Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Oddział Młochów kontynuowane są prace nad dalszą charakterystyką odporności transgeniczných roślin na infekcje PVY.

Rozpoczęto prace mające na celu sklonowanie genu białka płaszcza wirusa PVY w systemie ekspresyjnym bakulowirusa i baterijnym systemie ekspresyjnym GST (ang.: *glutathione S-transferase*). Uzyskane dzięki temu białko płaszcza wirusa posłuży do kontynuacji prac mających na celu dokładną charakterystykę jego struktury trzeciorzędowej.

W układzie retikulocytów królika przeprowadzono analizę ekspresji genów wirusa PVY zlokalizowanych w obrębie 4.5 tys. nukleotydów części 3' genomu. Wykazano, że sklonowany fragment cDNA wirusa zawiera aktywny gen proteazy NIa co umożliwia posttranslacyjne procesowanie wyrażanej *in vitro* poliproteiny.

Rozpoczęto prace mające na celu otrzymanie infekcyjnego klonu cDNA wirusa PVY. W pierwszym etapie prac, genom wirusa został sklonowany w postaci dwóch fragmentów cDNA odpowiadającym częściom 5' i 3' genomu wirusa. Fragmenty te posłużą jako materiał wyjściowy do konstrukcji infekcyjnych klonów PVY.

Najważniejszy wynik badawczy

Potwierdzenie wysokiej stabilności genetycznej molekularnego wariantu PSTVd S23.

1. Zsekwencjonowanie RNA PSTVd powstającego w roślinach transgeniczných niosących niepełną kopię cDNA PSTVd.
2. Charakterystyka molekularna transgeniczných roślin odpornych na infekcje wirusem PVY.
3. Analiza ekspresji fragmentu genomu PVY w układzie *in vitro*.
4. Sklonowanie genomu PVY w postaci dwóch fragmentów cDNA.

PUBLIKACJE: 3442, 1314/A, 1315/A, 1316/A, 1317/A

Temat 7. Cięcie i składanie genomu wiroida PSTVd

Zespół: prof. Przemysław Szafranski, mgr Jerzy Pawłowicz

Kontynuowano rozpoczętą w 1998 roku współpracę z Instytutem Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Młochowie w temacie dotyczącym koinfekcji ziemniaków wiroidem PSTVd enkapsydowanym w cząsteczkach wirusów roślinnych na modelu wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV). Stosowano technikę hybrydyzacji plamowej ze znakowaną radioaktywnie sondą RNA dla PSTVd.

Wykonano analizę PSTVd w materiałach roślinnych otrzymanych z Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Młochowie oraz Gospodarstw i Stacji namnażania i hodowli na terenie kraju.

Kontynuowano oczyszczanie rybonukleazy Rnl przy użyciu wysokorozdzielczej chromatografii cieczowej FPLC. Wykorzystując wspomnianą metodę uzyskano serie rozdzielów chromatograficznych białek na rzecz innych pracowni.

Temat 8. Sekwencjonowanie i analiza funkcjonalna genomu drożdży

Zespół: prof. Joanna Rytka, mgr Robert Gromadka, mgr Róża Kucharczyk, mgr Andrzej Migdalski, dr Marek Zagulski, Beata Babińska, Małgorzata Ostrowska.

Wykazano, że obniżenie ekspresji genu *KRR1* (*ORF YCL059c*) prowadzi do zaburzeń w procesie dojrzewania 18S rRNA i związanej z tym drastycznej redukcji liczby rybosomalnych podjednostek 40S. Stwierdzono zmiany w ekspresji genu zależne od fazy wzrostu hodowli, które są skorelowane z obniżoną syntezą rRNA oraz ekspresją genów kodujących białka rybosomalne. Na drodze mutagenizacji *in vitro* uzyskano mutanty pozbawione sekwencji kierującej białko Krr1 do jądra. Właściwości tych mutantów są obecnie przedmiotem naszych badań.

Dalsze badania zmierzające do wyjaśnienia funkcji nowoodkrytego genu *CCZ1* (Calcium Caffeine Zinc sensitivity) wykazały, że delecja genu prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu wakuoli. Mutanty *ccz1Δ* zaklasyfikowano jako *vpsB* (vacuolar protein sorting). Stwierdzono lokalizację białka Ccz1 w późnych endosomach. Dotychczasowe wyniki wskazują, że produkt genu *CCZ1* bierze udział w procesie fuzji endosomów z wakuolą. Stwierdzono współdziałanie w tym procesie białka Ccz1 z GTP-azą kodowaną przez gen *YPT7*. Białko Ypt7p jest białkiem błony wakuolarnej.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie udziału białka Ccz1 w procesie fuzji późnych endosomów z wakuolą.

PUBLIKACJE: 3392, 3410, 1248/A, 1269/A, 1270/A, 1275/A, 1278/A, 1284/A, 1285/A, 137/N

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

Zespół: prof. Jerzy Buchowicz, dr hab. Barbara Mazuś, dr Marta Dobrzańska, dr Elżbieta Kraszewska, dr Barbara Kroczyńska, dr Maria Bucholc, dr Blanka Szurmak, mgr Cezary Krysiak

W toku dalszych prac nad poznaniem ubocznych skutków transformacji roślin metodą biolistyczną stwierdzono, że bombardowanie niedojrzałych zarodków pszenicy mikrocząstkami metalicznego wolframu obniża ich potencjał morfogeny. O ile nieuporządkowany rozrost kalusa zainicjowanego z zarodka bombardowanego i kontrolnego jest taki sam, o tyle proliferacja komórek ukierunkowana na powstawanie zarodków somatycznych jest w istotnym stopniu zahamowana w tkance wyprowadzonej z zarodków bombardowanych. Również późniejsze kiełkowanie zarodków somatycznych, organogeneza i regeneracja roślin są mniej wydajne w tkankach wywodzących się z zarodków bombardowanych niż kontrolnych. Pierwotnym efektem ubocznym procesu biolistycznego są pęknięcia jednej lub obu nici natywnego DNA. Dla ich powstania nie jest jednak potrzebna penetracja tkanki przez superszybkie cząstki. Konwencjonalna inkubacja kolistych plazmidów z zawieszoną cząstką wolframową powoduje ich linearyzację. Liniowy DNA, w tych samych warunkach, nie ulega fragmentacji. Substancje jakie udaje się wyługować z mikrocząstek buforami inkubacyjnymi nie mają żadnego wpływu na integralność DNA. Przypuszcza się przeto, że w wyniku adsorpcji na powierzchni mikrocząstki wolframowej natywna cząsteczka plazmidowego DNA przybiera kształt pozwalający na hydrolizę wybranych wiązań fosfodwuestrowych bez udziału katalizatorów zewnętrznych (podobnie jak ma to miejsce w przypadku niektórych rybozymów i deoksurybozymów).

Najważniejszy wynik badawczy

Zaobserwowano zdolność mikrocząstek metalicznego wolframu do wybiórczej inhibicji embriogenezy somatycznej w tkance kalusowej.

PUBLIKACJE: 3436, 3438, 1253/A, 1289/A

Temat 12. Występowanie i rola lipidów prenylowych i prenylowanych białek w tkankach roślinnych. Badania struktury i biosyntezy

Zespół: prof. Tadeusz Chojnacki, Józefina Hertel, dr Wiesław Jankowski, mgr Karolina Skorupińska-Tudek, doc. Ewa Świeżewska, mgr Małgorzata Wanke, mgr Vo Si Hung

Kontynuowano badania nad biosyntezą i wewnątrzkomórkowym transportem lipidów terpenoidowych w komórkach szpinaku. Wykazano, że plastochinon i ubichinon są transportowane z ER do, odpowiednio, chloroplastów i mitochondriów (PQ-transport pęcherzykowy, niezależny od ATP i białek cytozolowych, UQ-transport pęcherzykowy, zależny od ATP i białek) (współpraca prof. G. Dallner, Sztokholm).

Kontynuowano badania nad charakterystyką roślinnej Rab prenylotransferazy. Uzyskano ok. 8000-krotne oczyszczenie enzymu (siewki pszenicy). Jedna z podjednostek rozpoznawana jest przez przeciwciała specyficzne dla odpowiednika badanego enzymu pochodzącego z mózgu szczura. Wykazano, że białko Ras ze śluzowca *Physarum polycephalum* jest farnezylowane *in vitro* (współpraca dr P. Kozłowski, UW).

Rozpoczęto badania nad mechanizmem wczesnych etapów syntezy poliprenoli w korzeniach *Coluria geoides*. Opracowano model (hodowle korzeni *in vitro*) i przeprowadzono pierwsze eksperymenty znakowania [¹³C]glukozą, oczyszczone lipidy przekazano do badań NMR (współpraca z prof. M. Rohmer, Strasburg i doc. O. Olszowska, AM, Warszawa).

Prowadzono syntezy i preparatyki oligoprenoli i poliprenoli w ramach „Kolekcji Poliprenoli” udoskonalać ich jakość i wydajność. Rozpoczęto prace nad uzyskaniem naładowanych dodatnio pochodnych poliprenoli do badań nad liposomami poliprenolowymi.

Przeprowadzono badania występowania długołańcuchowych poliprenoli u ponad połowy krajowych roślin zagrożonych i chronionych, stwierdzając występowanie nietypowych rodzin poliprenoli w liściach *Graminae* (współpraca mgr A. Marczewski, OB. PAN, Powsin)

We współpracy z kilkoma ośrodkami neurologicznymi dr Jankowski prowadził badania nad charakterystyką ekstraktów lipidowych otrzymanych z guzów układu nerwowego w celu standaryzacji metody tomografii magnetycznego rezonansu w badaniach klinicznych.

Zbadano zawartość lipidów w nasionach drzew leśnych, ustalono optymalną metodę suszenia nasion (współpraca prof. L. Janson, IBL).

Najważniejszy wynik badawczy

Plastochinon i ubichinon są biosyntetyzowane w retikulum endoplazmatycznym i transportowane do, odpowiednio, chloroplastów i mitochondriów.

PUBLIKACJE: 3418, 3445, 3446, 3447, 1224/A, 1225/A, 1242/A, 1243/A, 1244/A, 1254/A, 1294/A, 1327/A

Temat 13. Właściwości wybranych enzymów przemiany purynowej

Zespół: prof. dr hab. Maria M. Jeżewska, techn. Grażyna Jewdoszuk

Prowadzono dalsze badania nad deaminazą nukleozydów adeninowych z wątrobotrzustki ślimaka *H. pomatia* w celu ewentualnego rozdzielenia aktywności względem MTA od aktywności względem Ado i 2'-dAdo. Znalezione jednak tylko jeszcze jedną działającą na te trzy nukleozydy formę deaminazy o masie około 100 000. Badania deaminacji nukleozydów adeninowych przeprowadzono też u ślimaka *H. aspersa*, którego hoduje się na pożywkach sztucznych w celach jadalnych. U obu gatunków ślimaków deaminaza nukleozydów adeninowych ma podobną specyficzność i, być może, deaminacja MTA jest szczególną właściwością tego enzymu u ślimaków z rodziny *Helicidae*. Obok deaminazy nukleozydów purynowych w wątrobotrzustce *H. aspersa* wykryto bardzo aktywną deaminazę AMP działającą też na ATP, NADH i NAD. W mięśniach nogi *H. pomatia* deaminazę o takiej specyficzności substratowej opisał A. Stankiewicz (1983, Biochem. J. 215, 39-44).

Zestawiono zbierane przez 25 lat w naszym laboratorium dane o aktywności fosforybozylotransferaz hipoksantyno-guaninowej (HGPRT) i adeninowej APRT u chorych, podejrzanych o dziedziczny w sprzężeniu z chromosomem X Zespół Lesch-Nyhana (LNS) i u członków rodzin niektórych z nich. Na 47 badanych przypadków tylko w 12 stwierdzono LNS, w tym dwóch pacjentów wykazywało normalny rozwój umysłowy. Dotychczas istniejące w literaturze dane o punktowych mutacjach w genie HGPRT w populacji LNS i *hprt*-zależnej dny (łącznie z mutacjami oznaczonymi dla 7 przypadków LNS w Polsce) porównano z danymi o spontanicznych mutacjach *hprt*, wykrytych w limfocytach T z dwóch grup zdrowych ludzi. Porównanie to wykazało znaczne różnice w rozmieszczeniu mutacji w sekwencji monomeru HGPRT między dziedzicznymi mutacjami u chorych z obniżonym poziomem HGPRT a somatycznymi mutacjami powstającymi *in vivo* u zdrowych ludzi.

Najważniejszy wynik badawczy

Stwierdzenie różnic w rozmieszczeniu mutacji w sekwencji fosforybozylotransferazy hipoksantyno-guaninowej warunkujących dziedziczne zespoły chorobowe LNS i dnę oraz powstających spontanicznie *in vivo* u zdrowych ludzi.

PUBLIKACJE: 1331/A

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

Zespół: prof. Grażyna Muszyńska, dr Grażyna Dobrowolska, dr Jadwiga Szczegielniak, mgr Olbunmi S. Awotunde, mgr Ireneusz Jurkowski (do 31.07.1999), mgr Aneta Liwosz (do 31.11.1999), mgr Anna Kelner (od 01.10.1999), mgr Monika Mikołajczyk, mgr Joanna Trojanek

Kontynuowano prace dotyczące roślinnych kinaz białkowych:

- serynowo-treoninowych zależnych od wapnia i fosfolipidów;
- fosforylujących tyrozinę;
- uczestniczących w przewodzeniu sygnału stresu osmotycznego w roślinach;

Ponadto kontynuowano badania nad identyfikacją białek oddziałujących z roślinną fosfatazą białkową typu PP2A.

Z siewek kukurydzy wyizolowano kinazę białkową zależną od wapnia i fosfolipidów o masie molekularnej 54 kD. Enzym był rozpoznawany przez przeciwciała przeciwko kinazie białkowej zależnej od wapnia – CDPK (z ang. Calcium Dependent Protein Kinase), co sugerowało, że należy on do tej rodziny kinaz. Kinazę tę oczyszczono do stanu homogenności i oddano do mikrosekwencjonowania. Sekwencje uzyskanych peptydów jednoznacznie potwierdziły sugestię, że badana kinaza jest izoenzymem CDPK, który przypuszczalnie może spełniać fizjologiczną rolę analogiczną do zwierzęcej kinazy białkowej zależna od jonów wapnia – PKC (z ang. Protein Kinase C).

W siewkach kukurydzy obecne są dwie kinazy o masach molekularnych 55 i 65 kD fosforylujące tyrozinę w białkach. Kinaza o masie 55 kD podlega silnej autofosforylacji i jej aktywność jest hamowana przez staurosporynę. Analiza fosfo-aminokwasów w endogennie ufosforylowanej kinazie i egzogennym produkcie (fosfo-kazeinie) wykazała, że fosforylowana jest zarówno tyrozyna jak i seryna i treonina. Wynik ten potwierdził wcześniejsze przypuszczenia, że badane enzymy są kinazami o podwójnej specyficzności (ang. „dual specificity”). Należy zaznaczyć, że badając wpływ klasycznych inhibitorów zwierzęcych kinaz tyrozynowych nie uzyskaliśmy dowodów świadczących o obecności w roślinach typowych kinaz tyrozynowych.

W komórkach tytoniu pod wpływem stresu osmotycznego (250 mM NaCl lub 900 mM sorbitol) aktywowane są dwie kinazy białkowe o ciężarach cząsteczkowych 48 kD i 42 kD. Kinazy te są aktywowane już w pierwszych minutach stresu. Badania biochemiczne i immunologiczne wykazały, że kinaza 48 kD to kinaza SIP (z ang. Salicylic Acid Induced Protein Kinase) należąca do rodziny kinaz MAP. Wcześniejsze badania w pracowni prof. D. Klessiga wskazywały na udział tej kinazy w odpowiedzi rośliny na atak patogena (zarówno bakteryjnego, grzybowego jak i wirusowego) oraz zranienie. Nasze badania wykazały, że kinaza SIP jest zaangażowana również w przesyłanie sygnału stresu osmotycznego w roślinie.

Kinaza o ciężarze 42 kD jest aktywowana w pierwszej minucie stresu. Analiza specyficzności substratowej oraz badanie reakcji z różnymi dostępnymi przeciwciałami sugerowała, że kinaza ta nie należy do żadnej z dotychczas poznanych rodzin kinaz białkowych. Enzym ten został oczyszczony do homogenności (12000 razy), a następnie poznano sekwencje kilku peptydów uzyskanych po trawieniu trypsyną oczyszczonego białka. Na podstawie sekwencji peptydowych stwierdzono, że badana kinaza należy do rodziny kinaz SNF1 a ponadto zaprojektowano specyficzne startery do reakcji PCR w celu uzyskania sondy koniecznej do klonowania cDNA kodującego kinazę 42 kD aktywowaną w roślinie w warunkach stresu osmotycznego.

Najważniejszy wynik badawczy

Zidentyfikowano na poziomie molekularnym dwie kinazy białkowe aktywowane w odpowiedzi rośliny na stres osmotyczny. Wykazano, że kinaza białkowa o ciężarze cząsteczkowym 48 kD to kinaza SIP należąca do rodziny kinaz MAP, natomiast kinaza

42 kD należy do rodziny kinaz SNF1.

PUBLIKACJE: 1298/A, 1299/A, 1313/A, 124/N, 130/N, 151/N

Temat nr 16. Enzymy nukleolityczne roślin wyższych

Zespół: prof. dr hab. Jan W. Szarkowski, dr hab. Anna Przykorska, dr Elżbieta Kuligowska, mgr Krzysztof Olszak, Danuta Klarkowska

Do niedawna zmienność kodu genetycznego uznawana była za niemożliwą. W ostatnich latach coraz częściej pojawiają się dowody na jej istnienie.

U wielu gatunków *Candida* leucynowy kodon CUG odczytywany jest przez tRNA serynowy, co stanowi jeden z dowodów na istnienie zmienności kodu genetycznego. Nietypowy serynowy tRNACAG wyróżnia się spośród innych tRNA tym, że posiada w pozycji 33 guanozynę zamiast powszechnie występującej urydyny. Używając kombinacji metod enzymatycznych (nukleaza Rn i RNaza V1) oraz chemicznych (jony Pb^{++} i imidazol) wykazaliśmy, że drugo- i trzeciorzędowa struktura przestrzenna tego tRNA przypomina bardziej strukturę tRNA serynowego niż leucynowego. Jedynym wyjątkiem jest ramię antykodonu, które charakteryzuje się dużym rozluźnieniem odcinka dwuniciowego.

Używając transkryptów tRNACAG z G, C, U lub A w pozycji 33 wykazaliśmy, że G33 jest kluczowym elementem odpowiedzialnym za zmianę struktury ramienia antykodonu. Dodatkowym dowodem na nietypową strukturę ramienia antykodonu tRNACAG jest zmiana w kinetyce metylacji guanozyny w pozycji 37 przez metyltransferazę m1G37 z *E. coli*.

Powyższe obserwacje prowadzą do wniosku, że rozluźnienie w ramieniu antykodonu spowodowane obecnością guanozyny w pozycji 33 wpływa na obniżenie zdolności dekodowania przez badany tRNA, a tym samym umożliwia zmienność kodu genetycznego i przetrwanie gatunku niosącego tę zmianę.

Kontynuowano badania nad charakterystyką aktywności nukleazy Rn i nukleazy ChS w zależności od obecności jonów metali w środowisku reakcji.

Nukleaza Rn została zastosowana też jako sonda strukturalna w ustaleniu potencjalnego oddziaływania argininy z mRNA arginazy *Aspergillus nidulans*. Wykazaliśmy, że w nieobecności jonów magnezu w środowisku reakcji, arginina łączy się z mRNA arginazy powodując znaczną zmianę struktury przestrzennej tego mRNA.

W doświadczeniach typu SELEX wykazaliśmy również, że ok. 1/3 całkowitego mRNA arginazy nałożonego na kolumnę ze związaną arginina zatrzymała się. Frakcja ta została wymyta z kolumny wzrastającym stężeniem NaCl, a następnie poddana reakcji odwrotnej transkrypcji i analizie na sekwencjonujących żelach PAGE. Analiza ta wykazała, że rzeczywiście RNA związane na kolumnie z arginina zawiera mRNA arginazy.

Najważniejszy wynik badawczy

Ustalenie, że kluczowym elementem odpowiedzialnym za zmianę struktury tRNACAG umożliwiającą ewolucję kodu genetycznego jest guanozyna w pozycji 33 tego tRNA.

PUBLIKACJE: 3440, 1249/A, 1304/A, 1305/A

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

Zespół: doc. dr hab. Bernard Wielgat, prof. dr hab. Lidia D. Wasilewska dr Urszula Maciejewska, dr Anna Szczerbakowa, mgr Maria Borkowska do 08.04.1999 r., mgr Lidia Polkowska, mgr Danuta Bołtowiec (od 1.10.1999 r.), tech. Maria Piechocka (do 30.06.1999 r.), tech. Irena Dzikowska (od 1.09.1999 r.). tech. Kinga Furga

Badanie genetycznej wrażliwości i podniesienie poziomu odporności ziemniaka na chorobę wywołaną grzybem *Phytophthora infestans* dotyczyły:

- a) analizy regenerantów roślin hybrydowych uzyskanych z międzygatunkowej fuzji protoplastów z gatunków odpornych i wrażliwych na *P. infestans*,
 - b) badań reakcji związanych z syntezą reaktywnych form tlenu (RFT) podczas infekcji *P. infestans*.
- a) Przeprowadzono charakterystykę roślin hybrydowych uzyskanych w wyniku fuzji protoplastów prowadzonych w różnych kombinacjach między odpornymi i wrażliwymi na *P. infestans* gatunkami *Solanum*: 1) *S. nigr* L. (6x) + *S. tbr* Zel-1136 (2x); 2) *S. nigr* var *gig* (6x) + *S. tbr* klon H8105 (2x); 3) *S. blb* (2x) + *S. tbr* Zel-1136 (2x); 4) *S. blb* (2x) + *S. tbr* klon H8105 (2x); 5) *S. blb* (2x) + *S. tbr* odm. Bzura (4x). Otrzymano ponad 60 niezależnych linii roślin. Obserwacje morfologiczne oraz analiza genetyczna metodą

cytometrii przepływowej i RAPD wykazały, że 60% roślin zregenerowanych z 1 fuzji (*S. ngr* L. + *S. tbr* Zel-136) stanowiły hybrydy, pozostałe były formami rodzicielskimi: 30% - Zel, 10% - *S. ngr* L. Z fuzji 2 uzyskano jedną roślinę hybrydową, degenerującą w warunkach szklarniowych, pozostałe to formy rodzicielskie: 80% *S. ngr*, 13% *S. tbr* klon H8105. Rośliny z pozostały kombinacji są w toku analizy. Badania cytometryczne wykazały różny poziom ploidalności hybrydów: 35% - 8x, pozostałe - 4x lub 6x oraz mixoploidy. Analiza RAPD z użyciem co najmniej dwóch starterów potwierdziła obecność DNA obydwóch form rodzicielskich we wszystkich hybrydach. Wstępne badania odporności (we współpracy z IHAR Młochów) hybrydów wykazały, że mają one znacznie podwyższony lub zbliżony do *S. ngr* poziom odporności na *P. infestans*.

b) Badania reakcji związanych z syntezą reaktywnych form tlenu (RFT) prowadzono w zawiesinach komórkowych z odpornych (*S. tuberosum* odm. Bzura) i wrażliwych (*S. tbr* odm. Tarpan i klon H8105) form ziemniaka w odpowiedzi na elizytor z *P. infestans*. W zależności od stopnia odporności na tego patogena stwierdzono różnice w kinetyce i intensywności syntezy RFT. Poziom peroksydacji lipidów był zróżnicowany. Podobne wyniki uzyskano w badaniach z użyciem odciętych liści roślin z kultur *in vitro*, co potwierdziło naszą hipotezę o RFT jako wskaźniku poziomu odporności roślin na patogena (wysoka odporność – niski poziom RFT). Zróżnicowany w obu gatunkach wzrost poziomu peroksydacji lipidów, nie był ściśle skorelowany z wysoką akumulacją RFT. We wrażliwym gatunku H8105, mimo wzmożonej syntezy RFT, poziom peroksydacji nie wzrastał. W odpornym *S. ngr* najwyższą peroksydację notowano wobec śladowych ilości RFT. Może to wskazywać na udział lipoksygenazy w peroksydacji lipidów, a tym samym na produkcję nadtlenków lipidów, związków o charakterze sygnałnym. W celu wyjaśnienia tej roboczej hipotezy w następnym roku będą przeprowadzone szczegółowe badania.

Najważniejszy wynik badawczy

Uzyskanie mieszańców somatycznych *S. ngr* i *S. tbr* o podwyższonej odporności na *P. infestans*, które są materiałem wyjściowym do analizy genetycznej i prac hodowlanych.

Ustalenie, że poziom RFT jest markerem poligenicznej odporności na *P. infestans*.

PUBLIKACJE: 3372, 1245/A, 1255/A, 1256/A

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

Zespół : prof. dr hab. Grażyna Palamarczyk, dr Joanna Kruszewska, mgr Urszula Lenart, mgr Monika Sosnowska, mgr Kariona Grabińska, mgr Anna Janik (roczny urlop okolicznościowy)

W okresie sprawozdawczym kontynuowano następującą tematykę badawczą:

a) Glikozylacja i sekrecja białek w *Trichoderma reesei*.

Stwierdzono, że podwyższonej sekrecji białek towarzyszy zwiększony poziom transkrypcji genów *mpg1*(kodujący guanylotransferazę: Man-1P: GTP) a także *dpm1T* (syntaza mannozofosfodolicholu; MPD-S) natomiast bez zmian pozostaje poziom transkrypcji genu *pmt* (transferaza MPD:białko). Wynik ten pozwala wnioskować, że nie ma bezpośredniej zależności pomiędzy poziomem sekrecji białek a ich O-mannozylacją (niezmieniona transkrypcja genu *pmt*), można natomiast regulować sekrecję, m.in. poprzez zmiany ilości dostępnej w komórce GDPMan a także poprzez zaburzenie metabolizmu mannozy i/lub dolicholu.

Wykazano, że MPD syntaza *Trichoderma reesei*, kodowana przez gen *dpm1T*, należy do klasy ludzkich MPD-syntaz, które w przeciwieństwie do klasy *S.cerevisiae* ulegają ekspresji w obecności białka współdziałającego umożliwiającego interakcję Dpm1p z błonami endoplazmatycznego retikulum.

b) Badanie wzajemnego oddziaływania białek w procesie biosyntezy dolicholu w *Saccharomyces cerevisiae*.

Stosując drożdżowy system dwuhybrydowy wykazano interakcję pomiędzy syntazą dwufosforanu farnezyli (FPP-S) *Saccharomyces cerevisiae* a białkiem Yta7p, stanowiącym podjednostkę regulatorową drożdżowego proteasomu 26S. Wynik ten sugeruje, że poziom przepływu metabolitów poprzez szlak mewanonowy prowadzący do syntezy steroli i dolicholi może podlegać regulacji poprzez cytoplazmatyczny proteosom.

c) Regulacja poziomu syntezy glikokoniuugatów w *Saccharomyces cerevisiae*

Stwierdzono, że defekty we wczesnych etapach glikozylacji, zachodzących w endoplazmatycznym retikulum mogą być korygowane poprzez podniesienie poziomu GDPMan w cytoplazmie.

Najważniejszy wynik badawczy

Stwierdzenie regulacyjnej roli GDPMan w dolicholo-zależnych etapach glikozylacji w *S.cerevisiae* oraz dla sekrecji białek w *T. reesei*.

Temat 20. Genetyka i biologia molekularna grzybów

prof. dr hab. Andrzej Paszewski

Temat 20.1. Kontrola funkcji mitochondriów przez jądro komórkowe o drożdży

S. cerevisiae

Zespół: doc. dr hab. Magdalena Boguta, mgr Agnieszka Chacińska, mgr Agata Konopińska, mgr Krzysztof Pluta, mgr Barbara Szcześniak

Rozbudowano wyniki genetyczne potwierdzające obecność w szczepach drożdży *nam9-1* niezidentyfikowanego prionu, zależnego od poziomu białka opiekuńczego Hsp104. Stosując specyficzne przeciwciała oraz technikę immunoprecypitacji wykazano, że białko Nam9 jest składnikiem małej podjednostki rybosomów mitochondrialnych. Stwierdzono, że mutacja *nam9-1*, która powoduje defekt wzrostu na niefermentowalnych substratach, nie ma wpływu na syntezę białka Nam9, jego import do mitochondriów i włączanie do rybosomów. Wykluczono w ten sposób hipotezę, że białko Nam9 może tworzyć prion. Identyfikacja produktów translacji mitochondrialnej *in vivo* połączona z eksperymentami „pulse-chase” wykazały, że w szczepach *nam9-1* nie zmienia się spektrum polipeptydów syntetyzowanych na rybosomach mitochondrialnych, jednak ich stabilność jest obniżona. Skutkiem jest znaczne zmniejszenie w mutancie *nam9-1* ilości pewnych białek mitochondrialnych. Szczególnie silny efekt obserwowano dla podjednostki Cox2 oksydazy cytochromowej (obniżenie ponad 30 razy). Stwierdzono, że supresja fenotypu *nam9-1* przez nadekspresję i delecję *HSP104* wiąże się ze zwiększeniem stabilności syntetyzowanego *de novo* Cox2 i odtworzeniem wysokiego poziomu Cox2 w komórce. Potwierdzono w ten sposób, że Hsp104 inaktywując prion obecny w szczepach *nam9-1* przywraca stabilność białek syntetyzowanych w mitochondriach.

Odtworzono recesywny supresor mutacji mitochondrialnych, R13, wyizolowany w Zakładzie Genetyki w latach 80-tych. R13 sklonowano metodą komplementacji izolując z banku genów drożdży 4 plazmidy zawierające pokrywające się częściowo fragmenty chromosomu VII. Sekwencjonowanie i subklonowanie wykazało, że supresor jest mutacją w genie *MRF1* kodującym czynnik terminacji translacji mitochondrialnej.

Kontynuowano pracę nad funkcją genu *MAF1*. Zidentyfikowano supresory *cs* mutacji *mafl-1* i *Δmafl*, które zlokalizowano w genie *RPO31* kodującym podjednostkę RNA polimerazy III. Wykonując hybrydyzacje typu Northern, stwierdzono, że szczepy z nieaktywnym genem *MAF1* akumulują 5-8 razy więcej tRNA niż szczepy kontrolne. Mutacje supresorowe w genie *RPO31* powodują zniesienie akumulacji tRNA. Hipotetyczna rola genu *MAF1* polegałaby na negatywnej kontroli poziomu tRNA w komórce.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazano, że u drożdży istnieje prion, którego obecność zależy od wierności translacji mitochondrialnej.

PUBLIKACJE: 1271/A, 1272/A, 142/N

Temat 20.2. Genetyczna regulacja metabolizmu w drożdżach *S. cerevisiae*

Zespół: prof. Joanna Rytka, dr hab. Teresa Żołądek, dr Anna Chełstowska, dr Monika Góra, dr Anna Kurlandzka, mgr Agnieszka Białkowska, mgr Beata Gajewska, mgr Ewa Grzybowska, mgr Joanna Kamińska, mgr Iwona Smaczyńska-de Rooij, mgr Monika Wysocka

Wprawdzie szlak biosyntezy hemu w drożdżach *S. cerevisiae* jest bardzo dobrze poznany to dotychczas nie udało się zidentyfikować białek odpowiedzialnych za transport hemu do różnych przedziałów komórkowych. Analiza funkcjonalna genów kodujących białka wykazujące interakcje z ferrochelatazą w systemie dwuhybrydowym (*Chc1p*- ciężki łańcuch klatryny, *Atp4p*- podjednostka b ATP-syntazy, *Yjr003cp* i *Ycr086wp*- nie znane białka) wykazała, że ich inaktywacja nie ma wpływu na transport hemu. Opracowano metodę poszukiwania mutacji w genach kodujących białka transportujące hem z mitochondriów do peroksysomów. Dotychczas znaleziono mutacje w genach *KGD1* i *LIP5* kodujących odpowiednio dehydrogenazę α -ketoglutaranu i syntazę kwasu liponowego.

W dalszym ciągu obiektem badań był gen *IRR1*. Poprzednio wykazano, że białko Irr1 jest niezbędne dla życia komórki. Okazało się, że obniżenie poziomu transkrypcji tego genu powoduje zaburzenia w koniugacji, sporulacji i kiełkowaniu spor oraz niezdolność do tworzenia kolonii na stałych

podłożach. W systemie dwuhybrydowym znaleziono 2 geny kodujące białka oddziałujące z fragmentami Irl1p. Analiza sekwencji aminokwasowej wskazuje na ich udział w kontroli cyklu komórkowego oraz metabolizm kwasów tłuszczowych i steroli. W tym czasie grupa K. Nasmyth wykazała, że Irl1p jest składnikiem kohezyny - kompleksu utrzymującego kohezję chromatyd w mitozie.

Kontynuowano badania nad rolą ligazy ubikwitynowo-białkowej (Rsp5p). Na drodze ukierunkowanej mutagenety wprowadzono punktowe mutacje w domenach WW odpowiedzialnych za interakcje z innymi białkami. Wykazano, że domeny WW w białku Rsp5 pełnią funkcje nieistotne dla życia komórki.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie, że mutacje w domenach WW ligazy ubikwitynowo-białkowej Rsp5 nie są letalne.

PUBLIKACJE: 3369, 1273/A, 1276/A, 1277/A, 1280A, 1281A, 1282A, 1294/A, 1296/A, 128/N, 133/N, 136/N, 147/N, 152/N

Temat 20.3. Genetyczna kontrola szlaków metabolizmu siarkowego u grzybów

Zespół: prof.dr Andrzej Paszewski, dr Jerzy Brzywczy, dr Beata Burzyńska, dr Renata Natorff, dr Irmína Lewandowska, dr Małgorzata Piotrowska, dr Marzena Sieńko, mgr Marcin Grynberg, mgr Magdalena Kacprzak

Scharakteryzowano ekspresje genów *cys A* i *metE A. nidulans*. Pierwszy jest genem konstytutywnym, drugi ulega derepresji w warunkach głodu metioninowego i niedoboru O-acetylohomoseryny. Mimo że białka CYS A i METE mają strukturę pierwszorzędową charakterystyczną dla acetylotransferaz homoserynowych, pierwsze z nich fizjologicznie działa jako acetylotransferaza serynowa. W genomie *A. nidulans* nie występuje w ogóle gen kodujący typową acetylotransferazę serynową, co wskazuje, że CYS A jest białkiem analogicznym a nie homologicznym do acetylotransferaz serynowych.

Zidentyfikowano mutacje w genie syntazy metioninowej (SM) w szczepach *metH2* i *met D10* udowadniając, że sklonowany gen SM jest właściwym genem, a nie supresorem obu mutacji. Jednocześnie ich pleiotropowy charakter, w postaci wpływu na poziom innych enzymów folianowych, sugeruje, że białko SM ma nie tylko enzymatyczną, ale także regulacyjną funkcję.

We współpracy z Zakładem Genetyki SGGW przeprowadzono analizę mitochondrialnego DNA w polskiej populacji żubra, stwierdzając znaczny stopień pokrewieństwa. W prowadzonych wspólnie z Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego badaniach nad pacjentami z niedoborem dehydrogenazy 6-fosfoglukozy (G 6PD) wykryto 3 nowe, nie opisane dotąd mutacje w genie kodującym ten enzym.

Najważniejszy wynik badawczy

Zidentyfikowanie mutacji w genie syntazy metioninowej *A.nidulans* o pleiotropowym efekcie na syntazę enzymów folianowych.

PUBLIKACJE: 3412, 3420, 3427, 3428, 3452, 1268/A, 137/N

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

Zespół: prof. dr hab. Witold Jachymczyk, prof. dr hab. Jerzy Żuk, dr Hanna Baranowska-Wyszomirska, mgr Agnieszka Hąłas, mgr Arkadiusz Ciesielski, techn. Zofia Policińska

1. Zakończono badania nad udziałem replikacyjnych polimeraz DNA w indukowanej konwersji genów wynikającej z rekombinacyjnej naprawy DNA w komórkach drożdży. Potwierdzono wcześniejsze obserwacje, że w procesie tym uczestniczą głównie polimerazy α i δ , natomiast polimeraza ϵ wydaje się odgrywać jedynie rolę enzymu pomocniczego. Praca została wysłana do druku w Acta Biochimica Polonica.

2. Kontynuowano badania nad udziałem polimeraz DNA w procesie powstawania mutacji adaptacyjnych w komórkach drożdży znajdujących się w fazie stacjonarnej G_0 . Stwierdzono, że elongacyjne polimerazy drożdżowe δ i ϵ w procesie naprawy DNA w fazie stacjonarnej mogą wzajemnie się zastępować, jednak przy braku aktywności jednej z nich zastępstwo takie powoduje wzrost ilości popełnianych błędów, co objawia się w zwiększeniu ilości mutacji adaptacyjnych. Stwierdzono także, że spośród niereplikacyjnych polimeraz DNA jedynie delecja genu odpowiedzialnego za DNA polimerazę β powoduje wyraźny i powtarzalny wzrost ilości mutantów fazy stacjonarnej.

3. Prowadzono również badania nad wpływem genów odpowiedzialnych za postreplikacyjną naprawę DNA "mismatch" na proces powstawania mutacji adaptacyjnych w komórkach drożdży. Badanie sekwencji nukleotydowych w mutantach wykazało – podobnie jak w przypadku wpływu zmian w aktywnościach polimeraz DNA δ i ϵ , że pojawiające się różnice w sekwencji DNA związane są przede wszystkim z jednonukleotydowymi delecjami w ciągach mononukleotydowych A, rzadziej w ciągach C.

4. Przeprowadzono także doświadczenia nad otrzymaniem polimeraz DNA δ i ϵ , pozbawionych 3'→5'egzonukleolitycznych aktywności sprawdzających wierność replikacji. Tak otrzymane mutanty są poddawane rekonstrukcji w celu wprowadzenia allelu *lys2 Δ Bgl* potrzebnego do badania zmian w sekwencji DNA. Dalsze badania są w toku.

Najważniejszy wynik badawczy

Stwierdzenie, że oprócz polimeraz replikacyjnych δ i ϵ , także niereplikacyjna polimeraza DNA β uczestniczy w indukcji mutacji adaptacyjnych w fazie stacjonarnej komórek drożdży.

PUBLIKACJE: 3402

Temat 21. Regulacja metabolizmu siarkowego u prokariotów

Zespół: doc. dr hab. Monika Hryniewicz, dr Roksana Iwanicka-Nowicka, mgr Anna Łochowska, mgr Tomasz Bykowski

Kontynuowano badania nad mechanizmem regulacji transkrypcyjnej genów zaangażowanych w asymilację siarki przez bakterie jelitowe.

Opracowano dwie metody otrzymywania wysoko oczyszczonego regulatora transkrypcyjnego Cbl (niezbędnego dla ekspresji genów *ssi*, indukowanych w warunkach ścisłego głodu siarczanowego). Wykazano, że siarczek jest negatywnym efektem wiązania białka Cbl w regionach regulatorowych genów klasy *ssi*.

Stwierdzono udział histonopodobnego białka HNS w regulacji promotora operonu *cysPTWA*.

Sklonowano gen *cysZ* *E. coli* i zbadano jego regulację. Gen koduje potencjalny transporter siarczanu. Konstrukcja mutacji insercyjnej w tym genie pozwoliła na stwierdzenie, że *cysZ* nie jest niezbędny dla pobierania siarczanu przez komórkę. Ekspresja genu *cysZ* (jako fuzji *cysZ-lacZ*) *in vivo* nie jest kontrolowana przez regulator CysB.

W toku kontynuacji badań nad relacją struktura-funkcja regulatora CysB skonstruowano szereg skróconych od 5' końca pochodnych genu *cysB*. Analiza fenotypowa otrzymanych mutantów *in vivo* oraz analiza jednego z produktów tych alleli *in vitro* wskazuje na udział C-terminalnej domeny CysB w procesie oligomeryzacji białka.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie że siarczek jest inhibitorem wiązania białka Cbl w regionach regulatorowych genów klasy *ssi*. Określenie roli poszczególnych domen białka regulatorowego CysB.

PUBLIKACJE: 3425

Temat 22. Regulacja ekspresji genomu wirusa liściozwoju ziemniaka.

Zespół: prof. Danuta Hulanicka, dr Ewa Sadowy, mgr Marek Juszczuk, Elżbieta Dziedowiec

Konstrukcja infekcyjnego klonu wirusa umożliwia prowadzenie prac na poziomie molekularnym. Otrzymany poprzednio klon pBOK wirusa liściozwoju wirusa ziemniaka (PLRV) został wykorzystany do ustalenia funkcji produktu ORFO, do tej pory nieznanej. W tym celu otrzymano dwa klony zawierające mutacje w ORFO, blokujące translację tej ramki. W doświadczeniach *in vitro* stwierdzono, że obie wprowadzone mutacje nie mają wpływu na ekspresję ORF1. Oba zmutowane klony były niezdolne do replikacji w dyskach liściowych tytoniu. A zatem produkt ORFO jest niezbędny dla replikacji wirusa, prawdopodobnie, biorąc pod uwagę jego strukturę, ułatwia powstanie kompleksu replikacyjnego i skierowanie go do błony komórkowej.

Rozpoczęto prace mające na celu zbadanie możliwości komplementacji pomiędzy poszczególnymi mutantami PLRV. Wstępne wyniki wskazują na komplementację pomiędzy mutantami w ORF1 (proteinaza wirusowa). ORF2 (replikaza wirusowa) i ORF0, brak jest natomiast wzajemnej komplementacji trzech mutantów centrum aktywnego proteiny ORF1.

Komplementacja mutantów ramek ORF0, ORF1, ORF2 wskazuje na tworzenie kompleksu replikacyjnego, którego poszczególne komponenty mogą być wymieniane. Brak komplementacji między poszczególnymi mutantami ORF1 jest zrozumiałe, ponieważ mutacje występują w tym samym białku.

Dalsze prace miały za zadanie nadprodukcję białka P70, produktu ORF1 lub jego fragmentu. Otrzymane białko będzie użyte do otrzymania przeciwciał a po dalszym oczyszczeniu (współpraca z prof. Otlewskim, Wrocław) do badań strukturalnych. W tym celu skonstruowano szereg plazmidów niosących cDNA ORF1 w wektorze ekspresyjnym pET28 zawierających normalną bądź zmutowaną w centrum katalitycznym proteinazę.

Jednocześnie skonstruowano plazmid niosący cDNA ORF1 zawierający mutacje w miejscu cięcia pomiędzy domeną proteinazy a domeną VPg. Plazmid taki posłużył jako matryca do transkrypcji i translacji *in vitro*. Zsyntetyzowane białko nie ulegało autoprocessowaniu w przeciwieństwie do niezmutowanego białka P70.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazano, że produkt ORF0, o funkcji do tej pory nieznanej, bierze udział w replikacji cDNA infekcyjnego klonu wirusa PLRV.

PUBLIKACJE: 3408, 3442, 122/N, 135/N, 1318/A, 1319/A

Temat 25. Odpowiedź komórek bakteryjnych i komórek drożdży na uszkodzenia DNA

prof. dr hab. Zygmunt Cieśla

Temat 25.1. Regulacja wierności replikacji DNA w komórkach bakteryjnych

Zespół: dr hab. Iwona J. Fijałkowska, dr hab. Piotr Jonczyk, mgr Magdalena Maliszewska Tkaczyk, mgr Damian Gawel, Małgorzata Białoskórska

Istnieje bardzo duża funkcjonalna homologia pomiędzy składnikami replisomu organizmów prokariotycznych i eukariotycznych. Dlatego też *E. coli*, której genetyka jest doskonale poznana, stanowi wygodny organizm modelowy umożliwiający badanie mechanizmów replikacji DNA i badanie udziału poszczególnych białek w kształtowaniu wierności replikacji DNA. Holoenzym polimerazy III DNA *E. coli* jest kompleksem składającym się z 10 różnych podjednostek. Do tej pory głównie badano udział podjednostki polimeryzującej i korektorskiej (3'-5' egzonukleazy) w kontroli wierności replikacji.

Nasze badania dotyczyły określenia potencjalnego udziału podjednostki tau w kształtowaniu wierności replikacji DNA. Podjednostka tau jest odpowiedzialna za dimeryzację dwóch rdzeni holoenzymu polimerazy III DNA, umożliwiając jednoczesną replikację nici prowadzącej i opóźnionej DNA w widelkach replikacyjnych. Również ochrania ona połączenie podjednostki alfa z pierścieniem beta oraz ma istotny wpływ na szybkość odwijania nici DNA przez helikazę DnaB. W naszych badaniach wykorzystano dwa mutanty w genie *dnaX* kodującym podjednostkę tau. Mutanty te wykazują fenotyp mutatorowy.

Wykazano, przy użyciu systemu umożliwiającego badanie częstości powstawania mutacji na obu replikowanych niciach DNA, że mutanty *dnaX* (*dnaX36* i *dnaX2016*) zmieniają wierność replikacji obu nici DNA. Wstępna analiza otrzymanych wyników sugeruje, że w badanych mutantach *dnaX* więcej mutacji powstaje na nici opóźnionej. Wyniki te wykazują, że podjednostka tau pełni istotną rolę w kształtowaniu wierności replikacji DNA.

Rozpoczęto również badania dotyczące interakcji pierścienia beta, kodowanego przez gen *dnaN* z innymi białkami w komórkach *E. coli*. Z danych literaturowych dotyczących badań białka PCNA, funkcjonalnego i strukturalnego eukariotycznego homologa pierścienia beta wynika, że PCNA wchodzi w interakcję białko-białko z wieloma białkami uczestniczącymi w procesach związanych z metabolizmem DNA. Wyniki te sugerują, że pierścień PCNA może pełnić funkcję „platformy” umożliwiającej prawidłowe funkcjonowanie kompleksów białek uczestniczących w replikacji i reperacji DNA. Sklonowano sekwencję kodującą białko DnaN na wektorach umożliwiających badanie interakcji białkowych w drożdżowym systemie dwuhybrydowym. Wykazano, że hybrydowe białko Gal4-DnaN jest funkcjonalne. Rozpoczęto poszukiwanie sekwencji *E. coli* kodujących białka mogące wchodzić w interakcje z białkiem DnaN. Dotychczas znaleziono jedną sekwencję kodującą białko o nieznanej funkcji.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie, że udział podjednostki tau holoenzymu polimerazy III DNA w modulowaniu wierności replikacji DNA jest różny na nici opóźnionej i prowadzącej.

PUBLIKACJE: 1300/A, 1301/A, 1320/A, 1321/A, 1322/A, 117/N, 118/N, 132/N, 155/N

Temat 25.2. Mechanizmy odpowiedzi komórek *Saccharomyces cerevisiae* na uszkodzenia DNA

Zespół: prof. dr hab. Zygmunt Cieśla, mgr Marta U. Fikus, mgr Piotr Mieczkowski,
mgr Piotr Koprowski

Badania koncentrowały się nad mechanizmem funkcjonowania genu *DIN7*, którego produkt należy do rodziny nukleaz zaangażowanych w procesach replikacji i reperacji DNA. Stwierdziliśmy poprzednio, że zwiększona synteza Din7p specyficznie zmienia stabilność mitochondrialnego DNA (mtDNA) *S. cerevisiae*, co przejawia się podwyższoną częstością powstawania mutantów *petite* oraz mutantów opornych na erytromycynę. Wyniki te sugerowały, że Din7p jest zlokalizowany w mitochondriach. Zarówno poprzednie badania z użyciem fuzyjnego białka Din7-GFP, jak i obecne oparte na frakcjonowaniu komórkowym potwierdziły to przypuszczenie.

Effekt Din7p na stabilność mtDNA sugerował, że może ono modulować proces rekombinacji genomu mitochondrialnego. Badania rekombinacji mtDNA nie wykazały jednak wyraźnej korelacji między poziomem Din7p a częstością rekombinacji. Do dalszych badań efektu Din7p na stabilność mtDNA użyto szczepów, których mtDNA niesie gen *ARG8m* zinktywowany przez obecność sekwencji polu GT. Selekcja szczepów Arg⁺ pozwala na badanie stabilności mtDNA w obrębie tych traktów. Stwierdzono, że mutanty *din7* wykazują zwiększoną częstość powstawania prototrofów argininowych, co sugeruje, że funkcja Din7p jest istotna dla stabilności mtDNA w obrębie tych sekwencji. Wydaje się to ciekawe w świetle faktu, że najbliższy homolog Din7p, egzonukleaza I, funkcjonuje w systemie poreplikacyjnej naprawy jądrowego DNA („mismatch repair”). Wiadomo, że system ten jest zaangażowany w proces stabilizacji mikrosatelitarnego DNA. Sprawdzana jest obecnie hipoteza, że funkcja Din7p jest związana z funkcjonowaniem mitochondrialnego „mismatch repair”.

Prowadzono również badania nad regulacją ekspresji genu *DIN7*. Poprzednio stwierdzono konstytutywną ekspresję *DIN7* w mutantach z nieaktywnym genem *DUN1*, którego produkt jest zaangażowany w regulację odpowiedzi komórek na zmiany w metabolizmie DNA. Okazało się, że ta konstytutywna ekspresja *DIN7* jest suprimowana przez mutację genu *SML1*, którego produkt jest negatywnym regulatorem poziomu dezoksyrybonukleotydów (dNTP) w komórce. Sugeruje to, że bezpośrednim sygnałem do derepresji *DIN7* jest obniżona pula dNTP. Analiza delecji w obrębie promotora *DIN7* ma za zadanie identyfikację sekwencji regulatorowej odpowiedzialnej za indukcję ekspresji *DIN7*.

Najważniejszy wynik badawczy

Udowodnienie mitochondrialnej lokalizacji Din7p.

PUBLIKACJE: 1273/A, 1274/A, 1296/A, 1297/A

Temat 25.3. Komórkowe systemy naprawy uszkodzeń alkilacyjnych w DNA

Zespół: dr hab. Ewa Śledzieska-Gójska, mgr Agnieszka Gałuszewska

Funkcjonowanie szeregu systemów reperacji DNA w komórkach eukariotycznych zależy nie tylko od obecności w komórce aktywności bezpośrednio związanych z procesem reperacji ale także od tworzenia, przez zaangażowane w reperację enzymy, wielobiałkowych kompleksów umożliwiających, jak się wydaje, tworzenie właściwych związków pomiędzy danym procesem reperacji DNA i innymi procesami zachodzącymi w komórce. Podjęliśmy próbę analizy oddziaływań białko-białko w drodze reperacji DNA przez wycinanie zasad, zaangażowanej w usuwanie większości uszkodzeń alkilacyjnych DNA. Aby badać oddziaływania *in vivo* wykorzystaliśmy drożdżowy system dwuhybrydowy. Skonstruowano plazmidy kodujące hybrydy glikozylazy 3-metyloadeniny (Mag1) i AP endonukleazy (Apn1) z domenami, aktywującą lub wiążącą, białka regulatorowego Gal4. Powstałe białka hybrydowe są zdolne do komplementacji nadwrażliwości na MMS odpowiednich mutantów, *mag*⁻ i *apn*⁻. Wykorzystanie powyższych konstrukcji w systemie dwuhybrydowym nie wykazało interakcji białek: Mag-Mag, Apn-Apn, Mag-Apn. Kontynuowane są poszukiwania ewentualnych partnerów białkowych z wykorzystaniem plazmidowej fuzji *GAL4_{hinc}-Apn1* jako „wędkii” i fuzji *GAL4_{act}* z bankiem genów drożdżowych.

Kontynuowano prace nad udziałem Ump1, małego białka opiekuńczego zaangażowanego w proces dojrzewania proteasomu drożdżowego, w komórkowej odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Poprzednio wykazaliśmy że ekspresja genu *UMPI* ulega transkrypcyjnej indukcji pod wpływem szeregu różnych uszkodzeń DNA. Aby stwierdzić czy zwiększenie ekspresji genu *UMPI* ma znaczenie dla wrażliwości komórek na uszkodzenia DNA, sekwencję kodującą *UMPI* połączono z promotorem ekspresyjnym *GALI*

10. Stwierdzono, że silna nadekspresja *UMP1* prowadzi do zwiększenia wrażliwości drożdży na toksyczne działanie MMS i UV

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazano, że poziom ekspresji genu kodującego białko Ump1, biorące udział w dojrzewaniu proteasomu, moduluje wrażliwość komórek *S. cerevisiae* na uszkodzenia DNA.

PUBLIKACJE: 1273/A, 1274/A, 1297/A, 131/N, 148/N

Temat 26. Mechanizmy mutagenazy indukowanej przez promienie UV

Zespół: prof. dr hab. Irena Pietrzykowska, mgr Magdalena Felczak, mgr Joanna Krwawicz

Kontynuowano poszukiwanie genu *isf* w obrębie 19,5 kbp odcinka chromosomu *E. coli* obejmującego obszar między 85,5 – 86,3 min, sklonowanego na 553 klonie faga lambda z biblioteki Kohary. Opierając się na wcześniejszych badaniach wskazujących na dominujący charakter mutacji *isfA*, klonowano fragmenty genomu *E. coli* otrzymane metodą PCR w niskokopiowym plazmidzie pHSG576 i po transformacji komórek szczepu NR11531 (*recA730*) mającego fenotyp mutatorowy, poszukiwano transformantów o fenotypie *isfA*, tj. o obniżonym poziomie mutacji spontanicznych. Przebadano w ten sposób, zarówno otwarte ramki odczytu: *o161*, *yigB*, *yigA*, *cyaY*, jak i znane geny i operony: *dapF*, *xerC* i *cyaAX* leżące w obejmującym 8,0 kbp, środkowym odcinku klonu 553 biblioteki Kohary, nie pokrywającym się z sąsiednimi klonami, które nie znosiły mutacji *isfA*. Żaden ze sklonowanych fragmentów nie znosił mutatorowego fenotypu szczepu NR11531. Rozszerzono zatem obszar poszukiwań genu *isf* na cały fragment chromosomu *E. coli* obecny w klonie 553 faga lambda Kohary. Obecnie klonowane są orf-y: b3814, *yigE*, *yigF*, *yigG*, *yigI*, geny *uvrD*, *rarD* i *corA* oraz operon *hem*.

Kontynuowano także badania nad mechanizmem mutagenazy indukowanej promieniami UV niezależnej od replikacji DNA. Wcześniej wykazano, że mechanizm mutagenazy faga λ susO₈ w warunkach niepermissywnych dla replikacji fagowego DNA jest różny od mechanizmu powstawania mutacji podczas replikacji uszkodzonego DNA faga. Analiza sekwencyjna przyniosła dalsze potwierdzenie tej hipotezy. Porównanie specyficzności UV-indukowanych mutacji powstających w warunkach permissywnych (C600*su*⁺) i niepermissywnych (594*su*⁻) dla replikacji DNA fagowego wykazało, że wśród rewertantów powstałych w warunkach niepermissywnych – 63% stanowią transwersje, zaś w warunkach permissywnych większość (60%) rewersji powstało na drodze tranzycji. Obecnie zsekwencjonowano kolejną serię UV-indukowanych mutantów, które powstały w komórkach *E. coli* C600*ΔumuDC* permissywnych dla replikacji DNA faga, ale z delecją operonu *umuDC*, a więc w sposób niezależny od białek UmuD i C. W tych warunkach znaczną przewagę stanowią tranzycje (70%) nad transwersjami (30%). Podjęto też badania *in vitro* mające na celu wyjaśnienie roli białek UmuD' i C w procesie mutagenazy niezależnej od replikacji DNA.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazano, że UV-indukowane mutacje w fagu λ susO₈, które zachodzą podczas replikacji faga bez udziału białek UmuD i C, powstają głównie na drodze tranzycji T → C (75%) i A → G (25%).

PUBLIKACJE: 3386, 3434, 1295/A, 1311/A

Temat 27. Analiza funkcjonalna genów plazmidu bakterii Gram-dodatnich, pSM19035 Zespół: doc. dr hab. Piotr Cełowski, dr Jacek Bardowski, dr Izabela Kern (od 01.10.1999), mgr Urszula Zielenkiewicz, mgr Izabella Sitkiewicz, mgr Tamara Aleksandrak, mgr Magda Kowalczyk (od 01.10.1999)

Uprzednio wykazano, że geny *epsilon-zeta* plazmidu pSM19035 zapewniają jego stabilne utrzymywanie w komórkach funkcjonując na zasadzie "trucizna-odtrutka", a gen *omega* spełnia funkcje regulacyjne.

Geny *omega* i *epsilon* oddzielnie wintegrowano w chromosom *Bacillus subtilis*. Przy użyciu tak skonstruowanych szczepów potwierdzono zaproponowany uprzednio model funkcjonowania w/w genów. Wykazano, że: (1) - produkt genu *omega* wpływa poprzez represję genu *cop* na liczbę kopii plazmidu. (2) - w komórkach nadprodukujących z chromosomu produkt genu *epsilon*, a więc w warunkach nadmiaru odtrutki, plazmidy z genami *epsilon-zeta* nie są stabilnie utrzymywane.

Zastosowano tzw. drożdżowy system dwuhybrydowy do ustalenia komórkowego celu działania trucizny (białko Zeta). Użycie tej metody nie przyniosło spodziewanych rezultatów. W tej sytuacji, w ramach kontynuacji w/w zadania badawczego, białko Zeta wyposażono w regionie N-terminalnym w 6

reszt His, poddano nadprodukcji w *E. coli* i oczyszczono. Tak przygotowane białko zostanie użyte w poszukiwaniach (techniką „phage display”) rozpoznawanych przez nie sekwencji aminokwasowych.

W ramach badań nad organizacją i regulacją ekspresji genów odpowiedzialnych za metabolizm cukrów u bakterii mlekowych *Lactococcus* kontynuowano prace nad indukowalnym celobiozą katabolizmem laktozy oraz nad zdolnością do degradacji skrobi. Wykazano, że inaktywacja genu *ccpA* powoduje derepresję kolejnego, drugiego już systemu umożliwiającego asymilację laktozy. Otrzymano i scharakteryzowano podwójne mutanty *L. lactis* i wykazano, że odznaczają się one zdolnością do katabolizmu laktozy w nieobecności celobiozy wyższą niż pojedynczy mutant *ccpA*. W badaniach nad degradacją skrobi uzyskano kompletną, 2,4-kb sekwencję nukleotydową genu kodującego amylazę. Stwierdzono, że białko to wykazuje największą homologię do enzymów typu pullulanaz. W niekodującym odcinku liderowym powyżej tego genu stwierdzono obecność sekwencji *cre*, co dobrze koreluje z dokonaną równolegle obserwacją pozytywnego wpływu białka CcpA na wytwarzanie tej pullulanazy.

Najważniejszy wynik badawczy

1. Potwierdzenie zaproponowanego uprzednio modelu funkcjonowania genów *omega*, *epsilon* i *zeta* w stabilnym utrzymywaniu w komórkach plazmidu pSM19035.
2. Odkrycie u bakterii *Lactococcus* złożoności katabolizmu laktozy i jego powiązania z katabolizmem β -glukozydów.

PUBLIKACJE: 1226/A, 1227/A, 1228/A, 1240/A, 1241/A, 1292/A, 138/N, 156/N

Temat 28. Chemiczne podstawy mutagenезy i reperacja adduktów cyklicznych

Zespół: prof. dr hab. Jarosław Kuśmierek, mgr Agnieszka Maciejewska, mgr Ewa Borys-Brzywczy

Badanie właściwości kodujących modyfikowanych zasad. Kontynuowano badania właściwości kodujących izoguaniny (iG,) w zależności od sąsiadujących zasad w matrycy, temperatury i rodzaju polimerazy (*taq* i AMV odwrotna transkryptaza). Nie stwierdzono aby te czynniki wpływały istotnie na stosunek częstości inkorporacji dTTP i 5'-trójfosforanu 5-metylo-2'-deoksyizocytozyny naprzeciwko iG w matrycy. Sugeruje to, że badane czynniki nie wpływają istotnie na równowagę keto-enolową iG w centrum aktywnym polimerazy. (Praca magisterska Katarzyny Lichoty, Wydział Biologii UW, obrona - grudzień 1999).

Reperacja adduktów cyklicznych. Opracowano system pozwalający na porównanie wycinania przez glikozylazy hydratu etenocytozyny (ϵ CH) i etenocytozyny (ϵ C). ϵ CH jest pierwotnym adduktem aldehydu chlorooctowego (CAA, metabolit chlorku winylu), który ulega przekształceniu ($t_{1/2} \approx 1d$) w ϵ C. Wykazano, że ϵ CH jest, natomiast ϵ C nie jest substratem glikozylazy AlkA. Wynik ten potwierdza nasze wcześniejsze wyniki nt. wpływu indukcji AlkA w *E. coli* na częstość tranzykcji C $\rightarrow$ T faga M13 *glyU* traktowanego CAA.

Badano strukturę produktów i kinetykę rozpadu 1,N⁶-etenodeoksyadenozyny (ϵ dA) w związku z obserwowaną zróżnicowaną podatnością produktów rozpadu ϵ dA na działanie różnych glikozylaz (współpraca z dr B. Tudek, oraz dr J. Wójcik, Laboratorium NMR). ϵ dA w pH 12 ulega przemianom do 3 produktów: ϵ dA $\rightarrow$ B $\rightarrow$ C $\rightarrow$ D. W 37°C $t_{1/2}$ przemiany ϵ dA $\rightarrow$ B wynosi 1.5 h, w pH 9.2 reakcja jest ~ 100 , a w pH 7.5 ~ 5000 razy wolniejsza. Dodatek merkaptotetanolu, różnych aminokwasów i anionów nie przyspiesza reakcji w pH 7.5 i 9.2. Reakcje B $\rightarrow$ C i C $\rightarrow$ D nie zależą istotnie od pH i w pH ~ 7 przebiegają z szybkością podobną do pH 12. Spektroskopia masowa oraz ¹H- i ¹³C-NMR udowodniły, że B jest adduktem cząsteczki wody do wiązania C(2)-N(3) w ϵ dA pozostającym w równowadze z produktem przerywania tego wiązania, a C jest produktem deformylacji B w pozycji 2. Struktura D nie jest wyjaśniona do końca – wiadomo jednak, że nie zawiera on deoksyrybozy co implikuje, że końcowym efektem przemian ϵ dA w DNA jest miejsce apurynowe.

Najważniejszy wynik badawczy

Pokazanie, że samorzutne, nieenzymatyczne przemiany struktury adduktów chlorku winylu do zasad DNA powodują zmianę ich właściwości jako substratów enzymów naprawy DNA.

PUBLIKACJE: 157/N

Temat 29. Analiza molekularna genów kodujących enzymy katabolizmu argininy u *Aspergillus*

Zespół: prof. dr hab. Piotr Węgleński, dr Piotr Borsuk, dr Agnieszka Dzikowska, dr Joanna Empel, mgr Anna Grzelak

Zakończono prace nad klonowaniem i charakterystyką ekspresji genu *otaA* kodującego transaminazę ornitynową u *Aspergillus*. Sklonowano i przeprowadzono analizę sekwencji genu *suD pro*, jednego z genów regulatorowych dla katabolizmu argininy. Gen ten wydaje się kodować glikoproteazę. Wykonano dysrupcję homologicznego genu u *Saccharomyces cerevisiae* w celu ustalenia jego funkcji w komórkach drożdży. Zaawansowano prace nad klonowaniem i sekwencjonowaniem cDNA tego genu, ustalono też charakter zmian sekwencji u dwóch mutantów *suD19 pro* i *suD25 pro*.

W celu ustalenia, które sekwencje w promotorach genu *otaA* i *agaA* (kodującego arginazę) są istotne dla regulacji ekspresji genu wykonano kilkanaście konstruktów, mających krótkie deleccje lub mutacje w obszarach promotorowych. Uzyskane mutanty są obecnie poddawane analizie, dotychczas udało się wykazać istotne znaczenie sekwencji zwanej ABS, odpowiedzialnej prawdopodobnie za wiązanie czynnika transkrypcyjnego kodowanego przez gen *arcA*.

Kontynuowane są (przy udziale dr Anny Przykorskiej) doświadczenia mające wykazać rolę struktur przypominających aptamery argininowe występujących w 5'UTR'ach obu badanych genów struktury, *agaA* i *otaA*. Wykazano, że fragmenty RNA zawierające potencjalne aptamery są specyficznie zatrzymywane na kolumnach zawierających złoże z podstawioną arginina. Wstępne doświadczenia wykazują, że wstawienie fragmentu DNA kodującego wspomniane wyżej aptamery przed gen kodujący β -galaktozydazę, powoduje zależność syntezy tego enzymu od obecności argininy.

Najistotniejszy uzyskany wynik, to wykazanie możliwości regulacji genu kodującego arginazę przez bezpośrednie wiązanie mRNA z arginina. Otwiera on drogę do dalszych doświadczeń nad regulacją przez niskocząsteczkowy związek bez udziału białek.

PUBLIKACJE: 3374, 3411

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

Zespół: prof. dr hab. Piotr P. Stępień, prof. dr hab. Ewa Bartnik, dr Aleksandra Dmochowska, dr Paweł Golik, mgr Andrzej Dziembowski, mgr Michał Mińczuk

Sklonowano i ustalono sekwencję nukleotydową cDNA ludzkiego genu SUPV3L1, który jest ortologiem genu SUV3 z *Saccharomyces cerevisiae*. Ludzkie białko SUPV3L1 posiada typową sekwencję liderową na N-końcu, zapewniającą transport do mitochondriów. Zbadano ekspresję tego genu w różnych tkankach i ustalono, że najwięcej mRNA SUPV3L1 zawierają wątroba, trzustka i nerki. Sekwencja aminokwasowa tego genu wykazuje homologię do białek znalezionych w wielu organizmach : m. in. *Rhodobacter*, *Drosophila* i *Arabidopsis*. Ustalono pozycję genu SUPV3L1 na ludzkim chromosomie dziesiątym, w prążku 10q22.1.

PUBLIKACJE: 3376, 3441, 153/N

PRACOWNIA BIOLOGII MOLEKULARNEJ IBB PAN

(afiliowana przy Uniwersytecie Gdańskim)

Temat 32.1. Montaż, dziedziczenie i rozpad kompleksu replikacyjnego bakteriofaga lambda

Zespół: dr Agata Czyż, dr Magdalena Gabig, (koordynacja badań: prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn, UG)

Jak wykazaliśmy wcześniej, funkcja genu *dnaA* *Escherichia coli* jest niezbędna do replikacji plazmidów pochodzących od bakteriofaga lambda, szczególnie na etapach montażu i stabilizacji kompleksu replikacyjnego. DnaA odgrywa także rolę w replikacji DNA bakteriofaga lambda zakażającego komórki gospodarza. Pewne wcześniejsze dane sugerowały także udział kryptycznego profaga Rac w replikacji faga lambda, szczególnie przy braku funkcji *dnaA*. Nasze badania wykazały jednak, że owe przypuszczenia wynikały z niepełnej znajomości genotypu używanych uprzednio szczepów bakteryjnych. Szczepy te zawierały bowiem profaga P1, którego obecność interferowała z rozwojem bakteriofaga lambda.

Badania nad rozwojem faga lambda w mutantach *dnaA* i *seqA* doprowadziły także do stwierdzenia, że właściwości biologiczne błon komórkowych (wpływające także na rozwój bakteriofaga) są w istotny sposób zmienione w tych mutantach. Wyniki te wskazują iż produkty genów *dnaA* i *seqA* są bezpośrednio lub pośrednio zaangażowane w tworzenie prawidłowej struktury błon komórkowych.

Badania nad stabilnością kompleksów białkowych w komórkach *Escherichia coli* doprowadziły do stwierdzenia, że zarówno system białek szoku termicznego DnaK/DnaJ, jak i system GroEL/GroES, odgrywają rolę w usuwaniu endogennych agregatów białkowych powstających w wyniku podwyższenia temperatury.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazanie, że białka DnaA i SeqA bezpośrednio lub pośrednio regulują właściwości bakteryjnych błon komórkowych.

PUBLIKACJE: 3398, 3399, 3400, 3401, 1246/A, 1247/A, 1250/A, 1290/A, 1291/A

Temat 32.2. Izolacja rekombinowanych ludzkich białek szoku termicznego i badanie ich udziału w aktywacji produktu genu supresorowego p53

Zespół : mgr Frank King, (koordynacja badań: prof. dr hab. Maciej Żylicz, UG)

Mutacje w genie p53 zostały zidentyfikowane w komórkach nowotworowych wielu typów. Badania genetyczne sugerują, że negatywne skutki niektórych mutacji indukujących zmiany konformacji w białku p53 mogą być niwelowane w obecności niezmutowanego białka p53 oraz białek opiekuńczych należących do rodziny białek Hsp90, Hsp70 i Hsp40. Celem projektu jest zrekonstruowanie *in vitro* systemu Hsp-indukowanej zmiany konformacji zmutowanego białka p53. W tym celu wyizolowano rekombinowane ludzkie białka p53, p53..., Hsp40, Hsp70. Wyizolowano także z mózgu bydłęcego Hsp90 oraz Hsp70. Wykazano, że Hsp70 nie tworzy stabilnego kompleksu z natywnym p53. Natomiast Hsp40 tworzy stabilny kompleks z p53. W obecności ATP obydwa białka opiekuńcze powodują dysocjację agregatów p53. Reakcja ta jest stymulowana przez białka należące do rodziny Hsp100. Przeprowadzone doświadczenia wskazują na to, że niezmutowane białko p53 oddziałuje z białkami opiekuńczymi. Jest to pierwsze doniesienie naukowe na ten temat. Uprzednio takie oddziaływanie było wykazane w przypadku zmutowanego p53. Obecnie planujemy doświadczenia mające odpowiedzieć na pytanie: czy białka opiekuńcze Hsp70 i 40 uczestniczą w apoptozie poprzez ułatwianie transportu niezmutowanego p53 do jądra komórkowego.

Najważniejszy wynik badawczy

Wykazano, że niezmutowane białko p53 oddziałuje z białkami opiekuńczymi.

PUBLIKACJE: 3435, 3451

Temat 33. Mechanizmy aktywnej segregacji niskokopijnego plazmidu P1 do komórek potomnych w czasie podziału komórkowego

Zespół: dr Małgorzata Łobocka, dr Krystyna Krajewska-Grynkiewicz, mgr Olga Bugajska, mgr Aneta Dobruk, mgr Aleksandra Janowicz, Michał Skrzycki

I. Przy pomocy udoskonalonej poprzednio metody selekcji otrzymano mutanty chromosomalne *Escherichia coli* defektywne w partycji plazmidów P1 i P7. Otrzymane mutanty mają obniżoną przeżywalność w porównaniu ze szczepem dzikim. Część z nich charakteryzuje się zaburzeniami w partycji chromosomu bakteryjnego. W celu zmapowania mutacji w chromosomie skonstruowano plazmid o indukowalnym systemie replikacji, niosący dodatkowo gen *recA*⁺ pod kontrolą promotora *pBAD*. Badania nad zmapowaniem otrzymanych mutacji oraz ustaleniem roli zmutowanych genów w partycji P1 i P7 są w toku.

II. Kontynuowano prace nad charakterystyką wewnątrzkomórkowych interakcji białka ParB z DNA plazmidów niosących centromer. Wykorzystano opracowane poprzednio techniki: lokalizację białka ParB w komórkach z użyciem fuzji ParB-Gfp oraz badanie kompleksów ParB-Gfp-DNA utrwalonych *in vivo* formaldehydem i wyizolowanych techniką immunoprecypitacji przeciwciałami przeciwko ParB. W użytym systemie eksperymentalnym aktywna partycja zachodziła nawet w warunkach sześciokrotnego nadmiaru białka ParB, w których cały DNA plazmidu niosącego centromer (47 kb) był skompleksowany z tym białkiem. Zaproponowano, że kompleks partycyjny ParB-DNA jest aktywny do momentu kiedy całe

znajdujące się w komórce DNA ulegnie wysyceniu poprzez związanie z ParB. Dalsze badania mają na celu potwierdzenie tej hipotezy.

III. Kontynuowano prace nad białkiem ParA. Wykazano, poprzez ustalenie sekwencji N-końca oczyszczonego białka ParA-6xHis, że główny z dwóch zidentyfikowanych poprzednio produktów genu *parA* jest syntetyzowany na matrycy transkryptu z promotora P1 operonu *par*. Dalsze badania mają na celu charakterystykę alternatywnego produktu genu ParA.

IV. Scharakteryzowano wewnętrzne promotory operonu *par*. Przy użyciu techniki „primer extension” zmapowano końce 5' głównego i alternatywnych transkryptów operonu *par*. Pozwoliło to na dokładną lokalizację promotorów wykrytych poprzednio przy użyciu fuzji różnych rejonów *par* z genem *lacZ* kodującym α -galaktozydazę. Dominującym transkryptem operonu *par* okazał się transkrypt obejmujący tylko gen *parB*, a nie jak sugerowali autorzy poprzednich prac transkrypt obejmujący oba geny tego operonu, *parA* i *parB*.

V. Skonstruowano fuzję genu *parB* z sekwencją kodującą sześćioaminokwasowy znacznik histydynowy. Opracowano technikę oczyszczania białka fuzyjnego ParB-6xHis.

VI. Wstępnie scharakteryzowano system partycji liniowego plazmidu-profaga N15 *E. coli*.

VII. Ustalono kompletną sekwencję nukleotydową genomu bakteriofaga P1 (93601 par zasad). Zakończono analizę otrzymanej sekwencji P1. Przygotowano bibliotekę fragmentów genomu P7 w pUC18. Rozpoczęto prace nad sekwencjonowaniem klonów biblioteki.

Najważniejszy wynik badawczy

Otrzymanie mutantów chromosomalnych *E. coli* defektywnych w partycji plazmidów P1 i P7.

PUBLIKACJE: 156/N

Temat 34. Udział struktur chromatynowych w regulacji transkrypcji genów

Zespół: prof. dr hab. Andrzej Jerzmanowski, dr Jan Brzeski, mgr Tomasz Calikowski, mgr Tomasz Sarnowski, mgr Katarzyna Olczak, technik Beata Kiliańczyk

1. Zidentyfikowano w *Arabidopsis thaliana* gen BSH będący homologiem drożdżowego genu SNF5, kodującego kluczowy element wielo-białkowego kompleksu SWI/SNF zdolnego do remodelowania chromatyny. Oczyszczono z *Arabidopsis* natywny wielo-białkowy kompleks zawierający BSH. Wykazano, że BSH oddziałuje z białkiem odpowiedzialnym za utrzymanie stanu metylacji DNA oraz z fragmentem retrotransposonowego polibiałka odpowiadającym integracji.

2. Zidentyfikowano komplet wariantów sekwencyjnych (H1A do H1F) histonu H1 w tytoniu. Skonstruowano rośliny transgeniczne, w których obniżono do 25% dwa główne warianty H1A i H1B (za pomocą technologii antysensu). W roślinach tych nastąpił kompensacyjny wzrost ilości wariantów pobocznych H1C do H1F. Rośliny ze zmienionym profilem wariantów sekwencyjnych H1 wykazywały niemal 100% męską sterility spowodowaną zakłóceniem w procesie różnicowania ziaren pyłku. Analiza ekspresji genów rozwojowych i analiza ultrastrukturalna wskazują, że przyczyną fenotypu mogą być zaburzenia w parowaniu i rozchodzeniu się chromosomów homologicznych w trakcie mejozy

Najważniejsze wyniki badawcze

1. Wykazanie, że w roślinach występują co najmniej dwie klasy kompleksów remodelujących chromatynę, które pełnią prawdopodobnie ważną rolę w metylacji DNA oraz w procesach integracji/rekombinacji DNA.

2. Wykazanie, że histony typu H1 są niezbędne do prawidłowego przebiegu męskiej mejozy i różnicowania gamet męskich u roślin.

PUBLIKACJE: 3389, 3423, 3430, 120/N

Temat 35. Ekspresja genów bakteryjnych w roślinach

Zespół: dr hab. Agnieszka Sirko, mgr Robert Brodzik, mgr Anna Błaszczyk, mgr Frantz Liszewska

Badania zespołu koncentrowały się wokół dwóch projektów badawczych:

1. Główne cele projektu nr 1 to wyprodukowanie w roślinach wybranych białek bakterii *Helicobacter pylori*. Rośliny produkujące antygeny tej bakterii mogłyby zostać użyte jako uodparniająca lub lecznicza szczepionka przeciwko *H. pylori*. Prace, które były kontynuacją poprzednio rozpoczętych doświadczeń, polegały głównie na sprawdzaniu stabilności ekspresji transgenów *ureA* i *ureB* w potomstwie transgenicznych roślin tytoniu (pokoleniach T1 i T2), przygotowaniu odpowiedniej ilości materiału

roślinnego (transgenicznego kalusa marchwi zawierającego białko UreB *H. pylori*) do badań immunologicznych na myszach laboratoryjnych. Wstępne testy pozwoliły ustalić sposób podania materiału zwierzętom ale nie uzyskano zdecydowanej odpowiedzi co do skuteczności badanego materiału jako potencjalnej szczepionki przeciwko *H. pylori*. Dalsze doświadczenia immunologiczne będą przeprowadzane we współpracy z Prof. Hilarym Koprowskim, Biotechnology Foundation Laboratories, Thomas Jefferson University, Filadelfia, USA.

2. Głównym celem projektu nr 2 była manipulacja metabolizmu biosyntezy cysteiny w roślinach tytoniu poprzez ekspresję bakteryjnych genów *cysE* i *cysK*. Dostępność cysteiny wydaje się być ważnym czynnikiem limitującym ilość produkowanego przez rośliny glutationu, który uważany jest za istotny regulator potencjału redoks w komórce. Zawartość tego związku w roślinach oraz kontrola jego stopnia utlenienia decydują o oporności na stresy środowiskowe. Geny *cysE* i *cysK* kodują enzymy kolejnych etapów biosyntezy cysteiny w komórce bakteryjnej. Etapy te są identyczne w bakteriach i roślinach. W roślinach tytoniu produkujących bakteryjny SAT (produkt genu *cysE*) stwierdzono podniesiony poziom cysteiny i glutationu oraz zwiększoną oporność roślin na stres oksydacyjny. Analiza roślin produkujących bakteryjny OAS-TL (produkt genu *cysK*) nie została jeszcze przeprowadzona do końca i efekty modyfikacji nie są jeszcze znane.

Najważniejszy wynik badawczy

1. Uzyskanie materiału roślinnego zawierającego wybrane białka *H. pylori* w ilościach wystarczających do badań immunologicznych na zwierzętach laboratoryjnych.

2. Uzyskanie transgenicznego tytoniu z ekspresją bakteryjnych genów *cysE* i *cysK*.

PUBLIKACJE: 3448, 116/N, 127/N.

Temat 36. Metody informatyczne w biologii molekularnej

Zespół: doc.dr. Piotr Zielenkiewicz, mgr Szymon Kaczanowski, dr Piotr Pawłowski

Kontynuowano prace nad projektowaniem sekwencji białkowych posiadających zadaną strukturę.

Algorytm do projektowania sekwencji został udoskonalony przez wprowadzenie nowego składnika opisującego dopasowanie objętości aminokwasów w projektowanej strukturze. Udoskonalenie to testowano projektując sekwencje mające strukturę barnazy. Przetestowano możliwość tworzenia tablic podobieństw w oparciu o zaprojektowane sekwencje.

Przetestowano możliwość szukania sekwencji strukturalnie homologicznych do zaprojektowanych sekwencji wykorzystując metody blast i profilesearch.

Ponadto modelowano struktury kompleksów białek wiążących motyw TATA z DNA u archeonów.

Rozpoczęto prace nad modelowaniem szlaków metabolicznych *Saccharomyces cerevisiae*.

PUBLIKACJE: 3384

Temat 37. Mechanizmy kontrolujące proces patogenezy komórek roślinnych

Zespół: doc. dr hab. Jacek Hennig, dr D. Konopka, dr Magdalena Krzymowska (do 01-05), mgr Andrzej Talarczyk, mgr Marek Koter, mgr A. Drobek, mgr A. Maassen (od 01-10)

Zaobserwowaliśmy, że nastrzyknięcie liści ziemniaka *Solanum tuberosum* odm. Desiree zawiesiną bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* M2 powoduje szybką (około 6 godzinach od momentu podania bakterii) odpowiedź nekrotyczną mającą znamiona reakcji nadwrażliwości (HR). Podobnej reakcji nekrotycznej nie obserwowaliśmy natomiast gdy liście roślin traktowane były zawiesiną (nie chorobotwórczych) szczepów bakterii *Escherichia coli* K12. Jest to szczególnie interesujące, ponieważ bakterie z rodziny *Pseudomonas* znane są jako czynniki wywołujące infekcje roślin z rodziny krzyżowych podczas gdy rośliny ziemniaka a więc z rodziny psiankowatych nie są „gospodarzami” dla tych bakterii. Pomimo udokumentowanych danych opisujących reakcję HR w oddziaływaniach patogen-roślina w układzie „non-host” brak jest informacji jeśli chodzi o rodzinę *Solanaceae* i *P. syringae*. Interesującym było zatem stwierdzenie, czy obserwowana u ziemniaka reakcja nekrotyczna dotyczy innych przedstawicieli *Solanaceae*. Infekowaliśmy zatem rośliny *Solanum nigrum*, *S. bulbocastanum* *S. brevidence* oraz inne odmiany *S. tuberosum* (Bzura, Irga, Ibis) oraz tytoń (*N. tabacum*). We wszystkich przypadkach stwierdziliśmy, że reakcji nekrotycznej towarzyszy indukcja ekspresja genów z rodziny Pathogenesis Related (PR). Dodatkowo u roślin w których w wyniku infekcji *P. syringae* wystąpiła odpowiedź nekrotyczna zaobserwowaliśmy znaczący wzrost wewnątrzkomórkowej syntezy kwasu salicylowego (SA) oraz zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu, w tym nadtlenku wodoru (H_2O_2).

W chwili obecnej nie mamy jeszcze ostatecznych dowodów, że indukcja genów PR po infekcji *P. syringae* jest zależna od syntezy SA, a więc tak jak to ma np. miejsce np. po infekcji roślin tytoniu wirusem TMV. Sprawdzić to będziemy mogli wstrzykując *P. syringae*, do transgenicznych roślin tytoniu, zawierających bakteryjny gen *nahG*. Rośliny z aktywnym genem *NahG*, po zakażeniu zdolne są do gromadzenia jedynie minimalnych ilości SA i słabej indukcji genów PR i w konsekwencji wykazują znacznie ostrzejsze symptomy chorobowe po infekcji TMV. Ciekawym będzie czy podobną zależność obserwować będziemy po zakażeniu ich *P. syringae*?

Najważniejszy wynik badawczy

Stwierdziliśmy, że indukcja genów należących do rodziny PR (ang. Pathogenesis Related) koreluje się z indukcją syntezy H₂O₂ i kwasu salicylowego, w odpowiedzi typu „non-host”, roślin ziemniaka (*S. tuberosum*) po infekcji bakteriami *P. syringae* pv. *Maculicola*.

PUBLIKACJE: 3396, 3409, 1238/A, 1259/A, 1293/A

Temat 38 Funkcjonalna analiza otwartych ramek odczytu z *Saccharomyces cerevisiae*

Zespół: dr Bożenna Rempola, prof. Magdalena Fikus

Dwie homologiczne otwarte ramki odczytu z *Saccharomyces cerevisiae* o nieznannej funkcji, YIL153w/*RRD1* i YPL152w/*RRD2*, potencjalnie kodują polipeptydy wykazujące znaczące podobieństwo do pochodzącego z komórek ssaczych polipeptydu PTPA (phosphotyrosyl phosphatase activator). PTPA jest białkowym czynnikiem stymulującym aktywność fosfatazy tyrozylowej, wykazywanej przez serynowo/treoninową fosfatazę PP2A.

Wcześniej przeprowadzone badania wykazały, że geny *RRD* pełnią w komórce istotną funkcję. Zasugerowano, że letalność podwójnej mutacji *rrd1,2Δ* w standardowych warunkach hodowli spowodowana jest defektem w budowie prawidłowej ściany komórkowej. Ponadto wykazano, że Rrd1p i Rrd2p oddziałują z drożdżowymi kaskadami kinaz: HOG1 i SLT2/MPK1.

Wychodząc ze znajomości homologii białek Rrd i ludzkiego PTPA, modyfikującego *in vivo* aktywność fosfatazy PP2A, badano interakcję pomiędzy genami *RRD* i *PPH22* oraz *PPH21*, kodującymi dwie homologiczne drożdżowe podjednostki katalityczne fosfatazy PP2A. Inaktywacja genu *PPH22* nie wpływa na żywotność i fenotypy mutantów *rrd1,2Δ*, natomiast nadekspresja genu *PPH22* częściowo znosi efekt letalny podwójnej mutacji, sugerując interakcje pomiędzy genami *RRD* i fosfatazą PP2A. Podobnego efektu nie zaobserwowano dla genu *PPH21*.

Badając regulację ekspresji genów *RRD* w zależności od różnorodnych warunków środowiskowych (metodą oznaczania poziomu aktywności β-galaktozydazy, dołączonej do sekwencji promotorowych genów) ustalono, że przy podwyższonym ciśnieniu osmotycznym oraz w obecności jonów wapnia podwyższa się ekspresja genu β-galaktozydazy, co sugeruje istnienie mechanizmów regulujących poziom Rrd1p w komórce. Badane warunki nie wpływają na ekspresję kontrolowaną przez promotor genu *RRD2*.

Mikroskopowe badanie morfologii komórek *rrd1Δ* oraz *rrd2Δ* specyficznie barwionych falloidyną oraz calcofluor white sugerują, że geny *RRD* nie wpływają na procesy związane z dystrybucją aktyny w trakcie pączkowania oraz na rozkład chityny w ścianie komórkowej drożdży.

PUBLIKACJE: 3437, 3429, 129/N

Temat 39. Badane polimorfizmu mitochondrialnego DNA w populacji polskiej

Zespół: prof dr hab. Ewa Bartnik, mgr Katarzyna Mroczek, dr Aleksandra Dmochowska

Przebadano mitochondrialny DNA od łącznie 192 niespokrewnionych osób pod kątem polimorfizmów 2 enzymów restrykcyjnych – BamHI (stwierdzono 4 warianty) i HpaII (stwierdzono 2 warianty). Jeden z wariantów HpaI występujący u 2% przebadanych osób uchodzi za wariant mongoloidalny. Stwierdzono, że istnieje 6 różnych morfotypów mitochondrialnego DNA – u 162 osób (84,4%) występuje morfotyp 2.1 (HpaI – wariant 2, BamHI – wariant 1), u 20 osób (10,4%) morfotyp 2.3, u 6 (3,1%) – 2.2, u 2 (1,1%) – 1.1, u 1 (0,5%) – 1.1, i u 1 (0,5%) – 2.4.

Najważniejszy wynik badawczy

Przebadanie w sumie prawie 200 próbek DNA mitochondrialnego daje już stosunkowo niezły przegląd polimorfizmów DNA dla próbki populacji polskiej.

PUBLIKACJE: 3376, 3381, 144/N, 145/N

Temat 41. Oksydacyjne uszkodzenia DNA

Zespół: dr Barbara Tudek, dr Jarosław Cieśla, dr Maria-Anna Grązewicz, mgr Elżbieta Speina, mgr Paweł Kowalczyk, mgr Tomasz Obtulowicz

Wiele zmodyfikowanych zasad DNA może ulegać wtórnym przekształceniom z wytworzeniem pochodnych o odmiennych właściwościach kodujących, eliminowanych z DNA przez różne enzymy naprawcze. 1,*N*⁶-Etenoadenina (εA) jest przykładem mutagennej pochodnej, której pierścień pirymidynowy w warunkach fizjologicznych powoli ulega fragmentacji z wytworzeniem β-4-amino-5-(imidazol-2-yl)imidazolu (związku β) o 10-krotnie wyższej aktywności mutagennej dla *E.coli* niż εA. Rozpad ten ulega przyspieszeniu w warunkach alkalicznych, ale ani kinetyka przekształceń, ani naprawa produktów nie jest znana. W zespole prof. Kuśmierka stwierdzono, że etenodeoksyadenozyna w pH 12,00 ulega przekształceniu w 3 produkty: εA→B→C→D, przy czym jedynie pierwszy etap jest zależny od pH. My wykazaliśmy, że rozpad εA, śladowy jako zanik fluorescencji, następuje również w oligodeksynukleotydzie, ale szybkość przemiany εA→B jest 10-krotnie niższa niż w deksynukleotydzie. εA jest wycinana z DNA przez glikozylazę 3-metyloadeniny, ale enzym ten jest nieaktywny wobec produktów jej rozpadu. Wstępne wyniki oparte na kinetyce przekształceń εA w nukleotydzie i polimerze sugerują, że związek B jest naprawiany przez białko Fpg, a związek C przez endonukleazę III z *E.coli*.

Kontynuowano badania nad powstawaniem Fapy-7-metyloadeniny, uszkodzenia które w komórkach *E.coli* jest źródłem SOS-zależnych mutacji A→G. Stwierdzono, że Fapy-7MeAde, podobnie jak Fapy-7MeGua, występuje w 2 formach rotamerycznych, które można rozdzielić za pomocą HPLC. Otwieranie pierścienia imidazolowego 7MeAde w poliA i polidA zachodzi również w środowisku obojętnym, a półokres rozpadu 7MeAde w poliA wynosi 24 godz. Wstępne dane sugerują, że Fapy-7MeAde jest naprawiana przez białko Fpg z *E.coli*, (ale nie przez endonukleazę III), jednak z ok. 10-krotnie niższą wydajnością niż Fapy-7MeGua.

Kontynuowano badania nad inhibitorami enzymów naprawy DNA. Stwierdzono, że pirolizat tryptofanu, Trp-P-1 zmieniający II-rzędową strukturę DNA hamuje aktywność glikozylaz DNA: oprócz białka Fpg również glikozylaz 3-metyloadeniny: bakteryjnych TagA i AlkA oraz ludzkiej ANPG. Najsilniej hamowane było białko AlkA (*I*₅₀<1 μM), słabiej TagA (*I*₅₀=50 μM), ANPG (*I*₅₀=80 μM), najsłabiej Fpg (*I*₅₀=150 μM).

Najważniejszy wynik badawczy

Znaleziono enzymy naprawcze dla produktów rozpadu εA w DNA.

PUBLIKACJE: 3391, 3419, 3426, 3432, 1237/A, 1263/A, 1264/A, 1265/A, 1279/A, 125/N, 138/N

Temat 42. Mutacje indukowane i adaptacyjne

Zespół: dr hab. Elżbieta Grzesiuk, prof. dr hab. Celina Janion, dr Anna Wójcik, mgr Anetta Nowosielska, mgr Agnieszka Gozdek

W kręgu zainteresowań nadal pozostały mutacje adaptacyjne, które powstają w warunkach głodzenia na podłożu selekcyjnym i zachodzą w tym genie, który podlega selekcji. W doświadczeniach posłużono się nową, oryginalnie odkrytą przez autorów metodą polegającą na badaniu rewersji do prototrofii *argE3*→Arg⁺ aukсотroficznoego szczepu *E.coli argE3* AB1157. Do odróżnienia adaptacyjnych rewertantów Arg⁺ od mutantów zależnych od wzrostu posłużono się metodą replik płytkowych. Metoda ta jest szczególnie przydatna w odróżnianiu zależnych od wzrostu mutantów wolnorosnących od mutantów adaptacyjnych.

Kontynuowano badanie zjawiska MFD [obniżenia częstości mutacji w warunkach głodzenia] w bakteriach *E.coli* AB1157 traktowanych MMS. Okazało się, że zjawisko naprawy uszkodzeń indukowanych MMS w warunkach głodzenia jest różne od zjawiska MFD opisanego dla uszkodzeń indukowanych UV, a mianowicie, nie jest ono bezpośrednio zależne od białka UvrA, zależy od obecności glikozylazy AlkA i w mniejszym stopniu od TagA, w naprawie tej przypuszczalnie biorą udział białka UmuD'C. Analizując poziomy rewertantów Arg⁺ w szczepach AB1157 z mutacjami w genach *uvrA*, *alkA* i *tagA* oraz wrażliwość plazmidowego DNA na białka Fpg, Nth i Tag wykazano, że powstające po działaniu MMS 7meG, które do tej pory uważano za uszkodzenie nieszkodliwe dla komórki, w określonych warunkach [brak funkcjonalnego AlkA] jest wycinane z DNA, co prowadzi do powstania miejsc AP, indukcji SOS i podwyższonej mutageny.

Zakończono etap prac, w których pokazano, że obecność transpozonów Tn5 i Tn10 powoduje zwiększenie wrażliwości bakterii i obniżenie poziomu mutageny indukowanej UV. Stwierdzono, że

efekty są niezależne od miejsca insercji transpozonów, nie wynikają z przypadkowo przemieszczających się sekwencji z chromosomu bakterii dawcy, nie są związane z uszkodzeniem systemów naprawy DNA, nie podlegają supresji przez mutację *sulA* [brak inhibitorów podziałów komórkowych].

Najważniejszy wynik badawczy

1. Nowa metoda dla badania mutacji adaptacyjnych.
2. Odkrycie, że główna modyfikacja, która powstaje po działaniu MMS, 7meG, a którą dotychczas uważano za obojętną dla komórki, w warunkach braku funkcjonalnej glikozylazy AlkA powoduje indukcję systemu SOS i podwyższoną mutagenezę.

PUBLIKACJE: 3371, 3431, 3433, 1233/A, 1234/A, 1235/A, 1236/A, 1237/A, 1262/A, 126/N, 141/N, 143/N

Temat 43. Biologia plazmidu RK2 z grupy IncP *Escherichia coli*

Zespół: doc. dr hab. Grażyna Jagura-Burdzy, mgr Małgorzata Adamczyk, mgr Aneta Balcerzyk, mgr Krzysztof Lasocki, Maciej Łukaszewicz, Michał Jonczyk

Plazmidy IncP charakteryzują się unikalnym, wielopoziomowym systemem regulacyjnym koordynującym wszystkie procesy życiowe plazmidów. Spośród tzw. „globalnych” represorów para białek KorB i IncC jest najbardziej interesująca. Wiążąc się do 12 miejsc operatorowych w genomie plazmidu RK2 (IncPα) represor KorB (258aa) reguluje procesy wegetatywnej replikacji, transferu koniugacyjnego oraz wraz z IncC uczestniczy w aktywnym rozdziale kopii plazmidu do komórek potomnych (KorB należy do rodziny ParB a IncC –ParA białek podziałowych plazmidów i chromosomów). Metodami *in vivo* (użycie fuzji operonowych) i *in vitro* („cross-linking” z oczyszczonymi białkami typu dzikiego i mutantami, żele retardacyjne) wykazano, że C-koniec KorB jest niezbędny do dimeryzacji a dimeryzacja jest warunkiem działania represora na dystans (klasa II operatorów- O_B w odległości 100-180nt od *tsp*). KorB z delecją 100aa z C-końca pełni rolę represora operonów, w których O_B poprzedza sekwencję –35 (klasa I O_B). IncC potęguje represję KorB *in vivo* i zwiększa powinowactwo KorB do DNA *in vitro*. Dzięki użyciu drożdżowego systemu dwuhybrydowego wykazano bezpośrednie oddziaływanie KorB z IncC *in vivo*. Zdefiniowano domenę (59aa) w KorB odpowiedzialną za te interakcje. Wyniki zostały opublikowane w dwóch pracach, trzecia przygotowywana jest do druku. Drugi kierunek badań nad plazmidami IncP dotyczy roli białka plazmidowego KfrA w stabilnym dziedziczeniu plazmidów. To α-helikalne białko, podobne do eukariotycznych miozyn/kinezyn, zostało oczyszczone i badane są jego właściwości. Definiowane są domeny funkcjonalne. Przy wykorzystaniu „reverse genetics” konstruowane są mutanty *kfrA* plazmidu R751 (IncPβ).

Najważniejszy wynik badawczy

1. Dalsze dowody na udział białek podziałowych w koordynacji wszystkich procesów życiowych plazmidów IncP.
2. Zdefiniowanie domen funkcjonalnych białka regulatorowego KorB.
3. Wykazanie udziału IncC w potęgowaniu represji /wiązania do DNA przez KorB.

PUBLIKACJE: 3387, 3390

Temat 45. Regulacje biosyntezy pochodnych kwasu mewalonowego w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*

dr hab. Anna Szkopińska

Stwieriono, że 6-krotne podwyższenie aktywności syntazy FPP nie zmieniło znacząco aktywności reduktazy HMG-CoA. Dysrupcja w genie *SQS* w drożdżach hodowanych w obecności ergosterolu spowodowała porównywalną inhibicję aktywności reduktazy HMG-CoA i syntazy FPP. Natomiast szczep z dysrupcją w genie *SQS* hodowany w nieobecności ergosterolu wykazywał 10-krotnie wyższą aktywność syntazy FPP i praktycznie nie zmienioną aktywność reduktazy HMG-CoA. Wynik ten dowodzi, że syntaza difosforanu farnezylu niezależnie od reduktazy HMG-CoA reguluje biosyntezę produktów szlaku kwasu mewalonowego. Uzyskane wyniki przedstawione są w publikacji (BBRC – w druku).

PUBLIKACJE: 1294/A

PRACOWNIA SEKWENCJONOWANIA DNA I SYNTEZY OLIGONUKLEOTYDÓW

W ramach działalności usługowej zsyntetyzowano 643 oligonukleotydy oraz zsekwencjonowano na aparacie ALF 148 matryc DNA, co przy średniej długości odczytu 350 bp daje 51 800 par zasad.

Syntezy oligonukleotydów i sekwencjonowanie matryc wykonano dla następujących zakładów IBB:

1. Zakład Genetyki	94 matryce	106 oligonukleotydów
2. Zakład Biochemii Drobnoustrojów		109 oligonukleotydów
3. Zakład Biosyntezy Białka		20 oligonukleotydów
4. Zakład Biochemii Roślin		62 oligonukleotydów
5. Zakład Biochemii Lipidów	20 matryc	45 oligonukleotydów
6. Zakład Biologii Molekularnej		64 oligonukleotydów
7. Zakład Genetyki UW	10 matryc	61 oligonukleotydów
8. Pracownia Mutagenyzy i Reperacji DNA	4 matryce	12 oligonukleotydów
9. Pracownia Biologii Molekularnej Roślin UW	20 matryc	15 oligonukleotydów
10. Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów		75 oligonukleotydów
11. Zakład Biofizyki		52 oligonukleotydy
12. NMR		3 oligonukleotydy

Ponadto na aparacie do sekwencjonowania ABI 310 zsekwencjonowano 1015 matryc DNA, co przy średniej długości odczytu 650 bp daje 659 750 par zasad.

Sekwencjonowania matryc wykonano dla następujących zakładów IBB:

1. Zakład Genetyki	320 matryc
2. Zakład Biochemii Drobnoustrojów	103 matryce
3. Zakład Biosyntezy Białka	136 matryc
4. Zakład Biochemii Roślin	72 matryce
5. Zakład Biochemii Lipidów	35 matryc
6. Zakład Biologii Molekularnej	25 matryc
7. Zakład Genetyki UW	41 matryc
8. Pracownia Mutagenyzy i Reperacji DNA	37 matryc
9. Pracownia Biologii Molekularnej	79 matryc
10. Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów	100 matryc
11. Zakład Biofizyki	64 matryce
12. NMR	3 matryce

Dodatkowo w ramach uruchamiania nowych aparatów do sekwencjonowania DNA ABI 377 zsekwencjonowano 122 matryce dla następujących zakładów IBB:

1. Zakład Genetyki	40 matryc
2. Zakład Biochemii Drobnoustrojów	4 matryce
3. Zakład Biosyntezy Białka	18 matryc
4. Zakład Biochemii Roślin	37 matryc
5. Zakład Genetyki UW	11 matryc
6. Pracownia Mutagenyzy i Reperacji DNA	1 matryca
7. Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów	7 matryc
8. Zakład Biofizyki	4 matryce

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

1. Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa (Skierniewice)	8 matryc	
2. Akademia Medyczna (Warszawa)	24 matryce	2 oligonukleotydy
3. Akademia Rolnicza (Kraków)	2 matryce	
4. Zakład Parazytologii SGGW (Warszawa)		2 oligonukleotydy
5. Instytut Biologii Doświadczalnej	6 matryc	
6. Uniwersytet w Poznaniu	14 matryc	
7. Uniwersytet Gdański	24 matryce	4 oligonukleotydy
8. Instytut Biologii Molekularnej UJ		2 oligonukleotydy
9. Zakład Morfogenezy UW		2 oligonukleotydy
10. Instytut Mikrobiologii Wydział Biologii UW	11 matryc	7 oligonukleotydów
11. Instytut Botaniki UW	79 matryc	
12. EURx (Gdańsk)	21 matryc	

ŚRODOWISKOWE LABORATORIUM NMR (temat 44)

Zespół: prof. dr hab. Andrzej Bierzyński, doc. dr hab. Andrzej Ejchart, dr Jacek Wójcik, dr Beata Toczyłowska (1/4 etatu); doktoranci: mgr Maciej Maciejczyk, mgr Marta Sidor, mgr Igor Żukow

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

Kierownik projektu	Instytucja	Czas pracy przyrządu
1. prof. K. Rolka	Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański	60 h
2. prof. G. Kupryszewski	Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański	130 h
3. doc. A. Gamian	Instytut Immunologii, Wrocław	40 h
4. prof. J. Otlewski	U. Wrocławski, Inst. Bioch. i Biol. Molekularnej	300 h
5. dr W. Bal	U. Wrocławski, Wydział Chemii	72 h
6. dr hab. H. Dodziuk	ICHO PAN, Warszawa	10 h
7. prof. J. Izdebski	UW, Wydział Chemii	420 h
8. prof. R. Stolarski	UW, Instytut Fizyki Doświadczalnej	25 h
9. prof. A. Gryff-Keller	Politechnika Warszawska, Wydział Chemii	110 h
10. prof. Z. Czerniecki	Klinika Neurochirurgii AM, Warszawa	300 h
11. prof. I. Oszczapowicz	Instytut Antybiotyków, Warszawa	40 h
12. prof. K. Kamieńska-Trela	ICHO PAN, Warszawa	220 h
13. prof. J. Kuśmierek	IBB PAN, Zakład Biologii Molekularnej	6 h
14. dr B. Tudek	IBB PAN, Zakład Biologii Molekularnej	210 h
15. dr J. Poznański	IBB PAN, Zakład Biofizyki	150 h
16. dr M. Dadlez	IBB PAN, Zakład Biofizyki	20 h
17. Szkolenia		80 h
Usługi-zlecenia razem		2233 h
Prace własne		5320 h
Razem		7553 h

Awaria sprzężarek i konieczność przeprowadzenia ich gruntownego remontu spowodowała w okresie letnim sześciotygodniową przerwę w pracy przyrządu. Poza tym aparat pracował średnio 23 godziny na dobę. Pozostały czas był wykorzystany na konserwację.

Zgodnie z umowami zawartymi uprzednio z Instytutem Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN oraz z Instytutem Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN Laboratorium uzyskało od wyżej wymienionych instytucji łącznie sumę 120 000 zł i na początku roku 1999 zakupiło dwie sondy: potrójną $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$, 8 mm oraz szerokopasmową, pozwalającą na pomiary rezonansu jąder fosforu ^{31}P . Dzięki temu w znacznym stopniu wzrosły możliwości pomiarowe Laboratorium.

Prace własne:

Przeprowadzono pomiary przesunięć temperaturowych protonów amidowych w białku CMTI i jego mutancie M8→L. Tym samym zakończono porównawcze badania struktury obu białek. Zmutowane białko znakowane izotopem ^{15}N wyprodukowano w bakteriach *E. coli* i rozpoczęto badania jego dynamiki strukturalnej metodą NMR i metodami teoretycznymi. Kontynuowano badania struktury i dynamiki strukturalnej peptydów wiążących jony wapnia. Wyprodukowano białko S100A1 znakowane izotopami ^{15}N i ^{13}C i zmierzono jego widma trójwymiarowe, które są obecnie analizowane. Celem tej pracy jest osiągnięcie pełnego przypisania sygnałów w widmie protonowym białka.

We współpracy z Wydziałem Anestezjologii i Intensywnej Terapii Akademii Medycznej w Warszawie kontynuowano badania NMR płynu mózgowo-rdzeniowego mające na celu opracowanie metod diagnostyki chorób mózgu (dr Beata Toczyłowska). Ponadto, w ramach współpracy, pracownicy Laboratorium brali merytoryczny udział w następujących badaniach:

Doc. Andrzej Ejchart:

1) Badania dynamiki mutantów białka BPTI - kierownik dr. M. Dadlez,
Zakład Biofizyki IBB

2) Badania dynamiki antybiotyków antracyklinowych - kierownik prof. I. Oszczapowicz, Instytut Biotechnologii i Antybiotyków, Warszawa

3) Badania struktury liposacharydów bakteryjnych - kierownik doc. A. Gamian, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, Wrocław

Dr Jacek Wójcik

4) Badania konformacji cyklicznych analogów enkefalin - kierownik prof. J. Izdebski, Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

5) Analiza sprzężeń spinowo-spinowych - kierownik prof. K. Kamieńska-Trela, IChO PAN

Dr Jacek Wójcik, mgr Igor Żukow

6) Badania konformacji analogów wazopresyny - kierownik prof. J. Ciarkowski, Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego

Dr Jacek Wójcik, mgr Igor Żukow, mgr Maciej Maciejczyk

7) Badania konformacji fragmentów ludzkiej protaminy HP2 - kierownik doc. W. Bał, Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego

Mgr Igor Żukow

8) Identyfikacja fotoproduktów lecytyny - kierownik dr hab. Z. Zarębska, Zakład Biologii Molekularnej IBB

Działalność dydaktyczna:

W okresie sprawozdawczym odbyło się 27 seminariów poświęconych metodom magnetycznego rezonansu jądrowego oraz właściwościom konformacyjnym białek i peptydów, które prowadzili pracownicy Laboratorium i zaproszeni specjaliści z ośrodków krajowych i zagranicznych.

Trzy osoby przeszkolono w zakresie obsługi przyrządu. Ponadto dwie doktorantki z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego odbyły trzymiesięczne szkolenia, czterech studentów z Wydziału Fizyki UW (3 osoby) i z Wydziału Chemii Politechniki Warszawskiej (jedna osoba) odbyło jednomiesięczne szkolenia w zakresie technik pomiarowych i interpretacji widm NMR w ramach pracowni magisterskiej. Jedna doktorantka z Wydziału Fizyki UW przechodzi obecnie szkolenie w zakresie wyznaczania struktury białek i peptydów na podstawie widm NMR. Dwie magistrantki z Wydziału Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego ukończyły prace magisterskie, których tematem było badanie metodami NMR konformacji i dynamiki peptydów.

PUBLIKACJE: 3378, 3379, 3388, 3414, 3415, 3416, 1222/A, 1223/A, 1230/A, 1239/A, 1310/A, 1323/A, 1324/A, 149/N, 154/N

SZKOŁA BIOLOGII MOLEKULARNEJ/STUDIUM DOKTORANCKIE (temat 31)

Kierownictwo Studium: prof. dr hab. Grażyna Palamarczyk-Kierownik, prof. dr hab. Joanna Rytka, prof. dr hab. Andrzej Jerzmanowski

SBM/Studia doktoranckie liczy 97 osób w tym na studiach doktoranckich 71.

21 doktorantów rozpoczęło, 1-go października, czwarty rok studiów, natomiast 17 osób przyjęto w roku bieżącym na rok pierwszy.

Stopień doktora otrzymało w 1999 r. 7 osób.

Działalność dydaktyczna

W okresie listopad-kwiecień 1998/1999 odbył się 30 godz. cykl wykładów dotyczących Genomiki. Cykl ten, opracowany przez dr Małgorzatę Łobocką, obejmował następujące tematy: Współczesne metody sekwencjonowania genomów; Składanie i analiza sekwencji genomowych, Metody przewidywania funkcji genów; Genomy plazmidów i bakteriofagów, Genomika bakterii i archeonów; Genom drożdży; Organizacja chromatyny u organizmów eukariotycznych; Sekwencje repetytywne w genomach eukariotycznych; Genomy roślin wyższych z włączeniem genomów chloroplastowych; Genomy wirusów eukariotów oraz Genom ludzki.

Wykładowcami byli pracownicy IBB PAN i UW a także zaproszeni specjaliści z zewnątrz.

Osiągnięcia naukowe doktorantów

Trzydziestu trzech doktorantów jest współautorami pełnych prac naukowych opublikowanych w roku 1999 oraz sześćdziesięciu pięciu przedstawiło komunikaty lub plakaty na zjazdach krajowych i zagranicznych.

12-tu doktorantów (A. Białkowska, A. Dobruk, A. Gałuszewska, D. Gawęł, K. Grabińska, P. Koprowski i P. Mieczkowski, P. Kowalczyk, A. Liwosz, M. Maliszewska Tkaczyk, A. Nowosielska, E. Speina, K. Zdanowski) przedstawiło projekty badawcze pisane wg wzorów projektów grantowych KBN, których realizacja była częściowo finansowana (po 4.000 zł na zakup odczynników i drobnego sprzętu lub sfinansowanie uczestnictwa w dowolnie wybranej konferencji naukowej) z funduszy SBM/Studium doktoranckiego. Odbiorców grantów obowiązywać będzie przedstawienie sprawozdania merytorycznego i finansowego z wykorzystania przyznanych funduszy. Sprawozdanie to będzie również podstawą do ewentualnego przedłużenia grantu na rok następny.

Działalność dydaktyczna doktorantów

Doktoranci kończący prace doktorskie, podobnie jak w latach poprzednich, prowadzą zajęcia seminaryjne dla doktorantów 1-szego i 2-giego roku. W listopadzie 1999 r. rozpoczęto cykl seminariów na temat: Regulacja podziału komórkowego w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*, prowadzony przez Piotra Mieczkowskiego.

Finanse

Fundusz SBM/Studium Doktoranckiego wyniósł w roku 1999 100.000 zł.

W jego ramach finansowano częściowo udział doktorantów w konferencjach międzynarodowych odbywających się za granicą a także w całości w konferencjach w Polsce. Warunkiem dofinansowania wyjazdu było otrzymanie częściowego pokrycia kosztów uczestnictwa w konferencji z funduszy nie pochodzących z IBB.

Z funduszy SBM/Studium pokrywano również koszty prowadzenia zajęć dydaktycznych dla doktorantów.

Planujemy przeznaczenie pozostałych funduszy (ok. 80.000 zł) dla tych doktorantów, którzy przedstawią projekty badawcze na rok 1999. Projekty te będą oceniane w ramach konkursu projektów zgłaszanych do końca stycznia 2000.

POLSKO-FRANCUSKIE CENTRUM BIOTECHNOLOGII ROŚLIN
(temat 40)

Dyrektor: prof. dr hab. Stanisław Lewak

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

W ramach dotacji otrzymanej z Komitetu Badań Naukowych, Centrum subwencjonowało w 1999 roku realizację następujących programów badawczych w Polsce przy współpracy z placówkami francuskimi:

A. Kontynuacja programów z roku 1998:

Anna Góra-Sochacka, Wojciech Podstolski (IBB) Dr Thierry Candresse, Badanie stabilności genetycznej wirusa wrzeczionowatości bulw ziemniaka (PSTVd). Analiza molekularna roślin transgeniczných niosących niepełne kopie cDNA PSTVd. – współpraca ze Station de Pathologie Végétale, INRA w Bordeaux.

Monika Góra, prof. Joanna Rytka, Dr Teresa Żołądek, Dr Anna Chełstowska, Ewa Grzybowska, Monika Wysocka (IBB), Dr Rosine Labbe-Bois. Regulacja szlaku biosyntezy hemu w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*: rola ferrochelatazy w wewnątrzkomórkowym transporcie hemu i żelaza; regulacja aktywności dekarboksylazy uroporfirynogenu III. – współpraca z Institut J. Monod, CNRS, Université Paris VII.

Małgorzata Milner, Dr Andrzej Pałucha (IBB), prof. Anne-Lise Haenni. Konstrukcja fuzji genowych poliproteiny wirusa Y ziemniaka (PVY) z genami reporterowymi kodującymi β -glukuronidazę (GUS) oraz green fluorescent protein (GFP). – współpraca z Institut J. Monod, CNRS, Université Paris VII.

Dr Anna Przykorska, Dr Elżbieta Kuligowska, Krzysztof Olczak (IBB), Dr Gerard Keith. Roślinne enzymy nukleolityczne jako sondy strukturalne do badania struktury przestrzennej RNA i DNA. – współpraca z Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire w Strasburgu.

Dr Bożenna Rempola (IBB), Michał Grzmil (UCMS Lublin). Funkcjonalna analiza ramek odczytu YIL153w i YPL152w z *S. cerevisiae* potencjalnie kodujących białka o homologii do ludzkiego polipeptydu PTPA (phosphotyrosyl phosphatase activator) – współpraca z Centre de Génétique Moléculaire, CNRS w Gif-sur-Yvette.

Prof. Joanna Rytka, A. Białkowska, R. Gromadka, R. Kucharczyk, Dr Anna Kurlandzka, A. Migdalski, I. Smaczyńska, B. Babińska, M. Ostrowska (IBB), Analiza funkcjonalna nowoodkrytych ramek odczytu w genomie drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. – współpraca z Centre de Génétique Moléculaire, CNRS w Gif-sur-Yvette.

Dr Barbara Tudek, Dr Elżbieta Kraszewska, prof. Jarosław Kuśmerek, Ewa Borys, Maria Grąźiewicz (IBB). Powstawanie i naprawa oksydacyjnych uszkodzeń zasad i etenoadduktów DNA w komórkach roślinnych i ludzkich. – współpraca z Institut Goustave Roussy w Villejuif i Centre International de Recherche sur le Cancer w Lyonie.

Dr Anna Szkopińska, dr Ewa Świeżewska, dr Danuta Płochocka, Dorota Grabowska (IBB) i prof. Francis Karst (IBMIG). Badanie regulacji długości łańcuchów dolicholi u drożdży z zastosowaniem metod genetycznych i przestrzennego modelowania struktur białek. – współpraca z Institut de Biologie Moléculaire et d'Ingenierie Génétique w Poitiers.

Prof. Andrzej Jerzmanowski, Dr Marta Prymakowska-Bosak, Marcin Przewłoka, Piotr Koźbial, Jacek Lichota (IBER UW). Charakterystyka profilu transkrypcji i hydrodynamicznych właściwości chromatyny w roślinach transgeniczných tytoniu z obniżonym poziomem histonu H1. – współpraca z Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, CNRS w Strasburgu.

Prof. Piotr Węgleński, dr Piotr Borsuk, dr Agnieszka Dzikowska, Joanna Empel, Anna Grzelak (ZG UW). Genetyczna regulacja metabolizmu argininy i proliny u *Aspergillus nidulans*. – współpraca z Université Paris-sud w Orsay.

Dr Grzegorz Przewłocki (IBD), Joanna Lipecka (IBB), Anna Zakrzewska (UW) i dr Aleksander Edelman (CHU Necker). Badanie roślinnych RNA nową RNazą specyficzną do sekwencji. – współpraca z CHU Necker, CNRS, w Paryżu.

B. Programy rozpoczęte w roku 1999:

Kariona Grabińska, prof. Grażyna Palamarczyk, (IBB). Biosynteza dolicholi w komórkach eukariotycznych; badanie wzajemnej interakcji białek biorących udział w biosyntezie izoprenoidów w *Saccharomyces cerevisiae*. – współpraca z Institut de Biologie Moléculaire et d'Ingenierie Génétique w Poitiers.

Dr Anna Chelstowska, prof. Joanna Rytka, dr Monika Góra, Ewa Grzybowska (IBB) – kontynuacja tematu dr M. Góry. Regulacja szlaku biosyntezy hemu w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*: rola ferrochelatazy w wewnątrzkomórkowym transporcie hemu i żelaza; regulacja aktywności dekarboksylazy uroporfirynogenu III. – współpraca z Institut Jacques Monod, CNRS, Université Paris VII.

Dr Jerzy Smałowicz (IBB). Badania przy pomocy transkrypcji *in vitro* efektu obniżonej syntezy tRNA w mutantach drożdży nadprodukujących N-terminalny fragment C160 polimerazy III. – współpraca z Centre d'Energie Nucleaire w Saclay.

Dr Anna Kurlandzka, dr Teresa Żołądek, Agnieszka Białkowska, Monika Wysocka, Joanna Lipecka (IBB). Ekspresja w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae* heterologicznego genu kodującego kanał chlorkowy *CIC-2* oraz poszukiwanie białek oddziałujących z *pCIC-2*. – współpraca z Faculté de Medicine CHU Necker w Paryżu.

Dr Michał Sikorski, Luiza Handschuh, Alina Kasperska (IChB). Identyfikacja i analiza ekspresji genu kodującego brodawkowo-specyficzne białko klasy PR10 Łubinu żółtego. – współpraca z Institut des Sciences Végétales, CNRS w Gif-sur-Yvette i Laboratoire de Biologie Moléculaire des Relations Plantes-Microorganismes, INRA-CNRS w Castanet-Tolosan.

Dr Paweł Stróżycki, Alicja Akuszczyńska, Iwona Bicka i Ewa Sobieszczyk, Regulacja ekspresji genów białek biorących udział w procesie przyswajania i gospodarki żelazem w tkankach roślinnych. – współpraca z Institut National de la Recherche Agronomique et Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie w Montpellier.

Prof. Piotr Stepień, dr Paweł Golik, Andrzej Dziembowski (ZG UW) Badania nad ewolucją i funkcją genu SUV3 u spokrewnionych gatunków drożdży: *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces douglasi*. – współpraca z Centre de Génétique Moléculaire, CNRS w Gif-sur-Yvette.

Prof. Andrzej Jerzmanowski, Marcin Przewłoka, Piotr Koźbial (IBER UW) i Tomasz Sarnowski (IBB). Analiza lokalizacji tkankowej wariantów histonu H1 w trakcie rozwoju kwiatu tytoniu. – współpraca z Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, CNRS w Strasburgu.

Publikacje:

Bogatek R., Come D., Corbineau F., Picard M-A., Żarska-Maciejewska B., Lewak St. Sugar metabolism as related to the cyanide-mediated elimination of dormancy in apple embryos, *Plant Physiol. Biochem.*, 37 : 577-585, 1999.

Solecka D., Boudet A-M., Kasperska A. Phenylpropanoid and anthocyanin changes in low-temperature treated winter oilseed rape leaves. *Plant Physiol. Biochem.*, 37 : 491-496, 1999.

Solecka D., Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stress factors. *Acta Phys. Plant.*, 19 : 257-268, 1997.

Stróżycki P.M., Karłowski W.M., Legocki A.B., Dessaux Y., Petit A., Tempé J., Lupine hemoglobin (leghemoglobin I) and plant hemoglobin. *Plant Sci.* (1999) w druku.

Talarczyk E., Vo Si Hung, Kozłowski P., Trzcńska-Danielewicz J. and Świeżewska E., Ras protein of the slime mold *Physarum polycephalum* is farnesylated *in vitro*. *Acta Biochim. Polon.* 46, 771-775, 1999.

OGÓLNOINSTYTUTOWE SEMINARIA NAUKOWE W ROKU 1999

05.01.99

Dr Renata Natorff /Zakład Genetyki/

Geny regulacyjne metabolizmu siarkowego u *Aspergillus nidulans*.

12.01.99

Prof. Michel Rohmer /Universite Louis Pasteur, Institut Le Bel, Strasbourg Cedex, Francja/

The mevalonate-independent route to isopentenyl diphosphate in bacteria and plants: elucidation and distribution.

02.02.99

Dr Jarosław Cieśla /Zakład Biologii Molekularnej/

Lokalizacja i charakterystyka uszkodzeń indukowanych aldehydem chlorooctowym w ludzkim genie p53.

09.02.99

Dr hab. Stanisław Żołnierowicz /Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-AMG, Gdańsk/

Fosfataza fosfobiałek 2A-regulacja aktywności oraz rola w przenoszeniu sygnałów w komórce eukariotycznej.

16.02.99

Doc. dr hab. Zofia Zarębska /Zakład Biologii Molekularnej/

BHP z ultrafioletem.

23.02.99

Dr Aleksander Edelman /INSERM, Faculte de Medecine Necker, Paris Cedex, Francja/

Progress in studying the chloride channels in epithelia: the example of CFTR.

24.02.99

Dr Beata Łęcka - Czernik /Univ.of Arkansas for Medical Sciences, Dept.of Geriat., USA/

Rola PPAR 2 receptora jądrowego w starzeniu szpiku kostnego.

26.02.99

Prof. dr hab. Irena Szumiel /Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa/

Sygnalizacja komórkowa w odpowiedzi na promieniowanie jonizujące.

02.03.99

Mgr Andrzej Talarczyk /Zakład Biochemii Roślin/

Cząsteczki sygnałowe wykorzystywane przez rośliny podczas procesów patogenezы.

09.03.99

Mgr Konrad Zdanowski /Zakład Biofizyki/

Wczesne etapy zwijania białek na przykładzie BPTI.

30.03.99

Dr Paweł Parniewski /Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN, Łódź/
Mechanizmy i czynniki wpływające na genetyczną niestabilność ludzkich trójnukleotydowych sekwencji powtórzonych (TRS).

30.03.99

Dr Jacek Topczewski /Zakład Genetyki/
Danio rerio jako model wczesnego rozwoju kręgowców.

13.04.99

Mgr Izabela Sitkiewicz /Zakład Biochemii Drobnoustrojów/
Gen. regulacyjny *omega* plazmidu pSM19035.

20.04.99

Mgr Aneta Nowosielska /Zakład Biologii Molekularnej/
Mutacje adaptacyjne.

26.04.99

Dr Harvey Rubin /School of Medicine, University of Pennsylvania, USA/
How do serine proteases work ?

28.04.99

Dr Bruno Gronenborn /Institut des Sciences Vegetales CNRS, Gif-sur-Yvette, Francja/
Single-stranded DNA viruses of plants, a multipartite puzzle.

04.05.99

Prof. Grażyna Palamarczyk /Pracownia Glikobiologii Grzybów/
Regulacyjna rola GDP mannozy w biosyntezie glikokoniugatów.

05.05.99

Prof. Meir Edelman /The Weizmann Institute of Sciences, Rehovot, Israel/
Plant proteomics: the tentoxin binding site in ATPase, a Model Case.

11.05.99

Dr hab. Krystyna Grzelak /Zakład Biosyntezy Białka/
Ekspresja heterologicznych genów w komórkach *Pichia pastoris*.

18.05.99

Dr Gregory A. Bohach /University of Idaho, Moscow, USA/
Molecular aspects of staphylococcal pathogenesis.

25.05.99

Dr Danuta Płochocka /Pracownia Bioinformatyki/
Przykłady zastosowań modelowania molekularnego białek: syntaza farnezylowa, dehydrogenaza glukozowa oraz białko VPg.

01.06.99

Mgr Daniel Rabczenko /Zakład Statystyki, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa/
Statystyka w planowaniu eksperymentu i formułowaniu wniosków - możliwości i zagrożenia.

08.06.99

Mgr Marta Fikus /Pracownia Mutagenyzy i Reperacji DNA/
Efekt produktu genu DIN7 na stabilność mitochondrialnego DNA *S. cerevisiae*.

11.06.99

Prof. Gottfried Schatz /Biozentrum der Universität Basel, Szwajcaria/
Birth and death of mitochondrial proteins.

22.06.99

Dr Jacek Wójcik /Środowiskowe Laboratorium NMR/
Zastosowanie pomiarów szybkości wymiany protonów w badaniach strukturalnych białek i peptydów.

22.06.99

Dr Jacek Skowroński /Cold Spring Harbor, USA/
Białko Nef HIV zakłóca transmisję sygnałów i sortowanie białek.

29.06.99

Prof. Anita Hopper /The Pennsylvania State University, Hershey, USA/
Nucleus/cytosol exchange: genetic studies in *S. cerevisiae*.

02.08.99

Prof. Daniel Klessig /Waksman Institute, RUTGERS, USA/
Salicylic acid- and nitric oxide-mediated signal transduction in plant disease resistance.

09.08.99

Dr Barbara Shane /Louisiana State University, USA/
Mutagenicity of genotoxic and non-genotoxic carcinogens in Big Blue transgenic mice.

28.09.99

Dr M. Yarmolinsky /National Institutes of Health, Bethesda, USA/
On the function of pericentromeric silencing in a plasmid.

12.10.99

Dr M. Kruszewski /Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa/
Podłoże odwrotnej krzyżowej oporności komórek L5178Y na promieniowanie jonizujące i nadtlenek wodoru.

21.10.99

Prof. Christopher M. Thomas /University of Birmingham, U.K./
Lessons about plasmid evolution based on studies with IncP-1 and IncP-9 plasmids.

22.10.99

Prof. Ronald A. Butow /The University of Texas, Southwestern Medical Center, USA/
Cellular Responses to Mitochondrial Dysfunctions: From Genetics to Genomics.

26.10.99

Dr R. Kucharski /Zakład Genetyki UW/
Poszukiwanie genów odpowiedzialnych za plastyczność neuronów u pszczoły.

29.10.99

Prof. Hansjoerg Lehnerr /Uniwersytet w Odensee, Dania/

How does a bacteriophage cross the bacterial cell wall? The lytic transglycosylase of bacteriophage P1.

02.11.99

Mgr A. Wójcik /Zakład Biologii Molekularnej/

Efekty biologiczne indukowane światłem halogenowym w szczepach E.coli K12.

09.11.99

Dr R. Iwanicka-Nowicka /Zakład Biochemii Drobnoustrojów/

Niezwykła budowa M.(o)BssHII - prokariotycznej metylotransferazy DNA

(Sprawozdanie ze stażu naukowego w Max-Planck Institut für molekulare Genetik, Berlin, Niemcy)

16.11.99

Mgr R. Brodzik /Pracownia Fosforylacji Białek Roślinnych/

Mechanizm działania transferazy glutationowej przeciwdziałającej skutkom stresu oksydacyjnego - informacje ze struktury krystalicznej.

24.11.99

Dr Piotr Zimniak /Uniwersytet w Arkansas, USA/

Transgeniczne rośliny jako źródło szczepionki przeciwko *Helicobacter pylori*.

30.11.99

Mgr A. Konopińska /Zakład Genetyki/

Geny związane z translacją mitochondrialną zidentyfikowane jako supresory defektu w rybosomie mitochondrialnym u drożdży.

07.12.99

Dr Jacek Bardowski /Zakład Biochemii Drobnoustrojów/

Regulacja genetyczna u *Lactococcus lactis* - badania podstawowe i znaczenie aplikacyjne.

10.12.99

Dr Emanuel Jamet /CRJ-INRA, Jouy-en Josas, Francja/

Regulation of glycolytic genes in *L. lactis*.

14.12.99

Dr Anna Kurlandzka /Zakład Genetyki/

Kohezja chromatyd a formowanie kolonii drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.

21.12.99

Dr Maria Bretner /Pracownia Antymetabolitów/

Synteza i właściwości biologiczne nowego nukleozydowego inhibitora wirusa zapalenia wątroby typu B”
(Sprawozdanie ze stażu naukowego w University of Maryland Baltimore County)

22.12.99

Dr Anna Bębenek /Zakład Biologii Molekularnej/

Wierność replikacji polimerazy DNA faga RB69.

LISTA PUBLIKACJI

3368. SIEDLECKA, M., GOCH, G., EJCHART, A., STICHT, H., BIERZYŃSKI, A.
 α - Helix nucleation by a calcium-binding peptide loop.
Proc.Natl.Acad.Sci. (1999) 96, 903-908

3369. GÓRA, M., RYTKA, J., BOIS-LABBE, R.
 Activity and cellular location in *Saccharomyces cerevisiae* of chimeric mouse/yeast
 and *Bacillus subtilis*/yeast ferrochelataes.
Arch.Biochem.Biophys. (1999) 361, 231-240

3370. KICZAK, L., KOŚCIELSKA, K., OTLEWSKI, J., CZERWIŃSKI, M.,
 DADLEZ, M.
 Phage display selection of P1 mutants of BPTI directed against five different serine
 proteinases:
Biol.Chem. (1999) 380, 101-105

3371. WÓJCIK, A., JANION, C.
 Effect of Tn10/Tn5 transposons on the survival and mutation frequency of halogen
 light-irradiated AB1157 *Escherichia coli* K-12.
Mutagenesis (1999) 14, 129-134

3372. MACIEJEWSKA, U., SKIERSKI, J.S., SZCZERBAKOWA, A.
 Nuclear DNA content of *Solanum* species grown *in vitro*, as determined by flow
 cytometry.
Acta Physiol.Plant. (1999) 21, 37-43

3373. POZNAŃSKI, J., SODANO, P., SUH S.W., LEE J.Y., PTAK, M., VOVELLE, F.
 Solution structure of a lipid transfer protein extracted from rice seeds. Comparison
 with homologous proteins.
Eur.J.Biochem. (1999) 259, 692-708

3374. DZIKOWSKA, A., SWIANIEWICZ, M., TALARCZYK, A., WIŚNIEWSKA, M.,
 GORAS, M., SCAZZOCCHIO, C., WĘGLEŃSKI, P.
 Cloning, characterization and regulation of the ornithine transaminase (otaA) gene of
Aspergillus nidulans.
Curr.Genet. (1999) 35, 118-126

3375. DODZIUK, H., EJCHART, A., LUKIN, O., VYSOTSKY, O.
¹H and ¹³C NMR and molecular dynamics study of chiral recognition of camphor
 enantiomers by α -cyclodextrin.
J.Org.Chem. (1999) 64, 1503-1507

3376. DMOCHOWSKA, A., KALITA, K., KRAWCZYK, M., GOLIK, P.,
 MROCZEK, K., LAZOWSKA, J., STĘPIEŃ P.P., BARTNIK, E.
 A human putative Suv3-like RNA helicase is conserved between Rhodobacter and all
 eukaryotes.
Acta Biochim.Polon. (1999) 46, 155-162

3377. KRUSZEWSKA, J.
Heterologous expression of genes in filamentous fungi.
Acta Biochim.Polon. (1999) 46, 181-195
3378. EJCHART, A., JACKOWSKI, K., GRYFF-KELLER, A.
Magnetic shielding tensors of sp-hybridized carbons in butadiynyltrimethylsilane.
¹³C nuclear spin relaxation and *initio* study.
Bull.Pol.Ac.:Sci.Chem. (1999) 47, 78-81
3379. EJCHART, A.
Scalar couplings in structure determination of proteins.
Bull.Pol.Ac.:Sci.Chem. (1999) 47, 1-19
3380. ZDANOWSKI, K., DADLEZ, M.
Stability of the residual structure in unfolded BPTI in different conditions of temperature and solvent composition measured by disulphide kinetics and double mutant cycle analysis.
J.Mol.Biol. (1999) 287, 433-445
3381. BARTNIK, E., MROCZEK, K.
Choroby mitochondrialne - przyczyny i diagnostyka.
Medycyna Wieku Rozwojowego (1999) III 16-21
3382. WIECZOREK, Z., NIEDŹWIECKA-KORNAŚ, A., CHLEBICKA, L.,
JANKOWSKA, M., KIRAGA, K., STĘPIŃSKI, J., DADLEZ, M., DRABENT, R.,
DARŻYNKIEWICZ, E., STOLARSKI, R.
Fluorescence studies on association of human translation initiation factor eIF4E with mRNA cap-analogues.
Z.Naturforsch. (1999) 54c, 278-284
3383. HELLAND, R., OTLEWSKI, J., SUNDHEIM, O., DADLEZ, M., SMALÅS, A.O.
The crystal structures of the complexes between bovine β -trypsin and ten P₁ variants of BPTI.
J.Mol.Biol. (1999) 287, 923-942
3384. KACZANOWSKI, Sz., KIERZEK, A.M., ZIELENKIEWICZ, P.
Shuffling algorithm for protein design.
Protein and Peptide Lett. (1999) 6, 99-104
3385. KIERZEK, A.M., POKAROWSKI, P., ZIELENKIEWICZ, P.
Lattice simulations of protein crystal formation.
Biophys.Chem. (1999) 77, 123-137
3386. FELCZAK, M., BĘBENEK, A., PIETRZYKOWSKA, I.
The *isfA* mutation specifically inhibits the SOS-dependent mutagenic pathway and does not selectively affect any particular base substitution.
Mutagenesis (1999) 14, 295-300

3387. JAGURA-BURDZY, G., MACARTNEY, D.P., ZATYKA, M., CUNLIFFE, L., COOKE, D., HUGGINS, C., WESTBLADE, L., KHANIM, F., THOMAS, Ch.M.
Repression at a distance by the global regulator KorB of promiscuous IncP plasmids.
Mol. Microbiol. (1999) **32**, 519-532
3388. KAMIENSKA-TRELA, K., WÓJCIK, J.
Applications of spin-spin couplings.
Nucl. Magn. Reson. (1999) **28**, 151-207
3389. BRZESKI, J., PODSTOLSKI, W., OLCZAK, K., JERZMANOWSKI, A.
Identification and analysis of the *Arabidopsis thaliana* BSH gene, a member of the SNF5 gene family.
Nucleic Acids Res. (1999) **27**, 2393-2399
3390. JAGURA-BURDZY, G., KOSTELIDOU, K., POLE, J., KHARE, D., JONES, A., WILLIAMS, D.R., THOMAS, Ch.M.
IncC of boad-host-range plasmid RK2 modulates KorB transcriptional repressor activity in vivo and operator binding in vitro.
J. Bacteriology (1999) **9**, 2807-2815
3391. GRAZIEWICZ, M.A., ZASTAWNY, T.H., OLINSKI, R., TUDEK, B.
SOS-dependent A→G transitions induced by hydroxyl radical generating system hypoxanthine /xanthine oxidase/ Fe³⁺/EDTA are accompanied by the increase of Fapy-adenine content in M13 mp18 phage DNA.
Mutat. Res. (1999) **434**, 41-52
3392. KRUSZEWSKA, J.S., BUTTERWECK, A.H., KURZĄTKOWSKI, W., MIGDALSKI, A., KUBICEK, Ch.P., PALAMARCZYK, G.
Overexpression of the *Saccharomyces cerevisiae* mannosylphosphodolichol synthase-encoding gene in *Trichoderma reesei* results in an increased level of protein secretion and abnormal cell ultrastructure.
Appl. Environ. Microbiol. (1999) **65**, 2382-2387
3393. SAYERS, Z., BROUILLON, P., SVERGUN, D.I., ZIELENKIEWICZ, P., KOCH, M.H.J.
Biochemical and structural characterization of recombinant copper-metallothionein from *Saccharomyces cerevisiae*.
Eur. J. Biochem. (1999) **262**, 858-865
3394. KROWARSCH, D., DADLEZ, M., BUCZEK, O., KROKOSZYŃSKA, I., SMALAS, A.O., OTLEWSKI, J.
Interscaffolding additivity: binding of P₁ variants of bovine pancreatic trypsin inhibitor to four serine proteases.
J.Mol. Biol. (1999) **289**, 175-186
3395. ZIELENKIEWICZ, W., POZNAŃSKI, J.
Partial molar volumes-Insights into molecular structure.
J.Mol. Liq. (1999) **81**, 37-45

3396. KRZYMOWSKA, M.
Czynniki sygnalizujące roślinie obecność mikroorganizmu chorobotwórczego.
Post. Mikrobiol. (1999) **38**, 83-93
3397. GAVRYUSHOV, S., ZIELENKIEWICZ, P.
Electrostatics of a DNA-like polyelectrolyte: effects of solvent dielectric saturation and polarization of ion hydration shells.
J.Phys. Chem. B (1999) **103**, 5860-5868
3398. KĘDZIERSKA, S., STANISZEWSKA, M., WĘGRZYN, A., TAYLOR, A.
The role of DnaK/DnaJ and GroEL/GroES systems in the removal of endogenous proteins aggregated by heat-shock from *Escherichia coli* cells.
FEBS Lett. (1999) **446**, 331-337
3399. WĘGRZYN, A., WRÓBEL, B., WĘGRZYN, G.
Altered biological properties of cell membranes in *Escherichia coli dnaA* and *seqA* mutants.
Mol.Gen.Genet. (1999) **261**, 762-769
3400. GLINKOWSKA, M., WĘGRZYN, A., WĘGRZYN, G.
Letter to the editor. Replication of bacteriophage λ in the *Escherichia coli dnaA* Δrac hosts.
Genetics (1999) **151**, 1633-1635
3401. WĘGRZYN, A., WĘGRZYN, G.
Regulacja replikacji DNA bakteriofaga λ i plazmidów λ .
Post. Bioch. (1999) **45**, 5-11
3402. HAŁAS, A., POLICIŃSKA, Z., BARANOWSKA, H., JACHYMCZYK, W.J.
The essential DNA polymerases δ and ϵ are involved in repair of UV-damaged DNA in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*.
Acta Biochim. Polon. (1999) **46**, 289-298
3403. KRUSZEWSKA, J., JANIĆ, A., LENART, U., PALAMARCZYK, G.
Glycosylation defects corrected by the changes in GDPmannose level.
Acta Biochim. Polon. (1999) **46**, 315-324
3404. MICHALIK, J., SZOŁAJSKA, E.
Bakulowirusy - specyficzne wirusy owadzie. Budowa, infekcyjność i wykorzystanie w ekspresji obcych genów.
Post. Bioch. (1999) **45**, 137-142
3405. KIERDASZUK, B., KRAWIEC, K., KAZIMIERCZUK, Z., JACOBSON, U., JOHANSSON, N.G., MUNCH-PETERSEN, B., ERIKSSON, S., SHUGAR, D.
Substrate/inhibitor properties of human deoxycytidine kinase (dCK) and thymidine kinases (TK1 and TK2) towards the sugar moiety of nucleosides, including O' alkyl analogues.
Nucleosides & Nucleotides (1999) **18**, 1883-1903

3406. SHUGAR, D.
Viral and host-cell protein kinases: enticing antiviral targets and relevance of nucleoside and viral thymidine, kinases.
Pharmacol. Ther. (1999) 82, 315-335
3407. FELCZAK, K., MIAZGA, A., GOŁOS, B., RODE, W., SHUGAR, D., KULIKOWSKI, T.
Synthesis, conformation and biological properties of selenonucleosides.
Nucleosides & Nucleotides (1999) 18, 635-636
3408. JUSZCZUK, M., ZAGÓRSKI-OSTOJA, W., HULANICKA, D.
Mechanizm ekspresji genomu wirusów (+) RNA.
Post. Biochem. (1999) 45, 87-94
3409. SZWACKA, M., KRZYMOWSKA, M., MALEPSZY, S.
Thaumatococcus expression in transgenic cucumber plants.
In: **Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century**. Proceedings of the IXth International Congress of the International Association of Plant Tissue Culture and Biotechnology. Jerusalem, Israel, 14-19 June, 1998 Eds Altman A., Ziv M., Izhar S. Kluwer Academic Publishers, (1999) 609-612
Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture
3410. KUCHARCZYK, R., GROMADKA, R., MIGDALSKI, A., SŁOŃIMSKI, P.P., RYTKA, J.
Disruption of six novel yeast genes located on chromosome II reveals one gene essential for vegetative growth and two required for sporulation and conferring hypersensitivity to various chemicals.
Yeast (1999) 15, 987-1000
3411. BORSUK, P., DZIKOWSKA, A., EMPEL, J., GRZELAK, A., GRZEŚKOWIAK, R., WĘGLEŃSKI, P.
Structure of the arginase coding gene and its transcript in *Aspergillus nidulans*.
Acta Biochim. Polon. (1999) 46, 391-403
3412. SIENKO, M., PASZEWSKI, A.
The *metG* gene of *Aspergillus nidulans* encoding cystathionine β -lyase: cloning and analysis.
Curr. Genet. (1999) 35, 638-646
3413. DADLEZ, M.,
Folding initiation sites and protein folding.
Acta Biochim. Polon. (1999) 46, 487-508
3414. SIDOR, M., WÓJCIK, J., PAWLAK, D., IZDEBSKI, J.
Conformational analysis of a novel cyclic enkephalin analogue using NMR and EDMC calculations.
Ibid.: 641-650

3415. WÓJCIK, J., RUSZCZYŃSKA, K., ZHUKOV, I., EJCHART, A.
NMR measurements of proton exchange between solvent and peptides and proteins.
Ibid.: 651-663
3416. ZHUKOV, I., EJCHART, A.
Factors improving the accuracy of determination of ^{15}N relaxation parameters in proteins.
Ibid.: 665-671
3417. GOCH, G., KOZŁOWSKA, H., WÓJTOWICZ, A., BIERZYŃSKI, A.
A comparative CD and fluorescence study of a series of model calcium-binding peptides.
Ibid.: 673-677
3418. TALARCZYK, E., VO SI, H., KOZŁOWSKI, P., TRZCIŃSKA-DANIELEWICZ, J., ŚWIEŻEWSKA, E.
Ras protein of the slime mold *Physarum polycephalum* is farnesylated *in vitro*.
Ibid.: 771-775
3419. TUDEK, B., GRAZIEWICZ, M., KAZANOVA, O., ZASTAWNY, T.H., OBTUŁOWICZ, T., LAVAL, J.
Mutagenic specificity of imidazole ring-opened 7-methylpurines in M13mp18 phage DNA.
Ibid.: 785-799
3420. BURZYŃSKA, B., OLECH, W., TOPCZEWSKI, J.
Phylogeny and genetic variation of the European bison *Bison bonasus* based on mitochondrial DNA D-loop sequences.
Acta Theriol. (1999) **44**, 253-262
3421. SZESZKOWSKI, W., CIEŚLA, J., STOLARSKI, R., RODE, W., KULIKOWSKI, T.
Investigation of the ternary complex formed between recombinant rat hepatoma thymidylate synthase, FdUMP or S^4FdUMP and $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -methylene tetrahydrofolate with the use of ^1H and ^{19}F NMR.
Nucleosides & Nucleotides (1999) **18**, 865-866
3422. FELCZAK, K., MIAZGA, A., KULIKOWSKI, T.
Synthesis of novel acylo 6-phenylselenenyluracils - potential selective anti-HIV agents.
In: **Collection Symposium Series** (1999) **2**, 245-247
Chemistry of Nucleic Acid Components, XIth Symposium, Špindlerův Mlýn, Czech Republic, September 4-9, 1999
Eds Holý, A., Hocek, M.

3423. ŚLUSARCZYK, J., PRYMAKOWSKA-BOSAK, M., PRZEWŁOKA, M., JERZMANOWSKI, A., KURAS, M.
Ultrastructural organization of leaves of transgenic tobacco overexpressing histone H1 from *Arabidopsis thaliana*.
Annals of Botany (1999) 84, 329-335
3424. MICHALIK, J.
Produkcja białek heterologicznych w systemie ekspresyjnym bakulowirusa *in vitro*.
Konferencja Naukowa "Bakulowirusy w biotechnologii" Poznań 5.02.1999r.
Instytut Biologii Eksperymentalnej UAM, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności AR **Komunikat nr 2**
3425. van der PLOEG, J.R., IWANICKA-NOWICKA, R., BYKOWSKI, T., HRYNIEWICZ, M.M., LEISINGER, T.
The *Escherichia coli* *ssuEADCB* gene cluster is required for the utilization of sulfur from aliphatic sulfonates and is regulated by the transcriptional activator Cbl.
J.Biol.Chem. (1999) 274, 29358-29365
3426. TUDEK, B., KOWALCZYK, P., CIEŚLA, J.M.
Localization of chloroacetaldehyde- induced DNA damage in human *p53* gene by DNA polymerase finger - print analysis.
In: **Exocyclic DNA Adducts in Mutagenesis and Carcinogenesis** Eds Singer B., Bartsch H. IARC Scientific Publications No 150, Lyon 1999, p. 279-293
3427. ONO, B.I., HAZU, T., YOSHIDA, S., KAWATO, T., SHINODA, S., BRZYWCZY, J., PASZEWSKI, A.
Cysteine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*: a new outlook on pathway and regulation.
Yeast (1999) 15, 1365-1375
3428. BRZYWCZY, J., PASZEWSKI, A.
Cloning and characterization of the *Kluyveromyces lactis* homocysteine synthase gene.
Ibid.: 1403-1409
3429. FIKUS, M.
Zwierzęta transgeniczne.
W: Klonowanie człowieka. Fantazje. Zagrożenia. Nadzieje. pod red. B.Chyrowicz
Lublin 1999, Tow.Nauk. KUL Prace Wyd. Filozoficznego 79 Etyka i Technika s.95-106
3430. PRYMAKOWSKA-BOSAK, M., PRZEWŁOKA, M., ŚLUSARCZYK, J., KURAS, M., LICHOTA, J., JERZMANOWSKI, A.
Linker histones play a role in male meiosis and the development of pollen grains in tobacco.
The Plant Cell (1999) 11, 2317-2329
3431. PIERZYNOWSKA, J., GRZESIUK, E.,
Mutagenność i kancerogenność aflatoksyny AFB₁
Post.Biochem. (1999) 45, 313-319

3432. TUDEK, B.
Mechanizmy naprawy utlenionych zasad DNA. Glikozylazy 8-hydroksyguaniny i glikolu tyminy.
Kosmos (1999) **48**, 4 339-352
3433. JANION, C.
Mutageneza - uszkodzenia i naprawa DNA. (art.wstępny)
Ibid.: 289-292
3434. PIETRZYKOWSKA, I., KRWAWICZ, J.
Mechanizmy naprawy DNA u bakterii i człowieka.
Ibid.: 315-328
3435. BŁASZCZAK, A., GEORGOPOULOS, C., LIBEREK, K.
On the mechanism of FtsH-dependent degradation of the σ^{32} transcriptional regulator of *Escherichia coli* and the role of the DnaK chaperone machine.
Mol. Microbiol. (1999) **31**, 157-166
3436. KROCZYŃSKA, B., CIESIELSKI, A., STACHNIAK, K.
The nucleotide sequence of a cDNA encoding the AtTIR, a TIR-like resistance protein in *Arabidopsis thaliana* (Accession No AF188334) Plant Gene Register PGR99-172.
Plant Physiol. (1999) **121**, 1057
3437. FIKUS, M.
Klonowanie. Klonowanie ludzi?
Medycyna Wieku Rozwojowego, (1999), **3**, suppl. 1 do nr 3 51-53
3438. KRYSIK, C., MAZUŚ, B., BUCHOWICZ, J.
Relaxation, linearization and fragmentation of supercoiled circular DNA by tungsten microprojectiles.
Transgen. Res. (1990) **8**, 303-306
3439. JANION, C.
Mutageneza - uszkodzenia i naprawa DNA.(pod red. C.Janion)
Kosmos (1999) **48**, nr 3
3440. PERREAU, V.M., KEITH, G., HOLMES, W.M., PRZYKORSKA, A., SANTOS, M.A.S., TUIE, M.F.
The *Canadia albicans* CUG-decoding ser-tRNA has an atypical anticodon stem-loop structure.
J.Mol.Biol. (1999) **293**, 1039-1053
3441. STĘPIEŃ P.P.
Klonowanie - zagrożenie rzeczywiste czy pozorne?
Medycyna Wieku Rozwojowego (1999) **3**, suppl. 1 do nr 3 41-44

3442. WALCZAK, I., PAŁUCHA, A., JUSZCZUK, M., MUCHALSKI, T., SZYBIAK-STRÓŻYCKA, U.
Wirus M ziemniaka: klonowanie genomowych kopii izolatów o odmiennej patogenności.
Biotechnologia (1999) **3**, 169-177
3443. GOLANKIEWICZ, B., PERLOVICH, G., POZNAŃSKI, J., SITKOWSKI, J., STEFANIAK, L., ZEIDLER, J., ZIELENKIEWICZ, W.
Complexation of antiretroviral nucleosides 2', 3' - dideoxyinosine, 2', 3' - dideoxyadenosine and 2', 3' - dideoxyguanosine with β -cyclodextrin. A ^1H NMR study.
J.Chem.Soc.Perkin Transact. 2 (1999) 11 2533-2538
3444. BOBROWSKI, K., POZNAŃSKI, J., HOLCMAN, J., WIERZCHOWSKI, K.L.
Pulse radiolysis studies of intramolecular electron transfer in model peptides and proteins. 8. Trp[NH $\cdot$ +] $\rightarrow$ Tyr [O $\cdot$] Radical transformation in H-Trp-(Pro) $_n$ - Tyr-OH, $n = 3-5$, series of peptides.
J. Phys.Chem. B (1999) **103**, 10316-10324
3445. WANKE, M., DALLNER, G., ŚWIEŻEWSKA, E.
Subcellular localization of plastoquinone and ubiquinone synthesis in spinach cells.
Biochim. Biophys. Acta (1999) 1-7
3446. JANKOWSKI, W., JANSON, L.
Zawartość lipidów w nasionach świerka pospolitego, liczba kwasowa tłuszczu oraz optymalna wilgotność nasion przeznaczonych do długoterminowego przechowywania.
Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa , Seria A (1999) Nr 880 s.36-49
3447. JANSON, L., JANKOWSKI, W.
Suszenie nasion drzew leśnych.
Las Polski (1999) Nr 3 s.4-6
3448. BŁASZCZYK, A., BRODZIK, R., SIRKO, A.
Increased resistance to oxidative stress in transgenic tobacco plants overexpressing bacterial serine acetyltransferase.
The Plant Journal (1999) 20(2), 237-243
3449. JANIK, A., KRUSZEWSKA, J., LENART, U., SOSNOWSKA, M., PALAMARCZYK, G.
Overexpression of α -D-mannose-1-phosphate guanylttransferase encoding gene restores the viability of the *Saccharomyces cerevisiae* mutants affected in early steps of glycoconjugate formation.
In: Recent Advances in Carbohydrate Bioengineering, ed. H.J.Gilbert et al., Royal Society of Chemistry 35-42
3450. EJCHART, A.
Relaksacja jądrowa w badaniach dynamiki szkieletów białek.
W: Zjawiska relaksacji molekularnej. pod red. J.P.Hawranka, L.Sobczyk
Acta Universitatis Wratislaviensis No 2123 Wrocław 1999 117-134

3451. ŻYLICZ, M., WAWRZYNÓW, A., MARSZAŁEK, K., LIBEREK, B.,
BANECKI, B., KONIECZNY, I., BŁASZCZAK, A., BARSKI, P.,
JAKÓBKIEWICZ, J., GONCIARZ-SWIĄTEK, M., DUCHNIEWICZ, M.,
PUZEWICZ, J., KRZEWSKA, J.
Role of chaperones in replication of bacteriophage lambda DNA.
In: Molecular chaperones and folding catalysts (ed. Bukau, B.) Harwood Academic
Publishers, (1999) 295-311
 3452. JABŁOŃSKA-SKWIECIŃSKA, E., LEWANDOWSKA, I., PŁOCHOCKA, D.,
TOPCZEWSKI, J., ZIMOWSKI, J.G., KŁOPOCKA, J., BURZYŃSKA, B.
Several mutations including two novel mutations of the glucose-6-phosphate
dehydrogenase gene in polish G6PD deficient subjects with chronic nonspherocytic
hemolytic anemia, acute hemolytic anemia and favism.
Human Mutat. (1999) **14** 477-484
 3453. PASZEWSKI, A.
Czy klonować człowieka?
Medycyna Wieku Rozwojowego (1999) **3**, supl. 1 do nr 3 145-147
 3454. JERZMANOWSKI, A.
Klonowanie - spojrzenie biologa.
Ibid.: 45-50
 3455. ZAGÓRSKI-OSTOJA, W.
Repetitio est mater studiorum.
Ibid.: 157-160
 3456. HAŁAS, A., CIESIELSKI, A., ŻUK, J.
Involvement of the essential yeast DNA polymerases in induced gene conversion.
Acta Biochim. Polon. (1999) **46** 862-872
-
3457. KRYSIAK, C., MAZUŚ, B., BUCHOWICZ, J.
Generation of DNA double-strand breaks and inhibition of somatic embryogenesis
by tungsten microparticles in wheat.
Plant Cell, Tissue and Organ Cult. (1999) **58** 163-170

KOMUNIKATY I DONIESIENIA

- 1222/A JOUKOV, I., EJCHART, A.
¹⁵N relaxation study of backbone mobility in CMTI-I (M8L) protein.
8th Chianti Workshop on Magnetic Resonance. Nuclear and Electron Relaxation.
San Miniato (Pisa), Italy May 30 - June 5, 1999
Abstr.: p.67
- 1223/A EJCHART, A., ZIMNIAK, A., OSZCZAPOWICZ, I., WĄSOWSKA, M.
¹³C relaxation study of daunorubicin and its new formamidine derivative.
Ibid.: p.36
- 1224/A VO SI, H., ŚWIEŻEWSKA, E.
Rab prenyltransferase in plant cells.
4th European Symposium on plant isoprenoids. Barcelona, Spain, April 21-23, 1999
- 1225/A SKORUPIŃSKA, K., ŚWIEŻEWSKA, E., HERTEL, J., CHOJNACKI, T.
Long chain polyprenols and polyprenyl phosphates in plant tissues.
Ibid.:
- 1226/A BARDOWSKI, J.
Genetically modified lactic acid bacteria - a case of sugar catabolism.
102nd Event of the European Federation of Biotechnology. Food Biotechnology.
Zakopane. Poland 9-12 May 1999 p.19
- 1227/A ALEKSANDRZAK, T., KOWALCZYK, M., BARDOWSKI, J., KOK, J.
Regulation of carbon catabolism in *Lactococcus lactis*.
Ibid.: 26 A4
- 1228/A DOMAŃ, M., CZERNIEC, E., TARGOŃSKI, Z., BARDOWSKI, J.
Production and genetic regulation of an amylase in *Lactococcus lactis*.
Ibid.: 27 A5
- 1229/A SZWACKA, M., KRZYMOWSKA, M., KOWALCZYK, M., OSUCH, A.
Transgenic cucumber plants expressing the thaumatin gene.
Ibid.: 23 A1
- 1230/A BAL, W., WÓJCIK, J., MACIEJCZYK, M., KASPRZAK, K.S.
Structure determination of the N-terminal 15-peptide of human protamine HP2 by
nuclear magnetic resonance, distance geometry and simulated annealing.
11th Conversation in the Discipline Biomolecular Stereodynamics, 11-15 June 1999
Albany, USA
J. Biomol.Struct. Dynam. (1999) **16** p.1370-1371

- 1231/A MICHALIK, J., SZOŁAJSKA, STROKOVSKAYA, L., OSTOJA-ZAGÓRSKI, W.
Expression of viral, genome-linked protein, Vpg. in baculovirus eucariotic system.
Abstracts of the 26th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Nice, June 19-24, 1999
Biochimie suppl. 6 (1999) p.289
- 1232/A STROKOVSKAYA, L., MICHALIK, J., KIKHNO, I., SZOŁAJSKA, E., SOLOMKO, A., OSTOJA-ZAGÓRSKI, W.
Intra-and extracellular expression of human prolactin.
Ibid.: p.288
- 1233/A GRZESIUK, E., LAUBITZ, D., ZABIELSKI, R., PIERZYNOWSKI, S.G.
The influence of a myoelectrical migrating complex-related elektromagnetic field on the growth of *Escherichia coli* strains.
21th Meeting of Bioelectromagnetic Society, Long Beach, California, USA
June 20-24 1999
Abstract Book P-57
- 1234/A TALJAŃSKI, W., GRZESIUK, E., PIERZYNOWSKI, S.G., ZIMAK, J., PIEKARCZYK, A.
Wstępna ocena narażenia środowiska rodzinnego na niepożądane działanie leków cytostatycznych i ich metabolitów wydalanych przez pacjentów poddawanych chemioterapii.
I Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Farmakologii Klinicznej i Terapii.
Poznań 13-14.05.1999
Post. Farmakoterapii (1999) 1, 58-59
- 1235/A GRZESIUK, E., NOWOSIELSKA, A.
Spontaneous argE3→Arg+ reversions in stationary phase cultures of *Escherichia coli*.
Abstracts from EEMS-99 29th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society. 4-9 July, 1999
Pharmacology Toxicology (1999) 85, suppl. 1 p.19 **P-II-1**
- 1236/A NOWOSIELSKA, A., GRZESIUK, E.
Double defect: mutation in ϵ subunit of DNA polymerase III and deletion of SOS *umuDC* operon increases the rate of adaptive mutations in *Escherichia coli*.
Ibid.: **P-II-2**
- 1237/A GRZESIUK, E., GOZDEK, A., TUDEK, B.
Contribution of 7-MeGua and 3-MeAde in MMs induced mutagenesis in *Escherichia coli*.
Ibid.: **P-II-3**

- 1238/A KOTER, M., SYLLER, J., ZIMNOCH-GUZOWSKA, E., SLACK, S., HENNIG, J.
Transgenic potato expressing a truncated form of the PLRV replicase (ORF2) gene show replicase mediated protection against potato leafroll virus
9th International Congress, Amsterdam, July 26-30 1999
Mol. Plant-Microb. Interact. Book of Abstracts (1999) **12**, 136
- 1239/A WASZKOWSKA, E., ZAREBSKA, Z., POZNAŃSKI, J., ZHUKOV, I.
Spectroscopic detection of lecithin photoproducts after 8-methoxypsoralen plus UVA treatment
8th Congress European Society for Photobiology, Palacio de Exposiciones y Congresos
Granada, Spain 3-8 September 1999 Book of Abstracts **P143**
- 1240/A ALEKSANDRZAK, T., KOWALCZYK, M., KOK, J., BARDOWSKI, J.
CcpA-mediated genetic regulation of β -glucoside catabolism in *Lactococcus lactis*.
Sixth Symposium on **Lactic Acid Bacteria** Genetics, Metabolism and Applications, Veldhoven, the Netherlands 1999 September 19/23
Book of Abstracts FEMS
- 1241/A CZERNIEC, E., DOMAŃ, M., TARGOŃSKI, Z., BARDOWSKI, J.
Extracellular amylase production in *Lactococcus lactis*.
Ibid.:
- 1242/A SKORUPIŃSKA, K., VO SI, H., OLSZOWSKA, O., FURMANOWA, M., WANKE, M., CHOJNACKI, T., ŚWIEŻEWSKA, E.
Badania nad mechanizmami biosyntezy poliprenoli.
XXXV Zjazd P.T.Bioch. Olsztyn, 13-16 września 1999, abstr. **III-16** s.73
- 1243/A VÔ SI, H., ŚWIEŻEWSKA, E.
Rab geranylgeranyltransferase in wheat seedlings.
Ibid.: **III-17**
- 1244/A WANKE, M., ŚWIEŻEWSKA, E.
Rekonstrukcja układu *in vitro* transportu plastochinonu i ubichinonu w komórkach liści szpinaku.
Ibid.: **III-18**
- 1245/A POLKOWSKA, L., MACIEJEWSKA, U., WIELGAT, B.
Reakcje w błonach komórkowych w uprawnym i dzikim gatunkach ziemniaka w odpowiedzi na elicytor z *Phytophthora infestans*.
Ibid.: **III-12**
- 1246/A WĘGRZYN, A., WRÓBEL, B., WĘGRZYN, G.
Zmiany biologicznych właściwości błon komórkowych w mutantach *Escherichia coli dnaA i seqA*
Ibid.: **III-19**

- 1247/A GLINKOWSKA, M., WĘGRZYN, A., WĘGRZYN, G.
Replikacja bakteriofaga lambda w szczepach *Escherichia coli dnaA Δrac*
Ibid.: **IV-7**
- 1248/A GROMADKA, R., RYTKA, J.
Gen *KRR1* z drożdży *S. cerevisiae* koduje białko zaangażowane w składanie rybosomów.
Ibid.: **IV-8**
- 1249/A PRZEWŁOCKI, G., LIPECKA, J., EDELMAN, A., PRZYKORSKA, A.
Sequence-specific human RNase T84.
Ibid.: **IV-23**
- 1250/A SŁOMIŃSKA, M., WĘGRZYN, A., WĘGRZYN, G.
Rola białek DnA i SeqA w regulacji replikacji plazmidów λ i transkrypcji zachodzącej z promotora *p_R* bakteriofaga λ.
Ibid.: **IV-25**
- 1251/A SZOŁAJSKA, E., ZIEMNICKA, J., MICHALIK, J.
Wstępna charakterystyka genomu bakulowirusa SsMNPV.
Ibid.: **IV-27**
- 1252/A KŁUDKIEWICZ, B., GRZELAK, K., NIEDZIELA-MAJKA, A., OŻYHAR, A.
Ekspresja heterologicznych genów w komórkach drożdży *Pichia pastoris*.
Ibid.: **VI-8**
- 1253/A KRYSIK, C., MAZUŚ, B., BUCHOWICZ, J.
Uboczne skutki mikrowstrzeliwania cząstek wolframu opłaszczonych obcym DNA.
Ibid.: **VI-9**
- 1254/A CHOJNACKA, E., CZERNICKI, Z., GRIEB, P., HORSZTYŃSKI, D.,
JANKOWSKI, W., JÓŻWIK, A., MATYSIAK, Z., SIDOR, M.,
TOCZYŁOWSKA, B., WALECKI, J., WÓJCIK, J.
Widma ¹H-NMR rozpuszczalnych w wodzie metabolitów wyekstrahowanych z guzów centralnego układu nerwowego jako molekularny marker typu i złośliwości nowotworu.
Ibid.: **VII-2**
- 1255/A WIELGAT, B., SZCZERBAKOWA, A.,
Hybrydyzacja somatyczna pomiędzy dzikimi i uprawnymi gatunkami ziemniaka.
I Krajowy Kongres Biotechnologii, Wrocław 20-25 września 1999, 59-60
- 1256/A SZCZERBAKOWA, A., BORKOWSKA, M., MACIEJEWSKA, U.,
WIELGAT, B.
Hybrydy somatyczne *Solanum tuberosum* L.+ *Solanum nigrum* L.
Ibid.: s.50
- 1257/A MICHALIK, J.
Bakulowirusy i ich rekombinanty jako naturalne bioinsektycydy.
Ibid.: s.342-344

- 1258/A SZOŁAJSKA, E., ZIEMNICKA, J., MICHALIK, J.
Wstępna charakterystyka genomu bakulowirusa *białki wierzbówki*, *Stilpnotia salicis* (SsMNPV) jako bioinsektycydu.
Ibid.: s.281
- 1259/A MARCZEWSKI, W., FLIS, B., LEBECKA, R., SYLLER, J., HENNIG, J.,
TALARCYK, A., GEBHARDT, C., ZIMNOCH-GUZOWSKA, E.
Mapowanie i identyfikacja markerów molekularnych genów odporności na wirusy i bakterie w ziemniaku.
I Krajowy Kongres Biotechnologii Wrocław, 20-25 września 1999 Poster s.119
- 1260/A KLUDKIEWICZ, B., GRZELAK, K., NIEDZIELA-MAJKA, A., OŻYHAR, A.
Ekspresja genu białka USP w komórkach drożdży *Pichia pastoris*.
Ibid.: s.88
- 1261/A STROKOVSKAYA, L., GUŃKOVSKAYA, N., DUŻYJ, D., SOŁOMKO, A.,
SZOŁAJSKA, E., MICHALIK, J.
Wytwarzanie prolaktyny ludzkiej przez rekombinanta bakulowirusa w różnych owadzych liniach komórkowych.
Materiały Sesji Plakatowej BAKULOWIRUSY W BIOTECHNOLOGII
Poznań, 5.02.1999 UAM s.18-21
- 1262/A JANION, C.
Is adaptive mutagenesis, which occurs more frequently when beneficial than when neutral, a reflection of lag in phenotypic expression?
Abstracts from FEMS-99 29th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society 4-9 July, 1999
Pharmacology Toxicology (1999) **85**, suppl. 1 p.22 **P-II-14**
- 1263/A SPEJNA, E., CIEŚLA, J.M., GRAZIEWICZ, M.A., KUŚMIEREK, J.T., TUDEK, B.
The inhibitors of *E.coli* formamidopyrimidine - DNA glycosylase (fpg protein).
Ibid.: p.25 **P-IIIa-1**
- 1264/A KOWALCZYK, P., CIEŚLA, J., TUDEK, B.
Localisation of cyclic adducts to DNA bases in human p53 gene.
Ibid.: p.26 **P-IIIa-6**
- 1265/A TUDEK, B., MOSPAN, O., GRAZIEWICZ, M.A., ZASTAWNY, T., OLIŃSKI, R.,
SZODKOWSKA, J., RUDSIZKI, P., LIKHACHEV, A.
DNA repair enzyme activity and oxidative DNA damage in the tumours and normal lung tissues of lung cancer patients.
Ibid.: p.8 **W-Ia-3**
- 1266/A KOWALCZYK, P., CIEŚLA, J., TUDEK, B.
Localisation of chloroacetaldehyde induced DNA damage in human p53 gene by DNA polymerase fingerprint analysis.
7th International Students Scientific Conference 6-8 May 1999 Gdańsk, Poland
Abstract Book p.20

- 1267/A SPEINA, E., GRAZIEWICZ, M.A., CIEŚLA, J.M., KUŚMIEREK, J.T., TUDEK, B.
Search for the inhibitors of *E.coli* formamidopyrimidine-DNA glycosylase (FPG protein).
Ibid.: p.25
- 1268/A NATORFF, R., SIENKO, M., BRZYWCZY, J., PASZEWSKI, A.
The *Aspergillus nidulans* METR sulphur regular belongs to bZIP transcriptional factors.
Twentieth Fungal Genetics Conference March 23-28, 1999 California
Fungal Genetics Newsletter, vol. 46 suppl.
- 1269/A BIAŁKOWSKA, A., KURLANDZKA, A.,
Suppressors of *IRRI* - a gene involved in colony formation in *Saccharomyces cerevisiae*.
XIX International conference on yeast genetics and molecular biology, Rimini, Italy, 25-30 May 1999 p.179
- 1270/A GROMADKA, R., RYTKA, J.
The *KRR1* gene encodes protein involved in ribosome assembly.
Ibid.:p. 190
- 1271/A PLUTA, K., SZCZEŚNIAK, B., BOGUTA, M.
Functional analysis of the *MAF1* gene of *Saccharomyces cerevisiae* involved in tRNA biosynthesis and translation elongation.
Ibid.: p.207
- 1272/A CHACIŃSKA, A., ROSPERT, S., BOGUTA, M.
A mutant of the yeast mitochondrial protein Nam9 affects respiration in dependence on the level of cytosolic Hsp104.
Ibid.: p.280
- 1273/A FIKUS, M.U., MIECZKOWSKI, P.A., KOPROWSKI, P., RYTKA, J., ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA, E., CIEŚLA, Z.
The DNA damage-inducible gene of *Saccharomyces cerevisiae* *DIN7* encodes the protein which specifically functions in mitochondria.
Ibid.: p.351
- 1274/A MIECZKOWSKI, P.A., DAJEWSKI, W., GALUSZEWSKA, A., CIEŚLA, Z., ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA, E.
The *Saccharomyces cerevisiae* *UMP1* gene encoding the molecular chaperone specifically required for maturation of 20S proteasome, belongs to the family of DNA damage inducible *DIN* genes.
Ibid.: p.358
- 1275/A REMPOŁA, B., KANIAK, A., MIGDAŁSKI, A., RYTKA, J., SŁONIMSKI, P.P., di RAGO, J.P.
Functional analysis *RRD1* (YIL153w) and *RRD2* (YPL152w), two putative activators of phosphotyrosyl phosphatase activity of pp2a in *Saccharomyces cerevisiae*.
Ibid.: p.404

- 1276/A GAJEWSKA, B., KAMIŃSKA, J., JESIONOWSKA, A., HOPPER, A.K., MARTIN, N.C., ŻOŁĄDEK, T.
Functional analysis of WW domains of Rsp5p.
Ibid.: p.417
- 1277/A KAMIŃSKA, J., JESIONOWSKA, A., ŻOŁĄDEK, T.
Suppressors of *mdp1* mutations located in *RSP5* gene encoding ubiquitin protein ligase.
Ibid.: p.419
- 1278/A KUCHARCZYK, R., SŁONIMSKI, P., RYTKA, J.
Functional analysis of the newly discovered *Saccharomyces cerevisiae* gene *CCZ1* (*ORF YBR131w*).
Ibid.: p.421
- 1279/A JARUGA, P., TUDEK, B., SPEINA, E., OLIŃSKI, R.
Oxidative DNA base modifications analysed with repair enzymes and GC/MS technique.
4th Winter Research Conference, Valloire - France 21-26 Mars 1999
- 1280/A GAJEWSKA, B., KAMIŃSKA, J., JESIONOWSKA, A., HOPPER, A.K., MARTIN, N.C., ŻOŁĄDEK, T.
Studies on functions of WW domains of Rsp5p.
7th Conference on Cell Biology, 9 - 11 September, 1999 Kraków, Poland
Folia Histochemica et Cytobiologia. (1999) **37**, suppl. 1 p.9
- 1281/A BIAŁKOWSKA, A., KURLANDZKA, A.
Suppressors of *IRR1* - a gene involved in colony formation in *Saccharomyces cerevisiae*.
Ibid.: p.59
- 1282/A CHEŁSTOWSKA, A., RYTKA, J.
Yeast mutants provide a model to study human porphyria cutanea tarda.
Yeast genetics and Human Disease II. Vancouver, British Columbia, June 24-27, 1999
abstr. 140
- 1283/A KRUSZEWSKA, J., JANIK, A., LENART, U., PALAMARCZYK, G.
Overexpression of α -D-mannose-1-phosphate guanyltransferase encoding gene restores the viability of the *Saccharomyces cerevisiae* mutants affected in early steps of glycoconjugate formation.
3rd Carbohydrate Bioengineering Meeting, Lecture and Poster Abstracts, University of Newcastle Upon Tyne 11th -14th April 1999
- 1284/A KRUSZEWSKA, J.S., SALOHEIMO, M., MIGDALSKI, A., PENTTILÄ, M., PALAMARCZYK, G.
Isolation of a *Trichoderma reesei* cDNA encoding mannosylphosphodolichol (MPD) synthase.
Ibid.: 2.1

- 1285/A KRUSZEWSKA, J.S., SALOHEIMO, M., MIGDALSKI, A., PENTTILÄ, M., PALAMARCZYK, G.
Mannosylphosphodolichol synthase from *T.reesei* belongs to the human and *S.pombe* class of the enzyme.
6th International *Trichoderma-Gliocladium* Workshop 11-13.6.1999 Swedish-Finnish Cultural Centre, Hanasaari, Espoo, Finland p.40
- 1286/A GRABIŃSKA, K., BERGES, T., KARST, F., PALAMARCZYK, G.
Possible involvement of 26S proteasome in degradation of yeast farnesyl diphosphate synthase.
20th International Specialized Symposium on Yeasts. Yeast Cell Surfaces and Membrane Phenomena. May 23-27, 1999 Smolenice, Slovakia p.61
- 1287/A JANIK, A., SOSNOWSKA, M., KROTKIEWSKI, H., PALAMARCZYK, G.
GDPmannose corrects defect in the synthesis of dolichol-linked saccharides in *Saccharomyces cerevisiae*.
Ibid.: p.29
- 1288/A DOMAŃ, M., CZERNIEC, E., ALEKSANDRZAK, T., KOWALCZYK, M., BARDOWSKI, J.
Znaczenie katabolizmu węglowodanów u bakterii mlekowych w biotechnologii żywności.
XXX Sesja Naukowa Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN.
Nauka o Żywności na Progu XXI Wieku. Streszczenia Komunikatów. Kraków, 14-15 wrzesień 1999, IV-327
- 1289/A KROCZYŃSKA, B.
Higher plant homologues of the bacterial DnaJ proteins.
European Research Conferences. Biology of Molecular Chaperones. The role of molecular chaperones in protein biogenesis transport and misfolding.
Acquafredda di Maratea, Italy, May 22-27, 1999
- 1290/A ŚRUTKOWSKA, S., GABIG, M., WĘGRZYN, A., HERNENDEZ, P., SCHVARTZMAN, J.B., HELIŃSKI, D.R., WĘGRZYN, G.
Regulation of the bacteriophage λ switch from an early (theta) to a late (sigma) DNA replication mode.
Gordon Conference on Plasmid and Chromosome Dynamics, New London, NH, USA, 1-6 August 1999
- 1291/A GABIG, M., KUŹNICKA, A., CIEJKA, M., WĘGRZYN, G.
Regulacja rozwoju bakteriofaga λ w komórkach *Escherichia coli* w warunkach zbliżonych do naturalnego siedliska tych bakterii.
I Krajowy Kongres Biotechnologii, Wrocław 20-25 września 1999 Poster

- 1292/A SITKIEWICZ, I., ZIELENKIEWICZ, U., KERN, I., CEGŁOWSKI, P.
Plasmid addication system and copy number control of pSM19035 are under a common pathway of regulation.
First symposium of the EU-concerted action on "Mobile elements' contribution to bacterial adaptability and diversity" (MECBAD), Le Mont Ste. Odile, France
23-27 April 1999 p.53
- 1293/A HENNIG, J.,
Tobacco response to TMV infection is modulated by catalase activity.
Workshop on „Free radicals, nitric oxide and antioxidants in health and disease”,
Antalya, Turkey 18-24 September 1999 **P17** p.66
- 1294/A SZKOPIŃSKA, A., SKONECZNY, M., ŚWIEŻEWSKA, E.
Proliferation of peroxisomes by oleic acid induction affects dolichol synthesis in *S.cerevisiae*.
26th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies , Nice, June
19-24, 1999
Biochimie (1999) **81**, suppl. 6 p.133
- 1295/A KRWAWICZ, J., PIETRZYKOWSKA, I.
DNA sequence analysis of *lsusO₈* revertants UV-induced in a host permissive or nonpermissive for DNA replication.
Ibid.: p.126
- 1296/A KOPROWSKI, P., FIKUS, M.U., MIECZKOWSKI, P., RYTKA, J.
ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA, E., CIEŚLA, Z.
The product of the DNA damage-inducible gene of *S.cerwevisiae*, *DIN7*, specifically affects stability of mtDNA.
Ibid.: p.277
- 1297/A GALUSZEWSKA, A., MIECZKOWSKI, P., DAJEWSKI, W., CIEŚLA, Z.
ŚLEDZIEWSKA-GÓJSKA, E.
Induction of the expression of *Saccharomyces cerevisiae* *UMP1* gene in the response to DNA damage
Ibid.: p.276
- 1298/A LOOG, M., TOOMIK, R., SAK, K., MUSZYŃSKA, G., EK, P., JÄRV, J.
Peptide phosphorylation by Ca⁺⁺ - dependent protein kinase from maize seedlings.
Ibid.: p.259
- 1299/A LIWOSZ, A., SZCZEGIELNIAK, J., JURKOWSKI, I., DOBROWOLSKA, G.
MUSZYŃSKA, G.
Sensitivity of calcium - dependent protein kinase from maize seedlings to phospolipids.
Ibid.: p.259
- 1300/A MALISZEWSKA-TKACZYK, M., JONCZYK, P., BIAŁOSKÓRSKA, M.
Unequal fidelity of leading strand and lagging strand DNA replication in SOS-induced *Escherichia coli* cells.
Ibid.: p.127

- 1301/A GAWEL, D., JONCZYK, P., FIJAŁKOWSKA, I.J., SCHAAPER, R.M.
Fidelity of replication of leading and lagging DNA strands in the *Escherichia coli* *dnaX* mutator.
Ibid.: p.126
- 1302/A KULIKOWSKI, T., DZIK, J.M., FELCZAK, K., MIAZGA, A., RODE, W.
Interactions of 5-substituted N⁴ - hydroxy - 2' - deoxycytidine 5' - monophosphates with thymidylate synthase.
Ibid.: p.118
- 1303/A KULIKOWSKA, E., BZOWSKA, A., BRYSIK, A., HOLÝ, A., SHUGAR, D.
(S)-PMPA, a weak bisubstrate inhibitor of *E.coli* PNP.
Ibid.: p.118
- 1304/A PRZEWŁOCKI, G., LIPECKA, A., EDELMAN, A., PRZYKORSKA, A.
Sequence-specific RNase T84.
Ibid.: p.244
- 1305/A OLSZAK, K., KEITH, G., PRZYKORSKA, A.
The influence of Mg⁺⁺ ions on the Rn nuclease I activity.
Ibid.: p.121
- 1306/A BIERZYŃSKI, A., GOCH, G., OMELYANYUK, V., WÓJCIK, J.,
RUSZCZYŃSKA, K.
Short polyalanine α -helices nucleated by a calcium-binding loop.
The Protein Society Third European Symposium 19-22 September 1999,
Garnish-Partenkirchen, Germany
- 1307/A MROCZEK, K., NOWAK, M., BARTNIK, E.
Polymorphism analysis of mitochondrial DNA in polish population.
II Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka, Poznań, 24-26 maja 1999
P80 p.228
- 1308/A BARTNIK, E.
Telomery i telomeraza.
Kongres Witalności 16-17 września 1999, PKiN, Warszawa p.41
- 1309/A BARTNIK, E.
Mitochondria w starzeniu i chorobie.
Basic Sciences in Gynecology II 10-12 czerwiec, Lublin-Puławy 1999
Abstr. 61
- 1310/A MACIEJCZYK, M., RUDNICKI, W.R., LESYNG, B.
An effective potential for a mezosopic model of DNA.
11th Conversation in the Discipline Biomolecular Stereodynamics, 11-15 June 1999
Albany, USA
J.Biomol.Struct.Dynam. (1999) **16**, p.1341 Abstr. 146

- 1311/A PIETRZYKOWSKA, I., KRZAWICZ, J.
On the mechanism of UV-induced mutagenesis independent of DNA replication.
8th Congress European Society for Photobiology, Palacio de Exposiciones y
Congresos, Granada, Spain 3-8 September 1999 p.95
- 1312/A ZHUKOV, I., EJCHART, A.
Factors improving accuracy of ¹⁵N relaxation parameters in proteins.
Symposium on "Application of magnetic resonance in chemistry and related areas"
Institute of Organic Chemistry Polish Academy of Sciences. June 9-11, 1999
- 1313/A MIKOŁAJCZYK, M., AWOTUNDE, O.S., MUSZYŃSKA, G.,
DOBROWOLSKA, G.
Absciscic acid-independent protein kinases activated by osmotic stress.
Seventeenth Annual Symposium, Current Topics in Plant Biochemistry, Physiology
and Molecular Biology. April 14-17, 1999
- 1314/A GÓRA-SOCHACKA, A., ROSA, I., CANDRESSE, T., ZAGÓRSKI, W.
Transgenic potato plants carrying truncated cDNA copy of severe strain PSTVd.
NATO Advanced Research Workshop, October 17-21, 1999 Szeged, Hungary
- 1315/A ZAGÓRSKI, W., CHACHULSKA, A., LIPSKA-DWUŹNIK, A.
Molecular phylogeny as a tool for controlling potato virus Y spread.
Ibid.:
- 1316/A FLIS, B., CHACHULSKA, A., PAŁUCHA, A.
Performance of virus resistant transgenic potatoes.
Ibid.:
- 1317/A MILNER, M., HAENNI, A.L., ZAGÓRSKI, W., PAŁUCHA, A.
In vitro and *in vivo* expression of a PVY cDNA copy containing a truncated viral
polyprotein.
Septièmes Rencontres de Virologie Végétale, Mars 1999, Aussois, France
- 1318/A SADOWY, E., DAVID, Ch., GRONENBORN, B., HULANICKA, D.
In vivo efficient replication of PLRV genome from cloned cDNA.
Troisième Colloque des 3R: Réplication, Recombinaison, Réparation. Villejuif,
June 15-18, 1999
- 1319/A SADOWY, E., DAVID, Ch., GRONENBORN, B., HULANICKA, D.
Agroinfectious clones of potato leafroll virus.
Septièmes Rencontres de Virologie Végétale, Aussois. France 14-18 Mars 1999
- 1320/A JONCZYK, P., GAWEL, D., SCHAAPER, R.M., FIJAŁKOWSKA, I.J.
Fidelity of replication of leading and lagging DNA strands in the *E.coli*
chromosome.
ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis: Mechanism, Control, and
Biological Consequences, November 1-7, 1999 Hilton Head, South Carolina
B46 p.86

- 1321/A FIJAŁKOWSKA, I.J., GAWEL, D., JONCZYK, P., PHAM, P.T.,
SCHAAPER, R.M.
The asymmetry of mutagenesis during replication of leading and lagging DNA
strands in the *E.coli dnaX* mutator mutants.
Ibid.: **B48**
- 1322/A MALISZEWSKA-TKACZYK, M., BIAŁOSKÓRSKA, M., JONCZYK, P.
SCHAAPER, R.M., FIJAŁKOWSKA, I.J.
Unequal fidelity of leading and lagging strand DNA replication in SOS induced
E.coli cells.
Ibid.: **B49** p.87
- 1323/A. KAMIENSKA-TRELA, K., KANIA, L., BEHCICKA, M., KACZMAREK, Ł.
WÓJCIK, J.
Struktura układów poliheteroaromatycznych w świetle badań NMR.
Materiały XXXI Ogólnopolskiego Seminarium n.t. "Magnetycznego rezonansu
jądrowego i jego zastosowań" 1-2 grudnia 1998 Instytut Fizyki Jądrowej
- 1324/A PAWLAK, D., PACHULSKA, M., SIDOR, M., WÓJCIK, J., CHANG, N.N.,
SHILLER, P., W., IZDEBSKI, J.
"Cykliczne analogi peptydów opioidowych: synteza, aktywność i struktura"
XV Polskie Sympozjum Peptydowe Waplewo 2-4 września 1999
- 1325/A POZNAŃSKI, J.
Computer simulations of rice ns-LTP protein cavity flexibility.
I Krajowy Kongres Biotechnologii Wrocław 20-25 września 1999
- 1326/A POZNAŃSKI, J., CIEŚLA, J., RODE, W., KULIKOWSKI, T.
¹H and ¹⁹F nuclear magnetic resonance investigation of 2'-deoxy - N⁴-hydroxy -
5-fluorocytidine 5'-monophosphate and its ternary complex with rat thymidylate
synthase, and N⁵, N¹⁰ methylenetetrahydrofolate.
7th International Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy Gdańsk,
Poland 8-11 September 1999
- 1327/A MALTSEV, S.D., SIZOVA, O.V., DANILOV, L.L., SHIBAEV, V.N.,
JANKOWSKI, W., CHOJNACKI, T.
Analogues of dolichyl phosphate with modified anionic group: dolichyl sulfate and
H-phosphonate.
10th European Carbohydrate Symposium Galway, Ireland July 11-16, 1999
PD023 p.395
- 1328/A GOŁOS, B., ZIELIŃSKI, Z., RODE, W., FELCZAK, K., MIAZGA, A.,
WYSZYŃSKA, K., KULIKOWSKI, T.
Interactions with mammalian tumour thymidylate synthase of 2- or 4-seleno
analogues of dUMP and FdUMP and inhibition of tumor cell growth by the
corresponding nucleosides.
7th International Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy Gdańsk
Poland 8-11 September 1999 **Abstr. 35** p.104

- 1329/A GOŁOS, B., DZIK, J.M., FELCZAK, K., ZIELIŃSKI, Z., CIEŚLA, J., MIAZGA, A.
KULIKOWSKI, T., RODE, W.
Inhibition of mammalian tumour thymidylate synthase by 5-substituted N4-hydroxy -
2' - deoxycytidine - 5' - monophosphates and of tumour cell growth by the
corresponding nucleosides.
Ibid.: **Abstr. 51** p.120
- 1330/A BOROWSKI, P., MUELLER, O., SCHMITZ, H., SIEWCKA, M.A.,
KULIKOWSKI, T.
ATP-binding domain of *flaviviridae* RNA helicase as a target for antiviral therapy.
Ibid.: **Abstr. 56** p.127
- 1331/A JEŻEWSKA, M.M.
25 years of enzymatic diagnosis of Lesch-Nyhan syndrome in Poland.
7th Symposium of the European Society for the Study of Purine & Pyrimidine
Metabolism in Man (ESSPPMM), Gdańsk, Poland 15-19 September 1999
Cellular & Molecular Biology Letters (1999) 4 p.383
- 1332/A KULIKOWSKI, T.
Nucleoside analogues - inhibitors of HIV reverse transcriptase - current and
potential anti-AIDS drugs.
Multidyscyplinarna Konferencja Nauki o Leku Muszyna 3-5.03.1999 **Abstr. W-22**
- 1333/A TUDEK, B.
Lokalizacja cyklicznych adduktów zasad DNA w obrębie ludzkiego genu p53.
Gliwickie Spotkania Naukowe 1999. Struktura i funkcje genomu. 26-27 listopada
1999 Centrum Onkologii, Gliwice
- 1334/A GRAZIEWICZ, M.
Fapy-adenina, wpływ oksydacyjnej pochodnej adeniny na replikację DNA i jej
właściwości mutagenne.
Ibid.:
- 1335/A EJCHART A.
Nowe więzy strukturalne w białkach: resztkowe sprzężenia dipolowe i interferencja
mechanizmów relaksacyjnych.
XXXII Ogólnopolskie Seminarium na temat Magnetycznego Rezonansu Jądrowego i
jego Zastosowań., Kraków s.7
- 1336/A TOCZYŁOWSKA, B., KIERUL, K.
Analiza dwuwymiarowych widm protonowych płynu mózgowo-rdzeniowego.
Ibid.: s.31
- 1337/A ZHUKOV, I.
Comparison two techniques for evaluation of $^3J_{HN-H\alpha}$ coupling constants in protein
by nonlinear fits of J -modulated [^{15}N , ^1H] - HSQC experiments.
Ibid.: s.34

- 1338/A KAMIENSKA-TRELA, K., DĄBROWSKI, A., NIECZYPORUK, E.,
BERNATOWICZ, P., WÓJCIK, J.
Wpływ podstawnika na wielkość sprzężenia ${}^nJ_{CC}(n=1-3)$ i ${}^nJ_{CH}(n=1-4)$ w
pochodnych pirydyny. Analiza danych eksperymentalnych oraz obliczonych metoda
DET.
Ibid.: s.13
-
- 1339/A PASZEWSKI, A.
Regulation of sulfur amino acid biosynthesis in *Aspergillus nidulans*: Physiology and
genetics.
6th International Congress on Amino Acids, Niemcy Bonn 3-8 August 1999
Amino Acids (1999) **17** s.98-99
- 1340/A BRZESKI, J., PODSTOLSKI, W., OLCZAK, K., JERZMANOWSKI, A.
Chromatin remodeling in plants: *Arabidopsis thaliana* *B5H* gene, a member of the
SNF5.
1999 Meeting of International Research Scholars from Belarus, Czech Republic,
Estonia, Hungary, Latvia, Lithuania, Poland, Russia, Slovakia, and Ukraine
Moscow, Russia, June 22-25.1999
- 1341/A HULANICKA, M.D., SADOWY, E., JUSZCZUK, M., GRONENBORN, B.
ORF1 of potato leafroll virus encodes a serine proteinase indispensable for viral
replication.
XIth International Congress of Virology. International Union of Microbiological
Societies 9-13 August 1999 Sydney Convention Centre, Darling Harbour,
Sydney Australia **VW15.04**
- 1342/A SHUGAR, D.
Purine nucleoside phosphorylases: properties, functions and chemotherapeutic
applications.
7th Symposium of the European society for the Study of Purine and Piridine
Metabolism in Man (ESSPPMM), Gdańsk, Poland 15-19 September 1999.
Cellular & Molecular Biology Letters (1999) **4** 327-328
- 1343/A PASZEWSKI, A. (prześlą ze Szwajcarii)

TYTUŁY ROZPRAW HABILITACYJNYCH

- 116/N SIRKO Agnieszka
 Rola białka IHF w regulacji genów *Escherichia coli*. (The role of integration host (IHF) in regulation of gene expression in *Escherichia coli*.)
 Presented April 27, 1999
 Research done in the Department of Plant Biochemistry IBB PAS, Warszawa 1999
Publ.: Post.Biochem. (1998), 44 345-354; Mol..Microbiol. (1992) 6 2557-2563; J.Bacteriol. (1993) 175 5769-5777; Mol.Gen.Genet. (1998) 258 174-177; Gene (1996) 181 85-88; Biochimie (1998) 80 987-1001
- 117/N FIJAŁKOWSKA Iwona
 Mechanizmy kontrolujące wierność replikacji DNA w komórkach *Escherichia coli*. (The mechanisms responsible for fidelity of DNA replication in the *E.coli* strains.)
 Presented January 26, 1999
 Research done in Laboratory of Mutagenesis and DNA Repair, IBB PAS, Warszawa 1999
Publ: Genetics (1993), 134 1023-1030 : Genetics (1993), 134 1039-1044; Mutation Res. (1993), 292 175-185; J.Bacteriol.(1995), 177 5979-5986; Proc.Natl.Acad.Sci.USA,(1996) 93 2856-2861; J.Bacteriol. (1997), 179 7435-7445; Proc.Natl.Acad.Sci. (1998), 95 9718-9719.
- 118/N JONCZYK Piotr
 Mechanizmy indukowalnej mutagenazy w komórkach *Escherichia coli* (The mechanisms of inducible mutagenesis in the *E.coli* cells).
 Presented March 16, 1999
 Research done in Laboratory of Mutagenesis and DNA Repair, IBB PAS.
Publ: Proc.Natl.Acad.Sci. USA (1988), 85 9124-9127 : Molec.Gen.Genet.(1990) 221 251-255; Molec.Gen.Genet. (1995), 247 216-221; J.Bacteriol. (1996), 178 2580-2585; J.Bacteriol. (1998), 180 1563-1566
- 119/N DADLEZ Michał
 Wczesne etapy związania białek - badania inhibitora trypsyny z trzustki bydlęcej (BPTI). (Early stages of protein folding – the studies of bovine pancreatic trypsin inhibitor (BPTI))
 Presented November 23, 1999
 Research done in the Department of Biophysics IBB PAS.
Publ. Nature Struct.Biol. (1995) 2 674-679. Biochemistry (1996) 35 16153-16164 Biochemistry (1997) 36 2788-2797. Acta Biochim.Polon. (1997) 44 433-452 J.Mol.Biol. (1998) 275 503-513. J.Mol.Biol. (1999) 287 433-445

152/N ŻOŁĄDEK Teresa

Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* jako organizm modelowy w badaniu biosyntezy hemu i fototoksycznego działania porfiryn. (Yeast *Saccharomyces cerevisiae* a model organism in studies of heme biosynthesis and phototoxic effects of porphyrins).

Presented June 15, 1999

Research done in the Department of Genetics IBB PAS

Publ. Biochem.J. (1988) 253 109-116 Biochem.J. (1991) 273 246-247 Biochem.J. (1992) 753-757 Mol.Gen.Genet. 247 471-481 Photochem.Photobiol. (1996) 64 957-962 Photochem.Photobiol. (1997) 66 253-259

TYTUŁY PRAC DOKTORSKICH

- 120/N BRZESKI Jan
Klonowanie i analiza funkcjonalna homologa drożdżowego genu *SNF5* z *Arabidopsis thaliana*. (Cloning and functional analysis of the *Arabidopsis thaliana* homology of the yeast *SNF5* gene).
Presented March 16, 1999
Research done in the Department of Protein Biosynthesis IBB PAS
- 121/N KIERZEK Andrzej
Teoretyczny opis procesu krystalizacji białek .Siatkowe symulacje powstawania i wzrostu fazy uporządkowanej. (Theoretical description of the protein crystallization process. Lattice simulations of the formation and growth of the ordered phase.)
Presented April 26, 1999
Research done in the Department of Bioinformatics IBB PAS.
- 122/N SADOWY Ewa
Konstrukcja infekcyjnych klonów wirusa liściozwoju ziemniaka i analiza ich aktywności. (Construction of the infectious clones of potato leafroll virus and analysis of their activity.)
Presented April 27, 1999
Research done in the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS.
- 123/N WASZKOWSKA Ewa
Produkty fotoaddycji furokumaryn do fosfatydylocholiny. (Products of furocoumarins photoaddition to phosphatidylcholine.)
Presented October 5, 1999
Research done in the Department of Molecular Biology IBB PAS.
- 124/N SZCZEGIELNIAK Jadwiga
Kinaza białkowa z siewek kukurydzy zależna od wapnia i fosfolipidów. (Calcium and phospholipids dependent protein kinase from maize seedlings).
Presented October 5, 1999
Research done in the Laboratory of Protein Phosphorylation of Department of Plant Biochemistry IBB PAS.
- 125/N GRAZIEWICZ, Maria-Anna
Wpływ wolnych rodników na właściwości DNA i aktywność T4 ligazy DNA. (Free radical effect on biological properties of DNA and T4 DNA ligase activity).
Presented October 19, 1999
Research done in the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS.
- 126/N WÓJCIK, Anna
Efekty biologiczne indukowane światłem halogenowym w szczepach *Escherichia coli* K-12. (Biological effects induced by halogen light in *Escherichia coli* K-12).
Presented November 23, 1999
Research done in the Department of Microbial Biochemistry IBB PAS.

153/N GOLIK Paweł

Oddziaływania jądrowo-mitochondrialne u drożdży z rodzaju *Saccharomyces*
(Nucleo-mitochondrial interactions in the *Saccharomyces yeasts*).

Presented April 12, 1999

Research done in the Department of Genetics UW and Centre de Génétique
Moléculaire, CNRS w Gif sur Yvette

TYTUŁY PRAC MAGISTERSKICH
których części doświadczalne wykonano w pracowniach Instytutu

- 127/N BŁASZCZYK Anna
Nadprodukcja bakteryjnej acetylotransferazy serynowej w roślinach tytoniu.
(Overproduction of bacterial serine acetyltransferase in tobacco plants.)
Presented April 9, 1999
Research done in the Department of Plant Biochemistry IBB PAS and Laboratory of Plant Molecular Biology UW
- 128/N BULKOWSKA Urszula
Konstrukcja szczepów drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wyrażających metylotransferazę DNA z kręgowca. (Construction of *Saccharomyces cerevisiae* strains expressing DNA methyl transferase of vertebrates)
Presented June 18, 1999
Research done in the Department of Biology UW and Department of Genetics IBB PAS
- 129/N GRZMIL Michał
Niektóre regulacyjne i morfologiczne aspekty funkcjonalnej analizy genów *RRD1* and *RRD2* genes of *Saccharomyces cerevisiae*. (Morphological and regulatory aspects of the functional analysis of *RRD* and *RRD2* genes of *Saccharomyces cerevisiae*).
Presented June 28, 1999
Research done in the Department of Biology UW and Department of Biophysics IBB PAS
- 130/N NIŻANKOWICZ Anna-Maria
Oczyszczanie i charakterystyka roślinnej kinazy białkowej fosforylującej tyrozinę
(Purification and characterization of plant protein kinase phosphorylating tyrosine)
Presented July 8, 1999
Research done in the Department of Plant Biochemistry IBB PAS and Agricultural University of Warsaw.
- 131/N DUSIŃSKA Mirosława
Badanie zależności ekspresji genu *MAG1* od produktów genów punktów kontrolnych *POL2*, *RAD9*, *RAD24* u *Saccharomyces cerevisiae*. (Dependence of the expression of *MAG1* on the *POL2*, *RAD9*, *RAD24* "checkpoint" gene products of *Saccharomyces cerevisiae*.)
Presented July 9, 1999
Research done in the Department of Biology UW and Laboratory of Mutagenesis and DNA Repair IBB PAS

- 132/N STOLARCZYK Katarzyna
 Badanie interakcji białko-białko podjednostki β (DnaN) holoenzymu polimerazy III DNA *E.coli* w drożdżowym systemie dwuhybrydowym. (Studies of the protein-protein interaction of the β subunit (Dna N) of the *E.coli* DNA polymerase III holoenzyme, in the yeast two-hybrid system).
 Presented July 15, 1999
 Research done in the Department of Biology UW and Laboratory of Mutagenesis and DNA Repair IBB PAS
- 133/N KOSSOBUDZKI Piotr
 Izolacja i analiza wielokopijnych supresorów mutacji *mdp1/rsp5* drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. (Isolation and analysis of multicopy suppressors of *mdp/rsp5* mutation of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*).
 Presented August 2, 1999
 Research done in the Department of Genetics UW and the Department of Genetics IBB PAS
- 134/N BOROWSKA Magdalena
 Ekspresja genów *mpg1* i *dpml* trichoderma reesei kodujących mannozofosfoguaniltransferazę i syntazę mannozofosfodolicholu a sekrecja białek. (Expression of *mpg1* and *dpml* *trichoderma reesei* genes coding for mannophosphoguaniltransferase and mannosylphosphodolichol synthase and the protein secretion).
 Presented September 9, 1999
 Research done in the Department of Biology UW and Laboratory of Fungi Glycobiology of Department of Lipid Biochemistry IBB PAS
- 135/N WIŚNIEWSKA Anna
 Funkcja produktu ORFO w replikacji wirusa liściozwoju ziemniaka. (The function of the ORFO product in replication of potato leafroll virus).
 Presented July 15, 1999
 Research done in the Department of Biology UW and Department of Microbial Biochemistry IBB PAS
- 136/N WYSOCKA Monika
 Analiza funkcjonalna nowo odkrytego genu *YOR129c* w genomie *Saccharomyces cerevisiae*. (The functional analysis of the newly discovered gene *YOR129c* in *Saccharomyces cerevisiae* genome).
 Presented June 23, 1999
 Research done in the Department of Biology UW and Department of Genetics IBB PAS
- 137/N HEJDUK Arkadiusz
 Charakterystyka genu *metA* u *Aspergillus Nidulans*. (Characterisation of the *Aspergillus nidulans metA* gene).
 Presented August 13, 1999
 Research done in the Department of Biology UW and Department of Genetics IBB PAS

- 138/N KOWALCZYK Magdalena
Gen *ccpA* i jego wpływ na katabolizm cukrów u *Lactococcus lactis*. (The *ccpA* gene and the influence of *ccpA* protein on sugar catabolism in *Lactococcus lactis*)
Presented September 29, 1999
Research done in the Department of Genetics UW and Department of Microbial Biochemistry IBB PAS
- 139/N KRAKOWIAN Dominika
Klonowanie i ekspresja genów ureazy z *Helicobacter pylori* w bakteriach mlekowych. (Cloning and expression of urease genes from *Helicobacter pylori* in lactic acid bacteria).
Presented September 29, 1999
Research done in the Laboratory of Plant Molecular Biology UW and Department of Microbial Biochemistry IBB PAS
- 140/N OBTUŁOWICZ Tomasz
Powstawanie, charakterystyka i naprawa formamidopirymidyn. (Formation, characterisation and repair of formamidopyrimidines).
Presented September 13, 1999
Research done in the Department of Genetics UW and Department of Microbial Biochemistry IBB PAS
- 141/N ZIENKIEWICZ Maksymilian
Wpływ światła halogenowego na bakterie *Escherichia coli* z mutacją w genie *hemH*. (Influence of halogen light on *E. coli* mutated in *hemH*).
Presented September 27, 1999
Research done in the Department of Biology UW and Department of Molecular Biology IBB PAS
- 142/N TAFEL Agnieszka
Struktura domenowa mitochondrialnego białka rybosomalnego białka Nam 9 u drożdży. (The domain structure of mitochondrial ribosomal protein Nam 9 in yeast).
Presented December 10, 1999
Research done in the Department of Molecular Biology of the Plants UW and Department of Genetics, IBB PAS.
- 143/N GOZDEK Agnieszka
Naprawa uszkodzeń indukowanych MMS w szczepach *Escherichia coli* AB1157 w warunkach przejściowego głodzenia. (The repair of MMS - induced lesions in *Escherichia coli* AB1157 strains under starvation cs).
Presented September 22, 1999
Research done in the Department of Genetics UW and Department of Molecular Biology of IBB PAS
- 144/N NOWAK Magdalena
Polimorfizm miejsc restrykcyjnych w ludzkim mitochondrialnym DNA w populacji polskiej. (Restriction site polymorphism in human mitochondrial DNA in the Polish population).
Presented July 10, 1999
Research done in the Department of Genetics UW

- 145/N SPODAR Krystyna
Próba identyfikacji mutacji genu hSUV3 w populacji chorych z objawami cytopatii mitochondrialnej. (Attempt to identify hSUV3 gene mutations in patients with mitochondrial cytopathies).
Presented May 5, 1999
Research done in the Department of Genetics UW
- 146/N BARAŃSKA Anna
Lokalizacja genu poliedryny w bakulowirusie białki wierzbowki SsMNPV. (The localization of polyhedrin gene in *Stilgnotia salicis* SsMNPV).
Presented July 5, 1999
Research done in the Department of Biology UW and Department of Protein Biosynthesis IBB PAS
- 147/N ŻAK, Ewelina
Poszukiwanie supresorów delekcji sygnału kierowania do jądra białka Krr1p z *Saccharomyces cerevisiae*. (Isolation of suppressors of the deletion of nuclear localization sequence in *S. cerevisiae* Krr1p).
Presented October 12, 1999
Research done in the Laboratory of Plant Molecular Biology UW and Department of Protein Biosynthesis IBB PAS
- 148/N PTASZYŃSKA Aneta
Badanie udziału produktu genu *UMP1 (DIN8)* w odpowiedzi *Saccharomyces cerevisiae* na uszkodzenia DNA. (The role of the *UMP1 (DIN8)* gene in the *Saccharomyces cerevisiae* response to DNA damage).
Presented September 29, 1999
Research done in the Department of Biology and Earth Sciences, The Maria Curie-Skłodowska Memorial University, Lublin and Laboratory of Mutagenesis and DNA repair.
- 149/N SIDOR Marta
Konformacje cyklicznych analogów enkefaliny w roztworze wyznaczone za pomocą magnetycznego rezonansu jądrowego. (Conformations of cyclic enkephalin analogs in solution by means of nuclear magnetic resonance).
Presented June 8, 1999
Research done in the Department of Physics UW and Laboratory of Biological NMR IBB PAS
- 150/N MIŃCZUK Michał
Ukierunkowana mutageneza regionu regulatorowego operonu syntezy pirymidyn w *Thermus* ZO5. (Genetic analysis of the regulatory region of the pyrimidine gene cluster from the extreme thermophile *Thermus* strain ZO5 using site-directed mutagenesis)
Presented June 21, 1999
Research done in the Department of Genetics, UW and Department of Microbiology, Vrije Universiteit Brussel, Belgium

- 151/N ONYSZCZUK Katarzyna
 Udział kinaz białkowych w przenoszeniu sygnałów stresu osmotycznego u roślin.
 (Protein kinases involved in osmotic stress signal transduction in plants).
 Presented June 23, 1999
 Research done in the Department of Biochemistry Warsaw Agriculture University
 and Departament of Plant Biochemistry IBB PAS
- 154/N RUSZCZYŃSKA Katarzyna
 Badanie magnetycznego rezonansu jądrowego struktur i stabilności analogów III
 pętli białka kalmoduliny. (NMR study of structure and stability of analogs of the III
 ref binding loop of calmodulin).
 Presented June 8, 1999
 Research done in the Laboratory of Biological NMR IBB PAS
- 155/N KRYSIUK Norbert
 Konstrukcja systemu chromosomalnego do badania częstości powstawania delecji w
 trakcie replikacji chromosomalnego DNA na nici prowadzącej i opóźnionej w
Escherichia coli. (The construction of chromosomal system which allows
 measurement of deletions frequency during DNA replication on leading and lagging
 strands in *E.coli* chromosom).
 Presented June 28, 1999
 Research done in the Department of Biology UW and Laboratory of Mutagenesis
 and DNA Repair IBB PAS
- 156/N BUGAJSKA Olga
 Wewnątrzkomórkowe oddziaływania białka ParB z DNA podczas aktywnej partycji
 plazmidu P1 do komórek potomnych. (Intracellular interactions of ParB protein with
 DNA during active partitioning of P1 plasmid to daughter cells).
 Presented June 8, 1999
 Research done in the Institute of Microbiology UW and Department of Microbial
 Biochemistry IBB PAS
- 157/N LICHOTA Katarzyna
 Badanie właściwości kodujących izoguanozyny. (Study of coding properties of
 isoguanosine).
 Presented December 10, 1999
 Research done in the Department of Molecular Biology UW and Department of
 Molecular Biology IBB PAS

PUBLIKACJE W DRUKU

1. ZHUKOV, I., JAROSZEWSKI, Ł., BIERZYŃSKI, A.
Conservative mutation Met8→Leu affects the folding process and structural stability of squash trypsin inhibitor CMTI-I