



# INSTYTUT CHEMII BIOORGANICZNEJ

## Polskiej Akademii Nauk



# SPRAWOZDANIE

## z działalności w roku 2017

## SPIS TREŚCI

---

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Informacje ogólne</b> .....                                                                                                        | 3  |
| Dyrekcja .....                                                                                                                        | 3  |
| Uprawiane specjalności naukowe .....                                                                                                  | 3  |
| Struktura organizacyjna .....                                                                                                         | 3  |
| Zatrudnienie .....                                                                                                                    | 5  |
| Międzynarodowy Zespół Doradczy .....                                                                                                  | 6  |
| Działalność publikacyjna .....                                                                                                        | 6  |
| Działalność naukowa .....                                                                                                             | 6  |
| Dotacje, finansowanie projektów badawczych, inwestycyjnych .....                                                                      | 6  |
| Rozwój kadry naukowej .....                                                                                                           | 7  |
| Studia doktoranckie .....                                                                                                             | 9  |
| Uczestnicy innych form kształcenia .....                                                                                              | 9  |
| Działalność patentowa .....                                                                                                           | 9  |
| Działalność wydawnicza .....                                                                                                          | 11 |
| Nagrody i wyróżnienia .....                                                                                                           | 11 |
| Organizacja seminariów i konferencji naukowych .....                                                                                  | 12 |
| Najważniejsze osiągnięcia .....                                                                                                       | 13 |
| Pozostałe ważne wyniki .....                                                                                                          | 15 |
| <b>Działalność statutowa</b> .....                                                                                                    | 18 |
| Tematy i zadania statutowe realizowane w roku 2017 .....                                                                              | 18 |
| Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców<br>oraz uczestników studiów doktoranckich .....                                   | 19 |
| Informacja o wykorzystaniu dotacji na finansowanie kosztów związanych<br>z utrzymaniem specjalnego urządzenia badawczego (SPUB) ..... | 21 |
| <b>Projekty badawcze realizowane w roku 2017</b> .....                                                                                | 23 |
| <b>Opis działalności naukowej</b> .....                                                                                               | 32 |
| Zakład Biochemii RNA .....                                                                                                            | 32 |
| Zakład Bioinformatyki .....                                                                                                           | 36 |
| Zakład Biologii Chemicznej .....                                                                                                      | 41 |
| Zakład Biologii Integratywnej .....                                                                                                   | 44 |
| Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej .....                                                                                       | 46 |
| Zakład Biomedycyny Molekularnej .....                                                                                                 | 56 |

|                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych.....                             | 63  |
| Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów .....                                               | 70  |
| Zakład Genetyki Molekularnej.....                                                           | 75  |
| Zakład Krystalografii – Centrum Badań Biokrystalograficznych.....                           | 81  |
| Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł.....                                                  | 87  |
| Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych .....                                              | 89  |
| Zakład Chemii Biopolimerów .....                                                            | 92  |
| Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin .....                                                 | 95  |
| Zakład Genomiki Strukturalnej RNA.....                                                      | 98  |
| Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin.....                                               | 102 |
| Zakład Neurobiologii Molekularnej.....                                                      | 105 |
| Zakład Biochemii Produktów Naturalnych.....                                                 | 107 |
| Zakład Biologii Medycznej .....                                                             | 112 |
| Zakład Biosyntezy Białka.....                                                               | 114 |
| Zakład Chemii Kwasów Nukleinowych.....                                                      | 117 |
| Zakład Epigenetyki.....                                                                     | 118 |
| Zakład Struktury i Funkcji RNA .....                                                        | 124 |
| Spis publikacji.....                                                                        | 127 |
| Współpraca naukowa z partnerami krajowymi.....                                              | 143 |
| Współpraca naukowa z partnerami zagranicznymi.....                                          | 151 |
| Najważniejsze osiągnięcia PCSS.....                                                         | 156 |
| <b>Załączniki</b> .....                                                                     | 165 |
| Załącznik 1. Skład Rady Naukowej kadencji 2015-2018.....                                    | 165 |
| Załącznik 2. Struktura organizacyjna zakładów naukowych ICHB PAN (2017) .....               | 166 |
| Załącznik 3. Seminaria Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN.....                             | 167 |
| Załącznik 4. Program „Nauki na wakacjach” .....                                             | 170 |
| Załącznik 5. Plakat i program konferencji „INSTYTUT wart POZNANIA” .....                    | 171 |
| Załącznik 6. Program konferencji Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego<br>RNA–RNA: RUN..... | 173 |
| Załącznik 7. Program spotkań w ramach Poznańskiego Klubu RNA.....                           | 175 |

# INFORMACJE OGÓLNE

---

## Dyrekcja

---

Dyrektor: PROF. DR HAB. MAREK FIGLEROWICZ

Zastępca Dyrektora ds. Naukowych: DR HAB. MICHAŁ SOBKOWSKI, PROF. ICHB PAN

Zastępca Dyrektora ds. Ogólno-Administracyjnych: MGR MAŁGORZATA RADWAŃSKA-BORUCKA

Zastępca Dyrektora ds. Koordynacji Badań: MGR JULIA BRZOSKA-KARWAT

Zastępca Dyrektora ds. Finansowych: MGR ADAM KUBASIŃSKI

## Uprawiane specjalności naukowe

---

- Chemia bioorganiczna i strukturalna kwasów nukleinowych
- Krystalografia białek, kwasów nukleinowych i związków niskocząsteczkowych
- Biologia molekularna i inżynieria genetyczna
- Biomedycyna
- Genomika
- Metabolomika i proteomika
- Bioinformatyka
- Technologie informatyczne i sieciowe

## Struktura organizacyjna

---

W wyniku restrukturyzacji przeprowadzonej w roku 2016 w Pionie Zakładów Naukowych wyróżniono trzy typy jednostek organizacyjnych:

- **Zakłady Wiodące (ZW)** – stanowiące trzon badawczy Instytutu kierowane przez doświadczonych profesorów. Maksymalna liczba etatów opłacanych ze środków statutowych w ZW wynosi 7.
- **Zakłady Młodych Liderów (ZML)** – zakłady kierowane przez młodych pracowników rozpoczynających karierę naukową (dotorzy, doktorzy habilitowani). Podlegają one okresowej ocenie, w wyniku której mogą zostać utrzymane, przekształcone w Zakład Wiodący lub rozwiązane. Maksymalna liczba etatów opłacanych ze środków statutowych w ZML wynosi 4.
- **Zakłady Senioralne (ZS)** – przeznaczone dla emerytowanych profesorów kontynuujących pracę naukową. Maksymalna liczba etatów opłacanych ze środków statutowych w ZS wynosi 2.

W 2017 r. dokonano zmian w ramach struktury organizacyjnej Instytutu w Pionie Zakładów Naukowych i w Pionie Pracowni Specjalistycznych (Zarządzenie nr 24/09/2017 Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN z dnia 27.09.2017 r.). Wprowadzone w 2016 r. zmiany w Statucie ICHB PAN dają Dyrektorowi Instytutu prawo do: zmiany nazwy Zakładu/Pracowni, powołania/likwidacji Zakładu/Pracowni poprzez wydanie odpowiedniego zarządzenia.

### **Najistotniejsze zmiany organizacyjne wprowadzone decyzją Dyrektora w 2017 r.**

- Powołano:
  1. Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (01.01.2017 r.)
  2. Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (01.01.2017 r.)
  3. Zakład Neurobiologii Molekularnej i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (01.01.2017 r.)
  4. Zakład Genomiki Strukturalnej RNA i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (01.01.2017 r.)
  5. Zakład Biologii Integratywnej i przyznano mu kategorię Zakładu Wiodącego (01.08.2017 r.)
  6. Zakład Chemii Biopolimerów i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (01.09.2017 r.)
  7. Pracownię Analiz Wysokoprzepustowych afiliowaną przy Zakładzie Biochemii Produktów Naturalnych (01.09.2017 r.)
  8. Pracownię Modelowych Organizmów Zwierzęcych afiliowaną przy Zakładzie Biologii Integratywnej (01.09.2017 r.)
  9. Pracownię Sond Molekularnych i Proleków afiliowaną przy Zakładzie Biologii Chemicznej (01.09.2017 r.)
- Rozwiązano Pracownię Projektowania i Syntezy Biopolimerów (01.09.2017 r.),
- Zmieniono kategorię Zakładu Epigenetyki z kategorii Zakładu Wiodącego na kategorię Zakładu Senioralnego (01.09.2017 r.).

W 2017 r. wyniku przeprowadzonych zmian, w Instytucie działało: 11 ZW, 6 ZS i 6 ZML, oraz 10 pracowni specjalistycznych. Dla porównania, 31 grudnia 2016 r. było to: 17 zakładów (12 ZW, 4 ZS i 1 ZML) i 8 pracowni.

W skład Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w 2017 r. wchodziły następujące jednostki organizacyjne:

#### **I. Instytut**

##### **1. Pion Zakładów Naukowych**

- Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów (prof. dr hab. Jerzy Boryski),
- Zakład Chemii Kwasów Nukleinowych (prof. dr hab. Adam Kraszewski),
- Zakład Biologii Chemicznej (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz),
- Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych (prof. dr hab. Ryszard Kierzek),
- Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych (dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN),
- Zakład Biochemii RNA (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka),
- Zakład Biosyntezy Białka (prof. dr hab. Tomasz Twardowski),

- Zakład Biochemii Produktów Naturalnych (prof. dr hab. Maciej Stobiecki),
- Zakład Biomedycyny Molekularnej prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak,
- Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej (prof. dr hab. Marek Figlerowicz),
- Zakład Biologii Integratywnej (dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN),
- Zakład Genetyki Molekularnej (dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN),
- Zakład Struktury i Funkcji RNA (prof. dr hab. Ryszard Adamiak),
- Zakład Krystalografii – Centrum Badań Biokrystalograficznych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski),
- Zakład Bioinformatyki (prof. dr hab. Jacek Błażewicz),
- Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł (prof. dr hab. Wojciech Rypniewski),
- Zakład Biologii Medycznej (prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska),
- Zakład Epigenetyki (prof. dr hab. Jan Barciszewski),
- Zakład Neurobiologii Molekularnej (dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN),
- Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin (dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB ),
- Zakład Genomiki Strukturalnej RNA (dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN),
- Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin (dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN),
- Zakład Chemii Biopolimerów (dr hab. Marcin Chmielewski, prof. ICHB PAN).

## **2. Pion Pracowni Specjalistycznych (zgrupowanych w trzy centra)**

### *Centrum Biologii Strukturalnej:*

- Pracownia Biomolekularnego NMR (prof. dr hab. Zofia Gdaniec),
- Pracownia Inżynierii Białek (dr Anna Urbanowicz),
- Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych (dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN).

### *Centrum Multiomiczne:*

- Pracownia Spektrometrii Mas (dr Łukasz Marczak),
- Pracownia Modelowych Organizmów Zwierzęcych (dr Agata Tyczewska),
- Pracownia Genomiki (dr Luiza Handschuh),
- Pracownia Hodowli Komórkowych i Tkankowych (dr Paweł Stróżycki).

### *Centrum Wysokoprzepustowych Badań Przesiewowych:*

- Pracownia Projektowania i Syntezy Biopolimerów (dr hab. Marcin K. Chmielewski, prof. ICHB PAN) (rozwiązana 31.08.2017 r.),
- Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych (dr hab. Tomasz Ostrowski, prof. ICHB PAN),
- Pracownia Sond Molekularnych i Pro-leków (dr Jacek Kolanowski),
- Pracownia Analiz Wysokoprzepustowych (dr Radosław Pilarski).

## **3. Studium Doktoranckie (prof. dr hab. Adam Kraszewski).**

## **4. Obsługa administracyjna.**

## **II. Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe (prof. dr hab. Jan Węglarz)**

### **Zatrudnienie**

---

ICHB PAN zatrudniał 567 pracowników (stan na 31.12.2017 r.). Liczba ta obejmuje: 283 pracowników zatrudnionych w Instytucie oraz 284 zatrudnionych w afiliowanym przy Instytucie Poznańskim Centrum Superkomputerowo-Sieciowym (PCSS):

- 20 profesorów zwyczajnych,
- 20 profesorów nadzwyczajnych ze stopniem dr hab.,

- 42 adiunktów, w tym 4 ze stopniem dr hab. i 38 ze stopniem dr,
- 19 asystentów,
- 184 pozostałych (oraz 283 PCSS), w tym 68 pracowników inżynieryjno-technicznych i technicznych w Zakładach i Pracowniach.

Zatrudnienie średnioroczne: Instytut – 250,04 etatów, PCSS – 227,25 etatów.

### **Międzynarodowy Zespół Doradczy**

---

Michael J. Gait, MRC Div. of Protein & Nucleic Acid Chemistry, Cambridge, Wielka Brytania

Dino Moras, Louis Pasteur University, Strasbourg, Francja

Dieter Söll, Yale University, New Haven, Stany Zjednoczone

Douglas H. Turner, Rochester University, Rochester, Stany Zjednoczone

Eric Westhof, Louis Pasteur University, Strasbourg, Francja

### **Działalność publikacyjna**

---

W 2017 r. pracownicy ICHB PAN opublikowali łącznie 117 prac naukowych, w tym:

- artykuły, rozprawy w czasopismach naukowych – 112 (w tym 102 w czasopismach recenzowanych, wyróżnionych przez *Journal Citation Reports*);
- książki i rozdziały – 5;
- redakcja monografii lub podręcznika – 2.

### **Działalność naukowa**

---

W roku sprawozdawczym w Instytucie realizowano:

- 32 zadania zgrupowane w 21 działach tematycznych,
- 42 tematy badań młodych naukowców finansowanych w ramach działalności statutowej, w tym 4 kontynuowane (z 2016 r.),
- 76 projektów, w tym: NCN – 67, MNiSW – 1, NCBR – 3; FNP – 2; Program Operacyjny Inteligentny Rozwój – 1; projekty zagraniczne – 2.

Informacje nt. projektów realizowanych przez PCSS znajdują się na str. 163-164.

### **Dotacje, finansowanie projektów badawczych, inwestycyjnych**

---

Dotacja statutowa – utrzymanie potencjału badawczego: 14 507,94 tys. zł

Dotacja statutowa – badania związane z rozwojem młodych naukowców i doktorantów:  
432,30 tys. zł

Dotacja SPUB: 1 200 tys. zł

Dotacja MNiSW KNOW: 3 164,09 tys. zł

Dotacja MNiSW inwestycja budowlana: 92,5 tys. zł

Projekty badawcze: 18 016,90 tys. zł, w tym:

Projekty NCN: 16 117,35 tys. zł  
Projekty NCBR: 334,54 tys. zł  
Projekty MNiSW: 371,18 tys. zł  
Projekty strukturalne: 1 174,51 tys. zł  
Projekty zagraniczne: 307,52 tys. zł  
Pozostałe: 46,00 tys. zł

*W ICHB PAN działa Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe (PCSS), posiadające wyodrębniony rachunek bankowy, na którym dokonywane są wszystkie wpływy i wydatki związane z jego działalnością. Zadaniem PCSS jest umożliwienie poznańskiemu i krajowemu środowisku naukowemu korzystania z sieci POZMAN i PIONIER oraz zasobów obliczeniowych i informacyjnych utrzymywanych w Centrum, a także prowadzenie prac badawczo – rozwojowych związanych z technologiami informacyjno-komunikacyjnymi. Wpływy z tytułu dotacji na działalność oraz finansowanie projektów badawczych i inwestycyjnych w PCSS w roku 2017 wyniosły 64 671 tys. zł (w tym na dotacje na inwestycje 400 tys. zł).*

Sprawozdanie PCSS, strony 156-165

## **Rozwój kadry naukowej**

---

Stopień naukowy doktora habilitowanego uzyskali:

### **Anna Kurzyńska-Kokorniak**

Tytuł rozprawy: „Rybonukleazy typu Dicer oraz czynniki zaangażowane w regulację ich aktywności ze szczególnym uwzględnieniem krótkich RNA”

Data nadania: 26.05.2017 r.

### **Magdalena Łuczak**

Tytuł rozprawy: „Identyfikacja molekularnych mechanizmów progresji miażdżycy w przewlekłej chorobie nerek”

Data nadania: 26.05.2017 r.

### **Kamilla Bąkowska-Żywicka**

Tytuł rozprawy: „Rybonukleazy typu Dicer oraz czynniki zaangażowane w regulację ich aktywności ze szczególnym uwzględnieniem krótkich RNA”

Data nadania: 23.06.2017 r.

### **Edyta Kościńska**

Tytuł rozprawy: „Biogeneza i funkcja mikroRNA w dziedzicznych chorobach neurologicznych”

Data nadania: 15.12.2017 r.

Stopień naukowy doktora uzyskali:

### **Anna Hojka-Osińska**

Promotor: prof. dr hab. Marek Figlerowicz

Promotor pomocniczy: dr Paulina Jackowiak

Tytuł rozprawy: „Identyfikacja i charakterystyka potencjału funkcjonalnego stabilnych degra-dantów RNA powstających w systemie hodowli komórkowej wirusa zapalenia wątroby typu C”

Data obrony: 28.02.2017 r.

Data nadania: 01.03.2017 r.

**Jakub Barciszewski**

Promotor: prof. dr hab. Mariusz Jaskólski

Tytuł rozprawy: „Strukturalne podstawy działania ludzkiej mięśniowej fosfatazy fruktozo-1,6-bisfosforanu”

Data obrony: 18.04.2017 r.

Data nadania: 11.05.2017 r.

**Tomasz Kaczyński**

Promotor: dr hab. Marcin K. Chmielewski

Tytuł rozprawy: „Synteza i badanie reakcji otwarcia pierścienia 3-(pirydyn-2-ylo)-1,3,2-oksaza-fosfolidyny pod wpływem difosforanów”

Data obrony: 28.04.2017 r.

Data nadania: 11.05.2017 r.

**Tomasz Manszewski**

Promotor: prof. dr hab. Mariusz Jaskólski

Tytuł rozprawy: „Badania strukturalne hydrolazy S-adenozyl-L-homocysteiny z symbiotycznych bakterii asymilujących azot”

Data obrony: 05.05.2017 r.

Data nadania: 11.05.2017 r.

**Weronika Kotkowiak**

Promotor: dr hab. Anna Pasternak

Tytuł rozprawy: „Nowe pochodne aptameru wiążącego trombinę o potencjalnych właściwościach antykoagulacyjnych”

Data obrony: 09.05.2017 r.

Data nadania: 11.05.2017 r.

**Joanna Śliwiak**

Promotor: prof. dr hab. Mariusz Jaskólski

Tytuł rozprawy: „Kompleksy białek PR-10 z hormonami roślinnymi: badania biofizyczne i krystalograficzne”

Data obrony: 10.05.2017 r.

Data nadania: 11.05.2017 r.

**Natalia Koralewska**

Promotor: prof. dr hab. Marek Figlerowicz

Promotor pomocniczy: dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak

Tytuł rozprawy: „Krótkie cząsteczki kwasów nukleinowych, jako regulatory procesu uwalniania mikroRNA z ich prekursorów”

Data obrony: 15.09.2017 r.

Data nadania: 26.09.2017 r.

**Marta Szabat**

Promotor: prof. dr hab. Ryszard Kierzek

Tytuł rozprawy: „Badania termodynamiczne, strukturalne i biologiczne niekanonicznych form DNA i RNA”

Data obrony: 25.09.2017 r.

Data nadania: 26.09.2017 r.

**Martyna Urbanek-Trzeciak**

Promotor: prof. dr hab. Włodzimierz Krzyżosiak

Tytuł rozprawy: „Charakterystyka jądrowych skupień RNA w komórkowych modelach chorób poliglutaminowych”

Data obrony: 11.10.2017 r.

Data nadania: 22. 11.2017 r.

### **Maurycy Szlenkier**

Promotor: prof. dr hab. Jerzy Boryski

Tytuł rozprawy: „Funkcjonalizacja układu *cis*-diolowego rybonukleozydów z wykorzystaniem struktur anhydrocyklicznych”

Data obrony: 13.10.2017 r.

Data nadania: 22.11.2017 r.

### **Katarzyna Klonowska**

Promotor: dr hab. Piotr Kozłowski

Tytuł rozprawy: „Poszukiwanie genów związanych z predyspozycją do raka piersi ze szczególnym uwzględnieniem zmian liczby kopii odcinków DNA jako czynnika ryzyka”

Data obrony: 21.11.2017 r.

Data nadania: 22.11.2017 r.

## **Studia doktoranckie**

---

Studium doktoranckie działające przy Instytucie w 2017 roku liczyło 113 słuchaczy (w tym 19 nowoprzyjętych). Aktualnie w ICHB PAN 28 osób posiada otwarte przewody doktorskie (w tym w 2017 roku otwarto przewody 10 osobom).

## **Uczestnicy innych form kształcenia**

---

W 2017 roku 60 studentów z wyższych uczelni, zarówno polskich, jak i zagranicznych (głównie z Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza, Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Politechniki Poznańskiej oraz Politechniki Warszawskiej), wykonywało w laboratoriach Instytutu prace magisterskie lub odbywało praktyki, staże albo zajęcia według indywidualnego toku studiów.

## **Działalność patentowa**

---

W 2017 r. dokonano dwóch zgłoszeń krajowych. Uzyskano łącznie 5 patentów na wynalazki, w tym: 1 patent na wynalazek zgłoszony w Polskim Urzędzie Patentowym, 3 patenty europejskie oraz 1 w Stanach Zjednoczonych.

### **Patenty międzynarodowe**

*Hammerhead ribozymes targeting MIR-21*

patent: EP 2978847 z 15.02.2017 r.

zgłoszenie: EP 14719866.7 z 16.10.2015 r.

Twórcy: **Mirosława Naskręt-Barciszewska, Agnieszka Belter, Katarzyna Rolle, Monika Piwecka, Patrycja Sosińska, Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska**

ICHB PAN

*Lyme disease vaccine*

patent: EP 2908852 z 14.06.2017 r.

zgłoszenie: EP 13795005.1 z 25.03.2015 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz, Anna Urbanowicz, Dominik Lewandowski**

ICHB PAN

*Peptide with the enzymatic activity of a DICER-like protein, a method for preparing short RNA molecules, and uses thereof*

patent: EP 2726619 z 20.12.2017 r.

zgłoszenie: EP 12738654.8 z 28.01.2014 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz, Aleksander Tworak, Jan Podkowiński, Natalia Koralewska, Anna Kurzyńska-Kokorniak**

ICHB PAN

*Lyme disease vaccine, genetic construct, recombinant protein, method for designing genetic construct, method for producing vaccine, method for producing recombinant proteins, use of recombinant proteins in the production of Lyme disease vaccine*

patent: US 9,562,080 B2 z 7.02.2017 r.

zgłoszenie: US 14/385,500 z 16.09.2014 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz, Anna Urbanowicz**, Dominik Lewandowski

ICHB PAN

### Patenty krajowe

*Preparat wykazujący aktywność ludzkiej deaminazy cytydyny indukowanej aktywnością limfocytów B (AID) oraz sposób otrzymywania tego preparatu w systemie bakteryjnym*

patent: PL 225333 z 10.04.2017 r.

zgłoszenie: P 402 440 z 14.01.2013 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz, Paulina Jackowiak, Lucyna Budźko**

ICHB PAN

### Zgłoszenia krajowe

*Nowy analog nukleozydo difosforanu, kompozycja farmaceutyczna zawierająca analog nukleozydo-difosforanu, jego zastosowanie i sposób syntezy*

zgłoszenie: P 422 415 z 31.07.2017 r.

Twórcy: **Joanna Romanowska, Justyna Gołębiowska, Marta Rachwalak, Tomasz Jakubowski**, Aleksandra Dąbrowska

ICHB PAN

*Human ovarian cancer cell culture model for paclitaxel-induced inverse resistance to paclitaxel and cisplatin and use thereof*

zgłoszenie: P 420 318 z 26.01.2017 r.

Twórcy: Jolanta Szejnach, **Michał Góralski, Luiza Handschuh**, Idzi Siatkowski, Alicja Szabelska-Beręsewicz, **Aleksandra Świercz**, Joanna Zypych-Walczak

ICHB PAN, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

W 2017 r. postępowania walidacyjne przeprowadzono dla 4 patentów europejskich.

Wynalazki objęte poniższymi patentami, uzyskały ochronę łącznie w 25 państwach:

- patent EP 2978847 udzielony na wynalazek *Hammerhead ribozymes targeting MIR-21* został walidowany w 3 krajach (Niemcy, Polska, Wielka Brytania)  
Twórcy: **Mirosława Naskręt-Barciszewska, Agnieszka Belter, Katarzyna Rolle, Monika Piwecka**, Patrycja Sosińska, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska**
- patent EP 2908852 udzielony na wynalazek *Lyme disease vaccine* został walidowany w 5 krajach (Francja, Luksemburg, Niemcy, Szwajcaria, Wielka Brytania)  
Twórcy: **Marek Figlerowicz, Anna Urbanowicz**, Dominik Lewandowski
- patent EP 2726619 udzielony na wynalazek *Peptide with the enzymatic activity of a DICER-like protein, a method for preparing short RNA molecules, and uses thereof* został walidowany w 5 krajach (Francja, Luksemburg, Niemcy, Szwajcaria, Wielka Brytania)  
Twórcy: **Marek Figlerowicz**, Aleksander Tworak, **Jan Podkowiński, Natalia Koralewska, Anna Kurzyńska-Kokorniak**
- patent EP 2225228 udzielony na wynalazek *Method of obtaining of 4-N-furfurylcytosine and/or its derivatives, as anti-aging composition and use of 4-N-furfurylcytosine and/or its derivatives In the manufacture of anti-aging composition* został walidowany w 12 krajach (Polska, Włochy, Hiszpania, Szwecja, Dania, Holandia, Belgia, Francja, Luksemburg, Niemcy, Szwajcaria, Wielka Brytania)  
Twórcy: **Jan Barciszewski, Wojciech T. Markiewicz, Eliza Wyszko**, Maria Markiewicz, Monika Nowak, **Katarzyna Rolle**, Ewelina Adamska, **Marcin K. Chmielewski**

## Działalność wydawnicza

---

Kwartalnik „BioTechnologia” wydawany jest przez Komitet Biotechnologii i Instytut Chemii Bioorganicznej PAN. Redaktor Naczelny – prof. dr hab. Marek Figlerowicz. Nakład kwartalnika w 2017 r. wyniósł 980 egz. (4 numery). W 2017 roku wydano również numer 4/2016 w nakładzie 250 egzemplarzy. Poruszana w nim tematyka obejmuje nie tylko obszary biotechnologii, ale również biologii obliczeniowej oraz bionanotechnologii. „BioTechnologia” wydawana jest w języku angielskim.

## Nagrody i wyróżnienia

---

- Nagroda Naukowa Prezesa Polskiej Akademii Nauk za rok 2017, za pionierskie badania w zakresie genomiki, transkryptomiki, proteomiki a także archeogenomiki, przyznana prof. dr. hab. Markowi Figlerowiczowi.
- Nagroda Naukowa Wydziału IV Polskiej Akademii Nauk za cykl prac przedstawiających oryginalne informatyczne metody rozpoznawania i modelowania struktur 3D RNA, przyznana dr. hab. inż. Marcie Szachniuk, prof. ICHB PAN.
- Nagroda Polskiego Towarzystwa Krystalograficznego, przyznana za wybitne osiągnięcia na polu krystalografii prof. dr. hab. Mariuszowi Jaskólskiemu.
- Statuetka Honorowa Hipolita Cegielskiego oraz nadanie Godności „Lidera Pracy Organicznej” przyznane przez Towarzystwo im. Hipolita Cegielskiego prof. dr. hab. Markowi Figlerowiczowi.
- Nagroda za osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2016/2017 przyznana przez Rektora Politechniki Poznańskiej prof. dr. hab. Markowi Figlerowiczowi.
- Nagroda Prezesa Rady Ministrów za rozprawę doktorską „Strukturalne i funkcjonalne uwarunkowania oddziaływań pomiędzy kleszczem a patogenną bakterią na przykładzie białka TROSPA z *Ixodes ricinus* OspaA z *Borrelia burgdorferi*”, przyznana dr. Dominikowi Lewandowskiemu.
- Nagroda Prezydenta Miasta Poznania za wyróżniającą się pracę doktorską „Strukturalne i funkcjonalne uwarunkowania oddziaływań pomiędzy kleszczem a patogenną bakterią na przykładzie białka TROSPA z *Ixodes ricinus* OspaA z *Borrelia burgdorferi*”, przyznana dr. Dominikowi Lewandowskiemu.
- Nagroda Prezydenta Miasta Poznania za wyróżniającą się pracę doktorską „Analiza somatycznych zmian liczb kopii w genomie nowotworowym w celu identyfikacji nowych genów/biomarkerów odgrywających ważną rolę w raku płuc”, przyznana dr. Karolowi Czubakowi.
- Wyróżnienie osiągnięcia „Rybonukleazy typu Dicer oraz czynniki zaangażowane w regulację ich aktywności ze szczególnym uwzględnieniem krótkich RNA”, będącego podstawą nadania stopnia doktora habilitowanego Annie Kurzyńskiej-Kokorniak, przez Radę Wydziału Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu.
- Medal KEN za Wybitne osiągnięcia dydaktyczne przyznane przez Komisję Edukacji Narodowej dr. Szymonowi Wąsikowi.
- Wyróżnienia dla najlepszej prezentacji IV Krajowej Konferencji „Naturalne substancje roślinne – aspekty strukturalne i aplikacyjne” przyznane przez Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach, Krajowy Instytut Badawczy mgr. Pawłowi Czerniawskiemu.
- Wyróżnienia dla najlepszej prezentacji IV Krajowej Konferencji „Naturalne substancje roślinne – aspekty strukturalne i aplikacyjne” przyznane przez Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach, Krajowy Instytut Badawczy dr Annie Piaseckiej.
- Stypendium the European Society of Human Genetics, dla młodych badaczy na The European Genetics Conference 2017 dla dr Katarzyny Klonowskiej.

- Dyplom za zajęcie I miejsca w konkursie na najlepsze wystąpienie ustne podczas VIII Wykładów Otwartych z Cyklu Spotkania Młodych z Nauką w Poznaniu, przyznany przez Studentckie Koło Naukowe Biosfera dla mgr Anny Mleczo.
- Wyróżnienie pracy doktorskiej „Kompleksy białek PR-10 z hormonami roślinnymi: badania biofizyczne i krystalograficzne”, przyznane przez Radę Naukową ICHB PAN dr Joannie Śliwiak.
- Wyróżnienie pracy doktorskiej „Poszukiwanie genów związanych z predyspozycją do raka piersi ze szczególnym uwzględnieniem zmian liczby kopii odcinków DNA jako czynnika ryzyka”, przyznane przez Radę Naukową ICHB PAN dr Katarzynie Klonowskiej.
- Wyróżnienie pracy doktorskiej „Krótkie cząsteczki kwasów nukleinowych jako regulatory procesu uwalniania mikroRNA z ich prekursorów”, przyznane przez Radę Naukową ICHB PAN dr Natalii Koralewskiej.
- Wyróżnienie pracy doktorskiej „Charakterystyka jądrowych skupień RNA w komórkowych modelach chorób poliglutaminowych”, przyznane przez Radę Naukową ICHB PAN dr Martynie Urbanek-Trzeciak.
- Nagroda Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN za najlepszą rozprawę doktorską „Analiza somatycznych zmian liczby kopii w genomie nowotworowym w celu identyfikacji nowych genów/biomarkerów odgrywających ważną rolę w raku płuc” w roku 2016, przyznana dr. Karolowi Czubakowi.
- Nagroda Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN za najlepszą publikację eksperymentalną powstałą w Instytucie w roku 2016 dla:
  - prof. dr. hab. Wojciecha Rypniewskiego, dr Agnieszki Kiliszek, dr Katarzyny Banaszak (*The first crystal structures of RNA-PNA duplexes and PNA-PNA duplex containing mismatches-toward anti-sense therapy against TREDs*); \*dr Doroty Gudanis, dr. Łukasza Popenady, dr. Kamila Szpotkowskiego, prof. dr. hab. Ryszarda Kierzka, prof. dr. hab. Zofii Gdaniec (*Structural characterization of a dimer RNA duplexes composed of 8-bromoguanosine modified CGG trinucleotide repeats: a novel architecture of RNA quadruplexes*);
  - dr Agnieszki Belter, dr hab. Katarzyny Rolle, dr Moniki Piweckiej, dr Agnieszki Fedoruk-Wyszomirskiej, prof. dr. hab. Mirosławy Z. Naskręt-Barciszewskiej, prof. dr. hab. Jana Barciszewskiego (*Inhibition of miR-21 in glioma cells using catalytic nucleic acids*).
- Nagroda Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN za najlepszą publikację przeglądową w roku 2016 dla: dr Magdaleny Jazurek, dr. Adama Ciesiołki, dr Julii Staręgi-Roślan, mgr Katarzyny Bilińskiej, prof. dr. hab. Włodzimierza Krzyżosiaka (*Identifying proteins that bind to specific RNAs – Focus on simple repeat expansion diseases*).

## Organizacja seminariów i konferencji naukowych

---

### **Instytutowe Seminaria Naukowe** – 38 seminariów

Organizacja i prowadzenie: prof. dr hab. Jerzy Boryski  
(program w załączeniu, str. 167-169)

### **INSTYTUT wart POZNANIA**

12-13.12.2017 r. Poznań, organizatorzy: Instytut Chemii Bioorganicznej PAN; ok. 300 uczestników, 9 referatów (plakat w załączeniu, str. 171-172)

### **Nauka na wakacjach**

Cykl wykładów popularnonaukowych odbywających się w okresie od lipca do sierpnia 2017 r. w Juracie. Organizacja i prowadzenie: prof. dr hab. Jan Barciszewski (program w załączeniu, str. 170)

## 9. Tydzień Mózgu

13-17.03.2017 r. Poznań, organizatorzy: Polska Akademia Nauk – Oddział w Poznaniu, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Instytut Genetyki Człowieka PAN; ok. 800 uczestników, 10 referatów.

## Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący RNA–RNA: RUN

27-29.09.2017 r. Poznań/Obrzycko, organizatorzy: Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN; ok 200 uczestników, 36 referatów (program w załączeniu, str. 173-174).

## Poznański Klub RNA

Spotkania dyskusyjne poświęcone naukom o życiu, organizowane cyklicznie od stycznia do grudnia 2017 r. w ICHB PAN (10 spotkań), organizacja i prowadzenie: prof. dr hab. Jan Barciszewski (program w załączeniu, str. 175).

## Najważniejsze osiągnięcia

---

### Ustalono strukturę i znaczenie biologiczne 5'-końcowego motywu cząsteczki tiRNA<sup>Ala</sup>

Dorota Gudanis, Zofia Gdaniec

(we współpracy z Shawnem M. Lyonsem, Stevenem M. Coynem i Pavlem Ivanovem z Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston, Stany Zjednoczone)

Struktury tiRNA (ang. *tRNA-derived stress-induced RNA*) powstają w wyniku cięcia cząsteczek tRNA przez angiogeninę w obrębie pętli antykodonowej w warunkach stresu. Cząsteczki 5' tiRNA<sup>Ala</sup> inhibują inicjację translacji poprzez wypieranie czynników translacyjnych, takich jak eIF4F z m7GTP kapu mRNA *in vivo*. Pokazano, że fragment zbudowany z pięciu reszt guanozyny na 5'-końcu tiRNA<sup>Ala</sup> jest kluczowy dla aktywności biologicznej tej cząsteczki. Na przykład zastąpienie guanozyny resztą 7-deazaguanozyny znosiło jej aktywność. Stosując spektroskopię NMR, CD oraz analizując profil migracji tiRNA<sup>Ala</sup> w żelu ustalono, że motyw ten jest zaangażowany w tworzenie czteroniciowego, równoległego kwadrupleksu (tiRNA<sup>Ala</sup>)<sub>4</sub>, zbudowanego z pięciu G-tetrad. Struktura ta reprezentuje nową klasę kwadrupleksów RNA, w której pięć kolejnych reszt guanozyn jest zaangażowanych w tworzenie G-tetrad. Ponadto wykazano, że w roztworze w obecności kationów sodu i potasu kwadrupleks ten istnieje w równowadze ze spinką RNA. Wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Nature Communications*.

### Odkrycie różnych mechanizmów molekularnych deaminacji deoksycytydyny i 5-metylo-deoksycytydyny przez ludzką deaminazę cytydyny indukowaną aktywacją limfocytów B (AID)

Lucyna Budźko, Paulina Jackowiak, Karol Kamel, Joanna Sarzyńska, Marek Figlerowicz

(we współpracy z Januszem M. Bujnickim z Międzynarodowego Instytutu Biologii Molekularnej i Komórkowej, Warszawa)

Deaminaza cytydyny indukowana aktywacją limfocytów B (AID) umożliwia różnicowanie przeciwciał poprzez deaminację deoksycytydyn (C) w genach immunoglobulin. Dodatkowo zdolność AID do deaminacji 5-metylo-deoksycytydyny (5mC) sugeruje jej udział w aktywnej demetylacji genomu. Mechanizm molekularny działania AID wobec różnych substratów pozostawał jednak nieznany. Aby rozwiązać ten problem otrzymano ludzką AID typu dzikiego (hAID) oraz trzy jej zmutowane formy (R50A, N51A i R190X), zbadano ich aktywność wobec jednoniciowego DNA zawierającego C lub 5mC oraz stworzono modele molekularne kompleksów hAID i jej mutantów z różnymi substratami. W rezultacie odkryto, że aktywność badanych enzymów wobec C i 5mC jest różna i nieskorelowana np. mutant N51A jest nieaktywny wobec C, a równocześnie efektywnie deaminuje 5mC. Ponadto opisano sieci oddziaływań enzym:substrat warunkujące deaminację C i 5mC. Wyniki stały się podstawą patentu i zostały opublikowane w czasopiśmie *Scientific Reports*.

### **Odkrycie i analiza materiału genetycznego kopalnych bakterii (typowych dla flory człowieka oraz patogennych) w szczątkach ludzkich pochodzących z I i XI wieku naszej ery**

*Anna Philips, Ireneusz Stolarek, Luiza Handschuh, Piotr Kozłowski, Marek Figlerowicz*

*(we współpracy z Anną Juras i Januszem Piontek z Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)*

Przeanalizowano 161 prób DNA pobranych ze szczątków ludzkich (zębów) datowanych na I i XI wiek naszej ery z siedmiu stanowisk archeologicznych zlokalizowanych w różnych regionach Polski. Ustalono, że skład mikroorganizmów towarzyszących szczątkom ludzkim jest unikatowy dla poszczególnych prób i nie można go skorelować z ich wiekiem czy stanowiskiem archeologicznym z jakiego pochodzi. Większość zidentyfikowanych drobnoustrojów to wszędobylskie bakterie środowiskowe, które najprawdopodobniej skolonizowały szczątki w niedalekiej przeszłości. Jednakże w dwóch trzecich prób zostały zidentyfikowane również bakterie charakterystyczne dla flory jamy ustnej i przewodu pokarmowego człowieka, oraz potencjalne patogeny. Materiał genetyczny bakterii typowych dla flory człowieka wykazał charakterystyczny dla kopalnego DNA wzór uszkodzeń, który porównywalny był ze stopniem uszkodzeń endogennego ludzkiego DNA. Wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *GigaScience*.

### **Ustalono strukturę drugorzędową i znaczenie biologiczne segmentu piętego (+)RNA wirusa grypy**

*Marta Soszyńska-Jóźwiak, Paula Michalak, Ryszard Kierzek, Julita Kęsy, Elżbieta Kierzek*

*(we współpracy z Walterem N. Mossem z Roy J. Carver Department of Biophysics, Biochemistry and Molecular Biology, Iowa State University, Stany Zjednoczone)*

Określono strukturę drugorzędową segmentu 5 (+)RNA wirusa grypy na podstawie mapowań chemicznych, mikromacierzowych, strukturalno-sekwencyjnej analizy bioinformatycznej i minimalizacji energii swobodnej. Zaproponowana struktura drugorzędowa jest w 85% konserwatywna dla wszystkich szczepów wirusa grypy typu A. Jest to pierwsza oparta na badaniach eksperymentalnych struktura drugorzędowa całego segmentu nici (+) RNA wirusa grypy. Potwierdzono obecność i znaczenie dla prawidłowego namnażania wirusa typu A konserwatywnych motywów strukturalnych segmentu 5 (+)RNA. Wykazano właściwości inhibitorowe modyfikowanych oligonukleotydów antysensowych nacelowanych na konserwatywne motywy strukturalne rejonów 1079–1194 oraz 554–763 segmentu 5 (+)RNA wirusa typu dzikiego A/California/04/2009 (H1N1). Najskuteczniejszy antysensowy oligonukleotyd hamował namnażanie wirusa grypy o 87%. Badania te wskazują na wirusowy RNA jako nowy cel terapeutyczny. Wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Scientific Reports*.

### **Określenie roli transportera błonowego ABCG10 w biosyntezie medikarpiny u *Medicago truncatula***

*Wanda Białta, Joanna Banasiak, Karolina Jarzyniak, Aleksandra Paweła, Michał Jasiński*

Identyfikacja oraz funkcjonalna charakterystyka MtABCG10 stanowi nowe otwarcie w postrzeganiu roli białek ABCG u roślin. Jest to pierwszy opisany transporter ABC związków fenolowych u bobowatych i pierwszy roślinny transporter aglikonów flawonoidowych. Nowością jest także opis tego transportera jako selektywnego pod względem wybranych prekursorów (kwasu *p*-kumarowego i likwiritigeniny) ze szlaku biosyntezy medikarpiny – głównej fitoaleksyny *Medicago*. Białko to jest istotne dla funkcjonowania mechanizmów obronnych *Medicago*, a jego aktywność moduluje przepływ związków niskocząsteczkowych w szlakach metabolicznych tej rośliny. Wysoka dywersyfikacja reakcji obronnych roślin, oparta na m.in. unikatowych produktach metabolizmu, jakim są metabolity wtórne, wymusza adaptacje/ewolucje nie tylko szlaków ich biosyntezy, ale także sposobów ich dystrybucji. Badania nad roślinnymi transporterami ABCG i ich naturalnymi substratami dają niespotykaną szansę na przyporządkowanie zależności strukturalnych/sekwencji aminokwasowych tych białek do poszczególnych klas metabolitów wtórnych/molekuł translokowanych. Wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Journal of Experimental Biology*.

## Pozostałe ważne wyniki

---

- Odkrycie, że struktury tiRNA powstają w wyniku cięcia cząsteczek tRNA w obrębie pętli antykodonowej w warunkach stresu (*Dorota Gudanis, Zofia Gdaniec*).
- Opracowanie nowej metody określania struktury drugorzędowej RNA w oparciu o spontaniczną hydrolizę określonych wiązań fosfodiesterowych (*Marta Soszyńska-Jóźwiak, Ryszard Kierzek*).
- Wykazanie zmniejszenia ilości jądrowych skupień tworzonych przez zmutowany transkrypt w chorobie Huntingtona z użyciem różnego typu oligonukleotydów, m.in. celujących w region powtórzeń CAG (*Martyna O. Urbanek-Trzeciak, Agnieszka Fiszer, Włodzimierz J. Krzyżosiak*).
- Utworzenie pakietu bioinformatycznego „EvOligo”, umożliwiającego minimalizację niepożądanych oddziaływań w obrębie bibliotek oligonukleotydowych poprzez racjonalne projektowanie i grupowanie sekwencji oligonukleotydów DNA lub RNA (*Marek Milewski, Karol Kamel, Anna Kurzyńska-Kokorniak, Marcin K. Chmielewski, Marek Figlerowicz*).
- Rozwiązanie struktury serii kryształów Z-DNA reprezentujących skomplikowane przypadki zbliźniczenia i pseudosymetrii (*Mirostaw Gilski*).
- Opracowanie metodologii ewaluacji i korekty informacji w Protein Data Bank (PDB) (*Mariusz Jaskólski*).
- Rozwiązanie struktury kompleksów białka PR-10 z melatoniną oraz z melatoniną i cytokinina, oraz zaproponowanie możliwego wyjaśnienia strukturalnego dla zaobserwowanego fizjologicznie współgrania tych dwóch szlaków hormonalnych w roślinie (*Joanna Śliwiak, Mariusz Jaskólski*).
- Odkrycie zdolności wiązania fibrynogenu przez białka OspC z dwóch gatunków *Borrelia* z zastosowaniem techniki MST (*Anna Urbanowicz, Paulina Bierwagen*).
- Opracowanie metody stabilizacji RNA w formie spinki do badań krystalograficznych i biochemicznych (*Agnieszka Kiliszek, Leszek Błaszczyk, Wojciech Rypniewski*).
- Opracowanie metody uzyskiwania w pełni zestryfikowanych difosforanów nukleozydów (*Justyna Gołębiowska, Tomasz Jakubowski, Magdalena Materna, Marta Rachwałak, Joanna Romanowska, Michał Sobkowski*).
- Otrzymanie serii nowych 2'- i/lub 3'-modyfikowanych pochodnych rybonukleozydów, zaplanowanych jako inhibitory enzymów RNA-wirusów, np. odwrotnej transkryptazy HIV (*Maurycy Szlenkier, Jerzy Boryski*).
- Wykazanie, że 5'-O-*t*-butylodimetylosililo-3'-O-propargilo-2'-deoksyurydyna ma lepszą cytotoksyczność wobec linii komórkowej ludzkiego raka wątroby HepG2 (IC<sub>50</sub> = 5.85 μM) niż 5-fluoro-2'-deoksyurydyna (*Dagmara Baraniak, Jerzy Boryski*).
- Wykazanie związku delekcji genu *APOBEC3B* z poziomem ekspresji genów *APOBEC3A* i *APOBEC3B* (negatywna korelacja) i genu hybrydowego *APOBEC3A/APOBEC3B* (pozytywna korelacja) (*Katarzyna Klonowska, Piotr Kozłowski*).
- Przeprowadzenie wielkoskalowych badań asocjacji i wykazanie braku związku delekcji genu *APOBEC3B* z ryzykiem raka piersi i raka jajnika w populacji polskiej i innych populacji pozaazjatyckich (*Katarzyna Klonowska, Piotr Kozłowski*).
- Opracowanie systemu wzbogacania miRNOMu do efektywnego sekwencjonowania genów miRNA i genów biogenezy miRNA z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji (*Paulina Gałka-Marciniak, Piotr Kozłowski*).
- Opracowanie syntezy bibliotek małocząsteczkowych związków chemicznych jako potencjalnych modulatorów indukcji pluripotencji oraz związków umożliwiających transformację komórek macierzystych w kierunku kardiomiocytów (*Aleksandra Chełstowska, Karolina Malczewska-Jaskóła, Bartosz Marciniak, Wojciech T. Markiewicz, Adam Zarecki*).

- Wykazanie za pomocą obliczeń kwantowo-mechanicznych stabilności form tautomerycznych 5-azacytozyny i zależności jej podatności na hydrolizę od rodzaju podstawnika przy atomie N-1 (*Tadeusz Kuliński, Wojciech T. Markiewicz*).
- Wykazanie za pomocą obliczeń łączących metody mechaniki kwantowej i dynamiki molekularnej, że istnieje możliwość występowania form tautomerycznych lub protonowanych nukleozasad uczestniczących w tworzeniu i stabilizacji struktur RNA (*Tadeusz Kuliński*).
- Wykazanie przydatności nowo opracowanej metody otrzymywania acetalu mieszanych katalizowanej chlorkiem cyny(IV) do otrzymywania acetalu zawierających ugrupowania sililoksyłowe, przydatne w syntezie chemicznej RNA (*Katarzyna Adrych-Rożek, Wojciech T. Markiewicz*).
- Opracowanie metody wykorzystującej systemy wieloagentowe, która pozwoliła na zaobserwowanie, że aby system pasożytów i replikaz zgodny z teorią *świata RNA* był ekologicznie i ewolucyjnie stabilny, bardzo szybko musiało nastąpić wyodrębnienie się DNA w celu umożliwienia rozwoju bardziej złożonych organizmów (*Szymon Wąsik, Jacek Błazewicz*).
- Implementacja algorytmu LCS-TA oraz zintegrowanie go z narzędziem MCQ4Structures (*Marta Szachniuk*).
- Implementacja algorytmu heurystycznego Tabu Search dla problemu częściowej degradacji RNA (*Agnieszka Rybarczyk, Marta Kasprzak, Jacek Błazewicz*).
- Wykazanie, że represorowa funkcja specyficznego szlaku endoRNAi (CSR-1) wymaga aktywności RNazy (*Rafał Ciosk*).
- Wykazanie istotnego wpływu wariantów regionu terminalnego 5' mRNA p53 na proces skanowania tego regionu przez rybosom oraz na efektywność translacji (*Paulina Żydowicz-Machtel, Agata Świątkowska, Łukasz Popena, Agnieszka Górka, Jerzy Ciesiołka*).
- Wykazanie potencjału terapeutycznego rybozydu 6-furfuryloadeniny (kinetyny) w leczeniu białaczki (*Jan Barciszewski*).
- Wykazanie, że polimorfizm pojedynczej reszty nukleotydowej w mRNA MMP9 istotnie wpływa na jego strukturę drugorzędową i przestrzenną oraz zmienia oddziaływanie każdej z form polimorficznych z białkiem FMRP (*Katarzyna Pachulska-Wieczorek, Katarzyna Purzycka, Ryszard W. Adamiak*).
- Zaprojektowanie potencjalnych leków przeciwko grzybowi *Candida albicans* na podstawie zaproponowanego modelu 3D siódmego segmentu ekspansyjnego rybosomalnego RNA (*Marcin Biesiada, Katarzyna Purzycka*).
- Przygotowanie i opublikowanie ekspertyzy pt. „Biogospodarka, biotechnologia i nowe techniki inżynierii genetycznej. Nowoczesna Biotechnologia Podstawą Biogospodarki, Raport Komitetu Biotechnologii PAN” (*Tomasz Twardowski*).
- Określenie profilu ekspresji wybranych miRNA w dwóch odmianach soi uprawnej w warunkach stresu chłodu (*Jakub Kuczyński*).
- Odkrycie mechanizmu oporności komórek szpiczaka mnogiego na inhibitory proteasomu (*Magdalena Łuczak*).
- Wykazanie zależności pomiędzy niepłodnością mężczyzn a poziomem metylacji w DNA spermy (*Mirosława Z. Naskręt Barciszewska*).
- Odkrycie, że komórki macierzyste biorą udział w patogenezie choroby Huntingtona (*Wojciech J. Szlachcic, Kalina Wiatr, Maciej Figiel*).
- Poznanie charakterystyki molekularnej (transkrypcyjnej i proteomicznej) początkowych stadiów patologii ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 i choroby Huntingtona (*Kalina Wiatr, Paweł Piasecki, Karolina Światońska, Wojciech J. Szlachcic, Maciej Figiel*).

- Poznanie funkcji transferazy glutationu U13 z *Arabidopsis thaliana* w metabolizmie glukozynolanów indolowych i odporności na infekcję przez patogeny grzybowe (Mariola Piślewska-Bednarek, Marta Pastorczyk, Danuta Ciesiołka, Paweł Bednarek).
- Wykazanie, że białko PYK10 (główne białko obecne w ciałkach retikulum endoplazmatycznego) reprezentuje nowy typ tioglukozydaz (myrozynaz) unikalny dla roślin rodzaju Brassicales (Mariola Piślewska-Bednarek, Paweł Bednarek).
- Porównanie profili glukozynolanów w różnych organach i na różnych etapach rozwojowych wybranych gatunków trybu Camelinae (*Arabidopsis thaliana*, *Capsella bursa-pastoris*, *Capsella rubella*, *Capsella grandiflora*, *Camelina sativa* i *Neslia paniculata*) (Łukasz Czerniawski, Anna Piasecka, Paweł Bednarek).
- Zidentyfikowanie nowych pochodnych serotoniny, które są indukowane podczas odpowiedzi modelowej trawy *Brachypodium distachyon* na infekcję (Nicolas Jedrzejczak-Rey, Anna Piasecka, Paweł Bednarek).
- Poznanie roli monooksygenazy cytochromu P450 CYP71A12 w biosyntezie pochodnych kwasu indolilo-3-karboksyłowego podczas odpowiedzi *Arabidopsis thaliana* na infekcję (Marta Pastorczyk, Mariola Piślewska-Bednarek, Paweł Bednarek).
- Odkrycie właściwości inhibitorowych oligonukleotydów antysensowych nacelowanych na konserwatywne motywy strukturalne rejonów 1079-1194 i 554-763 segmentu 5 (+)RNA5 wirusa typu dzikiego A/California/04/2009 (H1N1) (Marta Soszyńska-Jóźwiak, Pulina Michalak, Ryszard Kierzek, Julita Kęsy, Elżbieta Kierzek).
- Określenie roli transportera błonowego MtABCG20/MtWBC20 w kierunkowym transporcie kwasu abscysynowego w zarodku lucerny (Aleksandra Paweła, Joanna Banasiak, Michał Jasiński).
- Zcharakteryzowanie właściwości termodynamicznych i biologicznych hybryd złożonych z G-kwadrupleksów i dupleksów (Weronika Kotkowiak, Anna Pasternak).
- Określenie wpływu wybranych modyfikacji chemicznych na trwałość termodynamiczną modelowych dupleksów siRNA oraz zweryfikowano działanie tych modyfikacji w kontekście ukierunkowanego wyboru jednej z nici przez kompleks RISC (Jolanta Lisowiec-Wąchnicka, Anna Pasternak).
- Opracowanie koncepcji chemicznej syntezy trójfosforanów z wykorzystaniem termolabilnych grup ochronnych (Tomasz Kaczyński).
- Wyjaśnienie mechanizmu cyklizacji podczas syntezy oksazafosolidyny (Tomasz Kaczyński, Marcin K. Chmielewski).
- Otrzymanie formy krystalicznej 2-N-izopropylamino-3-(pirydyn-2-yl)-5-fenyl-1,3,2-oksazafosolidyny i opracowanie metody rozdziału jej diastereoizomerów na podstawie krystalizacji wykluczeniowej (Tomasz Kaczyński, Marcin K. Chmielewski).
- Wykorzystanie nowych podłoży do syntezy oligomerów w serii DNA i RNA (Joanna Brzezińska, Marcin K. Chmielewski).

## Działalność statutowa

---

### Tematy i zadania statutowe realizowane w roku 2017

---

- I. Wykorzystanie technik spektrometrii mas do monitorowania zmian w składzie metabolitów wtórnych (K) (prof. dr hab. Maciej Stobiecki).
- II. Badania struktury i funkcji kwasów rybonukleinowych oraz białek z nimi oddziaływujących (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka)
  1. Badanie oddziaływań regionu niekodującego 5' mRNA p53 w regulacji ekspresji białka p53 (K),
  2. Charakterystyka oddziaływań piRNA z białkami Piwi (K).
- III. Technologie bioinformatyczne w analizie kwasów nukleinowych i białek (prof. dr hab. Jacek Błażewicz)
  1. Modele i algorytmy wspomagające analizę strukturalną RNA i białek (K),
  2. Sekwencjonowanie DNA w małej i dużej skali (K),
  3. Modelowanie i analiza infekcji wirusowych za pomocą systemów wieloagentowych (K).
- IV. Badania właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych modyfikowanych oligonukleotydów o potencjale diagnostycznym oraz terapeutycznym (N) (dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN).
- V. Synteza fragmentów kwasów nukleinowych, ich komponentów, analogów i badania ich właściwości biologicznych (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz)
  1. Badania acetalowych grup ochronnych dla potrzeb chemicznej syntezy RNA (N),
  2. Synteza i analityka modyfikowanych biopolimerów (N),
  3. Modelowanie struktury przestrzennej i symulacje dynamiki molekularnej kompleksów biomolekularnych w aspekcie badania ich właściwości biologicznych (K).
- VI. Wykorzystanie zmodyfikowanych nukleotydów RNA i DNA w diagnostyce medycznej i biotechnologii (N) (prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska).
- VII. Poszukiwanie nowych układów modelowych znajdujących zastosowanie w biologii molekularnej i systemowej (prof. dr hab. Marek Figlerowicz)
  1. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby wirusologii molekularnej i systemowej (K),
  2. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej roślin (K),
  3. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej człowieka (K).
- VIII. Struktura i funkcja kwasów rybonukleinowych oraz ich zastosowania terapeutyczne (prof. dr hab. Włodzimierz Krzyżosiak)
  1. Nowe podejścia do eksperymentalnej terapii chorób neurodegeneracyjnych z wykorzystaniem RNAi na modelach komórkowych oraz mysich choroby Huntingтона (HD) i ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 (SCA3) (K) (prof. dr hab. Włodzimierz Krzyżosiak i dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN).

- IX. Bioekonomia i biotechnologia – aspekty społeczne i prawne (N) (prof. dr hab. Tomasz Twardowski).
- X. Podstawy chemiczne i strukturalne funkcji biologicznej terapeutycznie ważnych kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Ryszard Kierzek)
  - 1. Termodynamika modyfikowanych kwasów nukleinowych (K),
  - 2. Analiza struktury i dynamiki kwasów nukleinowych metodami biomolekularnego NMR (K).
- XI. Pronukleotydy dla terapii antywirusowej i antynowotworowej (N) (prof. dr hab. Adam Kraszewski).
- XII. Synteza, struktura i aktywność biologiczna komponentów kwasów nukleinowych i ich analogów (prof. dr hab. Jerzy Boryski)
  - 1. Polifosforanowe pochodne analogów nukleozydów – nowa generacja pro-nukleotydów (K),
  - 2. Transformacja nukleozydów dla nowych celów terapeutycznych i określenia mechanizmu ich działania (K).
- XIII. Poszukiwanie nowego modelu dla badań epigenetycznych (N) (prof. dr hab. Jan Barciszewski i dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN).
- XIV. Możliwości wykorzystania technik kolizyjnie indukowanej fragmentacji (CID MS/MS) oraz analizatorów wysokiej rozdzielczości do charakterystyki strukturalnej metabolitów wtórnych w materiale biologicznym (K) (dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN).
- XV. Mechanizmy powstawania zmienności genetycznej (N) (dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN).
- XVI. Badania uniwersalności strukturalnej RNA wirusów grypy (K) (dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN).
- XVII. Badania krystalograficzne białek i kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)
  - 1. Badania strukturalne enzymów hydrolitycznych i ich inhibitorów (K),
  - 2. Struktura i funkcja biologiczna białek biorących udział w sygnalizacji hormonalnej roślin (K),
  - 3. Badania strukturalne kwasów nukleinowych (N).
- XVIII. Wykorzystanie technik spektrometrii mas w identyfikacji produktów naturalnych pochodzenia roślinnego. Poszukiwanie genów kodujących białka reakcji obronnych w roślinach modelowych (K) (dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN).
- XIX. Badania zależności między strukturą i funkcją biomolekuł (K) (prof. dr hab. Wojciech Rypniewski).
- XX. Struktura i funkcja retroelementów (K) (prof. dr hab. Ryszard W. Adamiak).
- XXI. Poszukiwanie nowych czynników przeciwbakteryjnych (K) (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski (wkład własny w ramach międzynarodowego projektu JPI AMR „Wspomagane strukturalnie projektowanie inhibitorów metalo- $\beta$ -laktamaz o szerokim spektrum działania”).

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich**

---

### **Projekty, które otrzymały dofinansowanie w 2016 r., kontynuowane w 2017 r.**

- 1. Dr Jolanta Lisowiec-Wąchnicka, *Wybór nici wiodącej w czasie formowania się kompleksu RISC (RNA-induced silencing complex) w ssaczycy liniach komórkowych.*
- 2. Dr Lucyna Budzko, *Badanie polimorfizmu liczby kopii genów kodujących ludzkie białka oddziałujące z białkami lub RNA wirusa zapalenia wątroby typu.*
- 3. Mgr Joanna Sroka, *Weryfikacja miejsca inicjacji translacji białka p53 u *Mus musculus*,*
- 4. Mgr inż. Aleksander Strugała, *Poszukiwanie kapsydów BMV o nowych właściwościach.*

## Projekty, które otrzymały dofinansowanie w 2017 r.

1. Dr inż. Dorota Magner, *Optymalizacja układu badawczego do monitorowania alleloselektywnej aktywności antysensownych oligonukleotydów.*
2. Dr Marta Soszyńska-Jóźwiak, *Opracowanie metody określenia stabilności wiązań fosfodiesterowych RNA z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA.*
3. Dr Agnieszka Kiliszek, *Analiza krystalograficzna kompleksów powtórzeń RNA typu CNG z cyklicznymi bis-naftyrydynami.*
4. Dr Adam Ciesiołka, *Identyfikacja białek wchodzących w skład agregatów tworzonych przez zmutowane białka zawierające wydłużone ciągi poliglutaminowe.*
5. Mgr inż. Wojciech Szlachcic, *Stworzenie warsztatu generowania izogenicznych i naiwnych ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC) z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas9.*
6. Mgr inż. Wanda Biała, *Uzyskanie transgenicznych roślin z wyciszoną ekspresją MtABCG16, które będą wykorzystane podczas analizy funkcjonalnej białka MtABCG16 w kontekście transportu prekursorów lignin, w odpowiedzi na stres biotyczny.*
7. Dr Joanna Śliwiak, *Wiązanie związków flawonowych przez roślinne białka związane z patogenezą PR-10.*
8. Mgr Jakub Kuczyński, *Optymalizacja metody badawczej digital droplet PCR dla wykrywania mikroRNA u różnych odmian soi.*
9. Mgr Aleksandra Paweła, *Oznaczenie zmian ilości kwasu abscysynowego w bielmie i zarodku nasion *Medicago truncatula*.*
10. Mgr Tomasz Czapik, *Wpływ modyfikacji nukleozydów purynowych na strukturę i termodynamikę modelowych RNA.*
11. Dr Marta Szabat, *Niekanoniczne formy DNA i RNA oraz ich właściwości strukturalne i biologiczne.*
12. Mgr Ireneusz Stolarek, *Analiza uszkodzeń DNA pozyskanego z kopalnych szczątków ludzkich.*
13. Mgr Anna Mleczko, *Opracowanie nowej metody identyfikacji oddziaływań krótkich RNA z rybosomami in vivo.*
14. Mgr Paulina Żydowicz-Machtel, *Analiza efektywności translacji izoform białka p53:  $\Delta$  133p53 oraz  $\Delta$  160p53 w warunkach in vitro oraz w wybranych liniach komórek ludzkich.*
15. Mgr Piotr Machtel, *Badanie dynamiki zmian poziomu ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm aminokwasów, znajdujących się pod kontrolą ryboprzełączników u bakterii *Bacillus subtilis* poprzez zastosowanie techniki ilościowego PCR w czasie rzeczywistym.*
16. Mgr inż. Paula Michalak, *Struktura drugorzędowa piątego segmentu wirusa grypy typu A na przykładzie podtypu H1N1.*
17. Mgr Grzegorz Figura, *Badanie toksyczności ataksyny trzeciej w zróżnicowanych komórkach SH-SY5Y.*
18. Mgr Julita Gumna, *Analiza funkcji sekwencji PAL w procesie dimeryzacji genomowego RNA retrotranspozonu Ty1.*
19. Mgr Karolina Zielińska, *Analiza czynników strukturalnych odpowiedzialnych za stabilizujące właściwości reszt 2'-OMe w obecności jonów  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$  metodami biomolekularnego NMR.*
20. Mgr Agnieszka Witkowska, *Analiza właściwości fluorescencyjnych i termolabilnych pochodnych 1,2-bis(2-pirydylo)etyleny.*
21. Mgr Dariusz Wawrzyniak, *Aktywność przeciwnowotworowa modyfikowanych nukleozydów purynowych i pirymidyniowych w wybranych liniach komórek nowotworowych.*
22. Dr inż. Maria Pokornowska, *Charakterystyka aktywności opiekuńczej ludzkiej rybonukleazy Dicer względem kwasów nukleinowych.*

## Doktoranci spoza Instytutu

23. Mgr inż. Joanna Świerkowska, *Weryfikacja wyników sekwencjonowania całego egzomu oraz analiza segregacji wybranych wariantów sekwencji w wysokiej krótkowzroczności w rodzinach polskich.*
24. Mgr inż. Katarzyna Masajada, *Profilowanie ekspresji genów związanych z tolerancją suszy oraz analiza ich funkcji u wybranych gatunków i mieszkańców traw kompleksu Lolium-Festuca.*
25. Mgr Adam Augustyniak, *Fizjologiczne i molekularne podstawy tolerancji niskiej temperatury u form introgresywnych życicy wielkokwiatowej (Lolium multiflorum Lam.) i kostrzewy trzcinowej (Festuca arundinacea Schreb).*
26. Mgr Fatema Bakro, *Reverse genetic tools for studying developmental processes in peas.*
27. Mgr Michał Kempa, *Molekularne podstawy zmienności cech morfologicznych kłosa w aspekcie kształtowania się potencjału plonotwórczego u jęczmienia (Hordeum vulgare L.).*
28. Mgr Anna Durska, *Profilowanie ekspresji genów szlaków metabolicznych związanych z zawartością oligosacharydów w nasionach oraz uaktywnianych podczas odpowiedzi na porażenie Didymella pinodes u grochu.*
29. Mgr inż. Jagoda Czarnecka, *Funkcja białka StZPR1 u ziemniaka (S. tuberosum, L.) w regulacji ekspresji genów zależnych od cyklu dobowego.*
30. Mgr Łukasz Walas, *Analiza zmienności genetycznej kasztanowca zwyczajnego (Aesculus hippocastanum L.) z zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych w naturalnej populacji Dasos Nanitsa.*
31. Mgr Carolina Gomes, *Identification and characterization of DNA methyltransferases and DNA demethylases in Salix purpurea, a model plant for bioenergy and phytopharmaceutical products.*
32. Mgr inż. Urszula Talar, *Funkcja wybranych białek należących do rodziny palca cynkowego typu B-box w procesach wzrostu i rozwoju u Solanum tuberosum.*
33. Mgr inż. Mikołaj Wawrzyniak, *Określenie bezpiecznego zakresu wilgotności nasion rokitnika zwyczajnego (Hippophae rhamnoides L.) przechowywanych w ciekłym azocie.*
34. Mgr Soham Mukhopadhyay, *Understanding the role of chitin related defence responses during Plasmodiophora brassicae infection.*
35. Mgr Marta Kowalska, *Badanie struktury zbiorowisk grzybów mykorozowych (EM) na sadzonkach lipy i graba w wybranych, polskich szkółkach leśnych.*
36. Mgr Preeti Shakya, *Role of Hyp-1 protein in Agrobacterium mediated TDNA transfer in recalcitrant plant species like Hypericum perforatum.*
37. Mgr Juan Camilo Ochoa, *Understanding the role of chitin related defence responses during Plasmodiophora brassicae infection.*
38. Mgr inż. Marcin Pyrski, *Cząstki wirusopodobne oczyszczone z materiału roślinnego jako składnik szczepionek i nośnik epitopów.*

## Informacja o wykorzystaniu dotacji na finansowanie kosztów związanych z utrzymaniem specjalnego urządzenia badawczego (SPUB)

---

Działalność podstawową sześciu pracowni w 2017 r. wsparła dotacja na finansowanie kosztów związanych z utrzymaniem specjalnego urządzenia badawczego (SPUB).

Były to środki przyznane na działalność Europejskiego Centrum Bioinformatyki i Genomiki (ECBiG) na lata 2017-2019, z czego na rok 2017 przeznaczono 1,2 mln zł. W ECBiG działa 6 specjalistycznych pracowni ICHB PAN: Pracownia Genomiki (pierwotnie Pracownia Mikromacierzy i Głębokiego Sekwencjonowania), Pracownia Spektrometrii Mas, Pracownia Hodowli Komórkowych i Tkankowych, Pracownia Biomolekularnego NMR, Pracownia Inżynierii Białek oraz Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych.

W ramach realizacji zadań przewidzianych we wniosku w roku 2017 dokonano napraw i konserwacji dwóch spektrometrów mas (Maldi oraz ESI/qToF), Cryo Platformy do spektroskopii NMR oraz zamrażarki i systemu do oczyszczania wody, z którego korzystają wspólnie Pracownia Spektrometrii Mas i Pracownia Genomiki. Zakupiono obiektyw do mikroskopu znajdującego się na wyposażeniu Pracowni Hodowli Komórkowych i Tkankowych. Pokryto koszty materiałów eksploatacyjnych (hel, filtry i złoże wymienne do systemu oczyszczania wody, olej, kartridże i uszczelki do systemu do ilościowego PCR, probówki, rękawiczki, końcówki do pipet, filtry nastrzykawkowe), odczynników niezbędnych do przeprowadzenia rutynowych testów i konserwacji aparatury, częściowe koszty energii i obsługi finansowo-administracyjnej oraz koszty wynagrodzeń pracowników technicznych.

Zgodnie z ogólnymi zasadami przyjętymi przez ICHB PAN, ECBiG wspierało grupy badawcze z Instytutu oraz inne jednostki badawcze w Polsce głównie na zasadzie współpracy naukowej. Urządzenia znajdujące się na wyposażeniu ECBiG były wykorzystywane do realizacji wielu zadań i projektów, których szczegółowe zestawienia znajdują się w sprawozdaniach poszczególnych pracowni.

## Projekty badawcze realizowane w roku 2017

| Lp.                                      | Tytuł projektu, nr umowy                                                                                                                                                                                                                                                                               | Kierownik projektu                                                                                                             | Okres realizacji (rok) od-do | Przyznane środki                    |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| <b>PROJEKTY NARODOWEGO CENTRUM NAUKI</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                |                              |                                     |
| <b>Projekty MAESTRO</b>                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                |                              |                                     |
| 1.                                       | Toksyczność RNA w patogenezie chorób poliglutaminowych; 2012/06/A/NZ1/00094                                                                                                                                                                                                                            | prof. dr hab. W.J. Krzyżosiak                                                                                                  | 2013–2018                    | 2 996 500                           |
| 2.                                       | Kompleksowe podejście w celu zdefiniowania molekularnych podstaw odpowiedzi kukurydzy na stres herbicydowy; 2012/06/A/NZ9/00125                                                                                                                                                                        | prof. dr hab. T. Twardowski                                                                                                    | 2013–2018                    | 2 585 900                           |
| 3.                                       | Strukturalnie zdefiniowane oligonukleotydy. Badania struktury oraz uwarunkowań strukturalnych oddziaływań i funkcji RNA; 2013/08/A/ST5/00295                                                                                                                                                           | prof. dr hab. R. Kierzek                                                                                                       | 2013–2018                    | 2 997 800                           |
| 4.                                       | Analiza somatycznych mutacji w genach miRNA i w genach biogenezy miRNA w celu identyfikacji nowych celów terapii i biomarkerów chorób nowotworowych; 2016/22/A/NZ2/00184                                                                                                                               | dr hab. P. Kozłowski                                                                                                           | 2017–2022                    | 3 419 300                           |
| <b>Projekty SYMFONIA</b>                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                |                              |                                     |
| 5.                                       | Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle zintegrowanych badań historycznych, antropologicznych i genomicznych projekt realizowany na podstawie umowy konsorcyjnej (Lider konsorcjum- ICHB PAN); 2014/12/W/NZ2/00466                                                                          | prof. dr hab. M. Figlerowicz                                                                                                   | 2014–2020                    | 6 000 000<br>3 758 180 <sup>1</sup> |
| 6.                                       | Trójwymiarowe Peptydowo-Organiczne Szkielety Supramolekularne<br>Zadania badawcze:<br>1. Badania oddziaływania supramolekularnych peptydowo-organicznych szkieletów z modelowymi białkami<br>2. Kokrystalizacja i badania strukturalne supramolekularnych peptydowo-organicznych szkieletów z białkami | prof. dr hab.<br>M. Jaskólski<br>(kierownik zadań z ramienia ICHB PAN)<br>dr hab. A. Szumna<br>(kierownik projektu – ICHO PAN) | 2016–2021                    | 4 109 100<br>1 611 700 <sup>2</sup> |

<sup>1</sup> Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

<sup>2</sup> Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

|             |                                                                                                                                                                                                                                                   |                                   |           |           |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------|-----------|
|             | 3. Badania strukturalne szkieletów następnych generacji i badania ich oddziaływania z modelowymi białkami-projekt realizowany na podstawie umowy konsorcyjnej (Lider konsorcjum – Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie)2016/20/W/ST5/00478 |                                   |           |           |
| <b>OPUS</b> |                                                                                                                                                                                                                                                   |                                   |           |           |
| 7.          | Opracowanie chemicznej metody syntezy biologicznie aktywnych trójfosforanów z zastosowaniem termolabilnych grup ochronnych; 2012/07/B/ST5/03035                                                                                                   | dr hab. M. Chmielewski            | 2013–2017 | 891 560   |
| 8.          | Badanie możliwości i ograniczeń zastosowania sieci Petriego do modelowania i analizy złożonych systemów biologicznych na przykładzie procesu powstawania i rozwoju miażdżycy w organizmie człowieka; 2012/07/B/ST6/01537                          | prof. dr hab. inż. P. Formanowicz | 2013–2017 | 684 000   |
| 9.          | Rybozomy jako nowe narzędzia do badania genomu mitochondrialnego; UMO-2013/09/B/NZ1/03359                                                                                                                                                         | prof. dr hab. J. Barciszewski     | 2014–2017 | 1 066 650 |
| 10.         | Rola regionów niekodujących 5' mRNA genu p53 syntetyzowanych z różnych promotorów transkrypcyjnych i wykorzystujących alternatywne miejsca inicjacji translacji w generowaniu izoform białka p53; 2013/09/B/NZ1/01884                             | prof. dr hab. J. Ciesiołka        | 2014–2017 | 798 000   |
| 11.         | Wyjaśnienie mechanizmu działania małowcząsteczkowych inhibitorów kinaz w łagodzeniu patomechanizmu dystrofii miotonicznej typu pierwszego (DM1); 2014/13/B/NZ5/03214                                                                              | dr hab. M. Wojciechowska          | 2015–2019 | 665 840   |
| 12.         | Hybrydowe, dwufunkcyjne struktury RNA typu dupleks-kwadrupeks jako nowe narzędzia do wyciszania ekspresji genów; 2014/13/B/ST5/04144                                                                                                              | prof. dr hab. Z. Gdaniec          | 2015–2018 | 891 000   |
| 13.         | Rybozyd kinetyny i jego pochodne –analiza właściwości apoptycznych i mechanizmu działania w komórkach guzów mózgu; 2014/13/B/NZ7/02291                                                                                                            | dr hab. E. Wyszko                 | 2015–2019 | 862 940   |
| 14.         | Identyfikacja mechanizmów molekularnych zaangażowanych w odpowiedź soi na stres niskich temperatur w warunkach klimatu umiarkowanego; 2014/15/B/NZ9/02312                                                                                         | prof. dr hab. T. Twardowski       | 2015–2018 | 1 443 476 |
| 15.         | Mechanizmy selektywnego wyciszania genów chorób poliglutaminowych przez nietypowe siRNA; 2014/15/B/NZ1/01880                                                                                                                                      | prof. dr hab. W.J. Krzyżosiak     | 2015–2018 | 1 476 600 |
| 16.         | Poszukiwanie mechanizmów indukujących polimorfizm liczby kopii dużych fragmentów genomu oraz związków tego zjawiska z tworzeniem i ewolucją metabolicznych klastrów genów; 2014/13/B/NZ2/03837                                                    | prof. dr hab. M. Figlerowicz      | 2015–2019 | 911 900   |
| 17.         | Strukturalne badania białek kluczowych dla oddziaływań pomiędzy kleszczem, ssakiem i patogenem; 2015/17/B/NZ1/00873                                                                                                                               | prof. dr hab. M. Jaskólski        | 2016–2019 | 806 000   |

|     |                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                        |           |                                   |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------------------------------|
| 18. | Katalityczne kwasy nukleinowe nowej generacji w regulacji ekspresji informacji genetycznej; 2015/17/B/ST5/01467                                                                                                                               | prof. dr hab. J. Barciszewski                                          | 2016–2019 | 874 200                           |
| 19. | Molekularne mechanizmy utraty szlaku metabolicznego na przykładzie gatunków blisko spokrewnionych z rośliną modelową <i>Capsella rubella</i> ; 2015/17/B/NZ1/00871                                                                            | dr hab. P. Bednarek                                                    | 2016–2019 | 618 400                           |
| 20. | Analiza roli genu BARD1, jako czynnika warunkującego genetyczną predyspozycję do raka piersi – zastosowanie unikalnej strategii, analizy asocjacji mutacji założycielskich; 2015/17/B/NZ2/01182                                               | dr hab. P. Kozłowski                                                   | 2016–2019 | 1 373 000                         |
| 21. | Identyfikacja białek wiążących się do powtórzeń CAG i badanie interakcji RNA-białko w komórkach; 2015/19/B/NZ2/02453                                                                                                                          | prof. dr hab. W.J. Krzyżosiak                                          | 2016–2019 | 1 899 440                         |
| 22. | Rola mikroRNA w regulacji metabolizmu żelaza w ataksji Friedreicha; 2015/19/B/NZ1/02804                                                                                                                                                       | dr hab. M. Napierała                                                   | 2016–2019 | 1 094 800                         |
| 23. | Poszukiwanie molekularnych mechanizmów progresji miażdżycy w przewlekłej chorobie nerek; 2015/19/B/NZ2/02450                                                                                                                                  | dr M. Łuczak                                                           | 2016–2019 | 893 817                           |
| 24. | Rola transporterów błonowych w kaskadzie sygnałowej cytokinin podczas symbiozy bobowatych z bakteriami brodawkowymi; 2015/19/B/NZ9/03548                                                                                                      | dr hab. M. Jasiński                                                    | 2016–2019 | 830 400                           |
| 25. | Struktura RNA wirusa grypy w warunkach in vivo i in vitro. Uwarunkowania strukturalne inhibicji namnażania wirusa za pomocą modyfikowanych antysensowych oligonukleotydów, siRNA oraz niskocząsteczkowych ligandów; 2015/19/B/NZ1/02803       | dr hab. E. Kierzek                                                     | 2016–2019 | 985 100                           |
| 26. | Cytoplazmatyczne przeszkody na drodze reprogramowania przeznaczenia komórki: od indywidualnych czynników do mechanizmów molekularnych; 2015/19/B/NZ3/02412                                                                                    | dr hab. R. Ciosk                                                       | 2016–2019 | 1 787 087                         |
| 27. | Wpływ niekodujących RNA na rozwój komórek nerek oraz karcinogenezę; 2016/21/B/NZ2/03468                                                                                                                                                       | dr hab. J. Wrzeński                                                    | 2017–2020 | 936 700                           |
| 28. | Rola czynników białkowych wiążących się do regionu niekodującego 5' ludzkiego mRNA p53 w regulacji ekspresji białka p53 na poziomie translacji; 2016/21/B/NZ1/02832                                                                           | prof. dr hab. J. Ciesiołka                                             | 2017–2020 | 1 092 000                         |
| 29. | Nowe, wielozadaniowe nanocząstki w skojarzonej geno- i fototerapii<br>Zadania badawcze:<br>1. Synteza dwuniciowego RNA (dsRNA) o sekwencji homologicznej do tenascyny – C (TNC);<br>2. Molekularna charakterystyka aktywności nanomateriałów; | prof. dr hab. J. Barciszewski<br>(kierownik zadań z ramienia ICHB PAN) | 2017–2020 | 1 523 316<br>502 600 <sup>3</sup> |

<sup>3</sup> Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

|                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                    |           |           |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|
|                            | 3. Analiza poziomu 8 – oxo dG w DNA jako znacznika stresu oksydacyjnego;<br>4. Analiza globalnego poziomu metylacji DNA komórek traktowanych nanomateriałami;<br>5. Badania przenikalności nanocząsteczek przez błony komórkowe oraz bariery wewnątrzustrojowe w modelu komórkowym<br>(Lider konsorcjum – Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu) 2016/21/B/ST8/00477 | prof. dr hab. S. Jurga<br>(kierownik projektu<br>– UAM w Poznaniu) |           |           |
| <b>Projekty SONATA</b>     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                    |           |           |
| 30.                        | Ewolucyjne modelowanie fizykochemicznych warunków nadekspresji wirusowych replikonów w płynnych kulturach roślinnych; 2013/09/D/NZ1/03364                                                                                                                                                                                                                                | dr inż. R. Pilarski                                                | 2014–2018 | 689 700   |
| 31.                        | W poszukiwaniu nowych mechanizmów kontroli ekspresji genów odmiennych od RNAi – krótkie RNA powstające ze snoRNA; 2014/13/D/NZ1/00061                                                                                                                                                                                                                                    | dr K. Bąkowska-Żywicka                                             | 2015–2018 | 631 840   |
| 32.                        | Identyfikacja kolistych RNA oraz białek uczestniczących w ich biogenezie u modelowej rośliny, Arabidopsis thaliana; 2014/15/D/NZ2/02305                                                                                                                                                                                                                                  | dr A. Philips                                                      | 2015–2018 | 892 110   |
| 33.                        | Aktywne systemy transportu jako element kontrolujący „molekularną rozmowę” między symbiontami podczas formowania mikoryzy arbuskularnej; 2015/17/D/NZ3/03625                                                                                                                                                                                                             | dr J. Banasiak                                                     | 2016–2019 | 500 000   |
| 34.                        | Przeżywalność i stres oksydacyjny w hiperhomocysteinemii; 2015/17/D/NZ5/03444                                                                                                                                                                                                                                                                                            | dr M. Sikora                                                       | 2016–2019 | 618 200   |
| 35.                        | Kompleksowa analiza działania oligonukleotydów jako potencjalnych terapeutyków w chorobach poliglutaminowych; 2015/17/D/NZ5/03443                                                                                                                                                                                                                                        | dr A. Fiszer                                                       | 2016–2019 | 658 000   |
| 36.                        | Translacja inicjowana na powtórzonych sekwencjach CAG w ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3; 2015/19/D/NZ5/02183                                                                                                                                                                                                                                                          | dr M. Jazurek-Ciesiołka                                            | 2016–2019 | 699 048   |
| 37.                        | Dwufunkcyjne oligonukleotydy antysensowe - optymalizacja w regulacji alternatywnego splicingu w nowotworowych liniach komórkowych; 2016/21/D/NZ5/01906                                                                                                                                                                                                                   | dr J. Lisowiec-Wąchnicka                                           | 2017–2020 | 748 700   |
| 38.                        | W jaki sposób struktura RNA kieruje funkcją matrycowego RNA? Aspekty strukturalne i funkcjonalne kluczowe dla syntezy białka p53 - głównego regulatora podstawowych procesów w komórce; 2016/23/D/NZ1/02565                                                                                                                                                              | dr L. Błaszczuk                                                    | 2017–2020 | 533 380   |
| 39.                        | Demetylaza histonów JMJD3 jako epigenetyczny regulator procesów senescencji oraz nowotworzenia; 2016/21/D/NZ3/00641                                                                                                                                                                                                                                                      | dr P. Perrigue                                                     | 2017–2020 | 632 400   |
| <b>Projekty SONATA BIS</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                    |           |           |
| 40.                        | Roślinne metabolity wtórne w kontroli kolonizacji roślin przez mikroorganizmy; 2012/07/E/NZ2/04098                                                                                                                                                                                                                                                                       | dr hab. P. Bednarek                                                | 2013–2018 | 1 497 600 |

|                           |                                                                                                                                                      |                                |           |           |
|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------|-----------|
| 41.                       | Termodynamiczne podstawy projektowania optymalnych funkcjonalnie, modyfikowanych siRNA oraz ich eksperymentalna weryfikacja; 2013/10/E/NZ1/00741     | dr hab. A. Pasternak           | 2014–2018 | 810 300   |
| 42.                       | Definiowanie nowych mechanizmów neurodegeneracji z użyciem pierwszego modelu knock-in SCA3/MJD; 2013/10/E/NZ4/00621                                  | dr hab. M. Figiel              | 2014–2019 | 1 498 900 |
| 43.                       | Wykorzystanie narzędzi genetycznych w eksperymentalnej terapii chorób poliglutaminy; 2015/18/E/NZ2/00678                                             | dr hab. M. Olejniczak          | 2016–2021 | 1 917 600 |
| 44.                       | Niepoznane obszary aktywności ludzkiej rybonukleazy Dicer; 2016/22/E/NZ1/00422                                                                       | dr hab. A. Kurzyńska-Kokorniak | 2017–2022 | 1 959 600 |
| 45.                       | Struktura RNA i jego oddziaływania z białkiem Gag warunkujące funkcje RNA Ty1 na różnych etapach replikacji retrotranspozonu; 2016/22/E/NZ3/00426    | dr K. Pachulska-Wieczorek      | 2017–2021 | 1 152 060 |
| <b>Projekty SONATINA</b>  |                                                                                                                                                      |                                |           |           |
| 46.                       | Funkcja struktury drugorzędowej vRNA wirusa grypy typu A w kompleksie rybonukleoproteinowym podczas cyklu replikacyjnego wirusa; 2017/24/C/NZ1/00219 | dr E. Lenartowicz              | 2017–2020 | 1 083 146 |
| <b>Projekty HARMONIA</b>  |                                                                                                                                                      |                                |           |           |
| 47.                       | Konserwatywne motywy strukturalne RNA wirusa grypy: klucz do zrozumienia funkcji wirusowych RNA; 2013/08/M/NZ1/01062                                 | dr hab. E. Kierzek             | 2013–2017 | 912 600   |
| 48.                       | Transport ABA u bobowatych- między odpowiedzią na stres suszy a wydajnym wiązaniem azotu atmosferycznego; 2013/10/M/NZ3/00260                        | dr hab. M. Jasiński            | 2014–2017 | 774 280   |
| 49.                       | Funkcja roślinnych metabolitów wtórnych w promocji wzrostu indukowanej przez endofity grzybowe; 2015/18/M/NZ1/00406                                  | dr hab. P. Bednarek            | 2016–2019 | 504 000   |
| <b>Projekty PRELUDIUM</b> |                                                                                                                                                      |                                |           |           |
| 50.                       | Rola hiperhomocysteinemii w sygnalizacji zapachowej u myszy; 2014/15/N/NZ5/01646                                                                     | mgr J. Wróblewski              | 2015–2018 | 150 000   |
| 51.                       | Patofizjologiczne konsekwencje N-homocysteinylacji histonów w hiperhomocysteinemii spowodowanej niedoborem CBS; 2014/15/N/NZ5/01647                  | mgr I. Bielińska               | 2015–2018 | 146 760   |
| 52.                       | Profilowanie mikroRNA w komórkowych modelach w choroby Huntingtona stworzonych z użyciem technologii iPSC; 2015/17/N/NZ2/01916                       | dr E. Kozłowska                | 2016–2019 | 149 200   |
| 53.                       | Obrazowanie szlaku biogenezy miRNA i komórkowej lokalizacji reagentów technologii interferencji RNA; 2015/17/N/NZ3/03629                             | dr M. Urbanek-Trzeciak         | 2016–2019 | 148 800   |

|                           |                                                                                                                                                                                                                         |                       |           |         |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------|---------|
| 54.                       | Struktura i funkcja białka Glod4; 2015/17/N/NZ3/03626                                                                                                                                                                   | mgr inż. O. Utyro     | 2016–2019 | 150 000 |
| 55.                       | Delecja genomu APOBEC3B – analiza jej roli w rodzinnej predyspozycji do raka piersi oraz określenie jej funkcjonalności na poziomie mRNA; 2015/19/N/NZ5/02247                                                           | dr K. Klonowska       | 2016–2019 | 150 000 |
| 56.                       | Właściwości antykoagulacyjne i antyproliferacyjne nowych analogów aptamerów wiążącego trombinę; 2015/19/N/NZ5/02246                                                                                                     | dr W. Kotkowiak       | 2016–2018 | 49 960  |
| 57.                       | Modyfikowane siRNA, rybozomy i system CRISPR/Cas jako strategie inhibicji namnażania wirusa grypy typu A. Zastosowanie i porównanie metod inhibicji nakierowanych na wirusowe RNA; 2016/21/N/NZ1/00565                  | mgr J. Kęsy           | 2017–2020 | 149 960 |
| 58.                       | Ekspresja kolistych RNA w dystrofii miotonicznej typu 1 - związek z patogenezą; 2016/21/N/NZ5/00508                                                                                                                     | dr K. Czubak          | 2017–2020 | 150 000 |
| 59.                       | Opracowanie nowej metody bezpośredniej identyfikacji i absolutnej oceny ilościowej zdarzeń przedwczesnej terminacji transkrypcji, na przykładzie bakteryjnych ryboprzełączników; 2016/23/N/NZ1/02446                    | mgr P. Machtel        | 2017–2019 | 99 800  |
| 60.                       | Katalityczne RNA jako narzędzia w biotechnologii mitochondriów ludzkich; 2016/21/N/NZ1/00564                                                                                                                            | mgr inż. P. Głodowicz | 2017–2020 | 149 200 |
| 61.                       | Fosfobetainy <i>N</i> -tlenkowe w nowych strategiach syntezy P-modyfikowanych fosforanów i polifosforanów biomolekuł naturalnych i ich analogów; 2016/23/N/ST5/03024                                                    | mgr M. Materna        | 2017–2019 | 99 500  |
| <b>Projekty FUGA</b>      |                                                                                                                                                                                                                         |                       |           |         |
| 62.                       | Ścieżki degradacji transkryptów związanych z chorobami człowieka, których podłożem jest ekspansja sekwencji mikrosatelitarnych; 2015/16/S/NZ1/00086                                                                     | dr K.W. Drązkowska    | 2015–2019 | 612 000 |
| <b>Projekty MINIATURA</b> |                                                                                                                                                                                                                         |                       |           |         |
| 63.                       | Zmienność liczby kopii genu MSH2 u Arabidopsis thaliana - struktura duplikacji, zakres polimorfizmu w naturalnych ekotypach oraz wpływ na ekspresję genów zaangażowanych w naprawę niesparowań DNA; 2017/01/X/NZ2/00144 | dr A. Żmieńko         | 2017–2018 | 49 500  |
| 64.                       | Synteza nowych pochodnych porfirynowych o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej (PDT); 2017/01/X/ST5/00680                                                                                                | dr Z. Jahnz-Wechmann  | 2017–2018 | 49 500  |
| 65.                       | Synteza nowych analogów dimerów nukleozydów pirymidyniowych zawierających łącznik 1,2,3-triazolowy o potencjalnym wykorzystaniu w medycynie; 2017/01/X/ST5/00381                                                        | dr D. Baraniak        | 2017–2018 | 49 500  |

|                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                  |           |                                       |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|-----------|---------------------------------------|
| 66.                                                   | Wykorzystanie modyfikowanych chemicznie kwadrupleksów RNA w terapii antysensowej; 2017/01/X/ST5/00589                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | dr D. Gudanis                    | 2017–2018 | 49 500                                |
| 67.                                                   | Nowe 3,6,9-tripodstawione pochodne 9-H-karbazolu jako potencjalne sondy fluorescencyjne do detekcji kwadrupleksów DNA i RNA; 2017/01/X/ST5/00577                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | dr D. Baranowski                 | 2017–2018 | 49 940                                |
| <b>PROGRAMY MINISTRA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                  |           |                                       |
| 68.                                                   | Badanie roli neuronalnej ścieżki PGC-1 $\alpha$ -PPAR $\delta$ w patogenezie i terapii choroby Parkinsona; Mobilność Plus; 1303/MOB/IV/2015/0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | dr P. Świtoński                  | 2015–2018 | 585 000                               |
| <b>PROJEKTY NARODOWEGO CENTRUM BADAŃ I ROZWOJU</b>    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                  |           |                                       |
| <b>Program LIDER</b>                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                  |           |                                       |
| 69.                                                   | Nukleozydo difosforany – nowatorska koncepcja pro-nukleotydów anty-HIV; 711/L-4/2012                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | dr J. Romanowska                 | 2014–2018 | 1 188 000                             |
| <b>Program STRATEGMED</b>                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                  |           |                                       |
| 70.                                                   | Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek dla potrzeb medycyny regeneracyjnej; STRATEGMED1/233624/5/NCBR/2014<br>Zadania badawcze:<br>1. Walidacja pluripotencji komórek iPS uzyskanych z mioblastów (realizowane wraz z Instytutem Genetyki Człowieka PAN);<br>2. Przygotowanie i utrzymanie biblioteki czynników chemicznych do wykorzystania w celu optymalizacji indukcji pluripotencji;<br>3. Przygotowanie i utrzymanie biblioteki czynników chemicznych do wykorzystania w celu optymalizacji procesu redyferencji w kierunku kardiomyocytów;<br>4. Wysokoprzepustowa optymalizacja pożywek dla indukcji pluripotencji oraz otrzymania linii kardiomiogennych z wykorzystaniem metody sztucznej inteligencji;<br>5. Walidacja ustalonego protokołu indukcji pluripotencji (realizowane wraz z Instytutem Genetyki Człowieka PAN);<br>6. Ewaluacja molekularna in vitro kardiomyocytów pozyskanych z komórek iPS wg. protokołu wynikającego z działań Algorytmu Genetycznego | prof. dr hab.<br>W.T. Markiewicz | 2015–2018 | 21 642 080<br>10 601 400 <sup>4</sup> |

<sup>4</sup> Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                          |           |                        |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------------|
|                             | (realizowane wraz z Instytutem Genetyki Człowieka PAN–realizowane na podstawie umowy konsorcyjnej – Lider konsorcjum–Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN)                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                          |           |                        |
| <b>Program JPI AMR</b>      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                          |           |                        |
| 71.                         | Wspomagane strukturalnie projektowanie inhibitorów- $\beta$ -laktamaz o szerokim spektrum działania; AMR/1/2015<br>Zadanie badawcze:<br>1. Charakterystyka strukturalna enzymów MBL i ich kompleksów z substratami i inhibitorami w ramach projektu–Wspomagane strukturalnie projektowanie inhibitorów metalo- $\beta$ -laktamaz o szerokim spektrum działania–realizowane na podstawie umowy konsorcyjnej (Lider konsorcjum–University Paris Sud) | prof. dr hab. M. Jaskólski<br>(kierownik zadania z ramienia ICHB PAN)<br>dr. Thierry Naas (kierownik projektu, University Paris Sud)     | 2015–2019 | 1 049 014 <sup>5</sup> |
| <b>PROJEKTY ZAGRANICZNE</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                          |           |                        |
| 72.                         | Folding RNA: From AIDS to the Human Genome (NIH grant R01GM022939, Subaward number: 416849-G), “Influenza RNA Studies”                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | dr hab. E. Kierzek<br>(kierownik grantu z ramienia ICHB PAN)<br>prof. Douglas H. Turner<br>(kierownik projektu, University of Rochester) | 2016–2017 | 187 950                |
| 73.                         | Cell fate plasticity in animal development and tissue homeostasis; EMBO IG 3615                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | dr hab. R. Ciosk                                                                                                                         | 2017–2020 | 622 515                |

<sup>5</sup> Wartość realizowanego zadania przez ICHB PAN

**PROGRAM OPERACYJNY INTELIGENTNY ROZWÓJ 2014-2020**

**Oś priorytetowa IV Zwiększenie potencjału naukowo-badawczego**

**Działanie 4.2 Rozwój nowoczesnej infrastruktury badawczej sektora nauki POIR**

|                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                              |           |                                       |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------|---------------------------------------|
| 74.                                              | Genomiczna Mapa Polski–Europejskie Centrum Bioinformatyki i Genomiki<br>Zadania badawcze:<br>1. Stworzenie bazy danych genomicznych;<br>2. Narzędzia bioinformatyczne; realizowane na podstawie umowy konsorcjum z Politechniką Poznańską, Centrum Badań DNA Sp. z o.o.<br>(Lider konsorcjum – ICHB PAN) | prof. dr hab. M. Figlerowicz | 2016–2020 | 68 000 000<br>27 134 114 <sup>6</sup> |
| <b>Programy Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                              |           |                                       |
| 75.                                              | Engineering a "chitinosome"–a toolbox for chitin degradation; Program MISTRZ; 8./2014                                                                                                                                                                                                                    | prof. dr hab. W. Rypniewski  | 2015–2017 | 138 000                               |
| 76.                                              | Regulation of body fat: from novel mechanisms to therapeutic targets; TEAM/2016-2/11                                                                                                                                                                                                                     | dr hab. R. Ciosk             | 2017–2020 | 3 492 243                             |

<sup>6</sup> Wartość dofinansowania zadań realizowanych przez ICHB PAN

## Opis działalności naukowej

---

### Zakład Biochemii RNA

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka (STATUT)<sup>7</sup>**

**Skład osobowy<sup>8</sup>**

Pracownicy naukowci:

dr hab. Jan Wrzesiński, prof. ICHB PAN (STATUT)

dr Agata Świątkowska (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Mariola Dutkiewicz (STATUT)

mgr Barbara Smólska (0,75 STATUT)

Doktoranci:

mgr Paulina Żydowicz-Machtel (stypendium KNOW)

mgr Joanna Szpotkowska (stypendium KNOW)

mgr Marta Kasprowicz (stypendium NCN)

mgr Marta Kasprzyk (stypendium NCN)

### Działalność statutowa

#### **II. Badania struktury i funkcji kwasów rybonukleinowych oraz białek z nimi oddziaływujących (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka)**

##### **1. Badanie oddziaływań regionu niekodującego 5' mRNA p53 w regulacji ekspresji białka p53 (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka)**

*Cel badań*

Badania miały na celu wyjaśnienie roli w inicjacji translacji wybranych elementów struktury drugorzędowej znalezionych w regionie niekodującym 5' ludzkiego mRNA p53.

*Opis zrealizowanych prac*

Analizowano przebieg reakcji translacji *in vitro* w lizacie z retikulocytów królika (RRL) szeregu otrzymanych modelowych mRNA zawierających warianty sekwencyjne regionu terminalnego 5' mRNA p53 transkrybowanych od promotorów P1 i P0. Określono efektywność syntezy białka p53 pełnej długości oraz izoformy Δ40p53, przeprowadzając reakcje translacji w obecności znakowanej izotopowo metioniny. Ponadto analizowano przebieg reakcji translacji w czasie dla modelowych mRNA p53, zawierających sekwencję kodującą białko reporterowe lucyferazy, wykorzystując metodę luminescencyjną. Obliczono prędkość skanowania regionu terminalnego 5' przez rybosom oraz określono zależność pomiędzy długością tego regionu oraz jego strukturą drugorzędową, a czasem inicjacji translacji. Określono względną efektywność translacji szeregu modelowych mRNA różniących się długością i strukturą regionu niekodującego 5' oraz otoczeniem strukturalnym kodonu inicjującego AUG1. Translację *in vitro* wybranych modelowych mRNA prowadzono także w obecności wolnego analogu kapu, co pozwoliło wykazać, że obecność

---

<sup>7</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>8</sup> Stan na 31.12.2017 r.

charakterystycznych spinek G56-C169 i U180-A218 jest konieczna, aby translacja od kodonu AUG2 zachodziła wg mechanizmu niezależnego od kapu, prawdopodobnie z zaangażowaniem elementu IRES.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykazano istotny wpływ wariantów regionu terminalnego 5' mRNA p53 na proces skanowania tego regionu przez rybosom oraz na efektywność translacji. Szybkość skanowania zależała istotnie od struktury drugorzędowej skanowanego regionu i wynosiła od 1,4 do 6,6 nukleotydów/sekundę. Natomiast efektywność translacji zależała zarówno od długości i struktury regionu terminalnego 5', jak i od otoczenia strukturalnego kodonów inicjujących i dla badanych konstruktów różniła się 10-krotnie. Usunięcie lub skrócenie ważnych elementów strukturalnych regionu końcowego 5', spinek G56-C169 i U180-A218, pokazało, że elementy te są niezbędne dla przebiegu translacji wg mechanizmu kap-niezależnego.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Otrzymane wyniki opracowano w formie manuskryptu, który wysłano do publikacji.

## **2. Charakterystyka oddziaływań piRNA z białkami Piwi (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka)**

#### *Cel badań*

Badanie specyficzności domeny PAZ w oddziaływaniach z niskocząsteczkowymi RNA.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Cechą charakterystyczną białek Piwi występujących w gonadach *S. scrofa* jest ich tendencja do tworzenia ciał inkluzyjnych. Uzyskane uprzednio białko – domena PAZ po kilku miesiącach przechowywania w zamrażarce straciła aktywność. W bieżącym roku powtórzono nadekspresję uprzednio skonstruowanego plazmidu pET 15 zawierającego fragment genu białka Piwil2 – domenę PAZ. Prowadząc hodowlę bakterii *E. coli*, po transformacji plazmidem, w temperaturze obniżonej do 16°C uzyskano wysoką ekspresję domeny PAZ. Niestety nie powiodła się próba uzyskania pełnej długości białka Piwil4 pomimo zastosowania identycznych warunków, jak podczas ekspresji domeny PAZ. Zbadano wiązanie do domeny Piwil4-PAZ sześciu różnych niskocząsteczkowych RNA (sncRNA) tj. piRNA, tRF oraz miRNA, po dwa każdego rodzaju sncRNA. Wybór RNA zależał od częstości ich występowania w gonadach oraz sekwencji nukleotydowej. Do otrzymania sncRNA użyto transkrypcji *in vitro* z użyciem polimerazy RNA z bakteriofaga T7. Stosując test EMSA sprawdzono wiązanie cząsteczek RNA znakowanych z końca 5' izotopem <sup>32</sup>P. Stwierdzono oddziaływanie domeny Piwil4-PAZ z dwoma rodzajami sncRNA-piRNA oraz tRF aczkolwiek z wysoką stałą dysocjacji od 500 μM do 1,5 mM. Sugeruje to umiarkowaną specyficzność oddziaływań tych sncRNA z badanym białkiem. Natomiast miRNA nie wiążą się do domeny Piwil4-PAZ. Ustalono ponadto, stosując hybrydyzację typu Northern, występowanie cząsteczek piRNA i tRF nie tylko w gonadach *S. scrofa* (Kowalczykiewicz *et al.* (2014) PloS One 9, e113249), ale także w nerkach. W ramach grantu Opus skonstruowano biblioteki sncRNA z nerek i poddano sekwencjonowaniu. Prowadzona w Europejskim Centrum Bioinformatyki i Genomiki analiza bioinformatyczna wyników sekwencjonowania sncRNA nerek pozwoli poznać rodzaje małych RNA występujących w tej tkance.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Domena PAZ białka Piwil4, spośród badanych sncRNA, oddziałuje z cząsteczkami piRNA oraz tRF. Ponadto stwierdzono występowanie tych samych niskocząsteczkowych RNA w gonadach i nerkach

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Obecnie przygotowywana jest publikacja podsumowująca opisane powyżej wyniki.

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

### **1. Analiza efektywności translacji izoform białka p53: Δ 133p53 oraz Δ 160p53 w warunkach *in vitro* oraz w wybranych liniach komórek ludzkich**

**Kierownik zadania: mgr Paulina Żydowicz-Machtel**

#### *Cel badań*

W intronie czwartym genu *TP53* znajduje się miejsce inicjacji transkrypcji dla mRNA kodującego izoformy Δ133p53 oraz Δ160p53. Aby określić relatywną efektywność syntezy obydwu izoform wykonana została translacja *in vitro* w lizatach z retikulocytów króliczych. Nieoczekiwanie obserwowano tylko jeden produkt białkowy na żelu, pomimo występowania dwóch kodonów inicjacyjnych. Postanowiono zbadać, który z kodonów start jest kodonem wiodącym, z którego zachodzi translacja w warunkach *in vitro*, wykorzystując do tego metodę ukierunkowanej mutagenazy.

#### *Opis realizowanych prac*

W pierwszym etapie przygotowano warianty mRNA zawierające region 5'UTR oraz sekwencję kodującą dla białek Δ133p53 i Δ160p53. Kodony inicjujące AUG dla izoform Δ133p53 oraz Δ160p53 zostały kolejno poddane ukierunkowanej mutagenecie, w wyniku której kodon start AUG został zamieniony na kodon leucynowy – CUA. Następnie przeprowadzono translację *in vitro* konstruktów w lizacie z retikulocytów króliczych w obecności metioniny znakowanej izotopem <sup>35</sup>S. Okazało się, że wiodącym kodonem start, z którego zachodzi translacja w warunkach *in vitro* jest kodon AUG dla izoformy Δ133p53. Po przeprowadzeniu ukierunkowanej mutagenesy kodonu 133, a następnie translacji, ilość produktu białkowego była znacznie mniejsza w porównaniu do ilości produktu białkowego otrzymanego z transkryptu bez wprowadzonych mutacji. Natomiast mutagenesa kodonu dla izoformy Δ160p53 nie wpłynęła na efektywność translacji.

### **2. Weryfikacja miejsca inicjacji translacji białka p53 u *Mus musculus* (kontynuacja projektu z 2016 r.)**

**Kierownik zadania: mgr Joanna Sroka**

#### *Cel badań*

W mysim genie *Trp53* w odległości sześciu nukleotydów występują dwa potencjalne kodony inicjacyjne AUG. Oba kodony znajdują się w otwartej ramce odczytu, lecz tylko jeden z nich, zlokalizowany niżej w sekwencji, znajduje się w optymalnej sekwencji Kozak. Celem prowadzonych badań było określenie, który z wyżej wymienionych kodonów jest kodonem inicjacyjnym dla mysiego białka p53.

#### *Opis realizowanych prac*

W ramach realizacji projektu zsyntetyzowano dwa modelowe mRNA zawierające region niekodujący 5' o długości 122 nukleotydów oraz zmianę sekwencji w obrębie jednego z potencjalnych kodonów inicjacyjnych - AUG zostało zamienione na GCG. Kodon GCG nie został dotychczas scharakteryzowany jako niestandardowy kodon inicjacji translacji. Sporządzone modelowe mRNA stanowiły matrycę w reakcji translacji *in vitro* w lizacie z króliczych retikulocytów, której produkty białkowe znakowane L-[<sup>35</sup>S]-metioniną zostały zidentyfikowane przy pomocy autoradiografii. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono spadek poziomu translacji o odpowiednio 20% w przypadku zmiany w kodonie AUG zlokalizowanym wyżej w sekwencji oraz o 40% w przypadku zmiany w kodonie AUG znajdującym się niżej w sekwencji, w obrębie optymalnej sekwencji Kozak. Niemniej jednak, na podstawie otrzymanych rezultatów nie można jednoznacznie określić, który z dwóch potencjalnych kodonów jest właściwym kodonem inicjacyjnym dla mysiego białka p53.

### **1. Rola regionów niekodujących 5' mRNA genu p53 syntetyzowanych z różnych promotorów transkrypcyjnych i wykorzystujących alternatywne miejsca inicjacji translacji w generowaniu izoform białka p53 (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Podjęto próbę określenia względnej ilości izoform  $\Delta 133p53$  oraz  $\Delta 160p53$  w komórkach ludzkich. Badania przeprowadzono stosując linie komórkowe MCF-7, HepG2 oraz HT-29. Komórki poddano działaniu czynników stresowych, indukujących stres genotoksyczny lub oksydacyjny, a następnie analizowano poziom białek metodą Western blot, wykorzystując przeciwciała specyficznie rozpoznające  $\Delta 133p53$  oraz  $\Delta 160p53$ . Prace te są w toku. W równoległe prowadzonych badaniach przeprowadzono reakcję ilościowego PCR, aby określić poziom mRNA transkrybowanego od miejsca inicjacji P3 w wybranych komórkach. Wykazano, że zastosowane w wyżej wymienionych liniach komórkowych czynniki stresowe nie mają wpływu na transkrypcję, ponieważ poziom transkryptu nie zmieniał się, niezależnie od zastosowanych warunków. W celu określenia poziomu białka p53 w linii komórkowej mysich fibroblastów MEF zastosowano mysie przeciwciała monoklonalne 1C12. Zaobserwowano wzrost poziomu p53 pod wpływem poddania komórek stresowi genotoksycznemu wywołanego doksorubicyną, natomiast po zastosowaniu tapsygarginy i tunikamycyny, czynników wywołujących stres siateczki śródplazmatycznej, zaobserwowano nieznaczny spadek poziomu p53 w stosunku do kontroli. Obecnie prowadzone są badania z wykorzystaniem cytometrii przepływowej, umożliwiające dokładniejsze określenie poziomu białka p53 w komórkach. Określono także poziom mRNA genu p53 w fibroblastach mysich kontrolnych i poddanych stresowi genotoksycznemu. Uzyskane wyniki wskazują, że poziom mRNA p53 w komórkach pozostawał bez zmian po zastosowaniu czynnika stresowego.

### **2. Wpływ niekodujących RNA na rozwój komórek nerek oraz karcinogenezę (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Jan Wrzesiński, prof ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Realizację projektu rozpoczęto od hodowli modelowych ludzkich komórek nerek tj. komórek embrionalnych HEK 293 oraz pochodzących z dorosłego osobnika HK2. Zestaw ten uzupełniono o komórki macierzyste BG01V oraz komórki nowotworowe A 498. Układ komórki macierzyste–komórki embrionalne–komórki dojrzałe odzwierciedla cykl rozwojowy nerek u człowieka, a odstępstwa od tego cyklu pozwalają badać komórki nowotworowe. Na wstępie zoptymalizowano metody hodowli komórkowych (warunki hodowli, ilość pasaży, analiza fenotypowa itd.) zapewniające uzyskanie wysokiej jakości komórek nerek. Kolejnym etapem była izolacja frakcji małych niekodujących RNA (sncRNA zawierających miRNA, piRNA oraz tRF) oraz długich niekodujących RNA o długości ponad 200 nukleotydów (lncRNA). Z każdej izolacji uzyskano ilość RNA wystarczającą do konstrukcji kilkunastu bibliotek sncRNA oraz lncRNA, które poddano głębokiemu sekwencjonowaniu. Obecnie w Europejskim Centrum Bioinformatyki i Genomiki w Poznaniu przeprowadzana jest analiza bioinformatyczna w celu określenia rodzin sncRNA oraz lncRNA występujących w badanych komórkach, jak i zmian w ich ekspresji podczas rozwoju nerek i w procesach karcinogenezy.

### 3. Rola czynników białkowych wiążących się do regionu niekodującego 5' ludzkiego mRNA p53 w regulacji ekspresji białka p53 na poziomie translacji (OPUS)

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Jerzy Ciesiolka**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Pierwszy etap realizacji projektu obejmował zidentyfikowanie białek wiążących się do regionów terminalnych 5' głównych transkryptów mRNA p53 z zastosowaniem chromatografii powinowactwa do RNA i ekstraktów komórkowych. W badaniach użyto dwa oligomery RNA odpowiadające regionowi 5'-terminalnemu mRNA p53, które rozpoczynały się od promotorów transkrypcyjnych P0 lub P1 i kończyły kodonami start dla izoformy  $\Delta 40p53$ : P0- $\Delta Np53$  RNA i P1- $\Delta Np53$  RNA. Zoptymalizowano sposób przygotowania oligomerów zmodyfikowanych za pomocą nadjodanu sodu oraz związaniu ich do złoża agarozowego pokrytego dehydrazidem kwasu adypinowego. Przeprowadzono hodowlę komórek MCF-7 w warunkach kontrolnych i stresu genotoksycznego oraz chromatografię powinowactwa do P0- $\Delta Np53$  RNA i P1- $\Delta Np53$  RNA. W dwóch powtórzeniach została wykonana chromatografia powinowactwa do P1- $\Delta Np53$  RNA, dla frakcji cytoplazmatycznej wyizolowanej z komórek hodowanych bez stresu i z czynnikiem stresowym, doksorubicyną. Dodatkowo, dla każdego warunków wykonano próby kontrolne tzn. chromatografie ze złożem niepokrytym RNA, w celu późniejszego wyeliminowania wyników będących konsekwencją oddziaływań niespecyficznych. Dla P0- $\Delta Np53$  RNA, przeprowadzono dwie chromatografie z frakcją cytoplazmatyczną z komórek hodowanych w warunkach normalnych. Otrzymane próby zostały wysłane do analizy do Europejskiego Centrum Bioinformatyki i Genomiki w Poznaniu oraz do Laboratorium Spektrometrii Mas IBB w Warszawie. Analiza otrzymanych wyników jest w toku.

#### **Publikacje**

---

**A. Kasproicz, K. Stokowa-Soltys, M. Jezowska-Bojczuk, J. Wrzesinski, J. Ciesiolka**

Characterization of highly efficient RNA-cleaving DNazymes that function at an acidic pH with no divalent metal ion cofactors

*ChemistryOpen* 2017, 6, 46-56

Prace przyjęte do druku:

**P. Zydowicz-Machtel, A. Swiatkowska, L. Popenda, A. Gorska, J. Ciesiolka**

Variants of the 5'-terminal region of p53 mRNA influence the ribosomal scanning and translation efficiency

*Scientific Reports*

#### **Zakład Bioinformatyki**

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jacek Błazewicz (STATUT)<sup>9</sup>**

**Skład osobowy<sup>10</sup>**

Pracownicy naukowci:

prof. dr hab. Marta Kasprzak (0,5 STATUT)

prof. dr hab. Piotr Formanowicz (0,5 STATUT)

dr hab. Marta Szachniuk, prof. ICHB PAN (STATUT)

dr Agnieszka Rybarczyk (0,5 STATUT)

---

<sup>9</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>10</sup> Stan na 31.12.2017 r.

dr Karol Kamel (STATUT)  
dr Szymon Wąsik (0,5 STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Piotr Łukasiak (0,5 STATUT)  
dr Mariusz Popena (STATUT)  
mgr Natalia Szóstak (0,5 STATUT)

## Działalność statutowa

### III. Technologie bioinformatyczne w analizie kwasów nukleinowych i białek (prof. dr hab. Jacek Błazewicz)

#### 1. Modele i algorytmy wspomagające analizę strukturalną RNA i białek (prof. dr hab. Jacek Błazewicz i dr hab. Marta Szachniuk, prof. ICHB PAN)

##### *Cel badań*

Opracowanie algorytmów do identyfikacji i kodowania pseudowęzłów w strukturach RNA. Opracowanie metody wyszukiwania fragmentów podobnych w strukturach 3D RNA. Identyfikacja motywów w strukturach pre-miRNA *Arabidopsis thaliana*. Rozwijanie systemu RNAComposer do przewidywania struktur przestrzennych RNA. Modelowanie struktur przestrzennych RNA w ramach konkursów RNA-Puzzles.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Opracowano nowe algorytmy do identyfikacji pseudowęzłów oraz ich rzędowości oraz funkcję ich kodowania w notacji DBL. Zaproponowano nową funkcję oceny jakości kodowania. Rozszerzono funkcjonalność narzędzia RNAdbee. Zaimplementowano nową metodę wyszukiwania podobieństw w strukturze trzeciorzędowej RNA oraz przetestowano na zbiorze modeli zgłoszonych do konkursu RNA-Puzzles. Algorytm dołączony do MCQ4Structures jako nowa funkcjonalność. Opracowano schemat analizy danych strukturalnych mający na celu identyfikację motywów w sąsiedztwie miRNA. Przeprowadzono analizę wg schematu na sekwencjach oraz strukturach drugorzędowych pre-miRNA *Arabidopsis thaliana*. Z systemu RNAComposer korzystają liczni użytkownicy z całego świata. W roku 2017 opracowane zostały następujące nowe funkcje:

- wyszukiwanie ze znanych struktur przestrzennych RNA złożonych elementów strukturalnych,
- analiza struktury pseudowęzłów i kwadrupleksów RNA,
- modelowanie większych struktur RNA o długości powyżej 500 reszt nukleotydowych.

Uczestnictwo w konkursach RNA-Puzzles, na które wysłano modele dwóch ryboprzełączników. Uczestnictwo w projekcie „Unknown Rfam Puzzle”, gdzie wymodelowanych zostało 89 struktur przestrzennych obejmujących 19 rodzin RNA z bazy RFAM. Opis modeli przedstawiono w raporcie: Mariusz Popena, Maciej Antczak, Łukasz Popena, Joanna Sarzyńska, Marta Szachniuk „Prediction of unknown RNA structures in Rfam project” dostępnym na stronie <https://box.pionier.net.pl/f/85da9c2213/?dl=1>.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Implementacja nowych algorytmów do identyfikacji i kodowania pseudowęzłów, udostępnienie ich w ramach webserwera RNAdbee oraz publikacja przedstawiająca nowe algorytmy w periodyku *Bioinformatics*.

Implementacja algorytmu LCS-TA, zintegrowanie go z narzędziem MCQ4Structures oraz publikacja w *BMC Bioinformatics*.

Zajęcie wysokich lokat w konkursach RNA-Puzzles #18 i # 19.

##### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Próbnе wykorzystanie metody LCS-TA do oceny jakości w konkursie RNA-Puzzles. Wyniki prac opublikowano w czasopismach o zasięgu międzynarodowym *RNA* oraz *Bioinformatics*.

## **2. Sekwencjonowanie DNA w małej i dużej skali (dr hab. Marta Szachniuk, prof. ICHB PAN)**

### *Cel badań*

Porównanie na gruncie teoretycznym i eksperymentalnym programów do asemblacji łańcuchów DNA wykorzystujących różne modele grafowe.

### *Opis zrealizowanych prac*

Problem asemblacji DNA (sekwencjonowania w dużej skali) polega na rekonstrukcji badanego fragmentu genomu na podstawie zbiorów odczytów pochodzących z sekwencjonowania nowej generacji. Programy rozwiązujące problem asemblacji muszą poradzić sobie nie tylko z olbrzymim zbiorem danych, ale także z różnymi błędami przeniesionymi z etapu sekwencjonowania niższego poziomu. Algorytmy stosowane do tego celu muszą charakteryzować się niską złożonością obliczeniową, aby były w stanie przetworzyć w akceptowalnym czasie zbiór odczytów z wejścia, z drugiej strony muszą wyprodukować rozwiązanie o wysokiej jakości. Wszystkie oparte są na modelach grafowych, różniących się jednak sposobami konstrukcji grafu i poszukiwania w nim rozwiązania. W pracy przeanalizowano stosowane modele grafowe i porównano je na gruncie teoretycznym. Dodatkowo, przetestowano praktycznie najbardziej znane asemblery wykorzystujące te modele.

### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Zweryfikowano eksperymentalnie najpowszechniej stosowane istniejące implementacje algorytmów asemblacji odwołujących się do modeli grafowych, pod względem efektywności jakościowej i czasowej. Wbrew powszechnej opinii, nie można uznać jednego, najpowszechniej stosowanego obecnie modelu opartego na dekompozycji odczytów na oligonukleotydy, za najlepszy. Rezultat zależy od konkretnej implementacji oraz od użytego zbioru danych.

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Przeprowadzone prace pozwoliły na rzetelną ocenę stosowanych w problemie asemblacji modeli grafowych. Wyniki wykorzystane zostaną w procesie tworzenia nowego programu do asemblacji łańcuchów DNA, opartego na jednym z porównywanych modeli.

## **3. Modelowanie i analiza infekcji wirusowych za pomocą systemów wieloagentowych (prof. dr hab. Jacek Błażewicz)**

### *Cel badań*

Badania realizowane w ramach tego zadania miały trzy główne cele:

1. Opracowanie bazy danych infekcji oraz modeli infekcji wirusowych.
2. Przeprowadzenie kolejnej fazy weryfikacji języka Modelang.
3. Wykorzystanie opracowanych symulatorów wieloagentowych do weryfikacji hipotezy RNA World.

### *Opis zrealizowanych prac*

Zaprojektowana i zaimplementowana została baza danych w postaci aplikacji internetowej. Baza umożliwia przechowywanie informacji o przebiegu infekcji wirusowych w czasie (zmiany poziomu wirusa oraz liczby komórek zainfekowanych w organizmie) w postaci zbiorów testowych używanych do oceny modeli infekcji wirusowych. Baza umożliwia przechowywanie informacji o wynikach ewaluacji tych modeli i w ten sposób zaspokaja potrzebę istnienia obiektywnej metody oceniania i porównywania modeli między sobą. Implementacja rozwijanego od kilku lat języka Modelang, służącego do modelowania systemów dynamicznych z wykorzystaniem kontrolowanych języków naturalnych, została uzupełniona o brakujące funkcjonalności zidentyfikowane podczas poprzedniego eksperymentu oraz powtórnie zweryfikowana. Aktualnie przygotowywana jest publikacja podsumowująca wszystkie eksperymenty przeprowadzone z wykorzystaniem języka Modelang. Zaimplementowane wcześniej symulatory wieloagentowe zostały

wykorzystane do symulowania systemów replikaza-pasożyt, które mogły istnieć na prebiotycznej Ziemi. Adaptacja symulatora przygotowanego wcześniej dla infekcji wirusowych. Symulator został następnie użyty do zweryfikowania założeń dotyczących warunków, które musiały być spełnione, aby system replikaza-pasożyt wykazywał stabilność ekologiczną oraz ewolucyjną.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

1. Opublikowanie bazy danych VirDB
2. Ukończenie implementacji oraz weryfikacja języka Modelang.
3. Udowodnienie stwierdzenia, że ewolucja bardziej złożonych organizmów nie byłaby możliwa na prebiotycznej Ziemi bez wykształcenia się DNA jako magazynu informacji. Wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *PLoS One*.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

1. Baza danych VirDB posłuży do zbierania danych o infekcjach wirusowych i ich modelach.
2. Język Modelang będzie narzędziem umożliwiającym współpracę w zakresie modelowania pomiędzy biologami oraz informatykami.
3. Rozwinięty symulator wieloagentowy może być wykorzystywany do symulowania kolejnych systemów biologicznych.

## **Projekty**

---

### **Badanie możliwości i ograniczeń zastosowania sieci Petriego do modelowania i analizy złożonych systemów biologicznych na przykładzie procesu powstawania i rozwoju miażdżycy w organizmie człowieka (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Piotr Formanowicz**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Kontynuowane były prace nad tworzeniem i analizą modeli procesów związanych z powstawaniem i rozwojem miażdżycy. Modele te oparte były na sieciach Petriego oraz ich rozszerzeniach (w tym sieciach stochastycznych i kolorowanych) oraz na równaniach różniczkowych. Kontynuowane były także prace nad rozwojem systemu Holmes. Wśród opracowanych modeli znalazł się m.in. oparty na stochastycznych sieciach Petriego ilościowy model metabolizmu cholesterolu. Ze względu na dużą liczbę t-niezmienników analiza tego modelu oparta została przede wszystkim na symulacji przeprowadzonej za pomocą systemu Holmes. Ponadto, opracowany został ilościowy model wpływu gospodarki węglowodanowej na powstawanie i rozwój miażdżycy. Model ten przygotowano w dwóch wersjach, opartych na czasowych oraz stochastycznych sieciach Petriego. Ich analiza bazowała na t-niezmiennikach oraz symulacji przeprowadzonej za pomocą algorytmu Gillespiego. Kontynuowane były także prace nad modelowaniem osi hemojuwelina-hepcydyna – w ich ramach opracowany został model ilościowy oparty na sieciach Petriego. Stworzony został także ilościowy model zaburzeń sercowo-naczyniowych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek w różnych stadiach. Model ten opracowany został przy wykorzystaniu kolorowanych sieci Petriego. Ponadto opracowane zostały oparte na równaniach różniczkowych modele wpływu zmian ciśnienia tętniczego na ryzyko wystąpienia zawału oraz narastania ryzyka wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego.

## **Publikacje**

---

1. J. Wiedemann, **T. Zok**, **M. Milostan**, **M. Szachniuk**,  
LCS-TA to identify similar fragments in RNA 3D structures  
*BMC Bioinformatics* 2017, 18, art. 456
2. Z. Miao, **R.W. Adamiak**, M. Antczak, R.T. Batey, A.J. Becka, **M. Biesiada**, M.J. Boniecki,  
J.M. Bujnicki, S.-J. Chen, C.Y. Cheng, F.-C. Chou, A.R., Ferre-D'Amare, R. Das, W.K. Dawson,  
F. Ding, N.V. Dokholyan, S.Dunin-Horkawicz, C. Geniesse, K. Kappel, W. Kladwang,

- A. Krokhotin, G.E., Lach, F. Major, T.H. Mann, M. Magnus, **K. Pachulska-Wieczorek**, D.J. Patel, J.A. Piccirilli, **M. Popenda**, **K.J. Purzycka**, A. Ren, G.M. Rice, J.Jr., Santalucia, **J. Sarzynska**, **M. Szachniuk**, A. Tandon, J.J. Trausch, S. Tian, J. Wang, K.M. Weeks, B. Williams II, Y. Xiao, X. Xu, D. Zhang, T. Zok, E. Westhof  
RNA-Puzzles Round III: 3D RNA structure prediction of five riboswitches and one ribozyme  
*RNA* 2017, 23, 655-672
3. J. Miskiewicz, K. Tomczyk, A. Mickiewicz, **J. Sarzynska**, **M. Szachniuk**  
Bioinformatics study of structural patterns in plant microRNA precursors  
*BioMed Research International* 2017, 2017, ID 6783010
  4. **A. Mickiewicz**, **J. Sarzynska**, M. Milostan, **A. Kurzynska-Kokorniak**, **A. Rybarczyk**, **P. Lukasiak**, **T. Kulinski**, **M. Figlerowicz**, **J. Blazewicz**  
Modeling of the catalytic core of Arabidopsis thaliana Dicer-like 4 protein and its complex with double-stranded RNA  
*Computational Biology and Chemistry* 2017, 66, 44-56
  5. **M. Radom**, **A. Rybarczyk**, B. Szawulak, H. Andrzejewski, P. Chabelski, A. Kozak, **P. Formanowicz**  
Holmes: a graphical tool for development, simulation and analysis of Petri net based models of complex biological systems  
*Bioinformatics* 2017, 33, 3822-3823
  6. **M.C. Milewski**, **K. Kamel**, **A. Kurzynska-Kokorniak**, **M.K. Chmielewski**, **M. Figlerowicz**, EvOligo: A Novel Software to Design and Group Libraries of Oligonucleotides Applicable for Nucleic Acid-Based Experiments  
*Journal of Computational Biology* 2017, 24, 1014-1028
  7. **L. Budzko**, **P. Jackowiak**, **K. Kamel**, **J. Sarzynska**, J.M. Bujnicki, **M. Figlerowicz**  
Mutations in human AID differentially affect its ability to deaminate cytidine and 5-methylcytidine in ssDNA substrates in vitro  
*Scientific Reports* 2017, 7, 3873-3888
  8. **N. Szostak**, **S. Wasik**, **J. Blazewicz**  
Understanding life: a bioinformatics perspective  
*European Review* 2017, 2, 231-245
  9. **N. Szostak**, J. Synak, M. Borowski, **S. Wasik**, **J. Blazewicz**  
Simulating the origins of life: The dual role of RNA replicases as an obstacle to evolution  
*PLoS ONE* 2017, 12, e0180827
  10. **A. Rybarczyk**, A. Hertz, **M. Kasprzak**, **J. Blazewicz**  
Tabu search for the RNA partial degradation problem  
*International Journal of Applied Mathematics and Computer Science* 2017, 27, 401-415
  11. D. Formanowicz, **M. Radom**, P. Zawierucha, **P. Formanowicz**  
Petri net-based approach to modeling and analysis of selected aspects of the molecular regulation of angiogenesis  
*PLoS ONE* 2017, 12, e0173020
  12. **M. Radom**, **P. Formanowicz**  
An Algorithm for Sequencing by Hybridization Based on an Alternating DNA Chip  
*Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences* 2017, doi: 10.1007/s12539-017-0220-0
  13. K. Chmielewska, D. Formanowicz, **P. Formanowicz**  
The effect of cigarette smoking on endothelial damage and atherosclerosis development - modeled and analyzed using Petri nets  
*Archives of Control Sciences* 2017, 27, 211-228
  14. K. Rzosinska, D. Formanowicz, **P. Formanowicz**  
The study of the influence of micro-environmental signals on macrophage differentiation using a quantitative Petri net based model  
*Archives of Control Sciences* 2017, 27, 331-349
  15. B. Gryszczynska, D. Formanowicz, M. Budzyn, M. Wanic-Kossowska, E. Pawliczak, **P. Formanowicz**, W. Majewski, K.W. Strzyzewski, M. P. Kasprzak, M. Iskra

Prace przyjęte do druku:

1. M. Antczak, **M. Popenda**, T. Zok, M. Zurkowski, R., **W. Adamiak**, **M. Szachniuk**  
New algorithms to represent complex pseudoknotted RNA structures in dot-bracket notation  
*Bioinformatics*
2. D. Formanowicz, **A. Rybarczyk**, **P. Formanowicz**  
Factors influencing essential hypertension and cardiovascular disease modeled and analyzed using stochastic Petri nets  
*Fundamenta Informaticae*
3. **J. Blazewicz**, **M. Kasprzak**, M. Kierzyńska, W. Frohmberg, **A. Swiercz**, P. Wojciechowski, P. Zurkowski  
Graph algorithms for DNA sequencing -origins, current models and the future  
*European Journal of Operational Research*
4. T. Glowacki, A. Kozak, **P. Formanowicz**  
Dedicated Heuristic for Peptide Assembly Problem  
*Current Bioinformatics*
5. **P. Formanowicz**, D. Nowicki, D. Formanowicz  
Mathematical Modeling of Aortic Aneurysm Progression  
*New Approaches to the Aortic Disease from Valve to Abdominal Bifurcation*

## **Zakład Biologii Chemicznej**

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Wojciech Markiewicz (STATUT)<sup>11</sup>**

**Skład osobowy<sup>12</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Tadeusz Kuliński, prof. ICHB PAN (STATUT)

dr Bartosz Marciniak (STATUT)

dr Karolina Malczewska-Jaskóła (NCBR)

Pracownicy techniczni:

mgr Katarzyna Adrych-Rożek (STATUT)

Doktoranci:

mgr Aleksandra Chełstowska (NCBR)

mgr Adam Zarecki (NCBR)

**Pracownia Sond Molekularnych i Pro-leków**

Kierownik: dr Jacek Kolanowski (STATUT)

### **Działalność statutowa**

**V. Synteza fragmentów kwasów nukleinowych, ich komponentów, analogów i badania ich właściwości biologicznych (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz)**

**1. Badania acetalowych grup ochronnych dla potrzeb chemicznej syntezy RNA (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz)**

*Cel badań*

Celem badań było określenie przydatności reakcji syntezy acetali katalizowanej chlorkiem cyny(IV) dla wprowadzenia grupy triizopropylsilyloksymetylowej (TOM) do rybonukleozydów.

---

<sup>11</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>12</sup> Stan na 31.12.2017 r.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Przeprowadzono syntezę triizopropylsiloksymetylotio-(4-chloro)benzenu z 4 chlorofenylotiometanolu i triizopropylchlorosilanu. Otrzymany reagent wykorzystano w reakcji z 3',5'-O-(tetraizopropylodisiloksano-1,3-diyl)urydyną wobec chlorku cyny(IV) otrzymując pochodną 2'-O-triizopropylsiloksymetylową urydyny. Stwierdzona reaktywność tioacetalisililowych względem pochodnych nukleozydowych poszerza zakres stosowalności nowej metody syntezy acetali opracowanej wcześniej w Zakładzie Biologii Chemicznej.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykazano przydatność opracowanej nowej metody otrzymywania acetali mieszanych katalizowanej chlorku cyny(IV) do otrzymywania acetali zawierających ugrupowania sililoksyłowe przydatne w syntezie chemicznej RNA.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Uzyskane wyniki będą stanowiły część przygotowywanej publikacji dotyczącej chemicznej metody syntezy RNA.

## **2. Modelowanie struktury przestrzennej i symulacje dynamiki molekularnej kompleksów biomolekularnych w aspekcie badania ich właściwości biologicznych (dr hab. Tadeusz Kuliński, prof. ICHB PAN)**

#### *Cel badań*

Określenie stabilizujących niekanonicznych oddziaływań zasad w motywach pętli apikalnych RNA za pomocą złożonych obliczeń typu ONIOM łączących metody dynamiki molekularnej i mechaniki kwantowej. Obliczenia reaktywności wybranych układów molekularnych poprzez obliczenia QM stanów przejściowych.

#### *Opis zrealizowanych prac*

W celu zbadania możliwości występowania form tautomerycznych lub protonowanych nukleozasad stabilizujących struktury pętli apikalnych RNA oraz oszacowania wielkości energii nowych potencjalnych oddziaływań wykonano obliczenia z wykorzystaniem metod QM-MM typu ONIOM łączących metody mechaniki kwantowej (QM) oraz dynamiki molekularnej (MM). Symulacje numeryczne przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Gaussian09 za pomocą 2-warstwowego modelu typu DFT (QM) – Amber (MM) dla szeregu modeli strukturalnych pętli RNA z uwzględnieniem środowiska wodnego i obecności jonów.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Zastosowanie metodologii obliczeniowej, łączącej złożone obliczenia kwantowo-mechaniczne prowadzone dla badanego układu molekularnego z uwzględnieniem struktury i właściwości otoczenia strukturalnego tego układu opisywanego metodami klasycznej mechaniki molekularnej, potwierdziło zaobserwowane wcześniej duże prawdopodobieństwo występowania nukleozasad w formach tautomerycznych lub o zmienionej protonacji promowane w specyficznym otoczeniu strukturalnym badanych nukleozasad pętli apikalnych RNA. Formy takie umożliwiają tworzenie trwałych nieklasycznych oddziaływań stabilizujących złożone struktury RNA.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Dotychczasowe wyniki badań są w trakcie analizy i opracowywania w celu przygotowywania do publikacji w recenzowanym czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

## **Projekty**

---

**Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek dla potrzeb medycyny regeneracyjnej-EPICELL (STRATEGMED) – projekt realizowany w ramach konsorcjum pomiędzy ICHB PAN, Uniwersytetem Medycznym w Poznaniu,**

**Szpitałem Przemienienia Pańskiego, Med Polonia Sp. z o.o. oraz Instytutem Genetyki Człowieka PAN**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz**

**Zadania w projekcie realizowali także prof. dr hab. Jan Barciszewski i prof. dr hab. Maciej Stobiecki**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Realizowany projekt ma na celu opracowanie wydajnego protokołu transformacji mioblastów do komórek pluripotencjalnych, a następnie do kardiomiocytów w celu ich wykorzystania w medycynie regeneracyjnej serca. W 2017 roku zakończono budowę dedykowanej pracowni i wysoko-przepustowego systemu do badań przesiewowych. Kontynuowano prace nad opracowywaniem samodzielnego przygotowywania pożywek i suplementów w celu osiągnięcia wysokoprzepustowej skali prowadzenia doświadczeń, co zwiększy szanse powodzenia projektu i uzyskania większej kontroli nad przygotowywanymi mediami do programowania komórek. Przeprowadzono analizę krystalograficzną 4-*N*-furfurylo-5-azacytozyny, która wykazała występowanie formy N-1-H jako dominującej formy tautomerycznej. Opracowano syntezę kolejnych pochodnych naturalnych kwasów organicznych, takich jak kwas floretowy, kawowy, kumarowy itd. Opracowano syntezę pochodnych N-2 podstawionych guanin oraz ich pochodnych fluorowych. Otrzymano pochodne N-9-metylo-triazoloadeninyadeniny w reakcji alkilowania pierścienia triazolowego. Określono wpływ ww. związków na zawartość m<sup>5</sup>C w DNA komórek, które były nimi traktowane. W wyniku przeprowadzonych analiz, w grupie przetestowanych związków zidentyfikowano zarówno związki odpowiedzialne za hiper- oraz hipometylację genomu. Z wykorzystaniem testu MTT określono cytotoksyczność tych związków. Na podstawie analizy proteomicznej oraz lipidomicznej ekstraktów z komórek: mioblastów, iPSC oraz kardiomiocytów zbadano różnice w ich profilach określając, które szlaki metaboliczne ulegają zmianom w wyniku odróżnicowania oraz ponownego różnicowania komórek. Analiza lipidomiczna wykazała zmiany głównie w poziomie triglicerydów oraz lipidów fosfocholinowych wynikające z odróżnicowania komórek mioblastów.

#### **Publikacje**

---

1. **A. Mickiewicz, J. Sarzynska, M. Milostan, A. Kurzynska-Kokorniak, A. Rybarczyk, P. Lukasiak, T. Kulinski, M. Figlerowicz, J. Blazewicz**  
Modeling of the catalytic core of Arabidopsis thaliana Dicer-like 4 protein and its complex with double-stranded RNA  
*Computational Biology and Chemistry* 2017, 66, 44-56
2. **M. Baranek, A. Belter, M.Z. Naskret-Barciszewska, M. Stobiecki, W.T. Markiewicz, J. Barciszewski**  
Effect of small molecules on cell reprogramming  
*Molecular BioSystems* 2017, 13, 277-313
3. **B. Marciniak, J. Walkowiak-Kulikowska, H. Koroniak**  
On the halofluorination reactions of olefins as selective, and an efficient methodology for the introduction of fluorine into organic molecules  
*Journal of Fluorine Chemistry* 2017, 203, 47-61

#### Prace przyjęte do druku:

**J. Kolanowski, F. Liu, E.J. New**

Fluorescent probes for the simultaneous detection of multiple analytes in biology  
*Chemical Society Reviews*

## **Zakład Biologii Integratywnej**

---

**Kierownik Zakładu:** dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN (0,2 STATUT/0,3 FNP)<sup>13</sup>

### **Skład osobowy<sup>14</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr Takashi Miki (0,2 STATUT/0,8 FNP)

dr Edyta Kościańska (0,5 STATUT)

Doktoranci:

mgr Aneta Bilnicka (stypendium NCN)

### **Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych**

Kierownik: dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN (STATUT)

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Małgorzata Giel-Pietraszuk (STATUT)

dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Dorota Gurda (STATUT)

Doktoranci:

mgr inż. Marta Orlicka-Płocka (stypendium NCN)

### **Pracownia Modelowych Organizmów Zwierzęcych**

Kierownik: dr Agata Tyczewska (STATUT)

### **Działalność statutowa**

#### **XIII. Poszukiwanie nowego modelu dla badań epigenetycznych**

**(dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN, wspólnie z prof. dr. hab. Janem Barciszewskim)**

**– zadanie przedstawiono na str 118**

## **Projekty**

---

### **1. Rybozyd kinetyny i jego pochodna – analiza właściwości apoptotycznych i mechanizmu działania w komórkach guzów mózgu (OPUS)**

**Kierownik projektu:** dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeanalizowano szlak przemian enzymatycznych jakim ulega rybozyd kinetyny (RK) w komórkach ludzkich. Zbadano aktywność kinazy adenozy (ADK, pierwszy enzym rezerwowego szlaku przemian puryn) w reakcji fosforylacji RK. Wykazano, że fosforylacja RK powoduje nagły spadek poziomu ATP, prowadząc do poważnych zmian aktywności mitochondriów, co wyraża się gwałtowną depolaryzacją błony mitochondrialnej, podwyższeniem poziomu reaktywnych form tlenu oraz obniżeniem szybkości zużycia tlenu przez komórki. Powstały monofosforan rybozydu kinetyny ulega dalszym przemianom enzymatycznym w komórkach, w które zaangażowane są reakcje kataboliczne, szlak syntezy puryn *de novo* i rezerwowy. W celu ich prześledzenia zastosowano znakowany <sup>13</sup>C RK (N<sup>6</sup>-Furfuryl-[1'-<sup>13</sup>C] adenozy) i przeprowadzono szereg eksperymentów stosując inhibitory enzymów różnych szlaków, dokowanie molekularne reduktazy rybonukleotydowej oraz analizę HPLC-MS powstałych produktów przemian puryn.

---

<sup>13</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>14</sup> Stan na 31.12.2017 r.

## **2. Cytoplazmatyczne przeszkody na drodze reprogramowania przeznaczenia komórki: od indywidualnych czynników do mechanizmów molekularnych (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Większość zidentyfikowanych czynników, które działają jako molekularne „przeszkody” na drodze reprogramowania przeznaczenia komórki, to jądrowe regulatory epigenetyczne. Podobną rolę mogą jednak odgrywać również regulatory potranskrypcyjne, funkcjonujące w cytoplazmie poprzez wpływ na stabilność mRNA. Endogenny proces interferencji RNA (endoRNAi) jest naturalnym i ewolucyjnie konserwowanym mechanizmem regulacji ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym. U nicienia *Caenorhabditis elegans* istnieje kilka szlaków endoRNAi kontrolujących rozwój komórek rozrodczych. Obiektywne, genetyczne badania przesiewowe wykazały, że czynniki endoRNAi są represorami reprogramowania komórek zarodkowych. Wyniki kolejnych badań pokazały, że funkcja represorowa jest ograniczona do specyficznego szlaku endoRNAi, CSR-1, który zapobiega przedwczesnej aktywacji zarodkowej transkrypcji w rozwijających się oocytach. Ta funkcja wymaga aktywności RNazy w szlaku CSR-1. U pozbawionych RNazy mutantów *csr-1* przedwczesnej transkrypcji zarodkowej towarzyszy nienormalna aktywacja polimerazy II. Uzyskane wyniki sugerują, że poprzez kontrolę poziomu matczynego mRNA, szlak endoRNAi zależny od CSR-1 przyczynia się do prawidłowego przeprogramowania transkrypcji podczas przemiany komórki jajowej w zarodek.

## **3. Cell fate plasticity in animal development and tissue homeostasis (EMBO)**

**Kierownik projektu: dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach tego projektu realizowane są zadania z dwóch pozostałych, tematycznych grantów, dotyczących reprogramowania i regulacji tłuszczu. Do tej pory wykazaliśmy, że LIN 41 należący do rodziny białek TRIM NHL, reguluje mRNA poprzez bezpośrednie oddziaływanie z jego 3' UTR. Ponadto, trwają badania strukturalne ukierunkowane na poznanie biologicznych funkcji białek N-41/TRIM71. W ramach badań dotyczących regulacji tkanki tłuszczowej zidentyfikowaliśmy dwa supresory redukcji tłuszczu, receptor związany z białkiem (GPCR) oraz transporter kasety wiążącej ATP (ABC).

## **4. Regulation of body fat: from novel mechanisms to therapeutic targets (TEAM)**

**Kierownik projektu: dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Otyłość obecnie przybrała charakter pandemii. Wykorzystując *C. elegans* jako organizm modelowy do badań dotyczących regulacji tkanki tłuszczowej odkryliśmy potranskrypcyjny, homeostatyczny reostat, regulujący procesy fizjologiczne zwierząt (w tym poziom otluszczenia). Najważniejszym składnikiem reostatu jest endorybonukleaza REGE-1, pokrewna MCP1P1/ Zc3h12a/ Regnaza-1, która pełni kluczową rolę w funkcjonowaniu układu odpornościowego u człowieka. REGE-1 kontroluje procesy fizjologiczne poprzez degradację mRNA kodującego czynnik transkrypcyjny typu ETS (ETS-4). Nie wiadomo jednak w jaki sposób Regnaza-1 oraz powiązana z nią RNaza uzyskują specyficzność względem RNA. Wydaje się, że istnieje szczególny związek między Regnazą-1 i innym białkiem wiążącym RNA (RBP o nazwie Roquin), które podobnie jak Regnaza-1 odgrywa ważną rolę w układzie immunologicznym człowieka. Początkowo uważano, że Roquin rekrutuje Regnazę-1 do docelowego miejsca w mRNA. Ostatnio sugeruje się, że Roquin i Regnaza-1 działają poprzez różne mechanizmy molekularne. Aby zrozumieć w jaki sposób dochodzi do degradacji RNA przez RNazy związane z Regnazą-1, analizujemy właściwości mRNA *ets-4* wymagane do wiązania i cięcia REGE-1, a także wykonujemy badania struktury i funkcji REGE-1. Co ważne, stwierdziliśmy, że RLE-1, odpowiednik Roquin u *C. elegans*, jest niezbędny do zajścia

degradacji *ets-4* za pośrednictwem REGE-1. Uzyskany wynik ukazuje związek pomiędzy Regnazą-1 i białkami Roquin, a naszym celem nadrzędnym jest wyjaśnienie tego związku na poziomie molekularnym.

## Publikacje

---

**M. Skupinska**, P. Stepniak, I. Letowska, L. Rychlewski, **M. Barciszewska**, J. Barciszewski, **M. Giel-Pietraszuk**

Natural Compounds as Inhibitors of Tyrosyl-tRNA Synthetase  
*Microbial Drug Resistance* 2017, 23, 308-320

## Działalność patentowa

---

### Patenty międzynarodowe

*Hammerhead ribozymes targeting MIR-21*

patent: EP 2978847 z 15.02.2017 r.

zgłoszenie: EP 14719866.7 z 16.10.2015r.

Twórcy: **Mirosława Naskręt Barciszewska**, **Agnieszka Belter**, **Katarzyna Rolle**,  
**Monika Piwecka**, **Patrycja Sosińska**, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska**, ICHB PAN

## Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Marek Figlerowicz (STATUT)<sup>15</sup>**

### Skład osobowy<sup>16</sup>

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, prof. ICHB PAN (STATUT)

dr Paulina Jackowiak (STATUT)

dr Anna Philips (STATUT)

dr Anna Spinek (0,5 NCN)

dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak (NCN)

Pracownicy techniczni:

dr Magdalena Alejska (STATUT)

dr Antonina Lorenz (STATUT)

mgr Natalia Koralewska (STATUT)

Doktoranci:

mgr inż. Maria Pokornowska (stypendium KNOW)

mgr inż. Aleksander Strugała (stypendium KNOW)

mgr Magdalena Rakoczy (stypendium KNOW)

mgr Katarzyna Kozłowska (stypendium NCN)

mgr Michał Stelmaszczuk (stypendium NCN)

mgr Ireneusz Stolarek (stypendium NCN)

mgr inż. Michał Zeńczak (stypendium NCN)

mgr Małgorzata Marszałek-Zeńczak (stypendium NCN)

mgr inż. Marta Wojnicka (stypendium NCN)

mgr inż. Agnieszka Szczepańska (stypendium NCN)

---

<sup>15</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>16</sup> Stan na 31.12.2017 r.

## **Pracownia Hodowli Komórkowych i Tkankowych**

Kierownik: dr Paweł Stróżycki (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Mariola Piślewska-Bednarek (0,75 STATUT)

inż. Nelli Malinowska (0,35 STATUT)

Hanna Glapiak (STATUT)

Magdalena Puszczuk (0,5 STATUT)

Zuzanna Jedlińska (0,5 STATUT)

## **Pracownia Genomiki**

Kierownik: dr Luiza Handschuh (STATUT)

Pracownicy naukowci:

dr Marian Radom (0,5 STATUT)

dr Paweł Wojciechowski (0,5 STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Jan Podkowiński (STATUT)

dr Aleksandra Świercz (0,5 STATUT)

dr Agnieszka Żmieńko (STATUT)

dr Tomasz Żemojtel (0,1 STATUT)

mgr Marek Milewski (STATUT)

mgr Anna Samelak-Czajka (STATUT)

mgr Zuzanna Filutowska (STATUT)

## **Działalność statutowa**

### **VII. Poszukiwanie nowych układów modelowych znajdujących zastosowanie w biologii molekularnej i systemowej (prof. dr hab. Marek Figlerowicz)**

#### **1. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby wirusologii molekularnej i systemowej (prof. dr hab. Marek Figlerowicz)**

##### *Cel badań*

Charakterystyka wirusów i bakterii występujących w kopalnych szczątkach ludzkich. Identyfikacja mikroorganizmów towarzyszących organizmowi człowieka jeszcze przed jego śmiercią.

##### *Opis zrealizowanych prac*

DNA pobrano z 161 szczątków ludzkich (zębów) datowanych na 1-1200 AD z siedmiu stanowisk archeologicznych zlokalizowanych w różnych regionach Polski. Dodatkowo, szczątki charakteryzowały się różnym czasem przebywania w magazynie muzealnym (od zera – próby pobierane zaraz po ekshumacji do kilkudziesięciu lat). Przeprowadzono sekwencjonowanie nowej generacji całkowitego DNA, a następnie analizę bioinformatyczną uzyskanych danych w celu określenia składu mikroorganizmów poszczególnych prób.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Skład mikroorganizmów jest unikalny dla próby i nie można skorelować go z jej wiekiem czy stanowiskiem archeologicznym z jakiego pochodzi. Większość zidentyfikowanych drobnoustrojów to wszędobylskie bakterie środowiskowe, które najprawdopodobniej skolonizowały szczątki w niedalekiej przeszłości. W dwóch trzecich prób zostały zidentyfikowane również bakterie charakterystyczne dla flory jamy ustnej i przewodu pokarmowego człowieka oraz potencjalne patogeny. Wirusy natomiast stanowiły 23,4% mikroorganizmów, a w 10% prób stanowiły one większość drobnoustrojów. Analiza typów wirusów wykazała, że znaczna większość z nich to wirusy roślinne, które najprawdopodobniej pochodziły z zainfekowanych roślin znajdujących się w miejscach pochówków. Warto podkreślić, że w analizowanych próbach zidentyfikowano również DNA faga *Propionibacterium*, który jest powiązany z florą bakteryjną

jamy ustnej człowieka. Materiał genetyczny bakterii typowych dla flory człowieka wykazał typowy dla aDNA wzór uszkodzeń, który porównywalny był ze stopniem uszkodzeń endogenego ludzkiego aDNA.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Przeprowadzone analizy umożliwiły ocenę wpływu mikrośrodowiska na skład drobnoustrojów oraz opracowanie metodologii pozwalającej na odróżnienie DNA współczesnych bakterii od kopalnego DNA bakterii, który pochodzić może z mikroorganizmów towarzyszących badanemu osobnikowi nawet przed śmiercią. Otrzymane wyniki posłużą do dalszych analiz, w szczególności rekonstrukcji kopalnych genomów bakterii i wirusów.

## **2. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej roślin (prof. dr hab. Marek Figlerowicz)**

### *Cel badań*

Modyfikacja szlaków syntezy sacharozy i ligniny w *N. tabacum* – poznanie roli procesów ich produkcji i akumulacji w rozwoju roślin.

### *Opis zrealizowanych prac*

Scharakteryzowano rodzinę genów *O*-metylo transferaz CCoAOMT oraz ich ewolucyjnie bliskich homologów (ang. *CCoAOMT-like*): wykazano powiązania filogenezy tej rodziny *O*-metylo transferaz z ewolucją roślin, zidentyfikowano aminokwasy konserwatywne, istotne funkcjonalnie oraz otrzymano modele struktury enzymów kładu 1 i 2 z *Sorghum bicolor*. Badania *N. tabacum* z wyznaczonym genem CCoAOMT wskazują na rolę tego genu w procesach lignifikacji oraz regulacji procesów rozwojowych jak np. indukcji fazy generatywnej. Analizowano rolę genów UGPzy, SPS i SPP w syntezie sacharozy zależnej od fotosyntezy z zastosowaniem podwyższonej ekspresji tych genów w roślinach *N. tabacum* transformowanych konstrukcjami genetycznymi. Uzyskano rośliny F1 o wysokiej, ponad pięciokrotnie wyższej od genów natywnych, ekspresji transgenów. Scharakteryzowano fenotypowo i molekularnie rośliny transgeniczne o podwyższonej ekspresji genów UGPazy, SPS i SPP.

### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykazano, że gen CCoAOMT uczestniczący w syntezie ligniny powstał w efekcie duplikacji ok. 430 MYA. Odróżnicowanie tego genu i jego specjalizacja substratowa były kluczową adaptacją roślin do środowiska lądowego. Odróżnicowanie tego kładu od grupy ancestralnej enzymów podobnych do CCoAOMT typu cyjanobakteryjnego wiązało się nie tylko z nabyciem nowej funkcji, ale i z prze-modeLOWaniem struktury eksonowej genu. Otrzymano modele: białka CCoAOMT (z kładu 1a) z *S. bicolor* i spokrewnionego z nim białka typu cyjanobakteryjnego (z kładu 2) z tej samej rośliny. Model struktury białka podobnego do CCoAOMT z kładu 2 to pierwszy model tego typu białka z roślin. Na podstawie danych z modelowania możliwe było poznanie funkcji aminokwasów o wysokiej zachowawczości oraz identyfikacja aminokwasów odpowiedzialnych za różnice w specyfice substratowej enzymów kładu 1a i 2.

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Wyniki mogą służyć do otrzymania roślin o podwyższonej wartości użytkowej, cechujących się obniżoną zawartością ligniny lub wyższą wydajnością syntezy sacharozy na drodze selekcji wspieranej zastosowaniem markerów molekularnych lub z wykorzystaniem transgenezy.

## **3. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej człowieka (prof. dr hab. Marek Figlerowicz)**

### *Cel badań*

Deaminaza cytydyny indukowana aktywacją limfocytów B (ang. *activation induced cytidine deaminase*, AID) jest odpowiedzialna za różnicowanie przeciwciał. Wywołuje ten proces deaminując

deoksycytydynę (C) w genach immunoglobulin, w szczególności w obrębie motywu sekwencyjnego WRCY. Biorąc pod uwagę zdolność AID do deaminacji 5-metylodeoksycytydyny (5mC), postulowano także udział tego enzymu w procesie aktywnej demetylacji DNA. Uwarunkowania strukturalne aktywności AID wobec różnych substratów nie zostały jednak w pełni poznane. Celem badań było zatem określenie wpływu wybranych mutacji w ludzkiej AID (hAID) na jej zdolność do deaminacji C, 5mC i 5-hydroksymetylodeoksycytydyny (5hmC) w obrębie jednoniciowego DNA (ssDNA) *in vitro*.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Otrzymano hAID typu dzikiego (wt hAID) oraz trzy zmutowane formy tego enzymu (R50A, N51A i R190X). Zbadano ich aktywność wobec substratów zawierających pojedynczy motyw sekwencyjny: AGCT, AG5mCT lub AG5hmCT. Następnie przetestowano aktywność wt hAID oraz N51A wobec ssDNA zawierających wszystkie możliwe motywy NNCN. Wykorzystując modelowanie homologiczne i symulacje dynamiki molekularnej, scharakteryzowano oddziaływanie wt hAID oraz N51A z metylowanym i niemetylowanym substratem.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykazano, że żaden z testowanych wariantów hAID nie deaminował 5hmC. Ponadto stwierdzono, że aktywność deaminazowa wariantów hAID wobec C nie korelowała z ich aktywnością wobec 5mC; w szczególności mutant N51A pozbawiony aktywności wobec C był zdolny do deaminacji 5mC. Zidentyfikowano następujące trzy kluczowe elementy warunkujące deaminację C lub 5mC: (i) sieć oddziaływań między kieszenią katalityczną enzymu a pierścieniem pirymidynowym C/5mC, (ii) sieć oddziaływań między enzymem a szkieletem fosforanowo-cukrowym substratu, (iii) oddziaływania warstwowe obejmujące reszty W84 i Y114 enzymu oraz G w obrębie motywu AGCT w ssDNA.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Część uzyskanych wyników stała się podstawą otrzymanego patentu krajowego nr 225333. Dodatkowo, wyniki zostały opublikowane w *Scientific Reports*.

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

### **1. Analiza uszkodzeń DNA pozyskanego z kopalnych szczątków ludzkich**

**Kierownik zadania: mgr Ireneusz Stolarek**

#### *Cel badań*

Głównym celem realizowanych badań było porównanie stopnia zachowania kopalnego DNA mitochondrialnego (mtDNA) oraz jądrowego (nuDNA).

#### *Opis realizowanych prac*

Do analizy wykorzystano dane z sekwencjonowania NGS kopalnych szczątków ludzkich z 211 osobników. Analiza wykazała, że w próbach o silnie zdegradowanym ludzkim DNA lepiej zachowały się fragmenty mtDNA. Fragmenty mtDNA były dłuższe od nuDNA. Wykazano pozytywny trend związku między wiekiem próby, a występowaniem sygnałów zachowania DNA w kompleksach z białkami histonowymi. Fragmenty mtDNA charakteryzowały się większą akumulacją substytucji w stosunku do nuDNA. Ponadto wykazano, że regiony kodujące mtDNA kumulowały mniej substytucji niż regiony niekodujące. Najczęstszymi typami substytucji w obu typach sekwencji były tranzycje C>T/G>A. Udział tych tranzycji w ogólnej liczbie substytucji był silniejszy we fragmentach mtDNA. Fragmenty nuDNA charakteryzowały się większą liczbą transwersji niż mtDNA. Fragmenty mtDNA charakteryzowały się większym stopniem akumulacji substytucji niezależnie od jedno- lub dwuniciowego kontekstu strukturalnego. Co więcej, jednoniciowe fragmenty były dłuższe w sekwencjach mtDNA. Wykazano pozytywny trend między akumulacją uszkodzeń we fragmentach dwuniciowych, a długością fragmentu w obu typach sekwencji.

Wykazano, że pęknięcia nici DNA zachodzą w bezpośrednim sąsiedztwie puryn. Podsumowując, badania wykazały istotne różnice w stopniu degradacji fragmentów mtDNA i nuDNA w kopalnych szczątkach ludzkich.

## **2. Charakterystyka aktywności opiekuńczej ludzkiej rybonukleazy Dicer względem kwasów nukleinowych**

**Kierownik zadania:** mgr inż. Maria Pokornowska

### *Cel badań*

Rybonukleaza Dicer najczęściej omawiana jest w kontekście procesu biogenezy krótkich regulatorowych RNA takich jak mikroRNA (miRNA) czy małe interferujące RNA. Coraz częściej pojawiają się doniesienia literaturowe opisujące nowe funkcje Dicer, niepowiązanie z procesem biogenezy miRNA. Co ciekawe, wyniki najnowszych badań prowadzonych w Zakładzie Biologii Molekularnej i Systemowej wskazują, że Dicer może pełnić funkcję charakterystyczną dla białek opiekuńczych. Wykazano, że ludzka Dicer (hDicer) wspiera w warunkach *in vitro* proces parowania sekwencji komplementarnych występujących w kwasach nukleinowych. Celem niniejszego zadania było scharakteryzowanie aktywności opiekuńczej hDicer wobec par substratów DNA lub RNA, także układów mieszanych, zawierających w pełni bądź tylko częściowo komplementarne sekwencje.

### *Opis realizowanych prac*

W badaniach wykorzystywana była rekombinowana hDicer, otrzymywana w komórkach owadzych z zastosowaniem bakulowirusowego systemu ekspresji genów. Kwasy nukleinowe znakowane były radioizotopowo, a oddziaływania pomiędzy hDicer a kwasami nukleinowymi badane były za pomocą techniki EMSA. Aktywność opiekuńcza testowana była wobec par komplementarnych cząsteczek DNA i RNA. W badanych parach niezmienna pozostawała cząsteczka krótsza (20-nukleotydowy RNA lub DNA), natomiast cząsteczka dłuższa (70-nukleotydowy RNA lub DNA) zawierała w pełni, bądź tylko częściowo komplementarną sekwencję wobec 20-nukleotydowego RNA/DNA. Wybrane pary zawierały od 1 do 3 niesparowań w obrębie sekwencji komplementarnych. Wyznaczono podstawowe parametry kinetyczne dla testowanych układów.

## **3. Badanie polimorfizmu liczby kopii genów kodujących ludzkie białka oddziałujące z białkami lub RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (kontynuacja projektu z 2016 r.)**

**Kierownik zadania:** dr Lucyna Budzko

### *Cel badań*

Jednym z najważniejszych problemów we współczesnych badaniach biomedycznych jest ustalenie związku między zmiennością genetyczną populacji ludzkiej, a podatnością na choroby oraz odpowiedzią na leczenie. Zagadnienie to ma istotne znaczenie także w przypadku chorób wywołanych przez wirusy, m.in. wirusa zapalenia wątroby typu C (ang. *hepatitis C virus*, HCV). Celem badań było określenie, czy ludzkie geny kodujące białka oddziałujące z białkami lub RNA HCV są objęte polimorfizmem liczby kopii (ang. *copy number variation*, CNV).

### *Opis realizowanych prac*

Wykorzystując wyniki uzyskane wcześniej w ramach realizacji niniejszego zadania, przeprowadzono dodatkowe analizy bioinformatyczne genów IGLL1, MLLT4, PDPK1, PPP1R13L, które kodują białka należące do sieci oddziaływań HCV i jednocześnie leżą w regionach objętych polimorfizmem CNV. Na tej podstawie potwierdzono, że zidentyfikowane geny są obiecującymi kandydatami do dalszych szerzej zakrojonych badań korelacji liczby kopii tych genów z przebiegiem zapalenia wątroby typu C.

## **4. Poszukiwanie kapsydów BMV o nowych właściwościach (kontynuacja projektu z 2016 r.)**

**Kierownik zadania:** mgr Aleksander Strugała

### *Cel badań*

Celem zadania było uzyskanie kapsydów wirusa BMV o nowych właściwościach.

### *Opis realizowanych prac*

Pierwotny plan badań zakładał wprowadzenie mutacji losowych w trzech regionach białka kapsydu (ang. *capsid protein* – CP) BMV. Zaprojektowane sekwencje, zawierające zmutowane fragmenty (zwane dalej insertami) zostały zamówione w firmie zewnętrznej. Zawierające mutacje inserty namnożono i wklonowano do odpowiedniego wektora, którym dalej transformowano bakterie. Namnożone w bakteriach plazmidy izolowano i poddawano procesowi hydrolizy enzymatycznej, a następnie transkrypcji w celu otrzymania RNA, którym infekowano komosę ryżową. Brak objawów zakażenia wirusem spowodował próbę wprowadzenia mutacji ukierunkowanych do sekwencji kodującej białko kapsydu wirusa BMV. Zaproponowano zmianę leucyny w pozycji 123 sekwencji CP BMV na kwas asparaginowy oraz fenyloalaniny w pozycji 183 na treoninę. Proponowane mutacje miały na celu zwiększenie stabilności kapsydu. Powyższe mutacje wprowadzono przy użyciu łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Dalej fragmenty zawierające mutacje poddano procedurze analogicznej do użytej przy mutacjach losowych (opisanych powyżej). Końcowym etapem było infekowanie komosy ryżowej RNA wirusa, który w swojej sekwencji zawierał wprowadzone mutacje. Ilość otrzymanego materiału była zbyt mała, aby móc poddać go dalszym badaniom.

## **Projekty**

---

### **1. Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle zintegrowanych badań historycznych, antropologicznych i genomicznych (SYMFONIA) – projekt realizowany w ramach konsorcjum (Lider konsorcjum – ICHB PAN)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Marek Figlerowicz**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Kontynuowano proces zbierania próbek i sekwencjonowania kopalnego DNA. Do końca roku 2017 zebrano łącznie 130 próbek DNA z 6 cmentarzysk z okresu wpływów rzymskich, 260 próbek DNA z 18 cmentarzysk z okresu wczesnego średniowiecza oraz 9 próbek DNA od przedstawicieli dynastii Piastów. Zoptymalizowano procedurę wzbogacania bibliotek kopalnego DNA. Wzbogacano 112 próbek w DNA całego genomu ludzkiego (w celu pozbycia się egzogenego DNA), 71 próbek w mtDNA człowieka, 87 próbek w wybrane regiony chromosomu Y oraz SNP. Zakończono analizy 60 mtDNA z czasów rzymskich, z cmentarzyska w Kowalewku. Wyniki te opisano w manuskrypcie wysłanym do czasopisma *Scientific Reports*, gdzie pozytywnie przeszedł etap recenzji. Analogiczne analizy wykonano dla 27 próbek z cmentarzyska w Masłomęczu, również datowanego na okres wpływów rzymskich, ale położonego na terenie obecnej południowo-wschodniej Polski. Analiza częstości haplogrup mtDNA wykazała jeszcze większe zróżnicowanie genetyczne niż w przypadku populacji z Kowalewka.

### **2. Poszukiwanie mechanizmów indukujących polimorfizm liczby kopii dużych fragmentów genomu oraz związków tego zjawiska z tworzeniem i ewolucją metabolicznych klas-trów genów (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Marek Figlerowicz**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Bazując na opublikowanych w 2016 roku wynikach wielkoskalowej analizy genomu *Arabidopsis thaliana* dla 1135 ekotypów tej rośliny podjęto się identyfikacji regionów polimorficznych pod względem liczby kopii (CNV) w oparciu o te właśnie dane genomiczne. Pozyskano z publicznych repozytoriów dane z całogenomowego sekwencjonowania metodą Illumina dla 1135 ekotypów, przeprowadzono analizę jakościową, a następnie zidentyfikowano regiony CNV, stosując łącznie 6 narzędzi bioinformatycznych i 3 różne metody identyfikacji CNV. Uzyskane wyniki poddano wieloetapowej filtracji, łączeniu oraz weryfikacji, w efekcie otrzymując mapę regionów CNV dla

tej rośliny oraz informację o genotypach dla poszczególnych wariantów w ponad 1000 różnych ekotypach. Uzyskane wyniki pozwoliły na bezpośrednią identyfikację ekotypów wykazujących zmienność CNV w obrębie klastra talianolu oraz innych potencjalnie interesujących regionów w genomie *A. thaliana* i ich selekcję do badań eksperymentalnych. Uzyskanie mapy CNV w genomie jest krokiem milowym w realizacji projektu.

### **3. Identyfikacja kolistych RNA oraz białek uczestniczących w ich biogenezie u modelowej rośliny, *Arabidopsis thaliana* (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Anna Philips**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeprowadzono sekwencjonowanie nowej generacji całkowitego RNA z siewek, korzeni, liści i kwiatów *Arabidopsis thaliana* typu dzikiego, a następnie analizę bioinformatyczną uzyskanych danych, aby zidentyfikować i zbadać koliste RNA (circRNA). Analizowano względną akumulację circRNA w różnych organach/siewce, ich rodzaje, a także ich różnicową ekspresję oraz poziom ekspresji względem liniowych form RNA powstających z tego samego genu. Zidentyfikowanych zostało w sumie 297 circRNA (w kwiecie 101, w liściu 41, w korzeniu 221, w siewce 55), które zostały zaklasyfikowane jako istotne na podstawie ustalonego kryterium (min. 2 znormalizowane odczyty pokrywające miejsce splicingu charakterystyczne dla circRNA w obu sekwencjonowaniach z danego organu/siewki). Wykazano, że istnieją organo-specyficzne koliste RNA w *A. thaliana* a także, że poziom ekspresji wielu circRNA zidentyfikowanych w różnych organach jest organo-specyficzny. Opracowano procedurę weryfikacji wyników sekwencjonowania, obejmującą odwrotną transkrypcję oraz standardowy jakościowy PCR (z wykorzystaniem rozbieżnych starterów) i emulsyjny PCR ilościowy (ang. *droplet digital PCR*, ddPCR). Przeprowadzono optymalizację ddPCR, wykonując reakcje testowe w gradiencie temperatury oraz stosując różne ilości matrycy. W kolejnym etapie badań opracowana procedura zostanie wykorzystana do potwierdzenia obecności i akumulacji 10 circRNA wybranych w toku analiz bioinformatycznych.

### **4. Niepoznane obszary aktywności ludzkiej rybonukleazy Dicer (SONATA BIS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach projektu realizowane są dwa główne cele badawcze: I. Identyfikacja i charakterystyka puli komórkowych RNA wpływających na aktywność ludzkiej rybonukleazy Dicer i proces powstawania miRNA oraz II. Poszukiwanie nowych obszarów aktywności ludzkiej rybonukleazy Dicer. W celu identyfikacji puli RNA oddziałujących z hDicer zastosowana zostanie strategia PAR-CLIP. Obecnie otrzymywane są konstrukty genetyczne umożliwiające produkcję ludzkiej Dicer (hDicer) i jej wybranych mutantów (mutanty pozbawione poszczególnych domen hDicer) w ludzkich liniach komórkowych. Do cDNA hDicer dołączana jest sekwencja kodująca znacznik FLAG. Znacznik ten posłuży do „wyławiania” kompleksów hDicer/RNA z komórek. Tworzone konstrukty (plazmidy ekspresyjne) wprowadzane są do komórek 293T (embrionalne komórki ludzkiej nerki) posiadających mutacje we wszystkich kopiach genu kodującego hDicer. Dysponujemy liniami komórkowymi: NoDice(2-20) oraz NoDice(4-25), które otrzymaliśmy dzięki uprzejmości prof. Bryana Cullena z Duke University Medical Center; w wyniku wprowadzonych mutacji w obu liniach komórkowych nie powstaje endogenna hDicer. Dzięki wprowadzaniu do komórek 293T NoDice wspomnianych plazmidów ekspresyjnych, w komórkach NoDice powstają tylko pożądane warianty hDicer. Produkcja hDicer potwierdzana jest z wykorzystaniem metody Western-blot oraz przeciwciał specyficznych wobec różnych domen hDicer, a także przeciwciał specyficznych wobec znacznika FLAG. W kontrolach ilościowych wykorzystywane są przeciwciała specyficzne wobec  $\beta$ -aktyny. Obecnie trwają prace nad optymalizacją warunków produkcji hDicer/ jej wybranych mutantów w liniach NoDice.

## **5. Zmienność liczby kopii genu MSH2 u *Arabidopsis thaliana* – struktura duplikacji, zakres polimorfizmu w naturalnych ekotypach oraz wpływ na ekspresję genów zaangażowanych w naprawę niesparowań DNA (MINIATURA)**

**Kierownik projektu: dr Agnieszka Żmienko**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Aby uzyskać informacje na temat struktury i zmienności genu *MSH2*, który jest położony w regionie podatnym na rearanżacje w postaci duplikacji / delecji, opracowano panel sond oligonukleotydowych pokrywających cały gen *MSH2* oraz sąsiednie geny *AT3G18530* i *AT3G18535*, również wykazujące polimorfizm liczby kopii. W przypadku *MSH2*, zaprojektowano sondy dla każdego z 12 eksonów genu oraz dodatkowo dla regionu segmentalnej duplikacji nachodzącego na ekson 1. Następnie zastosowano metodę multipleksowej amplifikacji sond zależnej od ligacji (MLPA) do genotypowania tego regionu w 300 różnych ekotypach *Arabidopsis thaliana*. Zebrane dotychczas wyniki wskazują na brak delecji genu *MSH2* oraz częściowe duplikacje w kilkunastu ekotypach. Zgodnie z założeniem projektu, analizy MLPA będą kontynuowane dla kolejnych 700 linii.

## **6. Genomiczna Mapa Polski–Europejskie Centrum Bioinformatyki i Genomiki (POIR) – projekt realizowany w konsorcjum pomiędzy ICHB PAN (lider projektu), Politechniką Poznańską i Centrum Badań DNA Sp. z o.o.**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Marek Figlerowicz**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Opracowano zręby merytoryczne postępowania, którego przedmiotem będzie zakup oraz współtworzenie produktów innowacyjnych: „Genomu referencyjnego”, „Bazy danych”, „Mapy zmienności genetycznej”, „Fen-Genu”, „Et-Genu”, „3D-Genu. Dodatkowo, opracowano plan wykorzystania danych zgromadzonych w ramach Centrum Badań Strukturalno-Funkcjonalnych Człowieka Uniwersytetu Szczecińskiego do wytworzenia produktów innowacyjnych w ramach projektu.

## **Publikacje**

---

1. **A. Samelak-Czajka, M. Marszałek-Zenczak, M. Marcinkowska-Swojak, P. Kozłowski, M. Figlerowicz, A. Zmienko**  
MLPA-based Analysis of Copy Number Variation in Plant Populations.  
*Frontiers in Plant Science* 2017, 8, 222
2. **P. Jackowiak, A. Hojka-Osinska, A. Philips, A. Zmienko, L. Budzko, P. Maillard, A. Budkowska, M. Figlerowicz**  
Small RNA fragments derived from multiple RNA classes - the missing element of multi-omics characteristics of the hepatitis C virus cell culture model  
*BMC Genomics* 2017, 18, 502
3. **M.C. Milewski, K. Kamel, A. Kurzynska-Kokorniak, M.K. Chmielewski, M. Figlerowicz**  
EvOligo: A Novel Software to Design and Group Libraries of Oligonucleotides Applicable for Nucleic Acid-Based Experiments  
*Journal of Computational Biology* 2017, 24, 1014-1028
4. **B. Budny, E. Szczepanek-Parulska, T. Zemojtel, W. Szaflarski, M. Rydzanicz, J. Wesoly, L. Handschuh, K. Wolinski, K. Piatek, M. Niedziela, K. Ziemnicka, M. Figlerowicz, M. Zabel, M. Ruchala**  
Mutations in proteasome-related genes are associated with thyroid hemiagenesis  
*Endocrine* 2017, 56, 279-285
5. **J. Trubicka, T. Zemojtel, J. Hecht, K. Falana, D. Piekutowska-Abramczuk, R. Ploski, M. Perek-Polnik, M. Drogosiewicz, W. Grajkowska, E. Ciara, E. Moszczyńska, B. Dembowska-Bagińska, D. Perek, K.H. Chrzanowska, M. Krajewska-Walasek, M. Łastowska**

The germline variants in DNA repair genes in pediatric medulloblastoma: a challenge for current therapeutic strategies

*BMC Cancer* 2017, 17, 239

6. **M. Radom, A. Rybarczyk**, B. Szawulak, H. Andrzejewski, P. Chabelski, A. Kozak, **P. Formanowicz**  
Holmes: a graphical tool for development, simulation and analysis of Petri net based models of complex biological systems  
*Bioinformatics* 2017, 33, 3822-3823
7. D. Formanowicz, **M. Radom**, P. Zawierucha, **P. Formanowicz**  
Petri net-based approach to modeling and analysis of selected aspects of the molecular regulation of angiogenesis  
*PLoS One* 2017, 12, e0173020
8. **M. Radom, P. Formanowicz**  
An Algorithm for Sequencing by Hybridization Based on an Alternating DNA Chip  
*Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences* 2017, DOI 10.1007/s12539-017-0220-0
9. **A. Philips, I. Stolarek, B. Kuczkowska**, A. Juras, **L. Handschuh**, J. Piontek, **P. Kozlowski, M. Figlerowicz**  
Comprehensive analysis of microorganisms accompanying human archaeological remains  
*GigaScience* 2017, 6, 1-13
10. **L. Budzko, P. Jackowiak, K. Kamel, J. Sarzynska**, J. M. Bujnicki, **M. Figlerowicz**  
Mutations in human AID differentially affect its ability to deaminate cytidine and 5-methylcytidine in ssDNA substrates in vitro  
*Scientific Reports* 2017, 7, 3873
11. **P. Jackowiak, A. Hojka-Osinska, K. Gasiorek, M. Stelmaszczuk, D. Gudanis, Z. Gdaniec, M. Figlerowicz**  
Effects of G-quadruplex topology on translational inhibition by tRNA fragments in mammalian and plant systems in vitro  
*International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2017, 92, 148-154
12. **A. Mickiewicz, J. Sarzynska**, M. Milostan, **A. Kurzynska-Kokorniak, A. Rybarczyk, P. Lukasiak, T. Kulinski, M. Figlerowicz, J. Blazewicz**  
Modeling of the catalytic core of Arabidopsis thaliana Dicer-like 4 protein and its complex with double-stranded RNA  
*Computational Biology and Chemistry* 2017 66, 44-56
13. **A. Strugala**, M. Krecisz, J.D. Rybka, **A. Urbanowicz, K. Szpotkowski, P. Bierwagen, M. Figlerowicz**, M. Kozak, C. Böttcher, M. Giersig  
Biophysical analysis of BMV virions purified using a novel method  
*Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 2017, 1068, 157-163
14. T. Penzkofer, M. Jager, **M. Figlerowicz**, R. Badge, S. Mundlos, P.N. Robinson, **T. Zemojtel**  
L1Base 2: more retrotransposition-active LINE-1s, more mammalian genomes  
*Nucleic Acids Research* 2017, 45, D68-D73
15. **W.J Szlachcic, K. Wiatr, M. Trzeciak, M. Figlerowicz, M. Figiel**  
The Generation of Mouse and Human Huntington Disease iPS Cells Suitable for In vitro Studies on Huntingtin Function  
*Frontiers in Molecular Neuroscience* 2017, 10, 253
16. R.T. Nakano, **M. Pisewska-Bednarek**, K. Yamada, P.P. Edger, M. Miyahara, M. Kondo, C. Böttcher, M. Mori, M. Nishimura, P. Schulze-Lefert, I. Hara-Nishimura, **P. Bednarek**  
PYK10 myrosinase reveals a functional coordination between endoplasmic reticulum bodies and glucosinolates in *Arabidopsis thaliana*  
*Plant Journal* 2017, 89, 204-220

17. S. Fukunaga, M. Sogame, M. Hata, S. Singkaravanit-Ogawa, **M. Pislewska-Bednarek**, M. Onozawa-Komori, T. Nishiuchi, K. Hiruma, H. Saitoh, R. Terauchi, S. Kitakura, Y. Inoue, **P. Bednarek**, P. Schulze-Lefert, Y. Takano  
Dysfunction of Arabidopsis MACPF domain protein activates programmed cell death via tryptophan metabolism in MAMP-triggered immunity  
*Plant Journal* 2017, 89, 381-393
18. **L. Handschuh**, **I. Stolarek**, A. Juras, **M. Zenczak**, **M. Marcinkowska-Swojak**, A. Myszka, D. Trzciński, A. Losik-Sidorska, J. Wojtczak, **A. Philips**, A. Rozanski, A. Dębski, **P. Kozłowski**, M. Matla, J. Dobosz, J. Jasinski, J. Piontek, H. Kóčka-Krenz, **M. Figlerowicz**  
W poszukiwaniu Piastów  
*Opolskie Studia Administracyjno-Prawne* 2016, XIV/4, 63-77 (nie wykazano w Sprawozdaniu za 2016 r.)
19. **L. Handschuh**, **M. Marcinkowska-Swojak**, **A. Philips**, **I. Stolarek**, **M. Zeńczak**, **P. Kozłowski**, **M. Figlerowicz**  
Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle badań genomicznych, Chrzeszt — przemiany religijne, kulturowe i sepulkralne, w: *Funeralia Lednickie — spotkanie 19* (red. W. Dzieduszycki, J. Wrzesiński)  
2017, 203–209, SNAP Poznań
20. **A. Swiercz**  
Hyper-Heuristics and Metaheuristics for Selected Bio-Inspired Combinatorial Optimization Problems, w: *Heuristics and Hyper-Heuristics - Principles and Applications* (red. J. Del Ser Lorente)  
2017, 3-20, InTech

#### Prace przyjęte do druku:

1. **L. Handschuh**, M. Kazmierczak, **M.C. Milewski**, **M. Goralski**, **M. Luczak**, M. Wojtaszewska, B. Uszczyńska-Ratajczak, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **M. Figlerowicz**  
Gene expression profiling of acute myeloid leukemia samples from adult AML-M1 and M2 patients through boutique microarrays, real-time PCR and droplet digital PCR  
*International Journal of Oncology*
2. **J. Blazewicz**, **M. Kasprzak**, **M. Kierzyńska**, **W. Frohberg**, **A. Swiercz**, **P. Wojciechowski**, **P. Zurkowski**, Graph algorithms for DNA sequencing – origins, current models and the future, *European Journal of Operational Research*

#### **Działalność patentowa**

---

##### **Patenty międzynarodowe**

*Lyme disease vaccine*

patent: EP 2908852 z 14.06.2017 r.

zgłoszenie: EP 13795005.1 z 25.03.2015r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz**, **Anna Urbanowicz**, Dominik Lewandowski  
ICHB PAN

*Peptide with the enzymatic activity of a DICER-like protein, a method for preparing short RNA molecules, and uses thereof*

patent: EP 2726619 z 20.12.2017 r.

zgłoszenie: EP 12738654.8 z 28.01.2014 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz**, Aleksander Tworak, **Jan Podkowiński**, **Natalia Koralewska**, **Anna Kurzyńska-Kokorniak**  
ICHB PAN

*Lyme disease vaccine, genetic construct, recombinant protein, method for designing genetic construct, method for producing vaccine, method for producing recombinant proteins, use of recombinant proteins in the production of Lyme disease vaccine*

patent: US 9,562,080 B2 z 7.02.2017 r.

zgłoszenie: US 14/385,500 z 16.09.2014 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz, Anna Urbanowicz**, Dominik Lewandowski

ICHB PAN

### **Patenty krajowe**

*Preparat wykazujący aktywność ludzkiej deaminazy cytydyny indukowanej aktywnością limfocytów B (AID) oraz sposób otrzymywania tego preparatu w systemie bakteryjnym*

patent: PL 225333 z 10.04.2017 r.

zgłoszenie: P 402 440 z 14.01.2013 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz, Paulina Jackowiak, Lucyna Budźko**

ICHB PAN

### **Zgłoszenia krajowe**

*Human ovarian cancer cell culture model for paclitaxel-induced inverse resistance to paclitaxel and cisplatin and use thereof*

zgłoszenie: P 420 318 z 26.01.2017 r.

Twórcy: Jolanta Szejnach, Michał Górski, **Luiza Handschuh**, Idzi Siatkowski,

Alicja Szablewska-Beręsewicz, **Aleksandra Świercz**, Joanna Zyprych-Walczak

ICHB PAN, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

## **Zakład Biomedycyny Molekularnej**

---

**Kierownik Zakładu:** prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak (STATUT)<sup>17</sup>

### **Skład osobowy**<sup>18</sup>

Pracownicy naukowci:

dr hab. Marek Napierała, prof. ICHB PAN (0,2 STATUT)

dr hab. Marta Olejniczak, prof. ICHB PAN (STATUT)

dr Agnieszka Fiszer (STATUT)

dr Magdalena Woźna-Wysocka (STATUT)

dr Łukasz Przybył (STATUT)

dr Paweł Świtoński (STATUT, urlop bezpłatny)

dr Karolina Drązkowska (NCN)

dr Julia Misiorek (NCN)

dr Magdalena Jazurek-Ciesiołka (NCN)

dr Adam Ciesiołka (NCN)

dr Łukasz Gałgański (NCN)

dr Michał Michalski (NCN)

Pracownicy techniczni:

dr Emilia Kozłowska (STATUT)

mgr Teresa Dymarek-Babś (STATUT)

mgr Paula Sobieszkańska (STATUT)

---

<sup>17</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>18</sup> Stan na 31.12.2017 r.

Doktoranci:

mgr Edyta Jaworska (stypendium NCN)  
mgr Grzegorz Figura (stypendium NCN)  
mgr Magdalena Dąbrowska (stypendium NCN)  
mgr Anna Kotowska-Zimmer (stypendium NCN)  
mgr Agata Łuzna (stypendium NCN)  
mgr Anna Schreiber (stypendium NCN)

## **Działalność statutowa**

### **VIII. Struktura i funkcja kwasów rybonukleinowych oraz ich zastosowania terapeutyczne (prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak)**

- 1. Nowe podejścia do eksperymentalnej terapii chorób neurodegeneracyjnych z wykorzystaniem RNAi na modelach komórkowych oraz mysich choroby Huntingtona (HD) i ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 (SCA3) (prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak, wspólnie z dr. hab. Maciejem Figlem, prof. ICHB PAN) – zadanie zostało przedstawione również na str. 105**

#### *Cel badań*

Opracowanie nowych, bardziej efektywnych podejść terapeutycznych z wykorzystaniem reagentów interferencji RNA (RNAi) dla grupy dziedzicznych chorób neurodegeneracyjnych, do których należą choroby poliglutaminowe. Rozwijana jest szczególnie strategia zmierzająca do selektywnego wyciszenia ekspresji allelu zmutowanego poprzez celowanie w region mutacji. Badania są prowadzone dla choroby Huntingtona i kilku innych chorób z tej grupy (ataksji rdzeniowo-mózdkowych, SCA) w modelach komórkowych i mysich tych chorób.

#### *Opis zrealizowanych prac*

W roku 2017 sfinalizowano badania dotyczące wpływu różnych czynników wyciszających, celujących zarówno w region powtórzeń jak i w sekwencję specyficzną, na ilość jądrowych skupień tworzonych przez zmutowany transkrypt huntingtyny. Analizowano także udział wybranych białek w przebiegu procesu wyciszania.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykazano, że większość zastosowanych reagentów interferencji, w tym celujących bezpośrednio w miejsce mutacji, znacząco obniża liczbę skupień RNA zmutowanego transkryptu odpowiedzialnego za chorobę Huntingtona. Obserwowano różnice w aktywności poszczególnych reagentów, ich lokalizacji komórkowej oraz efektywności wyciszania ekspresji zmutowanego genu.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Wyniki zostaną wykorzystane w badaniach mających na celu określenie mechanizmów wyciszania genów chorób poliglutaminowych oraz do dalszego rozwijania podejścia terapeutycznego. Zgromadzone do tej pory wyniki zostały także wykorzystane do zaplanowania eksperymentów na modelach mysich HD i SCA3, które będą przeprowadzone w 2018 roku.

### **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

- 1. Identyfikacja białek wchodzących w skład agregatów tworzonych przez zmutowane białka zawierające wydłużone ciągi poliglutaminowe**  
**Kierownik zadania: dr Adam Ciesiołka**

#### *Cel badań*

Ze względu na to, że patomechanizm chorób poliQ jest ciągle słabo poznany, głównym celem obecnego projektu jest zidentyfikowanie nowych białek, które sekwestrowane są do agregatów białkowych tworzonych przez zmutowane ciągi poliQ występujące w ataksynie-3.

### *Opis realizowanych prac*

Dokonano przeglądu literaturowego dotyczącego wykorzystania metod proteomicznych w badaniu komponentów białkowych o ograniczonej rozpuszczalności. Następnie zaprojektowano i obecnie tworzone są konstrukty genetyczne mające posłużyć do wyprowadzenia stabilnych linii komórkowych typu SH-SY5Y Flp-In T-REx, w których powstawać będzie normalna i zmutowana (tworząca agregaty) ataksyna-3 w fuzji z białkiem BioID. Białko BioID, które jest zmodyfikowane ligazą biotynylującą, aktywnie działa w komórkach ludzkich suplementowanych biotyną. Jej aktywność enzymatyczna wykorzystana zostanie w dalszej części projektu do *in vivo*-biotynylacji zarówno białek bezpośrednio oddziałujących z fragmentem ataksyny-3, jak i białek znajdujących się w bliskiej odległości (~10 nm).

## **2. Badanie toksyczności ataksyny trzeciej w zróżnicowanych komórkach SH-SY5Y**

**Kierownik zadania: mgr Grzegorz Figura**

### *Cel badań*

Celem niniejszego zadania badawczego jest sprawdzenie czy zaobserwowane, podczas różnicowania komórek SH-SY5Y, efekty nadekspresji zmutowanej ataksyny trzeciej są także obecne we w pełni zróżnicowanych komórkach.

### *Opis realizowanych prac*

Przed rozpoczęciem różnicowania komórek SH-SY5Y przystąpiono najpierw do wyprowadzenia odpowiednich linii przez wprowadzenie do komórek różnych wariantów genu ataksyny trzeciej. Przygotowane wcześniej konstrukty zawierające warianty genu ataksyny trzeciej (różniące się długością ciągu CAG) wprowadzono do komórek za pomocą nukleofekcji aparatem Neon, według protokołu podanego przez producenta. Dla kontroli wydajności tego procesu komórki transfekowano też plazmidem zawierającym GFP. Wydajność sprawdzono po 24 i 48 godzinach i wynosiła ona ok. 20%; powinno to pozwolić na otrzymanie odpowiednich linii, które będą następnie różnicowane.

## **Projekty**

---

### **1. Toksyczność RNA w patogenezie chorób poliglutaminowych (MAESTRO)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przy użyciu mikroskopii konfokalnej opracowano protokół analizy 3D FISH jądrowych skupień RNA w limfoblastach pochodzących od pacjentów z różnymi chorobami neurodegeneracyjnymi. Zbadano wpływ różnych oligonukleotydów wyciszających (celujących zarówno w sekwencję powtórzoną CAG jak i sekwencję specyficzną dla transkryptu *HTT*) na liczbę RNA *foci* w fibroblastach, pochodzących od pacjentów z chorobą HD. Na wyprowadzonych z fibroblastów, pochodzących od pacjentów z chorobą SCA3 i HD, komórkach typu iPS testowano wybrane protokoły pozwalające na ich różnicowanie w kierunku progenitorów neuronalnych. Ze względu na to, że w zróżnicowanych komórkach nie wykazano ekspresji markerów specyficznych dla komórek typu neuronalnego, obecnie sprawdzane są nowe protokoły. Wyprowadzone stabilne linie HEK i Hela z indukowalną ekspresją transkryptu ataksyny-3 ulegającego lub nieulegającego translacji, zawierającym różnej długości powtórzenia CAG i CAA, charakteryzowano pod względem ilości powstającego transkryptu i białka, jak również analizowano lokalizację komórkową zmutowanego RNA i białka. Zbadano również wpływ toksycznego RNA i/lub toksycznego białka na przeżywalność analizowanych modeli komórkowych. Dodatkowo przy użyciu systemu Flp-In T-REx wyprowadzono podobne modele komórkowe w linii SH-SY5Y. Dwa mysie modele HD z ekspresją powtórzeń CAG nieulegających i ulegających translacji zostały wygenerowane przez firmę zewnętrzną, co umożliwia kontynuację projektu.

## **2. Mechanizmy selektywnego wyciszania genów chorób poliglutaminowych przez nietypowe powe siRNA (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeprowadzono charakterystykę stabilnych linii komórkowych wyprowadzonych w roku 2016. Komórki HEK293 z ekspresją mRNA kodującego N-końcowy fragment *HTT*, zawierający 16 lub 94 powtórzenia CAG, mają posłużyć do oczyszczania mRNA wraz z oddziałującymi białkami, które zostaną poddane analizie proteomicznej. W liniach tych analizowano sekwencję transgenu, poziom ekspresji transgenu (ilość mRNA oraz białka) po indukcji doksycykliną oraz po podaniu reagentów wyciszających. Przeprowadzono również analizę jakościową transkryptów metodą northern blot. Ponadto przystąpiono do optymalizacji warunków oczyszczania specyficznych mRNA za pomocą rekombinowanego białka Csy4. Zaprojektowano i przygotowano konstrukty genetyczne mające na celu stworzenie stabilnych linii komórkowych (HEK293 Flp-In T-REx), które odpowiedzą precyzyjnie na pytanie, jaka jest sekwencja zdarzeń (mechanizm wyciszenia) prowadząca do allelo-selektywnego wyciszenia ekspresji genu *HTT* przy użyciu nietypowych siRNA działających jak miRNA. W tym systemie egzogennym, opartym na promotorze dwukierunkowym (BI-16), z jednej strony ekspresji ulega egzon 1 huntingtyny z normalną (20) lub zmutowaną (100) liczbą ciągów CAG sprzężony z genem reporterowym NanoLuc Lucyferazy. Natomiast z drugiej strony promotora ekspresji ulega gen referencyjny Firefly Lucyferazy służący do normalizacji otrzymanych wyników. Przygotowane konstrukty zostały zsekwencjonowane, a ekspresję transgenów potwierdzono przy użyciu systemu /Nano//-/Glo Dual//-/Luciferase (NanoDLR) i transfekcji przejściowej.

## **3. Identyfikacja białek wiążących się do powtórzeń CAG i badanie interakcji RNA-białko w komórkach (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W celu identyfikacji białek wiążących się do powtórzeń CAG metodami *in vitro* utworzono wektory, pozwalające na zależną od polimerazy RNA T7 transkrypcję ciągów powtórzeń CAG normalnej oraz zmutowanej długości. Transkrypty te posiadają również sekwencję zmodyfikowanego aptameru S1 (4 × S1m). Potwierdzono tworzenie się tak zaprojektowanych transkryptów *in vitro* oraz ich zdolność wiązania się do złoża streptawidynowego (układ 4 × S1m-streptawidyna). Poza tym, zoptymalizowano metodę frakcjonowania komórek w warunkach natywnych w celu przygotowania ekstraktów jądrowych i cytoplazmatycznych, służących jako źródło „wyławianych” białek. W celu identyfikacji białek wiążących się do wydłużonych powtórzeń CAG w komórkach przygotowywane były wektory, służące do generowania stabilnych linii komórkowych (HEK293 Flp-In T-REx), w których ekspresji ulegać będą: białko MS2 z odpowiednią metką umożliwiającą immunoprecypitację oraz transkrypty z różnej długości ciągami powtórzeń CAG wraz z sekwencją aptamerów MS2. Metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* o rozdzielczości pojedynczej cząsteczki (smFISH) zwizualizowano transkrypty związane z patogenezą chorób poliglutaminowych w komórkach pozyskanych od pacjentów cierpiących na SCA3, DM1 i HD. Zoptymalizowano metodę utrwalania komórek, a także obróbki obrazów mikroskopowych, aby wiarygodnie zliczać cząsteczki mRNA, widoczne w komórkach. W systemie modelowym metodą smFISH udało się odróżnić natywne transkrypty ataksyny-3 od zmutowanych, poddanych nadekspresji. Podjęto pierwsze próby połączenia techniki smFISH z fluorescencyjnym znakowaniem białek przy pomocy przeciwciał, w celu wizualizacji oddziaływań białko-RNA. Zaprojektowano zestaw wektorów genetycznych pozwalających na przyżyciowe obserwacje transkryptów, badanie dynamiki mRNA i jego oddziaływań wybranymi białkami.

#### **4. Rola mikroRNA w regulacji metabolizmu żelaza w ataksji Friedreicha (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Marek Napierała, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W roku sprawozdawczym sporządzono banki komórek skóry (fibroblastów) od pacjentów z ataksją Friedreicha oraz od osób zdrowych. Następnie porównano ekspresję niekodujących cząsteczek RNA (tzw. mikroRNA) oraz ich docelowych genów pomiędzy dwoma badanymi grupami komórek, przy użyciu technik sekwencjonowania miRNA i RNA oraz metod bioinformatycznych. Wynik ekspresji został dodatkowo zweryfikowany tzw. metodą qPCR. Ponadto rozpoczęto hodowlę komórek macierzystych powstałych z reprogramowania komórek skóry pacjentów od osobników zdrowych i chorych. Rozpoczęto także edycję genomu embrionalnych komórek nerki w celu usunięcia genu frataksyny przy użyciu tzw. metody CRISPR/Cas9. Powyższe działania mają na celu weryfikację specyficzności cząsteczek do DNA, które zostaną użyte do edycji genomu w komórkach macierzystych pacjentów z ataksją Friedreicha.

#### **5. Kompleksowa analiza działania oligonukleotydów jako potencjalnych terapeutyków w chorobach poliglutaminowych (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Agnieszka Fiszer**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Wykonano analizy porównawcze efektywności i selektywności działania wybranego zestawu oligonukleotydów na modelu komórkowym, wyprowadzonym od pacjenta z chorobą Huntingtona, przy zastosowaniu różnych metod wprowadzania oligonukleotydów do komórek. Wcześniej stosowaną lipofekcję porównano z elektroporacją z wykorzystaniem urządzenia Neon. Ocena mikroskopowa komórek po podaniu siRNA ze znacznikiem fluoresceiny sugerowała niższą efektywność elektroporacji, ale uzyskane obniżenie poziomu huntingtyny po podaniu siRNA skierowanego na sekwencję specyficzną transkryptu *HTT* oraz oligonukleotydu A2 celującego w miejsce mutacji: wydłużony ciąg powtórzeń CAG, pokazało podobną efektywność obydwu metod. Ponadto stwierdzono lepszą przeżywalność i kondycję komórek po elektroporacji, w porównaniu do transfekcji. Przeprowadzone analizy wykazały, że posiadany model HD nie jest kulturą prekursorów neuronalnych, ze względu na profil ekspresji markerów. Podjęto działania w celu ponownego wygenerowania tego modelu lub wykorzystania innego typu tego modelu. Rozpoczęto pracę z wykorzystaniem linii neuroblastoma SH-SY5Y i mysich prekursorów neuronalnych STHdh. Analizę efektów działania oligonukleotydów celujących w powtórzenia CAG wykonano na linii SH-SY5Y, posiadającej indukowalną ekspresję ataksyny-3 z ciągiem 120 powtórzeń CAG (w systemie Flp-In T-REx). Optymalizowano także indukcję ekspresji zmutowanego genu tak, aby nie była ona zbyt wysoka. Przeprowadzono eksperymenty transfekcji wybranymi oligonukleotydami 24 h od indukcji, testowano kontrolnie siRNA specyficzny dla sekwencji ataksyny-3 oraz zestaw siRNA celujących w region powtórzeń CAG.

#### **6. Translacja inicjowana na powtórzonych sekwencjach CAG w ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Magdalena Jazurek-Ciesiołka**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przy użyciu systemu Flp-In T-REx wyprowadzono stabilne linie HEK umożliwiające badanie procesu nieuprawnionej translacji na powtórzonych sekwencjach CAG (RAN translacji). Modele te charakteryzowały się indukowalną ekspresją transkryptu ataksyny-3 nieulegającego translacji i zawierającego różnej długości powtórzenia CAG (20, 60, 120 powtórzeń CAG). Identyfikacja powstających produktów RAN translacji była możliwa dzięki obecności sekwencji kodującej 3 metki (HA, myc, 6XHis) dla każdej ramki odczytu. Produkty RAN translacji analizowano metodą

western blot oraz przy użyciu mikroskopii konfokalnej. Badano również wpływ długości sekwencji otaczającej region powtórzeń na wydajność procesu RAN translacji.

## **7. Wykorzystanie narzędzi genetycznych w eksperymentalnej terapii chorób poliglutaminowych (SONATA BIS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Marta Olejniczak, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Zaprojektowano reagenty sgRNA skierowane na region genu *HTT* i wykorzystano je w eksperymencie edycji genomu przy użyciu systemu CRISPR/Cas9. W tym celu komórki ludzkie linii HEK293T oraz fibroblasty pochodzące od pacjentów z chorobą Huntingтона były transfekowane plazmidami kodującymi białko Cas9 oraz odpowiednie sgRNA. Analizę efektywności działania reagentów przeprowadzono z wykorzystaniem metody T7E1 oraz sekwencjonowania Sangera. Testowano również wydajność działania kompleksów rybonukleoproteinowych (RNP) dostarczanych do komórek na drodze elektroporacji. Najbardziej efektywne reagenty zostały wykorzystane do specyficznego wycięcia toksycznych powtórzeń CAG z genu *HTT* przy użyciu pary sgRNA i nikazy Cas9. Wycięcie powtórzeń z DNA skutkowało zmianą ramki odczytu, wprowadzeniem przedwczesnego kodonu stop w eksonie 1 genu *HTT* i wyciszeniem ekspresji białka we wszystkich analizowanych liniach komórkowych HD różniących się liczbą powtórzeń CAG (analiza western blot). Niespodziewanie poziom zmodyfikowanego transkryptu *HTT* nie uległ zmianie. Wyniki badań spisano w formie manuskryptu publikacji. Opracowano również nową metodę (qEva-CRISPR) oceny efektywności działania systemu CRISPR/Cas9, a wyniki badań posłużyły do przygotowania manuskryptu publikacji.

## **8. Profilowanie mikroRNA w komórkowych modelach choroby Huntingтона stworzonych z użyciem technologii iPSC (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: dr Emilia Kozłowska**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Z powodu urlopu macierzyńskiego, rodzicielskiego i wychowawczego od maja 2016 roku do października 2017 roku projekt nie był realizowany. Po wznowieniu realizacji projektu wykorzystano namnożone wcześniej i przechowane linie komórkowe iPSC. Przeprowadzono charakterystykę wybranych linii, polegającą na badaniu aktywności enzymu alkalicznej fosfatazy oraz barwieniach immunocytochemicznych na markery pluripotencji (obserwowano pozytywny sygnał od co najmniej trzech markerów pluripotencji). Przeprowadzono próbę uzyskania prekursorów neuronalnych. Uzyskane linie wykazywały ekspresję wczesnego markera neuronalnego nestyny. W dalszych analizach wykazano jednak, że komórki nie wykazują ekspresji pozostałych analizowanych markerów neuronalnych PAX6 oraz SOX2. Konieczne jest zatem przeprowadzenie kolejnych prób różnicowań iPSC do komórek o charakterze neuronalnych z zastosowaniem innych systemów indukcji neuronalnej, celem pozyskania modelu do dalszych badań.

## **9. Obrazowanie szlaku biogenezy miRNA i komórkowej lokalizacji reagentów technologii interferencji RNA (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: dr Martyna O. Urbanek-Trzeciak**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach grantu przeprowadzone zostały badania w kierunku opracowania protokołu pozwalającego na obserwację w pojedynczych komórkach zarówno prekursorów pri-mikroRNA, jak i pre-mikroRNA, równolegle z dojrzałymi cząsteczkami mikroRNA. Prowadzone były również prace nad opracowaniem technik wizualizacji mRNA, z wykorzystaniem techniki RCA, aby możliwa była obserwacja oddziaływań mikroRNA oraz mRNA, z którym oddziałuje na drodze interferencji RNA. Wykonano wstępne badania dotyczące lokalizacji białek zaangażowanych w proces

interferencji RNA na poziomie pojedynczej komórki, jak również wydajności ich wyciszenia z wykorzystaniem siRNA. Zakończono prace nad pierwszą wersją oprogramowania służącego znajdowania znanych oraz nowych motywów obecnych w prekursorach mikroRNA (pre-mikroRNA) oddziałujących z białkami posiadającymi domenę wiążącą RNA. Uwzględniono sekwencje pre-mikroRNA pochodzące od człowieka, myszy oraz *A. thaliana*. Zaprojektowano również sondy bazujące na wyciszeniu fluorescencji, służące obserwacji wydajności cięcia prekursorów mikroRNA (pre-mikroRNA) w żywych komórkach. Dokonano również przeglądu literaturowego dotyczącego białek znajdujących się w strukturach jądra komórkowego, które mogą oddziaływać z prekursorami mikroRNA wpływając na ich lokalizację oraz wydajność cięcia.

## **10. Ścieżki degradacji transkryptów związanych z chorobami człowieka, których podłożem jest ekspansja sekwencji mikrosatelitarnych (FUGA)**

**Kierownik projektu: dr Karolina Drążkowska**

### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeprowadzono wyciszenia ekspresji różnych genów, których produkty zaangażowane są w degradację mRNA w różnych ścieżkach, z zastosowaniem siRNA. Dla większości siRNA uzyskano zadowalający poziom wyciszenia, dla niektórych wyciszeń optymalizowano procedury. Materiał uzyskany we wspomnianych doświadczeniach posłużyć miał do oceny poziomu transkryptów, których zmutowane formy obecne są u pacjentów z ataksją rdzeniowo-mózdkową typu 3 oraz dystrofią miotoniczną typu 1 oraz ich odpowiedników w formie niewydłużonej. Metodą northern blot próbowano ocenić ilość mRNA *DMPK*, zarówno w wersji normalnej jak i wydłużonej. Wykorzystano kilka wariantów sond uzyskanych metodą *random priming*, sond RNA uzyskanych w wyniku transkrypcji *in vitro* oraz sondę oligo DNA, zawierającą LNA. Niestety, detekcja transkryptu *DMPK* nie powiodła się, nie zaobserwowano żadnych specyficznych sygnałów, które mogłyby pochodzić od wydłużonego mRNA, sygnał uzyskany od niezmutowanego transkryptu był słaby przy bardzo silnej detekcji niespecyficznej rybosomalnego RNA. Ilość transkryptu ataksyny-3 oceniana była metodą półilościowego PCRu. Wykonano wiele takich reakcji, a uzyskane wyniki okazywały się na tyle niepowtarzalne, że metoda została uznana za nieprzydatną do wykonania zaplanowanej analizy. Kolejnym sposobem oceny ilości transkryptów dzikich i zmutowanych ataksyny-3 była próba wykonania analizy northern blot, jednak wykrycie badanego mRNA nie powiodło się. Prawdopodobną przyczyną niepowodzenia jest fakt, iż ilość mRNA ataksyny-3 w fibroblastach jest bardzo mała.

## **11. Badanie roli neuronalnej ścieżki PGC-1 $\alpha$ -PPAR $\delta$ w patogenezie i terapii choroby Parkinsona (Mobilność Plus)**

**Kierownik projektu: dr Paweł Świtoński**

### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Celem badań przeprowadzonych w ramach realizacji projektu w 2017 roku było określenie roli ścieżki PARP1-SIRT1-PGC1 $\alpha$  w procesach neurodegeneracyjnych na modelu SCA7. W tym celu metodą *western blot* z wykorzystaniem przeciwciała przeciwko acetylowanym białkom przeanalizowano poziom acetylacji PGC1 $\alpha$  w mózdkach myszy dzikich i SCA7. Akumulacja acetylowanego PGC1 $\alpha$  u myszy SCA7 wskazała na zaburzenie funkcji SIRT1, który jest enzymem deacetylującym PGC1 $\alpha$  i tym samym regulującym ekspresję licznych genów, zaangażowanych w prawidłowe funkcjonowanie komórek nerwowych. Zaobserwowano również znaczące obniżenie NAD $^{+}$ , kofaktora SIRT1 niezbędnego do jego prawidłowego działania. Aby potwierdzić istotę obniżonej aktywności SIRT1 i obniżonego poziomu NAD $^{+}$  w procesie neurodegeneracji, przeprowadzono eksperymenty z wykorzystaniem mysiego modelu 266Q SCA7 i neuroprogenitorów (NPC) uzyskanych od pacjentów SCA7. W przypadku badań komórkowych, NPCs zostały traktowane inhibitorem wapniowego kanału SERCA – thapsygariną. Zaburzenia w gospodarce wapniowej są

bowiem rezultatem nieprawidłowego działania ścieżki PARP1-SIRT1-PGC1a w SCA7. Thapsygar-gina o stężeniu 1uM spowodowała znacznie liczniejszą śmierć SCA7 NPC w porównaniu do komórek kontrolnych. Indukcja ekspresji SIRT1 (ale nie enzymatycznie nieaktywnego SIRT1) znosiła ten efekt. W eksperymencie na modelu mysim, zwierzęta karmione były prekursorem NAD<sup>+</sup> – rybo-zydem nikotynamidu (NR). Terapia ta polepszyła fenotyp behawioralno-motoryczny myszy mie-rzony testem *neuronal composite score* i zwiększyła ich przeżywalność.

## Publikacje

---

1. **L. Galganski, M.O. Urbanek, W.J. Krzyzosiak**  
Nuclear speckles: molecular organization, biological function and role in disease  
*Nucleic Acids Research* 2017, 45, 10350-10368
2. **M.O. Urbanek, W.J. Krzyzosiak**  
Discriminating RNA variants with single-molecule allele-specific FISH  
*Mutation Research* 773, 230-241
3. **A. Ciesiolka, M. Jazurek, K. Drazkowska, W.J. Krzyzosiak**  
Structural Characteristics of Simple RNA Repeats Associated with Disease and their  
Deleterious Protein Interactions  
*Frontiers in Cellular Neuroscience* 2017, 11, 97
4. **M.O. Urbanek, M. Michalak, W.J. Krzyzosiak**  
2D and 3D FISH of expanded repeat RNAs in human lymphoblasts  
*Methods* 2017, 120, 49-57
5. **M.O. Urbanek, A. Fiszer, W.J. Krzyzosiak**  
Reduction of Huntington's Disease RNA Foci by CAG Repeat-Targeting Reagents  
*Frontiers in Cellular Neuroscience* 2017, 11, 82
6. **M. Napierala, J.S. Napierala, Y.J. Li, Y. Lu, K. Lin, L.A. Hauser, D.R. Lynch**  
Comprehensive analysis of gene expression patterns in Friedreich's ataxia fibroblasts by RNA  
sequencing reveals altered levels of protein synthesis factors and solute carriers  
*Disease Model & Mechanisms* 2017, 10, 1353-1369
7. V. Makrantonis, **A. Ciesiolka**, C. Lawless,  
J. Fernius, A. Marston, D. Lydall, MJR. Stark  
A Functional Link Between Bir1 and the *Saccharomyces cerevisiae* Ctf19 Kinetochore  
Complex Revealed Through Quantitative Fitness Analysis  
*G3-GENES GENOMES GENETICS*, 2017, 7, 3203-3215
8. **K. Drazkowska, R. Tomecki**  
Cytoplasmic RNA Decay w: *eLS*  
(red. E. Candi) 2017, 1-14, John Wiley & Sons Ltd

## Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych

---

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Ryszard Kierzek (STATUT)<sup>19</sup>

Skład osobowy<sup>20</sup>

Pracownicy naukowci:

dr inż. Dorota Magner (STATUT)

dr Marta Soszyńska-Jóźwiak (STATUT)

dr Marta Szabat (STATUT)

---

<sup>19</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>20</sup> Stan na 31.12.2017 r.

Pracownicy techniczni:

Dr Grażyna Dominiak (STATUT)

Dr Joanna Sarzyńska (STATUT)

Doktoranci:

mgr Tomasz Czapik (STATUT)

### **Pracownia Biomolekularnego NMR**

Kierownik: prof. dr hab. Zofia Gdaniec (STATUT)

Pracownicy naukowci:

dr Daniel Baranowski (STATUT)

dr Witold Andrałojć (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Dorota Gudanis (STATUT)

dr Karol Pasternak (STATUT)

mgr Anna Teubert (STATUT)

Doktoranci:

mgr Karolina Zielińska (stypendium KNOW)

## **Działalność statutowa**

### **X. Podstawy chemiczne i strukturalne funkcji biologicznej terapeutycznie ważnych kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Ryszard Kierzek)**

#### **1. Termodynamika modyfikowanych kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Ryszard Kierzek)**

##### *Cel badań*

Badania prowadzone kilka lat temu wykazały, że metylowanie adenozyiny w pozycji N6 powoduje destabilizację trwałości termodynamicznej dupleksów o 0.2-0.4 kcal/mol, w zależności od położenia metylowanej adenozyiny w dupleksie. W ostatnich kilku latach stwierdzono, że N6-metyloadenozyina występuje często w wielu RNA i spełnia wiele funkcji biologicznych. Odpowiednie enzymy metylują adenozyiny i proces ten następuje w określonych regionach sekwencyjnych RNA, szczególnie w trzonach spinek. Celem badań jest określenie wpływu metylacji adenozyiny na trwałość termodynamiczną dupleksów, w otoczeniu sekwencyjnym, w jakim metylacja zwykle ma miejsce w natywnych RNA.

##### *Opis zrealizowanych prac*

W celu realizacji zadania badawczego zsyntetyzowano, odblokowano i oczyszczono szereg modelowych oligorybonukleotydów, które tworzą układy, w których 6N-metyloadenozyina występuje w otoczeniu komplementarnych i niekomplementarnych par zasad, w takich, jakich ma to miejsce w układach naturalnych.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Prowadzone badania termodynamiczne wykazały, że obecność N6-metyloadenozyiny, w zależności od otaczającej modyfikowaną adenozyinę sekwencji, ma wpływ na efekt destabilizacji badanych dupleksów RNA.

##### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Uzyskane wyniki pozwolą określić czy istnieją uwarunkowania termodynamiczne i strukturalne, które decydują o tym, która adenozyina z wielu istniejących, ulega enzymatycznej metylacji. Jesteśmy przekonani, że pozwoli to lepiej zrozumieć pewne aspekty biologicznej funkcji 6N-metyloadenozyiny w natywnych RNA.

## **2. Analiza struktury i dynamiki kwasów nukleinowych metodami biomolekularnego NMR (prof. dr hab. Zofia Gdaniec)**

### *Cel badań*

Celem realizowanego zadania badawczego było ustalenie czynników odpowiedzialnych za niezwykłą trwałość termodynamiczną czteroniciowego kwadrupeksu RNA o sekwencji (rUGGUGGU)<sub>4</sub>, na podstawie analizy jego struktury trójwymiarowej, wykorzystując spektroskopię NMR i symulacje dynamiki molekularnej.

### *Opis zrealizowanych prac*

Na podstawie analizy widm NMR otrzymanych dla kwadrupeksu (rUGGUGGU)<sub>4</sub>, ustalono więzy strukturalne, które zostały wykorzystane do ustalenia struktury trójwymiarowej z rozdzielczością atomową. Otrzymana struktura NMR została użyta jako punkt wyjścia do dalszych badań tej cząsteczki metodami symulacji dynamiki molekularnej.

### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Otrzymana struktura kwadrupeksu (rUGGUGGU)<sub>4</sub> zawiera wysoce niestandardową konformację 3'-końcowej reszty urydyny (tworzącej odwróconą U-tetradę). Szczegółowa analiza zaobserwowanej konformacji pozwala na racjonalne wytłumaczenie, wielokrotnie obserwowanej, niezwykle dużej stabilności termicznej kwadrupeksów RNA zakończonych resztą urydyny na 3'-końcu. Wyznaczona struktura jest również pierwszą strukturą G-kwadrupeksu zawierającą U-tetradę zlokalizowaną pomiędzy dwoma G-tetradami (reszty urydyny w takim kontekście strukturalnym zawsze ulegały wypętlaniu).

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Uzyskane wyniki poszerzają dostępną wiedzę o preferencjach strukturalnych kwadrupeksów RNA oraz o zależnościach pomiędzy przyjmowanymi przez te cząsteczki konformacjami, a ich stabilnością termodynamiczną.

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

### **1. Optymalizacja układu badawczego do monitorowania alleloselektywnej aktywności antysensowych oligonukleotydów**

**Kierownik zadania: dr inż. Dorota Magner**

#### *Cel badań*

Celem badań jest opracowanie modelu badawczego, w którym możliwe będzie obiektywne określenie wpływu aktywności antysensowych oligonukleotydów na poziom ekspresji wariantów SNP wybranego transkryptu (mRNA genu SOD1).

#### *Opis realizowanych prac*

W ramach przeprowadzonych eksperymentów otrzymano wariant dziki genu SOD1 z ludzkich komórek HeLa oraz HFL-1, który obecnie poddawany jest mutagenezie ukierunkowanej w celu uzyskania różnych wariantów SNP założonych w projekcie. Równocześnie prowadzona była optymalizacja układu startery-sonda specyficznych dla poszczególnych regionów genu SOD1 zawierających SNP, do metody TaqMan qPCR. Dobrze funkcjonujący układ startery-sonda pozwoli ilościowo monitorować poziom poszczególnych wariantów SNP badanego transkryptu. Dla 9 różnych SNP przetestowano 11 par starterów i 18 sond znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi (6-FAM na 5'końcu i TAMRą na 3'-końcu). Wszystkie sondy i startery były syntetyzowane, oczyszczane i weryfikowane samodzielnie w Zakładzie Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych. Dla sond wykonano widma fluorescencji we współpracy z dr Joanną Kosman z Wydziału Chemii UAM. Spośród analizowanych oligonukleotydów wybrano 4 pary starterów i 6 sond, które efektywnie wykrywały dzikie warianty różnych SNP transkryptu SOD1 w pulach RNA izolowanego z ludzkich linii komórkowych HeLa i HFL-1. Weryfikacja zestawów

startery-sonda w odniesieniu do wariantów zmutowanych nastąpi w najbliższym czasie, bezpośrednio po ich uzyskaniu.

## **2. Opracowanie metody określenia stabilności wiązań fosfodiesterowych RNA z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA**

**Kierownik zadania: dr Marta Soszyńska-Jóźwiak**

### *Cel zadań*

Celem projektu było opracowanie metody określenia stabilności wiązań fosfodiesterowych RNA z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA. W trakcie realizacji projektu, jako obiekt badawczy wykorzystano genomowy RNA segmentu 8 szczepu A/California/04/2009 (H1N1) wirusa grypy, otrzymanym w procesie transkrypcji *in vitro*.

### *Opis realizowanych zadań*

Struktura drugorzędowa segmentu 8 szczepu A/California/04/2009 (H1N1) wirusa grypy nie była znana, istniały tylko przewidywania bioinformatyczne. W trakcie trwania projektu, standardowe metody mapowania chemicznego, w tym metoda SHAPE zostały użyte do określenia struktury drugorzędowej badanego RNA. Następnie dane uzyskane w eksperymentach wprowadzono do programu bioinformatycznego RNAstructure 5.5, który wygenerował strukturę drugorzędową segmentu 8 szczepu A/California/04/2009 (H1N1) wirusa grypy. Równocześnie z zastosowaniem klasycznych metod mapowania struktury drugorzędowej RNA (mapowanie chemiczne) przystąpiono do opracowania nowej metody określenia stabilności wiązań fosfodiesterowych RNA – indukowanej hydrolizy RNA. W tym celu przystąpiono do optymalizacji reakcji indukowanej hydrolizy RNA. Jako obiekt badawczy również wykorzystano genomowy RNA segmentu 8 szczepu A/California/04/2009 (H1N1) wirusa grypy. Uzyskane dane ze standardowych metod mapowania struktury drugorzędowej RNA segmentu 8 szczepu A/California/04/2009 (H1N1) zestawiono z pierwszymi danymi uzyskanymi z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA. Podsumowując, można stwierdzić, że badania realizowane w ramach projektu pozwoliły na wykorzystanie indukowanej hydrolizy RNA do badania struktury drugorzędowej RNA oraz przyczyniły się do poszerzenia wiedzy o RNA wirusa grypy.

## **3. Wpływ modyfikacji nukleozydów purynowych na strukturę i termodynamikę modelowych RNA**

**Kierownik zadania: mgr Tomasz Czapik**

### *Cel badań*

Celem prowadzonych badań jest ustalenie wpływu modyfikacji modelowych cząsteczek RNA na parametry termodynamiczne takich oligonukleotydów.

### *Opis realizowanych prac*

Obiektem badań są krótkie cząsteczki RNA o samokomplementarnej sekwencji 5'-GACGAGUGUCA. Oligonukleotydy te tworzą strukturę spinki do włosów, a w pętli posiadają dwie reszty guanozyny G4 i G6. Pozycje te zastąpiono w modelowych cząsteczkach pochodnymi guanozyny. Wśród wybranych analogów nukleozydów, wybrano serię modyfikowaną w części cukrowej oraz w części zasadowej. Modyfikacje części cukrowej obejmują nukleozydy: deoksyrybozy, 2'-fluororybozy, 2'-fluoroarabinozy, arabinozy. Modyfikacje części zasadowej mają na celu wymuszenie konformacji wiązania N-glikozydowego (8-bromo) lub zmianę dystrybucji grup akceptor-donorowych wiązań wodorowych. Po zsyntetyzowaniu serii modyfikowanych oligonukleotydów przeprowadzono szereg pomiarów absorbancji w różnych temperaturach w celu wyznaczenia parametrów termodynamicznych. Dla szeregu oligonukleotydów zarejestrowano również widma NMR w rejonie iminoprotonowym.

#### **4. Niekanoniczne formy DNA i RNA oraz ich właściwości strukturalne i biologiczne**

**Kierownik zadania: mgr Marta Szabat**

##### *Cel zadań*

Celem projektu było określenie właściwości strukturalnych i biologicznych niekanonicznych form DNA i RNA, które mogłyby stanowić alternatywę dla znanych podejść opartych na syntetycznych oligonukleotydach.

##### *Opis realizowanych prac*

W ramach projektu uzyskano wyniki dotyczące właściwości strukturalnych niekanonicznych form kwasów nukleinowych, w tym struktur dwuniciowych DNA i RNA oraz struktur trójniciowych RNA. Badania pozwoliły określić, w jaki sposób modyfikowane nukleotydy użyte w badaniach wpływają na strukturę helikalną równoległych dupleksów oraz trypleksów. Natomiast dzięki wynikom otrzymanym z badań biologicznych określono stabilność tych struktur w warunkach zbliżonych do komórkowych. To z kolei pozwoliło na wyłonienie najbardziej stabilnych wariantów modelowych cząsteczek. Ponadto na podstawie eksperymentów przeprowadzonych z wykorzystaniem linii komórkowej *HeLa* uzyskano informacje o tym, jaki efekt mogą wywoływać trypleksy w środowisku komórkowym. Ogólnie, dzięki połączeniu analizy strukturalnej oraz badań biologicznych było możliwe poznanie korelacji pomiędzy strukturą i funkcją badanych niekanonicznych form DNA i RNA. Ponadto warianty dupleksów i trypleksów o najlepszych właściwościach biologicznych mogą posłużyć do dalszych badań ukierunkowanych np. na inhibicję patogennych cząsteczek RNA.

#### **5. Analiza czynników strukturalnych odpowiedzialnych za stabilizujące właściwości reszt 2'-OMe w obecności jonów $\text{Na}^+$ , $\text{NH}_4^+$ , $\text{K}^+$ metodami biomolekularnego NMR**

**Kierownik zadania: mgr Karolina Zielińska**

##### *Cel badań*

Celem prowadzonych badań jest ustalenie metodami NMR czynników strukturalnych odpowiedzialnych za stabilizujące właściwości reszt 2'-OMe w obecności różnych jonów w tym  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ .

##### *Opis realizowanych prac*

Obiektem badań są dwa typy dupleksów 2'-OMe w serii RNA. Pierwsza grupa związków obejmuje cząsteczki, które w całości są zbudowane z reszt typu 2'-OMe. W drugiej grupie związków, modyfikacja 2'-OMe jest obecna tylko w wybranych pozycjach. Dla modelowego dupleksu 2'-OMe o sekwencji 5'-ACGUCCA/UGGACGU badania termodynamiczne pokazały, że zarówno trwałość termodynamiczna, jak i struktura dupleksu zależne są od typu kationu obecnego w roztworze. Stabilność dupleksu maleje w kolejności  $\text{NH}_4^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+$ . Dodatkowo widma NMR pokazały, że jony amonowe są wiązane w specyficzny sposób oraz znacznie wpływają na strukturę takiego dupleksu. Wyniki badań dla dupleksów z pierwszej grupy mogą dać odpowiedź czy specyficzność wiązania jonów amonowych zależy od sekwencji dupleksu czy wyłącznie od obecności modyfikacji 2'-OMe. W projekcie prowadzone są badania strukturalne i termodynamiczne. Zaplanowane eksperymenty NMR mogą pozwolić określić, w jakim stopniu i jakie zmiany indukuje na strukturę helikalną RNA obecność różnych jonów.

## **Projekty**

---

#### **1. Strukturalnie zdefiniowane oligonukleotydy. Badania struktury oraz uwarunkowań strukturalnych oddziaływań i funkcji RNA (MAESTRO)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Ryszard Kierzek**

##### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Projekt grantowy składa się z czterech zadań badawczych. W temacie pierwszym, który dotyczy badania oddziaływań dwóch długich fragmentów RNA zawierających wielokrotne powtórzenia

skoncentrowano się na czterech układach, które wykazują, że mimo iż każdy z nich nie tworzy struktury samokomplementarnej, to mogą one oddziaływać z sobą. Obecnie prowadzone są mapowania chemiczne, które mają określić strukturę drugorzędową tworzonych struktur. Kolejny temat dotyczy badania struktury dupleksów RNA zawierających niesparowania tandemowe AG/GA. Przygotowano ponad 10 dupleksów zawierających różne modyfikacje w pozycjach tandemowych niesparowań, jak i w pozycji par zasad zamykających tandemowe niesparowanie. Określono strukturę drugorzędową i trwałość termodynamiczną tworzonych dupleksów i struktur spinkowych. Opracowano nowe podejście, które uniemożliwia tworzenie się równowagi strukturalnej spinek i dupleksów RNA. Realizując trzecie zadanie badawcze przygotowano kilka oligonukleotydów RNA zawierających w określonych pozycjach reszty guanozyny i 8-bromoaguanozyny zawierającej w pozycji N2 izotop azotu N15. Przygotowano także kilka oligonukleotydów tworzących kwadrupleksy RNA i zawierających we fragmentach jednoniciowych łączniki nienukleotydowe. Wreszcie, dla realizacji ostatniego zadania badawczego przygotowano pochodne 3-deazaadenozyny i 8-bromo-3-deazaadenozyny. Przygotowano także kilka oligonukleotydów zawierających obie pochodne adenozyne. Posłużą one do badania mechanizmu aktywności katalitycznej rybozomu typu twister.

## **2. Hybrydowe, dwufunkcyjne struktury RNA typu dupleks-kwadrupleks jako nowe narzędzie do wyciszania ekspresji genów (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Zofia Gdaniec**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Badania dotyczą zwiększenia specyficzności antysensowych oligonukleotydów, których efektywność opiera się na współdziałaniu dwóch strukturalnych domen RNA, kwadrupleksu i dupleksu. Analiza trwałości termodynamicznej struktur hybrydowych zawierających w domenie kwadrupleksowej takie modyfikacje, jak reszty pozbawione zasad heterocyklicznych czy alifatyczne linkery pokazała, że nie wpływają one znacząco na stabilność badanych struktur, niezależnie od obecności jonów K<sup>+</sup> czy Na<sup>+</sup>. Wprowadzenie nienukleozydowych modyfikacji do oligonukleotydów antysensowych powinno także ułatwiać zawiązywanie się struktur kwadrupleksowych oraz zapobiegać oddziaływaniom domeny kwadrupleksowej z fragmentami mRNA bogatymi w reszty cytydyny. Kolejnym krokiem było sprawdzenie, czy obecność modyfikacji nie zaburza struktury hybrydy. Dla wytypowanych hybryd typu dupleks-kwadrupleks otrzymano dane SAXS, analiza których sugerowała, że mogą one asocjować tworząc dimery. Aby to dokładniej zbadać, porównano profile migracji w żelu natywnym wszystkich struktur hybrydowych, zarówno tych modyfikowanych jak i pozbawionych modyfikacji. Na ich podstawie ustalono, że główną formą istniejącą w roztworze jest monomer, jednak obecność dodatkowych, wolniej migrujących pasm wskazywała, że mogą powstawać również dimery. Wykazano również, że powszechnie wykorzystywane w badaniach ligandy selektywne względem kwadrupleksów (o-BMVC, NMM) wiążą się również do struktur hybrydowych, zarówno modyfikowanych i niemodyfikowanych.

## **3. Wykorzystanie modyfikowanych chemicznie kwadrupleksów RNA w terapii antysensowej (MINIATURA)**

**Kierownik projektu: dr Dorota Gudanis**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Zaprojektowano i zsyntezowano modelowe oligonukleotydy antysensowe, które po rozpoznaniu docelowego mRNA bogatego w reszty guanozyny tworzą hybrydy strukturalne RNA typu dupleks-kwadrupleks. Większość z tych cząsteczek zawiera szereg modyfikacji chemicznych, które zostały dobrane w taki sposób, aby zwiększały stabilność oraz specyficzność rozpoznania docelowych regionów mRNA. Dodatkowo w zależności od typu modyfikacji, oligonukleotydy antysensowe po związaniu nici mRNA mają składać się do hybryd różniących się sposobem połączenia domeny

dupleksu oraz kwadrupleksu. Struktury tych hybryd będą charakteryzowane metodami spektroskopowymi.

#### **4. Nowe 3,6,9-tripodstawione pochodne 9-H-karbazolu jako potencjalne sondy fluorescencyjne do detekcji kwadrupleksów DNA i RNA (MINIATURA)**

**Kierownik projektu: dr Daniel Baranowski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Zaprojektowano i otrzymano na drodze wieloetapowej syntezy chemicznej nowe 3,6-bis pochodne karbazolu, podstawione w pozycji N9 terminalnie funkcjonalizowanymi łańcuchami alifatycznymi. Jako podstawniki w pozycjach 3,6 wybrano układy heteroaromatyczne (pochodne pirydyny, chinoliny oraz imidazolu), sprzężone z układem karbazolu łącznikiem winylowym, metaniminowym lub amidowym. Strukturę otrzymanych związków potwierdzono za pomocą spektroskopii NMR. Dla pochodnych diiodku 3,6-bis(1-metylo-2-winylopirydynio)karbazolu podstawionych w pozycji N9 terminalnie funkcjonalizowanymi kwasami karboksylowymi (propanowym, pentanowym i heptanowym) przeprowadzono badania oddziaływania z cząsteczkami kwadrupleksów DNA za pomocą spektroskopii fluorescencyjnej. Wykazano 24–34-krotny wzrost emisji fluorescencji otrzymanych związków w obecności sekwencji cMYC oraz zdecydowanie słabszy wzrost dla sekwencji TEL.

#### **Publikacje**

---

1. Z. Miao, **R.W. Adamiak**, M. Antczak, R.T. Batey, A. Becka, **M. Biesiada**, M.J. Boniecki, M.J. Bujnicki, S.-J. Chen, C.Y. Cheng, F.-C. Chou, A.R. Ferre-D'Amare, R. Das, W.K. Dawson, F. Ding, N.V. Dokholyan, S. Dunin-Horkawicz, C. Geniesse, K. Kappel, W. Kladwang, A. Krokhotin, G.E. Lach, F. Major, T.H. Mann, M. Magnus, **K. Pachulska-Wieczorek**, D.J. Patel, J.A. Piccirilli, **M. Popena**, **K.J. Purzycka**, A. Ren, G.M. Rice, J.Jr. Santalucia, **J. Sarzynska**, M. Szachniuk, A. Tandon, J.J. Trausch, S. Tian, J. Wang, K.M. Weeks, B. Williams,II, Y. Xiao, X. Xu, D. Zhang, T. Zok, E. Westhof  
RNA-Puzzles Round III: 3D RNA structure prediction of five riboswitches and one ribozyme  
*RNA* 2017, 23, 655-672
2. **L. Budzko**, **P. Jackowiak**, **K. Kamel**, **J. Sarzynska**, J. Bujnicki, **M. Figlerowicz**,  
Mutations in human AID differentially affect its ability to deaminate cytidine and 5-methylcytidine in ssDNA substrates in vitro  
*Scientific Reports* 2017, 7, 3873
3. J. Miskiewicz, K. Tomczyk, A. Mickiewicz, **J. Sarzynska**, **M. Szachniuk**  
Bioinformatics study of structural patterns in plant pre-microRNA  
*BioMed Research International* 2017, 6783010
4. **A. Mickiewicz**, **J. Sarzynska**, M. Milostan, **A. Kurzynska-Kokorniak**, **A. Rybarczyk**, **P. Lukasiak**, **T. Kulinski**, **M. Figlerowicz**, **J. Blazewicz**  
Modeling of the catalytic core of *Arabidopsis thaliana* Dicer-like 4 protein and its complex with double-stranded RNA  
*Computational Biology and Chemistry* 2017, 66, 44–56
5. **A. Kiliszek**, **L. Blaszczyk**, **R. Kierzek**, **W. Rypniewski**  
Stabilization of RNA hairpins using non-nucleotide linkers and circularization  
*Nucleic Acid Research* 2017, 45, e92
6. A. Switalska, **R. Kierzek**, A. Dembska, B. Juskowiak  
Spectroscopic study of fluorescent probes based on G-quadruplex oligonucleotides labeled with ethynylpyrenyl-deoxyuridine  
*International Journal of Biological Macromolecules* 2017, 105, 862-872

7. **M. Soszynska-Jozwiak, P. Michalak, W.N. Moss, R. Kierzek, J. Keszy, E. Kierzek**  
Influenza virus segment 5 (+) RNA – secondary structure and new targets for antiviral strategies  
*Scientific Reports* 2017, 7, 15041
8. **D. Magner, E. Biala, J. Lisowiec-Wachnicka, R. Kierzek**  
Influence of mismatched and bulged nucleotides on SNPpreferential RNase H cleavage of RNA-antisense gapmer heteroduplexes  
*Scientific Reports* 2017, 7, 12532
9. **M. Szabat, R. Kierzek**  
Parallel-stranded DNA and RNA duplexes – structural features and potential applications  
*FEBS Journal* 2017, 284, 3986-3998
10. S.M. Lyons, **D. Gudanis, S.M. Coyne, Z. Gdaniec, P. Ivanov**  
Identification of functional tetramolecular RNA G-quadruplexes derived from transfer RNAs  
*Nature Communications* 2017, 8, 1127
11. **P. Jackowiak, A. Hojka-Osinska, K. Gasior, M. Stelmaszczuk, D. Gudanis, Z. Gdaniec, M. Figlerowicz**  
Effects of G-quadruplex topology on translational inhibition by tRNA fragments in mammalian and plant systems *in vitro*  
*International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2017, 92, 148-154
12. M. Lozynski, J. Pernak, **Z. Gdaniec, B. Gorska, F. Beguin**  
Proof of ion-pair structures in ammonium-based protic ionic liquids using combined NMR and DFT/PCM-based chemical shift calculations  
*Physical Chemistry Chemical Physics* 2017, 19, 25033-25043
13. M. Matuszewski, J. Wojciechowski, K. Miyauchi, **Z. Gdaniec, W.M. Wolf, T. Suzuki, E. Sochacka**  
A hydantoin isoform of cyclic N6-threonylcarbamoyladenine (ct6A) is present in tRNAs  
*Nucleic Acids Research* 2017, 45, 2137-2149
14. M. Wierzchowski, Z. Dutkiewicz, A. Gielara-Korzanska, A. Korzanski, **A. Teubert, A. Tezyk, T. Stefanski, W. Baer-Dubowska, R. Mikstaka**  
Synthesis, biological evaluation and docking studies of trans-stilbene methylthio derivatives as cytochromes P450 family 1 inhibitors  
*Chemical Biology & Drug Design* 2017, 90, 1226-1236
15. J. Długaszewska, W. Szczolko, T. Koczorowski, P. Skupin-Mrugalska, **A. Teubert, K. Konopka, M. Kucinska, M. Murias, N. Düzgüneş, J. Mielcarek, T. Goslinski**  
Antimicrobial and anticancer photodynamic activity of a phthalocyanine photosensitizer with N-methyl morpholiniummethoxy substituents in non-peripheral positions  
*Journal of Inorganic Biochemistry* 2017, 172, 67-79
16. P. Ivanov, S. Lyons, **D. Gudanis, Z. Gdaniec, P. Anderson**  
Translationally-active tetramolecular RNA G-quadruplexes derived from transfer RNAs  
*FEBS Journal* 2017, 284, 295-295

## **Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów**

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jerzy Boryski (STATUT)<sup>21</sup>**

**Skład osobowy<sup>22</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Michał Sobkowski, prof. ICHB PAN (STATUT)

dr Dagmara Baraniak (STATUT)

---

<sup>21</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>22</sup> Stan na 31.12.2017 r.

dr Joanna Romanowska (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Piotr Januszczyk (STATUT)

dr Maurycy Szlenkier (STATUT)

mgr Magdalena Materna (STATUT)

Doktoranci:

mgr Justyna Gołębiewska (stypendium KNOW)

mgr Marta Rachwałak (stypendium KNOW)

mgr Tomasz Jakubowski (stypendium KNOW)

### **Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych**

Kierownik: dr hab. Tomasz Ostrowski, prof. ICHB PAN (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Agnieszka Szymańska-Michalak (STATUT)

dr Grzegorz Framski (STATUT)

### **Działalność statutowa**

## **XII. Synteza, struktura i aktywność biologiczna komponentów kwasów nukleinowych i ich analogów (prof. dr hab. Jerzy Boryski)**

### **1. Polifosforanowe pochodne analogów nukleozydów – nowa generacja pro-nukleotydów (dr hab. Michał Sobkowski, prof. ICHB PAN)**

#### *Cel badań*

Celem badań jest poszukiwanie nowych analogów di-, tri-, tetra- itd. fosforanów nukleozydów, które wykazywałyby charakter pro-nukleotydów i umożliwiałyby wprowadzanie do komórki pochodnych nukleotydowych o charakterze terapeutycznym. Zaprojektowane związki, dzięki obecności ugrupowania polifosforanowego, nie wymagają obecności specyficznych kinaz nukleotydowych i nukleotydowych, których niedostateczna aktywność jest przyczyną osłabiania efektywności związków opracowanych wcześniej.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Prowadzone były badania nad nowymi strategiami i podejściami syntetycznymi umożliwiającymi otrzymanie analogów o stosunkowo trwałym wiązaniu pirofosforanowym. Związki zawierające ugrupowanie difosforanowe, w pełni blokowane w postaci estrów alkilowych okazały się zbyt lipofilowe, co prowadziło do niedostatecznej rozpuszczalności w warunkach wodnych. W celu rozwiązania tego problemu podjęto próby syntezy związków zawierających łańcuch alkilowy zakończony grupą hydrofilową typu czwartorzędowej soli amoniowej. Reakcje prowadzono z wykorzystaniem strategii *H*-fosfonianowej (synteza diestru nukleozydowo-alkilowego) połączonej z kondensacją oksydatywną wprowadzającą drugie ugrupowanie fosforanowe. Ponadto zsyntetyzowano pronukleotydy 5'-monofosforanu 5-fluoro-2'-deoksyurydyny o strukturze zwitterionów, *H*-fosfonian 5-fluoro-2'-deoksyurydyny i serię jego 3'-*O*-acylowych pochodnych, tio-, seleno- i boranofosfonian, *H*-fosfonianodiestery i amidofosfonian oraz acylofosforany i acylotiofosforany 5-fluoro-2'-deoksyurydyny (we współpracy z Zakładem Chemii Kwasów Nukleinowych i Zakładem Epigenetyki ICHB PAN).

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Opracowano metodę uzyskiwania w pełni zestryfikowanych difosforanów nukleozydów, łączącą syntezę diestru *H*-fosfonianowego z wprowadzaniem drugiej grupy fosforanowej na drodze kondensacji oksydatywnej.

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Na obecnym etapie reakcje wykonywano z wykorzystaniem tanich i prostych związków modelowych opartych o naturalne nukleozydy. Po uzyskaniu związków zawierających analogi nukleozydów o właściwościach terapeutycznych, poddane one zostaną badaniom biologicznym ukierunkowanym na zwalczanie wirusów i komórek nowotworowych.

## **2. Transformacja nukleozydów dla nowych celów terapeutycznych i określenia mechanizmu ich działania (prof. dr hab. Jerzy Boryski)**

### *Cel badań*

Celem zadania jest opracowanie syntezy nowych analogów nukleozydowych o potencjalnej aktywności antywirusowej i antynowotworowej.

### *Opis zrealizowanych prac*

Kontynuowano badania nad regioselektywną syntezą 2'- i/lub 3'-modyfikowanych rybonukleozydów jako potencjalnych inhibitorów enzymów wirusowych. Jako syntony do uzyskiwania tego typu połączeń wykorzystywano nukleozydy cykliczne, w szczególności 2,2'- oraz 2,3'-anhydrourydyny. W wyniku podstawienia nukleofilowego cyklonukleozydów otrzymano serię nowych pochodnych rybonukleozydów, zaplanowanych jako inhibitory enzymów RNA-wirusów, np. odwrotnej transkryptazy HIV. Związki obecnie znajdują się na etapie badań biologicznych. Prowadzono badania nad syntezą analogów dinukleozydomonofosforanów w serii pochodnych pirymidyniowych, w których wiązanie fosforanowe zostało zastąpione układem 1,2,3-triazolowym w różnych aranżacjach przestrzennych. Do syntezy omawianych związków wykorzystano metodologię chemii „click”, czyli katalizowaną jonami Cu(I) reakcję 1,3-cykloadycji Huisgena. W wyniku badań aktywności antynowotworowej *in vitro* na pięciu liniach nowotworów ludzkich stwierdzono, że dimery 2'-deoksyurydynowe nie wykazują właściwości cytotoksycznych, natomiast godną uwagi aktywnością charakteryzował się monomeryczny komponent zawierający ugrupowanie 3'-*O*-propargilowe. ( $IC_{50} = 5,85 \mu M$ ) wobec linii komórkowej raka wątroby HepG2. W innej serii badań wykazano, że dimery zawierające 5-fluoro-2'-deoksyurydynę wykazują dość wysoką cytotoksyczność w stosunku do trzech rodzajów komórek nowotworowych, jednak przy niskiej selektywności działania. Związki te testowano również na aktywność anti-HIV. Przeprowadzono syntezę serii analogów rybozydu kinetyny modyfikowanych w części zasadowej lub w części cukrowej, a ponadto analogu znakowanego, di- i trifosforanu rybozydu kinetyny oraz jego pronukleotydu typu ProTide, z przeznaczeniem do badań ich właściwości apoptotycznych i mechanizmu działania w komórkach guzów mózgu.

### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykorzystując chemię 2,2'- oraz 2,3'-anhydrourydyny otrzymano serię nowych 2'- i/lub 3'-modyfikowanych pochodnych rybonukleozydów, zaplanowanych jako inhibitory enzymów RNA-wirusów, np. odwrotnej transkryptazy HIV. Związki obecnie znajdują się na etapie badań biologicznych. Wykazano, że 5'-*O*-*t*-butylodimetylosililo-3'-*O*-propargilo-2'-deoksyurydyna charakteryzuje się godną uwagi cytotoksycznością ( $IC_{50} = 5,85 \mu M$ ) wobec linii komórkowej ludzkiego raka wątroby HepG2, będąc kilkakrotnie bardziej aktywną niż znany związek antynowotworowy, 5-fluoro-2'-deoksyurydyna.

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Uzyskane wyniki posłużyły do przygotowania pracy doktorskiej i magisterskiej, publikacji eksperymentalnych oraz prac przeglądowych.

### **1. Fosfobetainy N-tlenkowe w nowych strategiach syntezy P-modyfikowanych fosforanów i polifosforanów biomolekuł naturalnych i ich analogów (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: mgr Magdalena Materna**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Bazując na wstępnych badaniach dotyczących fosfobetain *N*-tlenkowych rozpoczęto poszukiwanie nowych metod syntezy tychże związków umożliwiających ich aplikacje w chemii nukleozydów. W tym celu przeprowadzono analizę reaktywności szeregu *N*-tlenków alkilowych i aromatycznych wobec *H*-fosfonianów monoestrów (w tym pochodnych nukleozydowych). Reakcje prowadzono z udziałem różnych typów czynników kondensujących jako aktywatorów i katalizatorów zasadowych. Wykazano, że w takich układach możliwe jest tworzenie fosfobetain, a ich synteza jest silnie uzależniona od aromatycznego charakteru *N*-tlenku oraz rodzaju aktywatora. Stwierdzono, że protoczność rozpuszczalnika oraz  $pK_a$  katalizatora istotnie wpływa na wydajność i szybkość tworzenia fosfobetain.

### **2. Synteza nowych analogów dimerów nukleozydów pirymidyniowych zawierających łącznik 1,2,3-triazolowy o potencjalnym wykorzystaniu w medycynie (MINIATURA)**

**Kierownik projektu: dr Dagmara Baraniak**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Celem badań prowadzonych w roku 2017 w zakresie poszukiwań nowych analogów nukleozydów wykazujących aktywność biologiczną było opracowanie metody syntezy 5'-alkinów nukleozydów pirymidyniowych, odpowiednio: 2'-deoksyurydyny, tymidyny i 5-fluoro-2'-deoksyurydyny. Opracowanie sprawnego warsztatu laboratoryjnego dla dość długiej syntezy chemicznej (siedem etapów), pozwoli na otrzymywanie ciekawych struktur dimerów nukleozydów zawierających w swej strukturze łącznik – pierścień 1,2,3-triazolowy, który nie występuje naturalnie w przyrodzie i zastępuje wiązanie fosfodiesterowe. Ponadto stanowi on dodatkowy farmakofor, ponieważ odznacza się atrakcyjnymi właściwościami: jest odporny na hydrolizę oraz większość reakcji w warunkach fizjologicznego pH, wykazuje dużą aktywność biologiczną oraz może być traktowany jako sztywny analog wiązania internukleotydowego. Uzyskane związki zostaną przebadane pod kątem aktywności biologicznej zarówno przeciwnowotworowej jak i przeciwwirusowej (anty-HIV).

### **3. Nukleozydo difosforany- nowatorska koncepcja pro-nukleotydów anty-HIV (LIDER)**

**Kierownik projektu: dr Joanna Romanowska**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach projektu kontynuowano prace nad realizacją wcześniejszych zadań badawczych, które w roku sprawozdawczym obejmowały syntezę analogów nukleozydo-difosforanów, pochodnych boranofosfonianów. Wyniki prowadzonych badań ukazały interesujące możliwości syntetyczne tej klasy związków. Eksperymenty wstępne wykazały możliwość generowania *in situ* reaktywnych halogenoboranofosfonianów. Można przypuszczać, że związki te ulegając reakcjom podstawienia z szerokim spektrum nukleofili, pozwolą nam otrzymywać nowe pochodne boranofosfonianowe o obiecujących właściwościach biologicznych. W roku 2017 opracowano też szybką i wydajną drogę syntezy siarkowych i selenowych analogów  $P^\alpha$  oraz  $P^\beta$  difosforanów, która pozwoliła na otrzymanie szeregu pochodnych zawierających alkilowe lub aryłowe grupy maskujące. Wprowadzenie heteroatomu w pozycje  $P^\alpha$  lub  $P^\beta$  nukleozydo 5'-difosforanów miało na celu poprawę stabilności wiązania bezwodnikowego P-O-P oraz zwiększenie lipofilowości projektowanych pronukleotydów. Przeprowadzono również badania trwałości otrzymanych analogów w medium komórkowym wzbogaconym enzymami RPMI/FBS przy użyciu HPLC.

## Publikacje

---

1. **Z. Jahnz-Wechmann, J. Lisowiec-Wachnicka, G. Framski, J. Kosman, J. Boryski, A. Pasternak**  
Thermodynamic, structural and fluorescent characteristics of DNA hairpins containing functionalized pyrrolo-2'-deoxycytidines  
*Bioorganic Chemistry* 2017, 71, 294-298
2. **G. Framski, T. Goslinski, P. Januszczuk, B. Golankiewicz, T. Ostrowski**  
Alkylation of 9-substituted guanine derivatives with  $\alpha,\omega$ -dihaloalkanes  
*Heteroatom Chemistry* 2017, 28, e21399
3. **I. Wojciechowska, A. Wojciechowska, K. Wieszczycka, P. Aksamitowski, J. Zembrzuska, G. Framski**  
Quantitative analysis of amphiphilic *N*-alkyloxypyridinecarboximidamide by liquid chromatography-tandem mass spectrometry  
*Chemical Papers* 2017, 71, 553-560
4. **A. Krajczyk, J. Boryski**  
Dimroth Rearrangement – Old But Not Outdated  
*Current Organic Chemistry* 2017, 21, 2515-2529
5. **P. Aksamitowski, K. Wieszczycka, A. Wojciechowska, I. Wojciechowska, G. Framski**  
Efficient synthesis of long-chain *N'*-hydroxy-*N*-alkyl- and -*N,N*-dialkylpyridinecarboximidamides  
*Modern Organic Chemistry Research* 2017, 2, 17-24
6. **A. Wojciechowska, K. Wieszczycka, G. Framski**  
Synthesis and spectral analysis of pyridine derivatives  
*Modern Organic Chemistry Research* 2017, 2, 41-47
7. **K. Wieszczycka, K. Bukowski, G. Framski**  
Synthesis of pyridyl- $\beta$ -ketophosphonates  
*Modern Organic Chemistry Research* 2017, 2, 67-73

### Prace przyjęte do druku

M. Sydow, M. Owsianiak, **G. Framski**, M. Wozniak-Karczewska, A. Piotrowska-Cyplik, L. Lawniczak, A. Szulc, A. Zgola-Grzeskowiak, H.J. Heipieper, L. Chrzanowski  
Biodiversity of soil bacteria exposed to sub-lethal concentrations of phosphonium-based ionic liquids: Effects of toxicity and biodegradation  
*Ecotoxicology and Environmental Safety*

## Działalność patentowa

---

### Zgłoszenia krajowe

Nowy analog nukleozydu difosforanu, kompozycja farmaceutyczna zawierająca analog nukleozydu difosforanu, jego zastosowanie i sposób syntezy  
zgłoszenie: P 422 415 z 31.07.2017 r.

Twórcy: **Joanna Romanowska, Justyna Gołębiewska, Marta Rachwałak, Tomasz Jakubowski**  
ICHB PAN

## Zakład Genetyki Molekularnej

---

**Kierownik Zakładu: dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN (STATUT)<sup>23</sup>**

### **Skład osobowy<sup>24</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka (STATUT)  
dr hab. Marzena Wojciechowska (STATUT, urlop bezpłatny)  
dr Anna Jasińska (STATUT, urlop bezpłatny)  
dr Karol Czubak (STATUT)  
dr Sylwa Łuczak (STATUT)

Doktoranci:

mgr Piotr Machtel (stypendium KNOW)  
dr Katarzyna Klonowska (stypendium KNOW)<sup>25</sup>  
mgr Anna Mleczko (stypendium NCN)  
mgr Paulina Nawrocka (stypendium NCN)

### **Działalność statutowa**

#### **XV. Mechanizmy powstawania zmienności genetycznej (dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN)**

##### *Cel badań*

Celem badań było przeprowadzenie metaanalizy wyników analiz asocjacji delecji *APOBEC3B* z rakiem piersi i jajnika, a także innymi typami nowotworów, przeprowadzonych wcześniej w różnych populacjach.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Analiza asocjacji delecji *APOBEC3B* z predyspozycją do różnych typów nowotworów została przeprowadzona w ramach 12 niezależnych projektów/analiz typu case-control, wykonanych w populacjach o różnej etniczności i liczebności. Sprzeczne doniesienia badaczy analizujących grupy chorych z różnych populacji (najczęściej prowadzone w ograniczonej liczbie próbek), nie pozwoliły jednoznacznie określić związku delecji z badaną chorobą. W celu uzyskania jednoznacznego, statystycznie przekonującego dowodu potwierdzającego lub wykluczającego rolę delecji w predyspozycji do nowotworów (w tym między innymi raka piersi i jajnika), przeprowadzono kompleksową metaanalizę wszystkich wykonanych dotąd analiz case-control delecji *APOBEC3B*. Metaanaliza objęła łącznie >17500 prób badanych i >19000 prób kontrolnych i została przeprowadzona z wykorzystaniem metody statystycznej Mantel-Haenszel.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Przeprowadzona metaanaliza wykazała obecność asocjacji delecji *APOBEC3B* z rakiem piersi w populacjach azjatyckich [OR(95%CI) = 1,367(1,282-1,458),  $p < 0,001$ ]. W populacji europejskiej obserwowany efekt ryzyka warunkowanego przez delecję był mniej wyraźny i nie osiągnął istotności statystycznej [OR(95%CI) = 1,102(0,995-1,221),  $p = 0,063$ ]. Pojedyncza analiza przeprowadzona w populacji północnoafrykańskiej również nie wykazała obecności asocjacji delecji *APOBEC3B* z ryzykiem raka piersi. W związku z powyższym, metaanaliza przeprowadzona

---

<sup>23</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>24</sup> Stan na 31.12.2017 r.

<sup>25</sup> Zgodnie z umową stypendium KNOW wynagrodzenie w formie stypendium KNOW było przyznane do końca 2017 r.

w populacji ogólnej wykazała istotny statycznie związek z ryzykiem raka piersi o umiarkowanym efekcie [OR(95%CI) = 1,193(1,055-1,348),  $p = 0,005$ ]. Dodatkowo, metaanaliza wykazała brak związku delecji z ryzykiem raka jajnika [OR(95%CI) = 1,070(0,558-2,052),  $p = 0,839$ ]. Przeprowadzona metaanaliza pozwoliła również zaobserwować, że częstość delecji *APOBEC3B* w różnych populacjach/regionach geograficznych jest bardzo zróżnicowana, co wskazuje, że delecja podlega zróżnicowanej presji selekcyjnej w różnych populacjach, a także ma potencjał funkcjonalny i zdolność modyfikowania fenotypu.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Uzyskane wyniki stanowią ważne podsumowanie analiz asocjacji delecji *APOBEC3B*, które umożliwia wyciągnięcie jednoznacznych wniosków na temat roli delecji *APOBEC3B* w predyspozycji do nowotworów, w tym m.in. raka piersi i jajnika w różnych populacjach/regionach geograficznych.

### **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

#### **1. Opracowanie nowej metody identyfikacji oddziaływań krótkich RNA z rybosomami *in vivo***

**Kierownik zadania: mgr Anna Mleczko**

##### *Cel badań*

Celem projektu było opracowanie nowej, prostej metody charakteryzującej miejsca oddziaływania krótkich RNA *in vivo* w obrębie rybosomów *Saccharomyces cerevisiae*.

##### *Opis realizowanych prac*

W Zakładzie Genetyki Molekularnej ICHB PAN odkryto, że krótkie RNA asocjują z rybosomami u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, przez co mogą regulować proces biosyntezy białka. Do tej pory nie wiadomo było, do jakiej składowej rybosomu 80S (polisomy, monosom 80S, duża podjednostka 60S, mała podjednostka 40S) asocjują tRF. Wszystkie znane metody badań interakcji krótkie RNA–rybosom są kosztowne i czasochłonne, dlatego też postanowiono opracować nową, prostą metodę badań oddziaływań krótkich RNA z rybosomami *in vivo*. W projekcie skupiono się na dwóch metodach badań interakcji krótkie RNA–rybosom. Pierwsza metoda do badań interakcji *in vitro* polegała na połączeniu profilowania polisomowego z hybrydyzacją typu northern. Druga, nowo opracowana metoda, polegała na elektroporacji znakowanych radioaktywnie tRF do sferoplastów drożdżowych, następnie profilowaniu polisomowym oraz ostatecznie na mierzeniu radioaktywności w poszczególnych frakcjach gradientu. Wynikami niniejszego zadania badawczego jest opracowanie nowej metody do badań interakcji krótkie RNA–rybosom oraz odkrycie, że tRF asocjują głównie do małej podjednostki rybosomu *Saccharomyces cerevisiae*. Nowa metoda jest skuteczną i stosunkowo niedrogą metodą badań interakcji tRF/rybosom *in vivo*.

#### **2. Badanie dynamiki zmian poziomu ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm aminokwasów, znajdujących się pod kontrolą ryboprzełączników u bakterii *Bacillus subtilis* poprzez zastosowanie techniki ilościowego PCR w czasie rzeczywistym**

**Kierownik zadania: mgr Piotr Machtel**

##### *Cel badań*

Określenie dynamiki ekspresji genów kontrolowanych przez ryboprzełączniki, których produkty zaangażowane są w szlaki syntezy aminokwasów u bakterii *Bacillus subtilis*.

##### *Opis realizowanych prac*

W pierwszym etapie prowadzono hodowlę bakterii *Bacillus subtilis* w warunkach optymalnych z dodatkiem lizyny oraz glicyny. Następnie część hodowli została zawieszona w pożywce pozbawionej powyższych aminokwasów celem indukcji odpowiedniego ryboprzełącznika. Dalej

pobrano próbki hodowli w 9 punktach czasowych. Z każdej tak pobranej próbki wyizolowano RNA i przepisano na cDNA (odwrotnej transkrypcji).

Względny poziom transkryptów został określony przy użyciu techniki Real-Time PCR. W *B. subtilis*, ryboprzełącznik lizynowy kontroluje transkrypcję 2 genów: *lysC* i *lysP*. Profil ekspresji dla obu tych genów jest niezależny i zmienny w czasie. Najwyższy poziom indukcji ekspresji dla genu *lysP* obserwujemy po 4 h (ok. 7-krotny wzrost) od momentu usunięcia lizyny z pożywki. Natomiast indukcja genu *lysC* jest najwyższa po 1 h i 8 h, jednak nie osiąga ona takiego poziomu jak w przypadku genu *lysP* (odpowiednio 2- i 2,5-krotny wzrost). W przypadku ekspresji genu (operonu) kontrolowanego przez ryboprzełącznik glicynowy, eliminacja glicyny z pożywki spowodowała obniżenie względnego poziomu transkryptów we wszystkich punktach czasowych (najwyższe obniżenie, 11-krotne było zaobserwowane po 8h). Jest to spowodowane faktem, że ryboprzełącznik glicynowy w *B. subtilis* kontroluje operon odpowiedzialny za degradację nadmiernej glicyny w komórce.

## Projekty

---

### **1. Analiza somatycznych mutacji w genach miRNA i w genach biogenezy miRNA w celu identyfikacji nowych celów terapii i biomarkerów chorób nowotworowych (MAESTRO)**

**Kierownik projektu: dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Celem badań jest identyfikacja mutacji somatycznych występujących w genach miRNA oraz genach biogenezy miRNA, mogących odgrywać ważną rolę w procesie rozwoju raka, ze szczególnym uwzględnieniem niedrobnokomórkowego raka płuca. Pierwszą częścią realizowanego projektu było opracowanie systemu do wzbogacania biblioteki do sekwencjonowania. System ten obejmuje zestaw fragmentów genomu (miRNOM), które mają zostać poddane analizie, sekwencjonowaniu nowej generacji (NGS) z bardzo wysokim pokryciem (>500×). W wyniku przeprowadzonej analizy do analizy miRNOMu zostały wybrane 2434 regiony genomowe, obejmujące łącznie 312523 pz (~0,3 Mbp). Średnia długość wybranych fragmentów wynosi 128 pz, a mediana długości wynosi 84 pz. W skład wybranych regionów wchodzi: (i) 1881 regionów obejmujących sekwencje kodujące prekursorów miRNA, o łącznej długości 154002 pz, oraz średniej i medianie długości 82 pz i 80 pz; oraz 553 regiony obejmujące wszystkie eksony 28 genów związanych z biogenezą miRNA, oraz wybrane eksony 10 genów, których somatyczne mutacje często występują w raku płuc. Listę genów miRNA wybrano na podstawie bazy danych miRBase, wersja v.21. Listę genów związanych z biogenezą miRNA obejmuje między innymi: ADAR, AGO1, AGO2, AGO3, DGCR8, DICER1, DROSHA, LIN28A, LIN28B, TARBP2. Dotychczas zgromadzono ~200 próbek nowotworowych, w tym raka płuca, raka jajnika, raka krtani, nowotwory skóry.

### **2. Wyjaśnienie mechanizmu działania małocząsteczkowych inhibitorów kinaz w łagodzeniu patomechanizmu dystrofii miotonicznej typu pierwszego (DM1) (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Marzena Wojciechowska**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach realizacji projektu odbywa się analiza proteomu komórek mięśni szkieletowych pochodzących od pacjentów DM1 oraz osób zdrowych w celu ustalenia różnic w repertuarze i poziomie ekspresji kinaz białkowych. Równocześnie ma miejsce charakterystyka efektu, jaki wywierają małocząsteczkowe inhibitory kinaz białkowych na molekularny fenotyp tych komórek. W celu wyselekcjonowania grupy białek, których poziom ekspresji ulega zmianie pod wpływem tych związków przeprowadzana jest spektrofotometryczna analiza całościowa proteomu. Natomiast w celu wyłonienia białkowych kinaz będących potencjalnymi celami badanych związków chemicznych, ma miejsce spektrofotometryczna analiza biotynylowanych koniugatów białkowych.

Dotychczasowa analiza doprowadziła do następujących wniosków: a) ekspresja około 15% zidentyfikowanych białek uległa zmianie pod wpływem badanych związków chemicznych; b) poziom ekspresji połowy z nich uległ podwyższeniu; c) funkcjonalnie, białka te należą do grupy wiążących poly(A) oraz egzosomalnych. Z kolei proteomiczna analiza biotynylowanych konjugatów z komórek traktowanych związkami chemicznymi wyłoniła grupę 13 kinaz będących potencjalnymi celami tych związków. Analiza poziomu ich ekspresji wykazała, że stężenie części z nich ulega podwyższeniu w komórkach mięśni szkieletowych pacjentów z DM1. Wyciszenie tych genów przyniosło częściową poprawę fenotypu komórek pochodzących od pacjentów. Dalsze analizy w celu walidacji kolejnych białek doprowadzą do wyłonienia nowych biomarkerów, istotnych dla patogenezy DM1.

### **3. Analiza roli genu BARD1, jako czynnika warunkującego genetyczną predyspozycję do raka piersi – zastosowanie unikalnej strategii, analizy asocjacji mutacji założycielskich (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach projektu badawczego wykonywana jest metaanaliza, mająca na celu przegląd systematyczny literatury dotyczącej wpływu mutacji germinalnych na ryzyko wystąpienia raka piersi/jajnika oraz zbiorczą analizę statystyczną wyników z wybranych prac, co pozwoli dokładniej określić związek mutacji w poszczególnych genach z wystąpieniem raka piersi/jajnika. Wyselekcjonowano kilkadziesiąt prac obejmujących swoimi badaniami analizę mutacji germinalnych w różnych genach (wykrytych z wykorzystaniem wielogenowych paneli diagnostycznych opartych na technologii Sekwencjonowania Nowej Generacji) u pacjentów z rakiem piersi/jajnika i na ich podstawie obliczono frekwencję mutacji dla wybranych, najczęściej pojawiających się w pracach 37 genów. Dodatkowo stworzono listę paneli NGS wykorzystanych w badanych pracach, a także listę wariantów mutacji występujących w wyselekcjonowanych pracach oraz opisano typy mutacji pojawiających się w poszczególnych genach u pacjentów. W celu obliczenia OR (ang. *Odds ratio*) określającego, które geny zaliczane są do genów wysokiego ryzyka, przygotowano dane dotyczące frekwencji mutacji analogicznych 37 genów w grupie kontrolnej, przy wykorzystaniu wyników z bazy danych gnomAD, zawierającej dane sekwencjonowania ponad 132 000 eksomów od niespokrewnionych osobników w ramach różnych badań genetycznych. W kolejnym etapie planowane jest obliczenie OD z wykorzystaniem metody Mantela-Haenszela dla i) całości populacji oraz ii) poszczególnych grup etnicznych występujących w wybranych pracach, wykonanie „map” mutacji występujących u pacjentów z rakiem piersi/jajnika w wybranych genach oraz przygotowanie manuskryptu publikacji.

### **4. W poszukiwaniu nowych mechanizmów kontroli ekspresji genów odmiennych od RNAi–krótkie RNA powstające ze snoRNA (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

W celu wykrycia krótkich RNA pochodzących ze snoRNA (sdRNA) w *S. cerevisiae* w 12 różnych warunkach środowiskowych, wytypowano do analiz 4 cząsteczki, na podstawie wcześniejszych danych pochodzących z wysokoprzepustowego sekwencjonowania rancRNA (ang. *ribosome-associated noncoding RNAs*). Do analiz zastosowano 12 różnych warunków hodowli drożdży (stresy: ciepła, zimna, wysokiego zasolenia, stres UV, głód tlenowy, wysokie pH, niskie pH, głód aminokwasowy, głód cukrowy, stres hiper- i hipo-osmotyczny a także optymalne warunki wzrostu). Wyniki otrzymano z użyciem techniki emulsyjnego PCR (ang. *digital droplet PCR*), gdzie zmierzono absolutne ilości poszczególnych sdRNA w RNA pochodzącym z drożdży poddawanych stresom środowiskowym i zaobserwowano zależne od stresu występowanie sdRNA oraz snoRNA. Przeprowadzono także badania mające na celu oszacowanie absolutnej ilości poszczególnych

sdRNA i ich prekursorów, zasocjowanych z rybosomami w zmiennych warunkach środowiskowych również z użyciem techniki ddPCR. Wyniki wykazały, że zarówno sdRNA jak i snoRNA asocjują z rybosomami u drożdży zależnie od warunków środowiskowych w jakich hodowane były *S. cerevisiae*. Ponadto z użyciem metody EMSA (ang. *electrophoretic mobility shift assay*) wykazano, że sdRNA asocjują z białkiem obecnym zarówno na rybosomach drożdży jak i we frakcji posttrybosomalnej. Obecnie trwają badania skupiające się na określeniu funkcji sdRNA oraz ich dokładnej lokalizacji subkomórkowej.

## **5. Ekspresja kolistych RNA w dystrofii miotonicznej typu 1 – związek z patogenezą (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: dr Karol Czubak**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Z wykorzystaniem testów do analizy poziomu ekspresji kolistych RNA (circRNA), opracowanych w naszym Zakładzie w ramach badań statutowych, przeprowadzona została analiza poziomu ekspresji wybranych cząsteczek circRNA w trzech modelach: (i) próbkach z tkanek mięśniowych pochodzących od pacjentów z dystrofią miotoniczną typu pierwszego, (ii) próbkach z tkanek mięśniowych pochodzących od pacjentów z dystrofią miotoniczną typu drugiego oraz (iii) próbkach pochodzących z linii komórkowych ludzkich mięśni szkieletowych z wyłączoną produkcją białek MBNL1 i 2 lub MBNL3. Dla każdego modelu, oprócz próbek badanych, analizie poddano również odpowiednie próbki kontrolne. Technologia wykorzystaną w celu określenia poziomu ekspresji circRNA była technologia ilościowego PCR typu ddPCR. Poza grupą circRNA wybranych w ramach badań statutowych, analiza rozszerzona została na grupę cząsteczek circRNA wyselekcjonowanych pod kątem obecności dużej ilości motywów wiązania białka MBNL1 w sekwencjach intronowych otaczających eksony tworzące dany circRNA. Przeprowadzona analiza pozwoliła określić zarówno absolutny (liczba kopii transkryptu) jak i relatywny (% ekspresji względem genu referencyjnego) poziom ekspresji wszystkich wybranych circRNA oraz ich liniowych odpowiedników. Wyniki wskazują na brak zakładanego obniżenia poziomu circRNA w komórkach i tkankach chorych na DM, a tym samym brak związku sekwestracji (obniżonego poziomu) białka MBNL1 z efektywnością biogenezy circRNA.

## **6. Opracowanie nowej metody bezpośredniej identyfikacji i absolutnej oceny ilościowej zdarzeń przedwczesnej terminacji transkrypcji, na przykładzie bakteryjnych ryboprzełączników (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: mgr Piotr Machtel**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Pierwszym etapem było zaprojektowanie par starterów pozwalających na amplifikację matrycy dla reakcji transkrypcji *in vitro* (zawierające promotor dla polimerazy T7), oraz oligonukleotydów komplementarnych do miejsca cięcia przez RNazę H. Przygotowane startery posłużą do analizy 3 genów: *gyrA* – gen referencyjny, oraz *metI* i *lysC* – geny kontrolowane przez ryboprzełączniki odpowiednio metioninowy oraz lizynowy. Następnie przeprowadzono reakcję transkrypcji *in vitro* z wykorzystaniem promotora dla polimerazy RNA T7. Tak przygotowane matryce RNA posłużyły do przeprowadzenia reakcji cięcia w sekwencji docelowej, przy użyciu RNazy H. Warunki reakcji cięcia RNazą H zostały częściowo zoptymalizowane. Udało się uzyskać wynik świadczący o działaniu układu eksperymentalnego. W próbkach z dodanym oligonukleotydem DNA, wskazującym miejsce cięcia oraz RNazą H obserwujemy na żelu PAA dwie cząsteczki RNA o mniejszej długości. Natomiast w próbce jedynie z RNazą H (bez dodanego oligonukleotydu DNA) obserwujemy jeden, pełnej długości produkt (nieprzecięty).

## 7. Delecja genu APOBEC3B – analiza jej roli w rodzinnej predyspozycji do raka piersi oraz określenie jej funkcjonalności na poziomie mRNA (PRELUDIUM)

**Kierownik projektu: dr Katarzyna Klonowska**

### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach powyższego projektu przeprowadzona została szeroko zakrojona analiza asocjacji delecji genu *APOBEC3B* z ryzykiem raka piersi i/lub jajnika. Analizę wykonano we współpracy z zespołem prof. Jana Lubińskiego (Zakład Genetyki i Patomorfologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie), dr Magdaleną Ratajską (Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny), oraz dr Danutą Vasilevską (Zakład Ginekologii w Centrum Położnictwa i Ginekologii, Uniwersytecki Szpital Santaros Klinikos w Wilnie). Analiza została przeprowadzona w trzech niezależnych panelach próbek DNA, obejmujących łącznie >2900 próbek DNA kobiet z rakiem piersi i/lub jajnika i >3600 odpowiednio dobranych próbek kontrolnych. Genotypowanie delecji *APOBEC3B* przeprowadzono z wykorzystaniem testu molekularnego A3Bdel\_PCR. Zaobserwowano, że rozkład częstości delecji *APOBEC3B* w grupach próbek kontrolnych jest w zgodzie z oczekiwanym rozkładem Hardy-Weinberg (HWE, ang. *Hardy-Weinberg equilibrium*) ( $p > 0,05$ ), co wskazuje na wysoką jakość otrzymanych wyników i brak błędów w identyfikacji delecji homozygotycznych i heterozygotycznych. Wartości ilorazu szans (OR, ang. *odds ratio*) wraz z przedziałami ufności (95% CI, ang. *confidence interval*) określono dla poszczególnych paneli próbek z zastosowaniem jedno- i wieloczynnikowej regresji logistycznej. Przeprowadzona analiza wykazała brak asocjacji delecji z rakiem piersi i/lub jajnika w populacji europejskiej, w tym brak jej związku z predyspozycją do rodzinnego raka piersi.

### **Publikacje**

---

1. **K. Klonowska**, W. Kluzniak, B. Rusak, A. Jakubowska, M. Ratajska, N. Krawczynska, D. Vasilevska, **K. Czubak**, **M. Wojciechowska**, C. Cybulski, J. Lubinski, **P. Kozlowski**  
The 30 kb deletion in the APOBEC3 cluster decreases APOBEC3A and APOBEC3B expression and creates a transcriptionally active hybrid gene but does not associate with breast cancer in the European population  
*Oncotarget* 2017, 8, 76357-76374
2. K.M. Lamperska, T. Kolenda, A. Teresiak, A. Kowalik, M. Kruszyna-Mochalska, W. Jackowiak, R. Bliźniak, W. Przybyła, M. Kapalczyńska, **P. Kozlowski**  
Different levels of let-7d expression modulate response of FaDu cells to irradiation and chemotherapeutics  
*PLoS One* 2017, 12, e0180265
3. **A. Philips**, **I. Stolarek**, **B. Kuczkowska**, A. Juras, **L. Handschuh**, J. Piontek, **P. Kozlowski**, **M. Figlerowicz**  
Comprehensive analysis of microorganisms accompanying human archaeological remains,  
*Gigascience* 2017, 6, 1-13
4. **A. Samelak-Czajka**, **M. Marszalek-Zenczak**, **M. Marcinkowska-Swojak**, **P. Kozlowski**, **M. Figlerowicz**, **A. Zmienko**  
MLPA-Based Analysis of Copy Number Variation in Plant Populations  
*Frontiers in Plant Science* 2017, 8, 222
5. M. Krzakowa, **K. Bakowska-Zywicka**  
Peroxidase polymorphism in pubescent oak (*Quercus pubescens* Willd.) in relation to *Q. petraea* Matt. Liebl and *Q. robur* L.  
*Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2016, 133, S194-S199 (nie wykazano w Sprawozdaniu za 2016 r.)
6. **A.J. Jasinska**, I. Zelaya, S.K. Service, C.B. Peterson, R.M. Cantor, O.W. Choi, J. DeYoung, E. Eskin, L.A. Fairbanks, S. Fears, A.E. Furterer, Y.S. Huang, V. Ramensky, C.A. Schmitt, H. Svoldal,

- M.J. Jorgensen, J.R. Kaplan, D. Villar, B.L. Aken, P. Flicek, R. Nag, E.S. Wong, J. Blangero, T.D. Dyer, M. Bogomolov, Y. Benjamini, G.M. Weinstock, K. Dewar, C. Sabatti, R.K. Wilson, J.D. Jentsch, W. Warren, G. Coppola, R.P. Woods, N.B. Freimer  
Genetic variation and gene expression across multiple tissues and developmental stages in a nonhuman primate  
*Nature Genetics* 2017, 49, 1714-1721
7. H. Svoldal, **A.J. Jasinska**, C. Apetrei, G. Coppola, Y. Huang, C.A. Schmitt, B. Jacquelin, V. Ramensky, M. Müller-Trutwin, M. Antonio, G. Weinstock, J.P. Grobler, K. Dewar, R.K. Wilson, T.R. Turner, W.C. Warren, N.B. Freimer, M. Nordborg  
Ancient hybridization and strong adaptation to viruses across African vervet monkey populations  
*Nature Genetics* 2017, 49, 1705-1713
8. J. Gebetsberger, L. Wyss, **A. M. Mleczko**, J. Reuther, N. Polacek  
A tRNA-derived fragment competes with mRNA for ribosome binding and regulates translation during stress  
*RNA Biology* 2017, 14, 1364-1373
9. **L. Handschuh, M. Marcinkowska-Swojak, A. Philips, I. Stolarek, M. Zeńczak, P. Kozłowski, M. Figlerowicz**  
Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle badań genomicznych, Chrzest – przemiany religijne, kulturowe i sepulkralne w: *Funeralia Lednickie – spotkanie* 19 (red. W. Dzieduszycki, J. Wrzesiński)  
2017, 203-209, SNAP Poznań

#### Prace przyjęte do druku:

1. C.A. Schmitt, S.K. Service, **A.J. Jasinska**, T.D. Dyer, M.J. Jorgensen, R.M. Cantor, G.M. Weinstock, J. Blangero, J.R. Kaplan, N.B. Freimer  
Obesity and obesogenic growth are both highly heritable and modified by diet in a nonhuman primate model, the African green monkey (*Chlorocebus aethiops sabaeus*),  
*International Journal Obesity*
2. E. Czeżuga-Semeniuk, M. Galar, K. Jarzabek, **P. Kozłowski**, N.A. Sarosiek, S. Wolczyński  
The preliminary association study of ADIPOQ, RBP4, and BCMO1 variants with polycystic ovary syndrome and with some biochemical characteristics in a cohort of Polish women  
*Advances in Medical Sciences*

## **Zakład Krytalografii – Centrum Badań Biokrytalograficznych**

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Mariusz Jaskólski (0,6 STATUT/0,15 NCBR)<sup>26</sup>**

#### **Skład osobowy<sup>27</sup>**

Pracownicy naukowcy:

prof. dr hab. Grzegorz Bujacz (0,5 STATUT)  
dr Kamil Szpotkowski (STATUT)  
dr Marcin Kowiel (STATUT)  
dr Joanna Raczyńska (NCBR)  
dr Tomasz Manszewski (NCN)

---

<sup>26</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>27</sup> Stan na 31.12.2017 r.

Pracownicy techniczni:

dr hab. Mirosław Gilski (0,5 STATUT)

dr Barbara Imiołczyk (STATUT)

Doktoranci:

mgr Stanisław Wosicki (stypendium NCN)

mgr inż. Barbara Stańska (stypendium NCN)

### **Pracownia Inżynierii Białek**

Kierownik: dr Anna Urbanowicz (STATUT)

Pracownicy naukowci:

dr hab. Michał Sikorski (STATUT)

dr Joanna Śliwiak (STATUT)

dr Marta Grzechowiak (NCN)

Pracownicy techniczni:

Mgr Alina Kasperska (STATUT)

Dr Marian Gawron (0,2 STATUT)

Dr Jakub Barciszewski (STATUT)

Doktoranci:

Mgr Paulina Bierwagen (stypendium NCN)

### **Działalność statutowa**

#### **XVII. Badania krystalograficzne białek i kwasów nukleinowych**

**(prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)**

##### **1. Badania strukturalne enzymów hydrolitycznych i ich inhibitorów**

**(prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)**

###### *Cel badań*

Poszukiwanie korelacji pomiędzy strukturą a funkcją enzymów hydrolitycznych.

###### *Opis zrealizowanych prac*

Określono strukturę krystaliczną różnych form i kompleksów hydrolazy *S*-adenozyl-L-homocysteiny z organizmu hipertermofilnego *Thermatoga maritima* oraz symbiotycznego *Bradyrhizobium elkanii*.

###### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Strukturę krystaliczną tetrameru SAHazy z wiążącej azot atmosferyczny symbiotycznej bakterii *Bradyrhizobium elkanii* rozwiązano z wysoką rozdzielczością (1,54-1,95 Å) w postaci czterech kompleksów z następującymi ligandami: (i) jako kompleks mieszany z adenozyną (Ado) i kordycepiną (Cord; 3'-deoksyadenozyna); (ii) z adeniną (Ade); (iii) z adenozyną Ado; (iv) jako kompleks mieszany z 2'-deoksyadenozyną (2'-dAdo) i adeniną (Ade). Struktury te pokazały, że nie ma prostej korelacji pomiędzy rodzajem ligandu w miejscu aktywnym, a formą otwartą/zamkniętą podjednostek enzymu i stanem otwarta/zamknięta bramki molekularnej, odcinającej dostęp do centrum aktywnego. SAHaz z hipertermofilnej bakterii *Thermatoga maritima* otrzymano rekombinacyjnie w komórkach *Escherichia coli* w formie nieaktywnej. Pomiary ITC wykazały, że białko to można aktywować termicznie. W celu wyjaśnienia mechanizmu tej przemiany, rozwiązano strukturę krystaliczną białka w kompleksie z kofaktorem NADH oraz dla kompleksu mieszanego z kofaktorem i adenozyną. W strukturach tych dwie spośród czterech podjednostek tetrameru mają formę otwartą, a dwie zamkniętą. Struktury te wyjaśniają, że białko nie może być aktywne, gdyż związało tylko dwie molekuly kofaktora (i w dodatku w formie zredukowanej) na tetrametr, a podjednostki bez kofaktora są zablokowane przez adenozyne.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Wyniki prac zostały opublikowane w dwóch publikacjach naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym oraz były prezentowane podczas wystąpienia na konferencji naukowej.

### **2. Struktura i funkcja biologiczna białek biorących udział w sygnalizacji hormonalnej roślin (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)**

#### *Cel badań*

Poszukiwanie korelacji między strukturą a funkcją białek wiążących fitohormony; poszukiwanie ligandów białek PR-10.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Badano kompleksy białka LIPR-10.2B z łubinu żółtego w kompleksach z różnymi fitohormonami, w szczególności z melatoniną.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Białko LIPR-10.2B współkrystalizowano z szerokim zestawem mediatorów roślinnych uzyskując kompleksy potwierdzające szerokie spektrum kompleksowania fitohormonów przez to białko. W szczególności uzyskano kompleks z melatoniną (M) oraz z równomolową mieszaniną melatoniny i trans-zeatyny (MZ). W kompleksie M znaleziono dwie molekuly melatoniny, jedną związaną silnie, drugą słabiej, oraz dobrze wykształconą gęstość elektronową sugerującą związanie produktu transformacji (prawdopodobnie dimeryzacji) pochodnej melatoniny. W kompleksie MZ słabiej związana melatonina została zastąpiona zeatyną, a silniej związana pozostała niezmienną. Podobnie nie zmienił się związany produkt transformacji melatoniny. Wyniki te po raz pierwszy pokazują współdziałanie dwóch odrębnych fitohormonów – melatoniny i cytokininy, w jednym białku i rzucają światło strukturalne na odkryte niedawno zjawisko komunikacji szlaków sygnalizacji melatoninowej i cytokininowej.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Wyniki prac były prezentowane podczas wystąpień oraz w formie posteru na konferencjach naukowych.

### **3. Badania strukturalne kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)**

#### *Cel badań*

Charakterystyka strukturalna egzotycznych form kwasów nukleinowych prowadzona na poziomie rozdzielczości subatomowej.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Analizowano struktury krystaliczne lewoskrętnych dupleksów Z-DNA szczególnie pod kątem pseudosymetrii i zbliżniaczenia.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Oligomery DNA o naprzemiennej sekwencji purynowo-pirymidynowej krystalizowane z roztworu o wysokiej sile jonowej tworzą lewoskrętne podwójne helisy Z-DNA, upakowane zwykle równolegle do swoich osi na planie sieci heksagonalnej, w których parametrami zmienności są względna rotacja i translacja sąsiednich dupleksów. W ramach badań określono cztery wysokorozdzielcze struktury kryształów dupleksów d(CGCGCG)<sub>2</sub>. Charakteryzują się one wysokim stopniem pseudosymetrii i/lub zbliżniaczenia i zawierają trzy lub cztery niezależne różnorodnie zorientowane dupleksy Z-DNA w jednoskośnej komórce elementarnej o symetrii P2<sub>1</sub> i pseudoheksagonalnej metryce. Różne testy zbliżniaczenia prowadzą do sprzecznych konkluzji, co podkreśla trudności we właściwej interpretacji tak skomplikowanych krystalograficznie przypadków.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Wyniki prac zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym oraz były prezentowane w formie posteru na konferencji naukowej.

## **XXI. Poszukiwanie nowych czynników przeciwbakteryjnych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)**

### *Cel badań*

Wspomaganie badań związanych z poszukiwaniem nowych inhibitorów metalo- $\beta$ -laktamaz.

### *Opis zrealizowanych prac*

Zaprojektowano plazmidy ekspresyjne dla serii wariantów białka NDM-9 oraz opracowano warunki ekspresji i oczyszczania niektórych wariantów.

### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Po dwóch latach bezskutecznych prób krystalizacji materiału białkowego dostarczanego przez partnerów konsorcjum, podjęto decyzję o otrzymaniu preparatów białkowych własnymi siłami. Zaprojektowano syntetyczne plazmidy na bazie sekwencji enzymu NDM-9 z kilkunastoma wariantami zawierającymi mutacje i delecje zasugerowane przez pogłębioną analizę strukturalną. Plazmidy te otrzymano na drodze syntezy chemicznej oraz rozpoczęto próby ekspresji w komórkach *Escherichia coli*. Dla kilku przypadków uzyskano duże wydajności czystego preparatu białkowego.

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Materiał w opracowaniu. Białka są na bieżąco wykorzystywane przy realizacji projektu JPI AMR.

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

### **1. Wiązanie związków flawonowych przez roślinne białka związane z patogenezą PR-10**

**Kierownik zadania: mgr Joanna Śliwiak**

#### *Cel badań*

Celem projektu jest charakterystyka oddziaływań białek PR-10 z flawonoidami, określenie ich siły i specyficzności, a także ich porównanie z wiązaniem innych naturalnych ligandów takich jak fitohormony.

#### *Opis realizowanych prac*

W ramach projektu udokładniono struktury białka LIPR-10.2B z kwercetyną, naringeniną i witeksyną. Otrzymano homogeny preparat białka LIPR-10.2B oraz podjęto się wstępnych współkrystalizacji tegoż białka z ligandami. Udokładniono, zdeponowano, poddano dokładnej analizie struktury białka LIPR-10.2B w kompleksie z melatoniną oraz melatoniną i zeatyną, które staną się strukturami referencyjnymi dla krystalograficznych testów wypierania melatoniny i zeatyny przez flawonoidy. Na podstawie ww. wyników przygotowano referat ustny przedstawiony na konferencji 20<sup>th</sup> Heart of Europe Biocrystallography Meeting w Wojanowie oraz publikację.

## **Projekty**

---

### **1. Trójwymiarowe Peptydowo-Organiczne Szkielety Supramolekularne (SYMFONIA) –projekt realizowany na podstawie umowy konsorcjum (Lider konsorcjum – Instytut Chemii Organicznej PAN, dr hab. A. Szumna – kierownik projektu)**

**Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: prof. dr hab. M. Jaskólski**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Badano metodami dyfrakcji synchrotronowego promieniowania rentgenowskiego struktury kryształów peptydowych kapsuł supramolekularnych zbudowanych na szkielecie rezorcynarenu, z wbudowaną w środku cząsteczką fullerenu C<sub>60</sub>. Prowadzono próby rozwiązywania struktury przestrzennej jednego z tych kryształów, stwierdzając przypadek interesującego nieporządku

związanego z reorientacją jednej czaszy kapsuły względem drugiej. Prowadzono próby współkrystalizacji wybranych składników peptydo-organicznych szkieletów supramolekularnych z modelowymi białkami, takimi jak lizozym białka jaja kurzego. Przygotowano inne rekombinowane białka (np. GFP) do kolejnych prób krystalizacyjnych.

## **2. Strukturalne badania białek kluczowych dla oddziaływań pomiędzy kleszczem, ssakiem i patogenem (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Mariusz Jaskólski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeprowadzono badania pary rekombinowanych białek TROSPA-OspA metodami SAXS i SANS. Trwają prace nad analizą wyników i ustaleniem parametrów strukturalnych dotyczących ww. białek z uwzględnieniem domen transbłonowych zakotwiczonej w bicelach. Uzyskano modyfikowane potranslacyjnie białko TROSPA w komórkach owadzych. Białko zidentyfikowano metodą western-blot z przeciwciałami anti-TROSPA i anti-FLAG. Trwają prace nad uzyskaniem czystych preparatów do badań strukturalnych i funkcjonalnych. Uzyskano rekombinowane białko OspC z różnych gatunków *Borrelia* w systemie *E. coli*. Rozpoczęto krystalizacyjne testy przesiewowe w celu ustalenia warunków krystalizacji, które są w toku. Funkcjonalność rekombinowanych OspC potwierdzono weryfikując zdolności wiązania ludzkiego plazminogenu metodą MST. Odkryto, że OspC wiąże także ludzki fibrynogen. Dokonano badań strukturalnych obydwu kompleksów metodą SAXS. Stwierdzono, że powinowactwo OspC do fibrynogenu jest wysokie, a stała K<sub>d</sub> wynosi około 20 nM. Przeprowadzono analizę podobieństwa sekwencji aminokwasowych białek Salp15 w celu doboru kandydatów do badań nad kompleksem OspC-Salp15.

## **3. Wspomagane strukturalnie projektowanie inhibitorów metalo-β-laktamaz o szerokim spektrum działania (JPI AMR) – projekt realizowany na podstawie umowy konsorcyjnej pomiędzy University Paris Sud (Lider konsorcjum, dr. Thierry Naas – kierownik projektu)**

**Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: prof. dr hab. M. Jaskólski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Poddano krytycznej analizie struktury metalo-β-laktamaz zdeponowane w PDB. Rezultatem jest manuskrypt publikacji wysłany do redakcji oraz seria depozytów w PDB. Prowadzono krystalizację białek NDM-9 wyprodukowanych własnymi siłami z zaprojektowanych przez nas syntetycznych plazmidów. Dla dwóch białek uzyskano bardzo dobry wynik krystalizacyjny. Strukturę jednego z kryształów (natywnego enzymu NDM-9) rozwiązano na podstawie dyfrakcji rentgenowskiej zarejestrowanej z użyciem promieniowania synchrotronowego.

## **Publikacje**

---

1. **T. Manszewski, K. Szpotkowski, M. Jaskolski**  
Crystallographic and SAXS studies of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from *Bradyrhizobium elkanii*  
*IUCrJ* 2017, 4, 271-282
2. K. Brzezinski, J. Czyrko, **J. Sliwiak**, E. Nalewajko-Sieliwoniuk, **M. Jaskolski**, B. Nocek, Z. Dauter  
S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from a hyperthermophile (*Thermatoga maritima*) is expressed in *Escherichia coli* in inactive form - biochemical and structural studies  
*International Journal of Biological Macromolecules* 2017, 104, 584-596
3. Z. Luo, Z. Dauter, **M. Gilski**,  
Four highly pseudosymmetric and/or twinned structures of d(CGCGCG)<sub>2</sub> extend the repertoire of crystal structures of Z-DNA  
*Acta Crystallographica Section D-Structural Biology* 2017, D73, 940-951

4. **A. Strugala**, M. Krecisz, J.D. Rybka, **A. Urbanowicz**, **K. Szpotkowski**, **P. Bierwagen**, **M. Figlerowicz**, M. Kozak, C. Böttcher, M. Giersig  
Biophysical analysis of BMV virions purified using a novel method  
*Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 2017, 1068-1069, 157-163
5. H. Zheng, K. M. Langner, G. P. Shields, J. Hou, **M. Kowiel**, F. H. Allen, G. Murshudov, W. Minor  
Data mining of iron(II) and iron(III) bond-valence parameters, and their relevance for macromolecular crystallography  
*Acta Crystallographica Section D-Structural Biology* 2017, 73, 316-325
6. **M. Jaskolski**, **J. Sliwiak**  
The phytohormone ligand repertoire of plant PR-10 proteins includes melatonin  
*FEBS Journal* 2017, 284, 34
7. **M. Jaskolski**  
Structure refinement at atomic resolution, w: *Protein Crystallography, Methods and Protocols* (seria *Methods in Molecular Biology*)  
(red. A. Wlodawer, Z. Dauter, M. Jaskólski)  
2017, 549-563 Springer
8. Wlodawer, Z. Dauter, **M. Jaskolski** (red.)  
*Protein Crystallography Methods and Protocols* (seria *Methods in Molecular Biology*)  
Springer, 2017, ISBN 978-1-4939-7000-1

#### Prace przyjęte do druku:

1. Z. Dauter, **M. Jaskolski**  
On the helical arrangements of protein molecules  
*Protein Science*
2. Z. Dauter, A. Wlodawek, P.J. Porebski W. Minor, R. Stanfield, **M. Jaskolski**, E. Pozharski, C.X. Weichenberger, B. Rupp  
Detect, Correct, Retract: How to manage incorrect structural model  
*FEBS Journal*

## **Działalność patentowa**

---

### **Patenty międzynarodowe**

*Lym disease vaccine*

patent: EP 2908852 z 14.06.2017 r.

zgłoszenie: EP 13795005.1 z 25.03.2015r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz**, **Anna Urbanowicz**, Dominik Lewandowski  
ICHB PAN

*Lyme disease vaccine, genetic construct, recombinant protein, method for designing genetic construct, method for producing vaccine, method for producing recombinant proteins, use of recombinant proteins in the production of Lyme disease vaccine*

patent: US 9,562,080 B2 z 7.02.2017 r.

zgłoszenie: US 14/385,500 z 16.09.2014 r.

Twórcy: **Marek Figlerowicz**, **Anna Urbanowicz**, Dominik Lewandowski  
ICHB PAN

## Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Wojciech Rypniewski (STATUT)<sup>28</sup>**

### **Skład osobowy<sup>29</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr Agnieszka Kiliszek (STATUT)

dr Leszek Błaszczuk (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Magdalena Bejger (STATUT)

mgr Katarzyna Biniak-Antosiak (STATUT)

### **Działalność statutowa**

#### **XIX. Badania zależności między strukturą i funkcją biomolekuł (prof. dr hab. Wojciech Rypniewski)**

##### *Cel badań*

Celem badań było określenie struktur kompleksów niskocząsteczkowych ligandów, które wiążą trójnukleotydowe powtórzenia RNA występujące w chorobach TREDs, a także zbadanie oddziaływań RNA-białko i RNA-RNA istotne dla inicjacji translacji mRNA p53. Celem badań było również poznanie struktury enzymów chitynolitycznych i wybranie spośród nich elementów, które posłużą do skonstruowania sztucznego chitynosomu, czyli multienzymu do wydajnej degradacji chityny.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Zaprojektowano serię oligomerów zawierających trójnukleotydowe powtórzenia i przeprowadzono próby krystalizacyjne ich kompleksów z małymi syntetycznymi ligandami. Przeprowadzono pomiary rentgenowskie. W badaniach nad regulacją ekspresji białka p53 przeprowadzono eksperymenty potwierdzające wiązanie białek do mRNA p53. Prowadzono prace nad oczyszczaniem i krystalizacją białek chitynolitycznych, chitynaz i deacetylaz chityny, z hipertermofila *P. chitonophagus*. Wykrystalizowano jedną deacetylazę i wstępnie scharakteryzowano kryształy. Wykrystalizowano również i przeprowadzono pomiary krystalograficzne kolejnego mutantu delecyjnego chitynaz Chi60 z psychrofila *M. marina*.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Najważniejszym osiągnięciem jest sfinalizowanie z powodzeniem prac nad opracowaniem skutecznych i wydajnych metod cyrkularyzacji oligomerów RNA, aby umożliwić ich krystalizację w formie spinki. Wieloletni wysiłek zakończył się publikacją, zatem inni badacze mogą wykorzystać opracowaną przez nas metodologię. Krystalizacja mutantu delecyjnego chitynaz Chi60 pokazuje, że poszczególne domeny tego białka zachowują swą strukturę niezależnie od manipulacji na pozostałych częściach białka. Zatem możliwe jest podejście „lego” w konstrukcji sztucznego chitynosomu.

##### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Wyniki prac nad cyrkularyzacją RNA zostały opublikowane w *Nucleic Acids Research*.

#### **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

##### **Analiza krystalograficzna kompleksów powtórzeń RNA typu CNG z cyklicznymi bis-naftyrydynami**

**Kierownik zadania: dr Agnieszka Kiliszek**

---

<sup>28</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>29</sup> Stan na 31.12.2017 r.

### *Cel badań*

Celem projektu było otrzymanie pierwszej struktury krystalicznej kompleksów patogennych powtórzeń RNA z niskocząsteczkowymi ligandami.

### *Opis realizowanych prac*

Zaprojektowano serie oligomerów RNA zawierające powtórzenia trójnukleotydowe, które następnie użyto do wstępnej przesiewowej krystalizacji. Otrzymano wstępne warunki krystalizacyjne dla dwóch różnych kompleksów RNA-ligand. Po optymalizacji warunków krystalizacji zarejestrowano dane dyfrakcyjne. Jeden z kompleksów wykazywał duży potencjał dyfrakcyjny, natomiast w przypadku drugiego obserwowano nieporządek sieci krystalicznej.

## **Projekty**

---

### **1. W jaki sposób struktura RNA kieruje funkcją matrycowego RNA? Aspekty strukturalne i funkcjonalne kluczowe dla syntezy białka p53 – głównego regulatora podstawowych procesów w komórce (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Leszek Błaszczyk**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Zaprojektowano i przygotowano wektory ekspresyjne kodujące białka oddziałujące z mRNA p53. Opracowano warunki ekspresji i oczyszczania rekombinowanych białek, dzięki czemu otrzymano wysokiej czystości preparaty. Przeprowadzono eksperymenty potwierdzające wiązanie białek do mRNA p53.

### **2. Engineering a “chitinosome” – a toolbox for chitin degradation (MISTRZ)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Wojciech Rypniewski**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Wykryształizowano i wykonano pomiary dyfrakcyjne oraz obróbkę danych dla mutantu delecyjnego chitynazy Chi60 z psychrofionej bakterii *M. marina*. Mutant składa się z domeny katalitycznej i domeny wiążącej chitynę. Sklonowano geny trzech deacetylaz chityny z hipertermofilnego *P. chitonophagus*. Oczyszczono i wykryształizowano jedno z tych białek, i wstępnie scharakteryzowano kryształy.

## **Publikacje**

---

1. A. Jarmula, P. Wilk, P. Maj, J. Ludwiczak, A. Dowiercial, **K. Banaszak, W. Rypniewski**, J. Ciesla, M. Dabrowska, T. Fraczyk, A.K. Bronowska, J. Jakowiecki, S. Filipek, W. Rode  
Crystal structures of nematode (parasitic *T. spiralis* and free living *C. elegans*), compared to mammalian, thymidylate synthases (TS). J. Molecular docking and molecular dynamics simulations in search for nematode-specific inhibitors of TS  
*Journal of Molecular Graphics and Modelling* 2017, 77, 33-50
2. **A. Kiliszek, L. Błaszczyk, R. Kierzek, W. Rypniewski**  
Stabilization of RNA hairpins using non-nucleotide linkers and circularization  
*Nucleic Acids Research* 2017, 45, e92
3. **L. Błaszczyk, W. Rypniewski, A. Kiliszek**  
Structures of RNA repeats associated with neurological diseases  
*WIREs RNA* 2017, 8, UNSP e1412
4. A. Dowiercial, A. Jarmula, P. Wilk, **W. Rypniewski**, M. Kowalska, T. Fraczyk, J. Ciesla, W. Rode  
Mouse thymidylate synthase does not show the inactive conformation, observed for the human enzyme  
*Structural Chemistry* 2017, 28, 667-674

5. **L. Blaszczyk, M. Biesiada, A. Saha, D.J. Garfinkel, K.J. Purzycka**  
Structure of Ty1 Internally Initiated RNA Influences Restriction Factor Expression  
*Viruses* 2017, 9, E74

## **Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych**

---

**Kierownik Zakładu: dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN (STATUT)<sup>30</sup>**

**Skład osobowy<sup>31</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr Weronika Kotkowiak (STATUT)

dr Jolanta Lisowiec-Wąchnicka (NCN)

Pracownicy techniczni:

dr Zofia Jahnz-Wechmann (STATUT)

mgr Natalia Bartyś (STATUT)

### **Działalność statutowa**

#### **IV. Badania właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych modyfikowanych oligonukleotydów o potencjale diagnostycznym oraz terapeutycznym (dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN)**

##### *Cel badań*

Celem badań było określenie wpływu wybranych modyfikacji chemicznych na właściwości fizykochemiczne oligonukleotydów oraz ocena ich potencjału biologicznego.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Zaprojektowano oraz zsyntetyzowano metodą amidofosforynową na podłożu stałym oligonukleotydy posiadające w określonych pozycjach modyfikowane reszty nukleotydowe. Badania prowadzono wielotorowo – oligonukleotydy zaliczały się do kilku grup: grupa wykazująca tendencję do tworzenia złożonych struktur typu dupleks-kwadrupleks, oligonukleotydy zaprojektowane do badań potencjału terapeutycznego siRNA oraz oligonukleotydy tworzące trwałe dupleksy z patogennym mRNA. Przeprowadzono analizę termodynamiczną otrzymanych struktur oraz badania aktywności biologicznej (właściwości antykoagulacyjne, antyproliferacyjne, potencjał antysensowy).

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Stwierdzono, że niektóre z wprowadzonych modyfikacji zwiększają potencjał antykoagulacyjny badanych oligonukleotydów. Dokonano również szczegółowej analizy modelowych, modyfikowanych dupleksów siRNA, wskazując, które z badanych modyfikacji mogą zwiększać selektywność wyciszania genów, a które negatywnie wpływają na ten proces. Określono pozycje modyfikacji, które są korzystne oraz niekorzystne dla selektywności procesu degradacji patogennych cząsteczek mRNA.

##### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Otrzymane wyniki poszerzają wiedzę na temat użyteczności wybranych modyfikacji chemicznych, jako narzędzi molekularnych mogących poprawić właściwości biologiczne oligonukleotydów. Ponadto, analiza termodynamiczna dostarczyła szeregu ciekawych wyników na temat ich wpływu na trwałość różnorodnych struktur tworzonych przez kwasy nukleinowe.

---

<sup>30</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>31</sup> Stan na 31.12.2017 r.

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

### **Wybór nici wiodącej w czasie formowania się kompleksu RISC (*RNA-induced silencing complex*) w ssaczycy liniach komórkowych (*kontynuacja projektu z 2016 r.*)**

**Kierownik zadania: dr inż. Jolanta Lisowiec-Wąchnicka**

#### *Cel badań*

Celem projektu było rozwinięcie badań dotyczących termodynamicznych podstaw projektowania optymalnych funkcjonalnie, modyfikowanych siRNA oraz ich eksperymentalnej weryfikacji. Wykorzystano cztery modelowe cząsteczki siRNA (si1/2, si3/4, si5/6, si7/8), które wykazywały różne profile stabilności termodynamicznej końców. Pierwszym etapem badań było wprowadzenie zaprojektowanych cząsteczek siRNA do trzech różnych ssaczycy linii komórkowych. Do eksperymentów wybrano linie komórkowe HeLa, HFL-1 i NSC-34. Głównym zadaniem tego etapu była analiza wyboru nici antysensowej przez kompleks RISC w wybranych ssaczycy liniach komórkowych. Oprócz modelowych cząsteczek siRNA do komórek wprowadzano plazmid niosący gen białka zielonej fluorescencji (GFP) poprzedzony insertem komplementarnym do nici antysensowej lub sensowej. Pozwoliło to na ocenę wyboru nici antysensowej przez kompleks RISC przez analizę ilościową mRNA genu GFP techniką real-time PCR. Wyciszenie ekspresji genu GFP w odpowiednim plazmidzie świadczyło o wykorzystaniu badanej nici z cząsteczki siRNA jako nici wiodącej przez kompleks RISC.

#### *Opis realizowanych prac*

Ostatnim etapem badań była weryfikacja cytotoksyczności badanych cząsteczek siRNA w różnych ssaczycy liniach komórkowych na podstawie testu MTT. Cząsteczki siRNA wprowadzano w kilku stężeniach i na podstawie testu MTT badano ich cytotoksyczność. Żadne modelowe cząsteczki siRNA użyte w projekcie nie wykazywały właściwości cytotoksycznych wobec badanych linii komórkowych. Różnice w ekspresji białka GFP były spowodowane wprowadzeniem cząsteczek siRNA do komórek i zapoczątkowaniem procesów interferencji RNA.

## **Projekty**

---

### **1. Dwufunkcyjne oligonukleotydy antysensowe – optymalizacja w regulacji alternatywnego splicingu w nowotworowych liniach komórkowych (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Joanna Lisowiec-Wąchnicka**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Projekt rozpoczął się w marcu 2017 roku. Pierwszym etapem badań była próba uzyskania potrzebnych czynników splicingowych (SRSF1, hnRNPA1, SREK1, SRSF12, TRA2B, SC-35) w komórkach bakteryjnych BL21. Na początku zaprojektowano odpowiednie startery, które pozwoliły na amplifikację sekwencji pozwalającej na syntezę pełnej długości białek. Startery te posiadały specyficzne końce pozwalające na wprowadzenie insertu do plazmidu pMCSG68 przez reakcję LIC (ang. *ligation independent cloning*). Następnie wprowadzono powstałe plazmidy do komórek DH5alfa, w celu znalezienia kolonii z plazmidem z wbudowanym insertem. Kolejny etap obejmował transformację plazmidem komórek BL21 i nadekspresję wybranych białek. Niestety eksperyment nie powiódł się i postanowiono wykonać próbę nadekspresji tych domen, które są odpowiedzialne w czynnikach splicingowych za wiązanie się do RNA. W międzyczasie rozpoczęto syntezę szeregu oligonukleotydów odpowiadających różnym sekwencjom części dwufunkcyjnych oligonukleotydów antysensowych, z którymi oddziałują czynniki splicingowe. Te oligonukleotydy zawierają na końcu 5' fluoresceinę i posłużą do badania stałej wiązania metodą MST (ang. *micro-scale thermophoresis*).

## **2. Termodynamiczne podstawy projektowania optymalnych funkcjonalnie, modyfikowanych siRNA oraz ich eksperymentalna weryfikacja (SONATA BIS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Zaprojektowano i zsyntetyzowano modelowe oligonukleotydy zawierające modyfikowane reszty nukleotydowe: LNA, 2'-O-metylo-RNA, 2'-fluoro-RNA oraz komplementarne cząsteczki RNA, jak również cząsteczki tworzące pojedyncze niesparowania. Wyznaczono trwałość termodynamiczną dupleksów zawierających powyższe modyfikacje. Modyfikowane, modelowe cząsteczki siRNA przeanalizowano za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej, dichroizmu kołowego oraz spektroskopii NMR. Wyniki uzyskane z analizy termodynamicznej zweryfikowano w badaniach biologicznych. Ponadto na podstawie wniosków wyciągniętych z analiz przeprowadzonych w roku 2016, wykonano badania na liniach komórkowych HeLa wyboru przez kompleks RISC nici sensowej i antysensowej w modelowych siRNA z termodynamicznie zdefiniowanymi końcami 5'. Wykazano, że modyfikowane reszty nukleotydowe wywierają większy wpływ na trwałość dupleksów, gdy zajmują pozycje centralne. Ponadto nie zaobserwowano znaczących różnic w parametrach termodynamicznych uzyskanych z metody topnienia UV oraz techniki DSC, co świadczy o tym, że główną rolę w stabilizacji badanych dupleksów odgrywają wiązania wodorowe oraz oddziaływania warstwowe, natomiast takie czynniki, jak hydratacja mają niewielki wpływ.

## **3. Właściwości antykoagulacyjne i antyproliferacyjne nowych analogów aptameru wiążącego trombinę (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: mgr Weronika Kotkowiak**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W trakcie realizacji projektu wyznaczono miejsca oddziaływania pochodnych TBA z cząsteczką trombiny poprzez zastosowanie testu amidolitycznego. Stwierdzono, że badane warianty wywierają efekt antykoagulacyjny poprzez związanie się w miejscu zewnętrznym cząsteczki trombiny. Ponadto dla wybranych pochodnych TBA określono stopień inhibicji wzrostu linii komórkowej HeLa. Pomiary wykonano dla wariantów TBA odznaczających się mniej korzystnymi właściwościami antykoagulacyjnymi, ale wciąż dobrymi parametrami termodynamicznymi, wskazującymi na zachowanie struktury G-kwadrupleksu w temperaturze 37°C. Na podstawie analizy uzyskanych wyników testu aktywności metabolicznej komórek HeLa zaobserwowano, że warianty TBA zawierające reszty RNA-s4U w pozycjach T3, T7, T9, T12 lub T13 aptameru wykazują znaczące właściwości antyproliferacyjne. W ostatnim etapie realizacji projektu wyznaczono stabilność biologiczną pochodnych TBA, posiadających najlepsze właściwości antykoagulacyjne lub antyproliferacyjne w osoczu krwi ludzkiej. Otrzymane wyniki pozwoliły stwierdzić, że wprowadzenie w pozycję T7 TBA reszt kanonicznych nukleotydów w serii UNA lub 4-tiourydyny w serii UNA powodowało wydłużenie okresu półtrwania ( $T_{1/2}$ ) w osoczu krwi ludzkiej względem niemodyfikowanego aptameru. Najdłuższym okresem półtrwania odznaczały się warianty zawierające reszty UNA-C lub UNA-G w pozycji T7 aptameru. Wyznaczenie wartości parametru  $T_{1/2}$  aptamerów posiadających wielokrotne podstawienie resztami RNA-s4U w pozycjach T3, T7, T9, T12 lub T13 okazało się niemożliwe ze względu na powstawanie wysoko migrujących produktów pośrednich reakcji.

## **4. Synteza nowych pochodnych porfirynewych o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej (PDT) (MINIATURA)**

**Kierownik projektu: dr Zofia Jahnz-Wechmann**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeprowadzono próby otrzymania asymetrycznych porfiryn. Eksperymenty prowadzono zarówno w reakcji bezpośredniej pirolu i odpowiednio podstawionych aldehydów wobec katalizatora

kwasowego, jakim był kwas trifluorooctowy (TFA), jak i z użyciem substratów dipirolu. W celu wyeliminowania produktów ubocznych przeprowadzono syntezy dipirolu pochodnych zawierających właściwy podstawnik w pozycji 5, stosując metodę reakcji pirolu z aldehydem wobec katalizatora typu kwas Lewisa ( $\text{SnCl}_4$ ) lub TFA. W obu przypadkach uzyskano oczekiwany produkt z zadawalającą wydajnością. Powstałe bloki, dipirolu substraty, wykorzystano następnie do syntezy porfiryn o określonej strukturze. Powstałe dipirolu pochodne poddano reakcji z odczynnikiem Vilsmeiera, uzyskano 1-formylodipirole, celem wymuszenia określonej struktury na etapie tworzenia porfiryny. Otrzymane porfiryny poddano próbie reakcji sprzęgania Sonogashiry wobec katalizatora palladowego i jonów miedzi. Sprawdzono również możliwość przeprowadzenia sprzęgania Sonogashiry z użyciem jodobenzaldehydu i 5-chlorometylodipirolu, w celu otrzymania pochodnych alkinowych, jako pierwszego etapu do syntezy porfiryn z zaprojektowanymi podstawnikami alkilowymi. Wykonano również próby otrzymania porfiryn o budowie symetrycznej, wykorzystując do tego dipirolu pochodne i takie porfiryny również poddano reakcji sprzęgania.

Wykorzystanie do syntezy pochodnych dipirolu prowadzi do powstania porfiryn o określonej strukturze, eliminując z mieszaniny reakcyjnej produkty uboczne, a więc te o innym podstawieniu niż oczekiwano oraz ułatwiając analizę i oczyszczanie produktów.

## Publikacje

---

1. **Z. Jahnz-Wechmann, J. Lisowiec-Wachnicka, G. Framski, J. Kosman, J. Boryski, A. Pasternak**  
Thermodynamic, structural and fluorescent characteristics of DNA hairpins containing functionalized pyrrolo-2'-deoxycytidines  
*Bioorganic Chemistry* 2017, 71, 294-298
2. **M. Gładysz, A. Nowak, A. Pasternak, J. Milecki**  
Synthesis and hybridization properties of oligonucleotide analogues with novel acyclic triazole internucleotide linkages  
*Bioorganic Chemistry* 2017, 72, 161-167
3. **D. Magner, E. Biala, J. Lisowiec-Wachnicka, R. Kierzek**  
Influence of mismatched and bulged nucleotides on SNP-preferential RNase H cleavage of RNA-antisense gapmer heteroduplexes  
*Scientific Reports* 2017, 7, 12532

## Zakład Chemii Biopolimerów

---

**Kierownik Zakładu: dr hab. Marcin Chmielewski, prof. ICHB PAN (STATUT)<sup>32</sup>**

### **Skład osobowy<sup>33</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr Jolanta Brzezińska (STATUT)

mgr inż. Martyna Barciszewska (STATUT)

Pracownicy techniczni:

mgr inż. Dominika Krygier (STATUT)

mgr Magdalena Paluch (STATUT)

---

<sup>32</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>33</sup> Stan na 31.12.2017 r.

Doktoranci:

mgr Agnieszka Witkowska (stypendium KNOW)

mgr Anna Stasińska (finansowanie w ramach projektu DNARepairMan, MSCA ITN)

## **Działalność statutowa**

### **V. Synteza fragmentów kwasów nukleinowych, ich komponentów, analogów i badania ich właściwości biologicznych (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz)**

#### **1. Synteza i analityka modyfikowanych biopolimerów (dr hab. Marcin K. Chmielewski, prof. ICHB PAN)**

##### *Cel badań*

Celem badań jest opracowanie nowych metod modyfikacji funkcjonalnej kwasów nukleinowych, a w przyszłości także peptydów. Oprócz syntezy zajmowano się także analizą instrumentalną otrzymanych pochodnych.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Przeprowadzono chemiczną syntezę pochodnych fluorescencyjnych z wykorzystaniem znaczników typu Quazar oraz przeprowadzono syntezę oligonukleotydów z łącznikiem aminowym. Wykonano analizę profili czystości tych oligonukleotydów z wykorzystaniem analizy elektroforetycznej na kapilarach typu PVA oraz za pomocą wysokosprawnej chromatografii kolumnowej HPLC, z wykorzystaniem złożeń RP-18.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Najważniejszymi wynikami było opracowanie metody oczyszczania oligonukleotydów na złożeń do fazy odwróconej (typu C-18) w taki sposób, aby funkcyjna grupa aminowa nie występowała w formie sprotonowanej. Opracowano metodę identyfikacji oligonukleotydów modyfikowanych wykorzystując detektor DAD, fluorescencyjny oraz Corona.

##### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Uzyskane wyniki są wykorzystywane w dalszej pracy badawczej Zakładu. Część wyników posłużyła do przygotowania publikacji naukowej w *Journal of Computational Biology*.

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

### **Analiza właściwości fluorescencyjnych i termolabilnych pochodnych 1,2-bis(2-pirydylo)-etyleny**

**Kierownik zadania: mgr Agnieszka Witkowska**

##### *Cel badań*

Przeprowadzane pomiary fizykochemiczne spektrofotometryczne i spektrofluorymetryczne dla wcześniej zsyntetyzowanych pięciu pochodnych skondensowanego układu bis-pirydylowego (diPy) miały na celu określenie parametrów charakteryzujących znaczniki fluorescencyjne: molowy współczynnik ekstynkcji ( $\epsilon$  [ $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]), pasma emisji fluorescencji (maksimum emisji i przesunięcie Stokes'a), wydajność kwantową fluorescencji (w porównaniu z odpowiednim wzorcem) oraz czasy życia fluorescencji. Zbadano wpływ środowiska na widma absorpcyjno-emisyjne (pH-zależność, solwatochromizm).

##### *Opis realizowanych prac*

W okresie trwania projektu dla dwóch pochodnych, mających w pozycji 2-pirydylowej grupę  $-\text{N}(\text{CH}_3)-(\text{diPyNCH}_3)$  i  $-\text{NH}-(\text{diPyNH})$ , dokonano przyłączenia do nukleozydu w pozycji 5'-hydroksylowej, dla tymidyny ( $\text{diPyNH}$  oraz  $\text{diPyCH}_3$ ) oraz guanozyny (pochodna  $\text{diPyCH}_3$ ). Dla pochodnych tymidyny przeprowadzono badania kinetyki wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji,

w różnych zakresach pH i temperatury. Celem było określenie optymalnych warunków dla odblokowania grupy 5'-OH nukleozydu, a także ustalenie, czy zaistniały proces prowadzi – tak jak dla wcześniej badanych związków – do uzyskania oczekiwanego produktu cyklizacji, czy też powstają produkty pośrednie lub następuje niepożądana hydroliza węglanu nukleozydu.

## Projekty

---

### **Opracowanie chemicznej metody syntezy biologicznie aktywnych trójfosforanów z zastosowaniem termolabilnych grup ochronnych (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Marcin K. Chmielewski, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Opracowano i wykonano syntezę trzech cyklicznych pochodnych 3-(pirydyn-2-ylo)-[1,3,2]-oksazafosolidyny. Udowodniono, że różnią się one właściwościami oraz reaktywnością, zarówno podczas cyklizacji, jak i otwierania pierścienia [1,3,2]oksazafosolidyny. Przeprowadzenie syntezy, określenie mechanizmu cyklizacji, jak również metod ich oczyszczania, pozwoliło na uzyskanie związków, które mogą być potencjalnymi substratami w syntezie ważnych biologicznie komponentów. W pierwszej kolejności opracowano i przeprowadzono optymalizację metody syntezy modyfikowanych alkoholi 2-pirydynylowych, jako prekursorów oksazafosolidyny. W kolejnym etapie pracy otrzymane aminoalkohole wykorzystano do syntezy odpowiednich oksazafosolidyn. 2-*N*-izopropylamino-3-(pirydyn-2-ylo)-5-fenyl- [1,3,2]-oksazafosolidynę otrzymano w postaci czterech diastereoizomerów. Pogłębione badania nad tą modyfikacją pozwoliły na poznanie struktury krystalicznej, określenie konfiguracji absolutnej na dwóch centrach stereogenicznych i przypisanie poszczególnym stereoizomerom odpowiadających im sygnałów na widmie  $^{31}\text{P}$  NMR. Opracowano strategię wykorzystania 3-(pirydyn-2-ylo)-[1,3,2]-oksazafosolidyny w syntezie trifosforanów nukleozydów. Podczas optymalizacji i badania różnych pochodnych pirofosforanów jako czynników nukleofilowych, ostatecznie wybrano pirofosforan tris-(tetrabutylloaminowy), jako najodpowiedniejszy ze względu na dobrą rozpuszczalność w stosowanym rozpuszczalniku (acetonitryl) oraz zdecydowanie najlepszą reaktywność [1,3,2]-oksazafosolidyny. Dobre rezultaty osiągnięto stosując jako czynnik utleniający wodoronadtlenek *tert*-butylu. Opracowano układ modelowy, gdzie 3'-O-acetylo-5'-[(3-pirydyn-2-ylo)-[1,3,2]-oksazafosolidyno]tymidyna posłużyła do badania trwałości oksazafosolidyny i opracowania potencjalnych warunków syntezy trójfosforanów poprzez nukleofilowe otwarcie. Udowodniono na podstawie widm  $^{31}\text{P}$  NMR (tryplet  $\delta = 107$  ppm ( $\text{P}^{\text{III}}$  oksazafosolidyny), dublet -19 ppm), że nastąpiło przyłączenie difosforanu.

## Publikacje

---

1. **J. Brzezinska, A. Witkowska, T.P. Kaczyński, D. Krygier, T. Ratajczak, M.K. Chmielewski**  
2-Pyridinyl thermolabile groups as general protectants for hydroxyl, phosphate, and carboxyl functions  
*Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* 2017, 68, 2.20.1-2.20.25
2. **M. C. Milewski, K. Kamel, A. Kurzynska-Kokorniak, M.K. Chmielewski, M. Figlerowicz**  
EvOligo: A Novel Software to Design and Group Libraries of Oligonucleotides Applicable for Nucleic Acid-Based Experiments  
*Journal of Computational Biology* 2017, 24 1014-1028
3. **K. Szubert, M. Piepiorka, M. Jankowska-Wajda, J. Brzezinska, K. Pasternak, N. Remszel, E. Frydrych-Tomczak, H. Maciejewski, M.K. Chmielewski**  
Amino-functional Silsesquioxanes (POSS) – Effective Glass Surface Modifiers in Solid-Phase Nucleic Acid Synthesis  
*Current Organic Chemistry* 2017, 21, 2597-2604

4. **M.K. Chmielewski, T.P. Kaczynski**  
Mini-Review of the Phosphate Center Activation Strategy in Nucleoside Triphosphate Preparation  
*Mini-Reviews in Organic Chemistry* 2017, 14, 448-452
5. K. Czaja, J. Kujawski, E. Jodłowska-Siewert, P. Szulc, **T. Ratajczak, D. Krygier, M.K. Chmielewski**, M. K. Bernard  
On the Interactions of Fused Pyrazole Derivative with Selected Amino Acids: DFT Calculations  
*Journal of Chemistry* 2017, 8124323
6. **K. Chmielewska, P. Rodziewicz, B. Swarczewicz**, A. Sawikowska, P. Krajewski, **L. Marczak, D. Ciesiolka**, A. Kuczynska, K. Mikolajczak, P. Ogrodowicz, K. Krystkowiak, M. Surma, T. Adamski, **P. Bednarek, M. Stobiecki**  
Analysis of Drought-Induced Proteomic and Metabolomic Changes in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Leaves and Roots Unravels Some Aspects of Biochemical Mechanisms Involved in Drought Tolerance w: *Plants, Stress & Proteins*  
(red. D. Ghosh, Q. Lin, J. Xu, H. A. Hellmann)  
2017, 93-105, Frontiers Media

## Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin

---

**Kierownik Zakładu: dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN (STATUT)<sup>34</sup>**

### **Skład osobowy<sup>35</sup>**

Pracownicy naukowci:

dr Joanna Banasiak (STATUT)

Pracownicy techniczni:

mgr inż. Wanda Biała (STATUT)

Doktoranci:

mgr Aleksandra Paweła (stypendium KNOW)

mgr inż. Tomasz Jarmuszka (stypendium NCN)

### **Działalność statutowa**

**XIV. Możliwości wykorzystania technik kolizyjnie indukowanej fragmentacji (CID MS/MS) oraz analizatorów wysokiej rozdzielczości do charakterystyki strukturalnej metabolitów wtórnych w materiale biologicznym (dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN)**

#### *Cel badań*

Wykorzystanie technik kolizyjnie indukowanej fragmentacji do identyfikacji związków fenolowych w ekstraktach roślinnych z lucerny (*Medicago truncatula*) jako element analizy metabolomu i jego zmian podczas odpowiedzi na stres biotyczny.

#### *Opis zrealizowanych prac*

W 2017 roku sfinalizowano ważny etap badań dotyczących poznania roli aktywnych systemów transportu w dystrybucji prekursorów ze szlaku biosyntezy medikarpiny głównej fitoaleksyny *Medicago truncatula*. Opublikowano pracę doświadczalną opisującą wpływ białka MtABCG10 na efektywność i specyficzność biosyntezy medikarpiny.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykazano, że dystrybucja związków fenolowych w roślinie jest zależna między innymi od aktywności białek błonowych z podrodziny ABCG. Przeprowadzone eksperymenty pokazały, że białka

---

<sup>34</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>35</sup> Stan na 31.12.2017 r.

te biorą udział nie tylko w sekrecji produktów końcowych szlaku fenylopropanoidowego, ale także w rozpowszechnianiu prekursorów, tym samym modulując przepływ atomów węgla w szlakach metabolizmu pierwotnego i wtórnego u roślin. Wyniki stanowią nowe otwarcie w rozumieniu funkcji białek ABCG dla fizjologii roślin.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Poznanie czynników modulujących aktywność szlaków biosyntezy poszczególnych klas metabolitów wtórnych pozwala na tworzenie nowych rozwiązań biotechnologii roślin (produkcja metabolitów, tworzenie/selekcja odmian).

### **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

#### **1. Uzyskanie transgenicznych roślin z wyciszoną ekspresją MtABCG16, które będą wykorzystane podczas analizy funkcjonalnej białka MtABCG16 w kontekście transportu prekursorów lignin, w odpowiedzi na stres biotyczny**

**Kierownik zadania: mgr inż. Wanda Biała**

##### *Cel badań*

Głównym celem przedłożonego projektu było uzyskanie transgenicznych roślin z wyciszoną ekspresją MtABCG16, które będą wykorzystane podczas analizy funkcjonalnej białka MtABCG16 w kontekście transportu prekursorów lignin, w odpowiedzi na stres biotyczny.

##### *Opis realizowanych prac*

Na podstawie analizy sekwencji cDNA wszystkich genów kodujących pełne transportery ABCG u *Medicago* wyselekcjonowano rejon MtABCG16 charakteryzujący się dużą specyficznością. Docelowa sekwencja została powielona na matrycy cDNA i wprowadzona do wektora dedykowanego wyciszaniu ekspresji genów u roślin. Wybrany wektor, zawiera dodatkową kasetę reporterową z genem kodującym białko czerwonej fluorescencji DsRED pod kontrolą promotora 35S, co ułatwia wstępną selekcję transformantów. Uzyskany konstrukt został wprowadzony do *Agrobacterium tumefaciens*, które wykorzystano do transformacji *M. truncatula* metodą krążków liściowych. Na drodze somatycznej embriogenezy z eksplantatów liści wygenerowano nowe, potencjalnie transgeniczne rośliny z wyciszoną ekspresją MtABCG16. Podczas procesu transformacji i regeneracji uzyskane rośliny poddawane były/są ciągłej selekcji z wykorzystaniem antybiotyku selekcyjnego. Obecnie uzyskane rośliny rosną w obecności regulatorów wzrostu, które pozwolą na ich ukorzenienie i transfer do hodowli doniczkowej. Wbudowanie transgenu będzie potwierdzane na podstawie obecności sygnału dsRED, natomiast stopień wyciszenia genu MtPDR16 określony zostanie poprzez analizę akumulacji białka metodą western blot, z wykorzystaniem specyficznych przeciwciał. Rośliny z wyciszoną ekspresją MtPDR16 posłużą analizie funkcjonalnej i próbie identyfikacji potencjalnego substratu transportera MtABCG16.

#### **2. Oznaczenie zmian ilości kwasu abscysynowego w bielmie i zarodku nasion *Medicago truncatula***

**Kierownik zadania: mgr Aleksandra Pawela**

##### *Cel badań*

Celem badań było pokazanie translokacji egzogennie aplikowanego kwasu abscysynowego we wnętrzu nasion *Medicago truncatula* dzikiego typu oraz mutantów wbc20.

##### *Opis realizowanych prac*

Z nasion *Medicago truncatula* typu dzikiego (WT) oraz mutantów wbc20 wyizolowano zarodki, a następnie umieszczono je na płytkach zawierających podłoże zestalone agarem (+/- kwas abscysynowy ABA) w taki sposób, aby tylko hipokotyle miały kontakt z pożywką. W wybranych

punktach czasowych zbierano liścienie zarodka, z których wyizolowano RNA i przeprowadzono odwrotną transkrypcję. Na otrzymanej w ten sposób matrycy cDNA wykonano ilościowe analizy ekspresji genów markerowych przy wykorzystaniu Real Time PCR. Zaobserwowano indukcję ekspresji genu *MtAbi5* po traktowaniu ABA tylko w próbach uzyskanych z nasion WT. Wynik ten wskazuje, że w nasionach mutantów *wbc20* kwas abscysynowy nie przedostał się do liścienia, co może świadczyć o udziale białka MtWBC20 w transporcie ABA wewnątrz zarodka. W drugim eksperymencie na hipokotyle wyizolowanych zarodków *Medicago* dzikiego typu oraz mutantów *wbc20* aplikowano radioaktywnie znakowany ABA. W wybranych punktach czasowych przy pomocy skalpela oddzielano liścienie od hipokotyli i umieszczono części zarodka w płynie scyntylacyjnym. Pomiaru radioaktywności dokonano na liczniku scyntylacyjnym dostępnym w ICHB PAN. W zarodkach dzikiego typu zaobserwowano przemieszczenie i akumulację znakowanego ABA w liścieniach. Natomiast w zarodkach mutantów *wbc20* sygnał radioaktywności utrzymywał się na zbliżonym poziomie w obu częściach zarodka.

## Projekty

---

### **1. Rola transporterów błonowych w kaskadzie sygnałowej cytokinin podczas symbiozy bobowatych z bakteriami brodawkowymi (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach niniejszego zadania badawczego dokonano analizy fenotypu roślin będących mutantami insercyjnymi genu *MtABCG4* z linii NF21323. W pierwszym etapie badań oceniono zdolność roślin do tworzenia brodawek korzeniowych z udziałem symbiotycznych bakterii *Sinorhizobium meliloti*. Wykazano, że dysfunkcja genu *MtABCG4* skutkuje zwiększeniem ich ilości w obrębie korzenia *M. truncatula*. Zaobserwowano również zwiększenie świeżej masy korzeni mutantów. Obserwacji tej nie mogła jednak tłumaczyć wyłącznie zmiana liczby brodawek, organów stosunkowo małych w porównaniu do masy całego korzenia. W celu wyjaśnienia tego zjawiska dokonano analizy liczby korzeni bocznych w czasie wzrostu roślin na pożywce pozbawionej źródła azotu, przyczyniającej się do rozrostu sieci korzeniowej roślin typu dzikiego. Jej wynik nasunął przypuszczenie, że przywołana mutacja odpowiada za zwiększenie gęstości powstających korzeni bocznych, a tym samym badany transporter bierze udział w kontroli procesów związanych z powstawaniem przypuszczalnie bliskich ewolucyjnie organów bocznych korzenia.

### **2. Aktywne systemy transportu jako element kontrolujący „molekularną rozmowę” między symbiontami podczas formowania mikoryzy arbuskularnej (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Joanna Banasiak**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W ramach realizowanego grantu zidentyfikowano trzy linie mutantów insercyjnych *mtPDR23* (NF12356, NF17516, NF15758), przeprowadzono ich genotypowanie oraz wyselekcjonowano rośliny homozygotyczne w obrębie analizowanego genu. Następnie wykonano testy wydajności formowania mikoryzy arbuskularnej w typie dzikim i mutantach *mtpdr23*. Analizy wykazały, że dysfunkcja badanego genu negatywnie wpływa na nawiązywanie symbiozy z grzybami mikoryzycznymi. Wynik ten sugeruje, że MtPDR23 jest funkcjonalnym homologiem PaPDR1 i bierze udział w uwalnianiu strigolaktyn na wczesnych etapach symbiozy. Ponadto przeprowadzono stałą transformację *Medicago truncatula* metodą krążków liściowych, wprowadzając do genomu rośliny za pośrednictwem *Agrobacterium tumefaciens* konstrukcję genetyczną promotorMtPDR23::GUS. Przeprowadzono również analizę zmian poziomu ekspresji *MtPDR23* metodą ilościową Real-Time PCR w warunkach głodu fosforowego. Wykazała ona, że gen ten jest silnie

indukowany deficytem fosforu w podłożu, który jak wiadomo stymuluje uwalnianie strigolaktonek do ryzosfery. Potwierdzono także, że *MtPDR23* ulega specyficznej ekspresji w korzeniach *Medicago*. Ponadto przeprowadzono analizy fenotypowe roślin *M. truncatula* z nadekspresją *PaPDR1*. Transgeniczne rośliny wykazywały szereg cech fenotypowych powiązanych z odpowiedzią na strigolaktyny, wśród nich: i) wydłużone międzywęzła, ii) skrócone ogonki liściowe, iii) głębsze wcięcia brzegów liścia, iv) przyspieszone obumieranie roślin, manifestujące się żółknięciem i więdnieniem liści. Wyniki te pokazują, że białko PaPDR1 posiada aktywność transportera względem strigolaktonek występujących u *Medicago*.

### **3. Transport ABA u bobowatych – między odpowiedzią na stres suszy a wydajnym wiązaniem azotu atmosferycznego (HARMONIA)**

**Kierownik projektu: dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeprowadzone analizy fenotypowe mutantów *Medicago truncatula* pozbawianych MtWBC20 pozwoliły na pozycjonowanie tego transportera, jako ważnego ogniwa w kaskadzie sygnałowej będącej udziałem kwasu abscysynowego (ABA) podczas kiełkowania nasion. Nasiona roślin pozbawianych MtABCG20 kiełkują gorzej niż typ dziki. MtABCG20 jest białkiem błony komórkowej tworzącym homodimer, biorącym udział w translokacji ABA. Przeprowadzone eksperymenty transportu w układach heterologicznych, *in vivo* i *in vitro*, a także wzory ekspresji oraz wizualizacja (geny reporterowe, znakowany ABA) translokacji lub jej braku, pozwalają jednoznacznie stwierdzić, iż transporter ten jest istotny dla kiełkowania. Gen kodujący ten transporter ulega specyficznej ekspresji w korzonku (*ang. radicle*), stanowiącym centrum decyzyjne rozwijającego się zarodka. MtABCG20, usuwając z niego ABA, przyczynia się do przełamania spoczynku nasion. Uzyskane wyniki wykorzystane będą w powstającym manuskrypcie.

### **Publikacje**

---

**W. Biala, J. Banasiak, K. Jarzyniak, A. Pawela, M. Jasinski**

*Medicago truncatula* ABCG10 is a transporter of 4-coumarate and liquiritigenin in the medicarpin biosynthetic pathway

*Journal of Experimental Botany* 2017, 68, 3231-3241

### **Zakład Genomiki Strukturalnej RNA**

---

**Kierownik Zakładu: dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN (STATUT)<sup>36</sup>**

**Skład osobowy<sup>37</sup>**

Pracownicy naukowci:

dr Elżbieta Lenartowicz (NCN)

Doktoranci:

mgr inż. Paula Michalak (stypendium KNOW)

mgr Julita Kęsy (stypendium KNOW)

mgr Barbara Szutkowska (stypendium NCN)

---

<sup>36</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>37</sup> Stan na 31.12.2017 r.

## Działalność statutowa

### **XVI. Badania uniwersalności strukturalnej RNA wirusów grypy (dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN)**

#### *Cel badań*

RNA wirusa grypy ulega mutacjom prowadzącym do nowych szczepów i podtypów, a także (rzadziej) możliwa jest reasortacja genomu pomiędzy różnymi podtypami wirusa. Cechy te powodują epidemie i groźne pandemie oraz są przyczyną konieczności wytwarzania corocznych nowych szczepionek. Ewolucyjna zmienność genomu grypy musi jednak być w granicach zachowania funkcjonalności białek oraz RNA. Celem badań jest wyszukiwanie elementów uniwersalnych w strukturze drugorzędowej wirusowego RNA, a więc o potencjalnym znaczeniu funkcyjnym. Wykorzystana zostanie analiza bioinformatyczna wsparta badaniami *in vitro* wybranych wirusowych RNA. Znaczenie uniwersalnych elementów strukturalnych będzie ostatecznie sprawdzane poprzez nakierowywanie na nie oligonukleotydowych inhibitorów w liniach komórkowych.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Zaprojektowano oligonukleotydy antysensowe na trzy konserwatywne domeny segmentu 5 (+)RNA wirusa grypy szczepu dzikiego A/California/04/2009 (H1N1). Potwierdzono skuteczność w inhibicji namnażania wirusa oligonukleotydów nacelowanych na konserwatywne motywy rejonów 1079-1194 i 554-763. Rejon 554-763 okazał się labilny w zależności od temperatury i obecności lub nie UTR. Alternatywne lokalne struktury również posiadają zachowawcze strukturalnie pary zasad, co świadczy o funkcjonalnej zmienności pośladowania. Najlepsze oligonukleotydy obniżały namnażanie wirusa 7-5x (*FFU assay*), a ilość wirusowego RNA spadała o 87-70 % (qPCR). Domeny te mogą brać udział w oddziaływaniach RNA-RNA lub RNA-białko i być istotne w prawidłowym przebiegu cyklu życiowego wirusa.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Wykazano właściwości inhibitorowe oligonukleotydów antysensowych nacelowanych na konserwatywne motywy strukturalne rejonów 1079-1194 i 554-763 segmentu 5 (+)RNA5 wirusa grypy typu dzikiego A/California/04/2009 (H1N1).

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Uzyskane wyniki mogą być podstawą dla oligonukleotydowych terapeutyków nakierowanych na wirus grypy.

### **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

#### **Struktura drugorzędowa piątego segmentu wirusa grypy typu A na przykładzie podtypu H1N1**

**Kierownik zadania: mgr inż. Paula Michalak**

#### *Cel badań*

Celem badań jest określenie struktury drugorzędowej vRNA segmentu 5 wirusa grypy podtypu H1N1, szczepu A/California/04/2009 oraz porównanie jej ze strukturą określoną dla podtypu H5N1, szczepu A/Vietnam1203/2004

#### *Opis realizowanych prac*

Wykonano wstępne badania struktury drugorzędowej vRNA5 wirusa A/California/04/2009 (H1N1). W tym celu została przeprowadzona synteza sześciu specyficznych starterów DNA, które następnie zostały wyznakowane barwnikami JOE, FAM oraz ROX i TAMRA. vRNA5 został uzyskany poprzez izolację totalnego RNA z zakażonej wirusem hodowli komórkowej, a następnie przeprowadzenie odwrotnej transkrypcji z starterem pozwalającym na uzyskanie sekwencji

całego segmentu 5. Na otrzymanym w reakcji RT cDNA przeprowadzono reakcję PCR z odpowiednimi starterami, a następnie wykonano transkrypcję *in vitro*. Przeprowadzone reakcje odwrotnej transkrypcji ze znakowanymi starterami ukazały, że dla dwóch z nich (komplementarny do rejonu 1331-1306 nt. oraz 1063-1043 nt. vRNA5) reakcja odwrotnej transkrypcji była niewydajna i ulegała zatrzymaniu. Zsyntetyzowano w związku z tym nową serię starterów w celu optymalizacji odczytu, poprzez odwrotną transkrypcję późniejszych mapowań struktury RNA. Wykonano pierwsze mapowanie struktury drugorzędowej, stosując DMS. Reakcja będzie optymalizowana pod względem zastosowanego stężenia DMS.

## Projekty

---

### **1. Struktura RNA wirusa grypy w warunkach *in vivo* i *in vitro*.**

**Uwarunkowania strukturalne inhibicji namnażania wirusa za pomocą modyfikowanych antysensowych oligonukleotydów, siRNA oraz niskocząsteczkowych ligandów (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Celem projektu jest określenie struktury wirusowego RNA i) w komórkach, ii) w izolowanych z komórek kompleksów RNP, iii) RNA uzyskanych po natywnym odbiaćzaniu iv) transkrybowanych RNA oraz v) wykorzystanie tej wiedzy do inhibicji namnażania wirusa grypy z użyciem antysensowych oligonukleotydów, siRNA i niskocząsteczkowych ligandów. W roku sprawozdawczym opublikowano strukturę drugorzędową segmentu 5 (+)RNA wirusa grypy typu A opartą o dane eksperymentalne. Otrzymano vRNA segmentu 8 szczepu A/California/04/2009 (H1N1). Matrycę do transkrypcji uzyskano poprzez izolację totalnego RNA z zakażonych MDCK. Na uzyskanym w wyniku odwrotnej transkrypcji cDNA przeprowadzono reakcję PCR z odpowiednimi starterami, a następnie wykonano transkrypcję *in vitro* vRNA8. Przeprowadzono reakcje mapowania chemicznego vRNA8 A/California/04/2009 (H1N1) za pomocą DMS i NMIA. Wyniki pozwolą na przyszłe porównanie struktury izolowanego vRNA8 z tym w kompleksie vRNP i w komórce. Równolegle skupiono się na poznaniu struktury vRNA8 w linii komórkowej MDCK. Wstępnie zoptymalizowano reakcje mapowania RNA z użyciem DMS. Odczyt wyników następował po odwrotnej transkrypcji (z ewentualnym namnażaniem cDNA w reakcji PCR) i rozdziale elektroforetycznym na kapilarach. Metoda ta nie dała satysfakcjonujących rezultatów ze względu na bardzo niskie stężenie vRNA. Wobec tego badania skupiły się na zastosowaniu odczytu mapowań poprzez głębokie sekwencjonowanie (NGS) i optymalizacji poszczególnych etapów przygotowania bibliotek przeznaczonych do NGS.

### **2. Funkcja struktury drugorzędowej vRNA wirusa grypy typu A w kompleksie rybonukleoproteinowym podczas cyklu replikacyjnego wirusa (SONATINA)**

**Kierownik projektu: dr Elżbieta Lenartowicz**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Realizacja projektu rozpoczęła się w listopadzie 2017 roku. Głównym założeniem projektu, jest poznanie funkcji struktury drugorzędowej genomowej cząsteczki RNA wirusa grypy A, jaką może ona pełnić na poszczególnych etapach cyklu replikacyjnego. Pierwsze tygodnie realizacji projektu pozwoliły na rozpoczęcie prac związanych z przygotowaniem zmutowanych konstruktów, które posłużą do odzyskania wirusa grypy w hodowlach komórkowych. Wyjściowe plazmidy do odzyskiwania wirusa grypy w hodowli komórkowej pochodzą z laboratorium profesora Adolfo Garcia-Sastre z Icahn School of Medicine w Mount Sinai w Nowym Jorku. Plazmid pPol1, który zawiera sekwencję DNA odpowiadającą 8 segmentowi vRNA, został poddany mutagenzie ukierunkowanej w celu wprowadzenia dodatkowego miejsca rozpoznawanego przez enzym restrykcyjny EcoR1. Miejsce to posłuży do wprowadzenia do vRNA sekwencji odpowiadającej za

utworzenie struktury spinki PP7. Spinka PP7 umożliwi natomiast izolację pojedynczego kompleksu rybonukleoproteinowego (vRNP8) i będzie stanowić podstawę do prowadzenia badań struktury drugorzędowej vRNA w kompleksie vRNP.

### **3. Konserwatywne motywy strukturalne RNA wirusa grypy: klucz do zrozumienia funkcji wirusowych RNA (HARMONIA)**

**Kierownik projektu: dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Grant w 2017 roku trwał pięć miesięcy. Skupiono się na określeniu oddziaływań dalekiego zasięgu i cech struktury trzeciorzędowej danego motywu strukturalnego vRNA segmentu 8 wirusa grypy. Zaprojektowano szereg oligonukleotydów DSLO, składających się z dwóch członów, każdy komplementarny do rejonu zidentyfikowanego jako dostępny dla wiązania oligonukleotydów na podstawie badań z zastosowaniem mikromacierzy izoenergetycznych oraz oligonukleotydy kontrolne (posiadające sekwencje jednego ze składowych oligonukleotydów DSLO). Miejscami wiązań DSLO były oddalone pierwszo- i drugorzędowo rejonu w vRNA8. Hybrydyzacja vRNA8 na mikromacierzy DSLO wykazała wzmocnienie sygnału dla DSLO w stosunku do kontrolnych sond dla kilku miejsc wiązań –silnie w rejonach 252-163, 412-535, a umiarkowanie w rejonach 252-408, 535-69 i 412-69. Na tej podstawie można postulować, że rejonu te muszą być w bliskim sąsiedztwie przestrzennym. Prace są kontynuowane w kierunku wykorzystania tej wiedzy w inhibicji namnażania wirusa oraz w zaproponowaniu modelu struktury 3D dla vRNA8. Obecnie wyniki z mikromacierzy DSLO są wykorzystywane jako wyznaczniki w obliczeniach programu RNAComposer, w celu udokładnienia struktury 3D.

### **4. Modyfikowane siRNA, rybozomy i system CRISPR/Cas jako strategie inhibicji namnażania wirusa grypy typu A. Zastosowanie i porównanie metod inhibicji nakierowanych na wirusowe RNA (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: mgr Julita Kęsy**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Celem grantu jest zastosowanie i porównanie metod inhibicji nakierowanych na wyselekcjonowane motywy strukturalne RNA wirusa grypy. Dotychczas wykonano syntezę chemiczną modyfikowanych siRNA zawierających 2'-fluororybonukleotydy oraz internukleotydowe tiofosforany. Oczyszczone siRNA posłużyły do eksperymentów na linii komórkowej MDCK infekowanej wirusem grypy, w których oceniono potencjał inhibitorowy cząsteczek. Otrzymane wyniki wskazują, że z proponowanych zmian jedynie modyfikacja nici sensowej 2'-fluorocytydyną oraz 2'-fluorourydyną pozwoliła na utrzymanie pełnej aktywności siRNA w stosunku do niemodyfikowanej cząsteczki. Istotnym elementem jest również zachowanie niesparowanych końców 3'-TT. Modyfikowany siRNA pozwolił na uzyskanie inhibicji wirusa grypy na poziomie 88%. Ponadto, syntezie chemicznej poddano także szereg wariantów sekwencyjnych i strukturalnych rybozomu typu *hammerhead*. Wstępne badania aktywności przeciwwirusowej w hodowli komórkowej pokazują, że zaprojektowane cząsteczki nie wykazują wyższego potencjału inhibitorowego od dotychczas testowanych siRNA. Rejon struktury drugorzędowej, w którym lokalizuje się miejsce docelowe działania rybozomu spełnia kryteria sekwencyjne i strukturalne optymalne dla jego aktywności katalitycznej. Należy jednak podkreślić, iż nie jest to rejon, w którym największą aktywność uzyskiwały zaprojektowane wcześniej siRNA. Zbieżność rezultatów uzyskanych dla siRNA oraz rybozymów wskazuje na istotny wpływ wyboru miejsca docelowego w planowaniu strategii inhibitorowych. Wynik jest także spójny z koncepcją, że celowanie w rejonu struktury drugorzędowej, pełniące istotne funkcje biologiczne, może przynieść korzystne efekty.

## **5. Folding RNA: From AIDS to the Human Genome (NIH grant R01GM022939, Subaward number: 416849-G), "Influenza RNA Studies"**

**Kierownik projektu:** Douglas H. Turner – kierownik projektu, University of Rochester, Stany Zjednoczone

**Kierownik zadania w ramach projektu:** dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Projekt w 2017 roku trwał 3 miesiące. W końcowej fazie grantu przetestowano na bazie wcześniejszych doświadczeń nowe oligonukleotydy antysensowe, nacelowane na mRNA wirusa grypy. Były to oligonukleotydy komplementarne do mRNA segmentu 2, 7 i 8. Dla jednego miejsca wiązania sprawdzono oligonukleotydy o różnej długości i odmiennych modyfikacjach. Były to oligonukleotydy typu 2'OMeRNA, 2'OMeRNA-LNA oraz gapmery z modyfikowanymi końcami 5'. Najefektywniej z nowej puli oligonukleotydów inhibowały namnażanie wirusa grypy dwa, nacelowane na mRNA segmentu 2 (inhibicja 50%). Wykazano brak toksyczności wszystkich badanych oligonukleotydów oraz zależność efektu inhibicji od stężenia oligonukleotydu.

## **Publikacje**

---

1. **M. Soszynska-Jozwiak, P. Michalak, W. N. Moss, R. Kierzek, J. Keszy, E. Kierzek,**  
Influenza virus segment 5 (+)RNA - secondary structure and new targets for antiviral strategies  
*Scientific Reports* 2017, 7, 15041
2. A. Dembska, **E. Kierzek**, B. Juskowiak  
Studying the influence of stem composition in pH-sensitive molecular beacons onto their sensing properties  
*Analytica Chimica Acta* 2017, 990, 157-167

## **Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin**

---

**Kierownik Zakładu:** dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN (STATUT)<sup>39</sup>

**Skład osobowy**<sup>40</sup>

Pracownicy naukowcy:

dr Anna Piasecka (STATUT)

dr Marta Pastorczyk (NCN)

Pracownicy techniczni:

dr hab. Karolina Krystkowiak (STATUT)

mgr Karolina Kułak (STATUT)

Doktoranci:

mgr inż. Nicolas Jedrzejczak-Rey (stypendium NCN)

mgr Paweł Czerniawski (stypendium NCN)

## **Działalność statutowa**

**XVIII. Wykorzystanie technik spektrometrii mas w identyfikacji produktów naturalnych pochodzenia roślinnego. Poszukiwanie genów kodujących białka reakcji obronnych w roślinach modelowych (dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN)**

---

<sup>39</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>40</sup> Stan na 31.12.2017 r.

### *Cel badań*

Opracowanie bardziej efektywnych metod niecelowanej analizy metabolomicznej przy wykorzystaniu dostępnych pakietów programów do obróbki statystycznej danych uzyskanych w podejściach -omicznych, w szczególności metabolomicznych. Wykorzystanie tych metod w identyfikacji metabolitów wtórnych roślin rodziny *Brassicaceae*.

### *Opis zrealizowanych prac*

Wykorzystując kilka dostępnych programów (serwisów www) dokonano analizy danych uzyskanych w analizach metabolomicznych ekstraktów materiału roślinnego pochodzącego z siewek wybranych gatunków *Brassicaceae*, poddanych działaniu wzorca molekularnego związanego z patogenem. Analizy obejmowały min. analizę głównych składowych oraz *volcano plot*.

### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Przeprowadzone analizy umożliwiły porównanie odpowiedzi metabolomicznej *Arabidopsis thaliana*, *Capsella rubella*, *Cardamine hirsuta* oraz *Thellungiella halophila* na wzorec molekularny związany z patogenem. Dodatkowo zidentyfikowano metabolity różnicujące badane gatunki.

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Opracowana metodyka zostanie zastosowana w dalszych analizach LC/MS prowadzonych w zakładzie. Uzyskane wyniki są przygotowywane do publikacji.

## **Projekty**

---

### **1. Molekularne mechanizmy utraty szlaku metabolicznego na przykładzie gatunków blisko spokrewnionych z rośliną modelową *Capsella rubella* (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Porównano (LC-MS) profile glukozynolanów w różnych organach i w różnych stadiach rozwojowych *Arabidopsis thaliana*, *Capsella bursa-pastoris*, *Capsella rubella*, *Capsella grandiflora*, *Camelina sativa* i *Neslia paniculata*. Analizy metodą odwrotnej ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (RT-qPCR) ekspresji genów związanych z biosyntezą glukozynolanów w *Arabidopsis thaliana* i *Capsella rubella* wykazały, że brak glukozynolanów indolowych koreluje z obniżonym poziomem (brakiem) ekspresji *CYP83B1* i *MYB34*. Wygenerowano podwójne mutanty *Arabidopsis myb34 cyp83B1*, *myb51 cyp83B1* oraz *myb34 sur1*, które będą wykorzystane w dalszych doświadczeniach.

### **2. Roślinne metabolity wtórne w kontroli kolonizacji roślin przez mikroorganizmy (SONATA BIS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

W celu analizy funkcji pochodnych kwasu indolilo-3-karboksylowego w odporności *Arabidopsis thaliana* na infekcję przez mikroorganizmy patogenne, uzyskane mutanty podwójne i potrójne *pen2 cyp71A12*, *pen2 cyp71A12 cyp71A13* i *pen2 cyp82C2* zostały poddane testom podatności na infekcję przez *Colletotrichum gloeosporioides* i *Plectosphaerella cucumerina*. Kontynuowano analizy zmian metabolomicznych indukowanych przez infekcję *Plectosphaerella cucumerina* w >100 ekotypach *Arabidopsis*. Na podstawie uzyskanych wyników wykonano wstępne analizy asocjacyjne całego genomu, które mają na celu identyfikację nowych genów związanych z biosyntezą pochodnych tryptofanu (min. kwas indolilo-3-karboksylowy). Dalsze HPLC, LC/MS oraz RT-qPCR pozwoliły na identyfikację nowych pochodnych serotoniny, których akumulacja jest indukowana w odpowiedzi *Brachypodium distachyon* na infekcję. Zidentyfikowano też kolejne geny, które mogą być związane z biosyntezą tych związków. Na podstawie tych wyników wytypowano też gen, który ma zostać uszkodzony za pomocą techniki CRISPR/Cas9.

### 3. Funkcja roślinnych metabolitów wtórnych w promocji wzrostu indukowanej przez endofity grzybowe (HARMONIA)

**Kierownik projektu: dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Przeprowadzono doświadczenia mające na celu identyfikację szczepów grzybów endofitycznych, promujących wzrost *Arabidopsis thaliana* w warunkach niedoboru fosforu. Użyto 32 szczepy z kolekcji grzybowych endofitów wyizolowanych w Instytucie Maxa Plancka w Kolonii, dla których dostępne będą wkrótce sekwencje genomowe. W przeprowadzonych doświadczeniach kilka szczepów testowanych endofitów w statystycznie istotnym stopniu zwiększało biomasę roślin *A. thaliana*. Dodatkowo kilka szczepów miało negatywny wpływ na wzrosty roślin. Wybrane szczepy będą wykorzystane w kolejnych doświadczeniach, dotyczących wpływu endofitów promujących wzrost roślin na metabolizm wtórny *Arabidopsis*. Wykonano wstępne analizy LC/MS mające na celu określenie zmian wywoływanych przez kolonizację grzybem endofitycznym (*Colletotrichum tofieldiae*) w metabolizmie wtórnym korzenia *Arabidopsis*. Wygenerowano podwójne mutanty *cyp81F1 cyp81F2*, *cyp81F2 cyp81F3* oraz *cyp81F2 cyp81F4* z defektami w biosyntezie modyfikowanych glukozyzowanych indolowych, które będą wykorzystane w dalszych doświadczeniach dotyczących promocji wzrostu przez mikroorganizmy patogenne.

#### Publikacje

---

1. R.T. Nakano, **M. Pisłewska-Bednarek**, K. Yamada, P.P. Edger, M. Miyahara, M. Kondo, C. Böttcher, M. Mori, M. Nishimura, P. Schulze-Lefert, I. Hara-Nishimura, **P. Bednarek**  
PYK10 myrosinase reveals a functional coordination between endoplasmic reticulum bodies and glucosinolates in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* 2017, 89, 204-220
2. S. Fukunaga, M. Sogame, M. Hata, S. Singkaravanit-Ogawa, **M. Pisłewska-Bednarek**, M. Onozawa-Komori, T. Nishiuchi, K. Hiruma, H. Saitoh, R. Terauchi, S. Kitakura, Y. Inoue, **P. Bednarek**, P. Schulze-Lefert, Y. Takano  
Dysfunction of Arabidopsis MACPF domain protein activates programmed cell death via tryptophan metabolism in MAMP-triggered immunity  
*Plant Journal* 2017, 89, 381-393
3. H. Kuhn, J. Lorek, M. Kwaaitaal, C. Consonni, K. Becker, C. Micali, E. Ver Loren van Themaat, **P. Bednarek**, T.M. Raaymakers, M. Appiano, Y. Bai, D. Meldau, S. Baum, U. Conrath, I. Feussner, R. Panstruga  
Key Components of Different Plant Defense Pathways Are Dispensable for Powdery Mildew Resistance of the Arabidopsis *mlo2 mlo6 mlo12* Triple Mutant  
*Frontiers in Plant Science* 2017, 8, 1006
4. H. Wu, M. Kwaaitaal, R. Strugala, U. Schaffrath, **P. Bednarek**, R. Panstruga  
Chemical suppressors of *mlo*-mediated powdery mildew resistance  
*Bioscience Reports* 2017, 37, BSR20171389
5. M. Ozarowski, P. L. Mikolajczak, **A. Piasecka**, R. Kujawski, J. Bartkowiak-Wieczorek, A. Bogacz, M. Szulc, E. Kaminska, M. Kujawska, A. Gryszczynska, P. Kachlicki, W. Buchwald, A. Klejewski, A. Seremak-Mrozikiewicz  
Effect of *Salvia miltiorrhiza* root extract on brain acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities, their mRNA levels and memory evaluation in rats  
*Physiology & Behavior* 2017, 173, 223-230
6. M. Ozarowski, **A. Piasecka**, A. Gryszczynska, A. Sawikowska, A. Pietrowiak, B. Opala, P. Mikolajczak, R. Kujawski, P. Kachlicki, W. Buchwald, A. Seremak-Mrozikiewicz  
Determination of phenolic compounds and diterpenes in roots of *Salvia miltiorrhiza* and *Salvia przewalskii* by two LC-MS tools: Multi-stage and high resolution tandem mass spectrometry with assessment of antioxidant capacity.  
*Phytochemistry Letters* 2017, 20, 331-338

Prace przyjęte do druku:

**M. Pislewska-Bednarek**, R.T. Nakano, K. Hiruma, **M. Pastorczyk**, A. Sanchez-Vallet, S. Singkaravanit-Ogawa, **D. Ciesiolka**, Y. Takano, A. Molina, P. Schulze-Lefert, **P. Bednarek**  
Glutathione transferase U13 functions in pathogen-triggered glucosinolate metabolism.  
*Plant Physiology*

## **Zakład Neurobiologii Molekularnej**

---

**Kierownik Zakładu: dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN (STATUT)<sup>41</sup>**

**Skład osobowy<sup>42</sup>**

Pracownicy techniczni:

mgr inż. Wojciech Szlachcic (STATUT)

Doktoranci:

mgr Kalina Wiatr (stypendium NCN)

mgr Piotr Piasecki (stypendium NCN)

mgr inż. Karolina Świtońska (stypendium NCN)

### **Działalność statutowa**

**VIII. Struktura i funkcja kwasów rybonukleinowych oraz ich zastosowania terapeutyczne (prof. dr hab. Włodzimierz Krzyżosiak)**

**1. Nowe podejścia do eksperymentalnej terapii chorób neurodegeneracyjnych z wykorzystaniem RNAi na modelach komórkowych oraz mysich choroby Huntingtona (HD) i ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 (SCA3)(dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN, wspólnie z prof. dr hab. Włodzimierzem J. Krzyżosiakiem) – zadanie zostało również przedstawione na str. 57**

#### *Cel badań*

Celem badań było trwałe wyciszenie ekspresji huntingtyny w mysich i ludzkich modelach komórkowych – indukowanych pluripotencjalnych komórkach macierzystych (iPSC) – choroby Huntingtona (HD) w celu ich wykorzystania w autologicznej terapii komórkowej oraz w badaniach nad funkcjami huntingtyny.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Wyciszenie uzyskano z zastosowaniem cząsteczek typu shRNA, które trwale wprowadzono do genomu komórek iPS z wykorzystaniem transpozonu piggyBac. Transpozon wprowadzono do linii iPS z mysiego modelu HD, YAC128, oraz do komórek iPS od osób zdrowych i pacjentów postaci młodzieńczej HD (jeden pacjent 71, drugi pacjent 109 glutamin w białku) na drodze elektroporacji. W liniach tych zbadano ekspresję białka huntingtyny oraz szeregu innych białek deregulowanych w YAC128 iPSC, przykładowo białka p53, którego ekspresja jest obniżona w tych komórkach oraz komórkach ludzkich (109Q). Podobne analizy przeprowadzono w neuronalnych komórkach macierzystych wyprowadzonych z linii YAC128 iPSC. Ponadto we współpracy z Zakładem Biologii Molekularnej i Systemowej oraz Pracownią Genomiki przeprowadzono sekwencjonowanie (RNASeq) ludzkich linii komórek iPS (linie od osób zdrowych, pacjentów) w kierunku różnic ekspresji mRNA oraz kolistych RNA. Różnicujące mRNA potwierdzono metodą qPCR.

---

<sup>41</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>42</sup> Stan na 31.12.2017 r.

### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Uzyskano mysie linie YAC128-iPSC z ekspresją shRNA wyciszających ekspresję zmutowanej huntingtyny w sposób trwały, również po zróżnicowaniu do neuronalnych komórek macierzystych. W YAC128-iPSC wykazano naprawę fenotypu białka p53 w odpowiedzi na wyciszenie huntingtyny, co wskazuje p53 jako potencjalny marker terapeutyczny. Wyprowadzono pierwsze ludzkie iPSC z wysokim poziomem wyciszenia całkowitej huntingtyny. Wykrycie zmian w ekspresji kilkudziesięciu RNA i kolistych RNA w ludzkich komórkach HD iPSC względem komórek zdrowych oraz dla kilkunastu mRNA, potwierdzono metodą qPCR.

### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Wyprowadzone linie komórkowe można wykorzystać do komórkowej terapii *in vivo* mysiego modelu HD, YAC128, jak również do badań nad bezpieczeństwem oraz mechanizmami terapeutycznymi takiego podejścia, zarówno w warunkach *in vivo* jak i *in vitro*. Ludzkie izogeniczne komórki iPS mogą również zostać wykorzystane w badaniu nad funkcjami rozwojowymi normalnej huntingtyny i wpływem mutacji na te funkcje.

## **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

### **1. Stworzenie warsztatu generowania izogenicznych i naiwnych ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC) z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas9**

**Kierownik zadania: mgr inż. Wojciech Szlachcic**

#### *Cel badań*

Pierwszym celem badań było przekształcenie ludzkich komórek pluripotencjalnych (iPS) ze stanu pluripotencji aktywowanej do stanu pluripotencji naiwnej, odpowiadającej wcześniejszemu stanowi rozwoju, w celu zmniejszenia heterogenności linii komórek iPS oraz zwiększenia wydajności metod inżynierii genetycznej. Drugim celem było stworzenie narzędzi CRISPR/Cas9 i wyprowadzenie z ich użyciem pierwszych linii ludzkich komórek iPS z możliwością kontrolowanego wyciszenia ekspresji huntingtyny, pierwszych tego typu. Takie linie byłyby dogodnym modelem do badań nad neurorozwojowymi funkcjami huntingtyny.

#### *Opis realizowanych prac*

Podjęto wielokrotne próby przekształcenia komórek iPS w stanie pluripotencji aktywowanej do stanu pluripotencji naiwnej, jednakże nie zakończyły się one powodzeniem. Prawdopodobną przyczyną niemożności utrzymania ludzkich komórek w stanie pluripotencji naiwnej było przeprowadzenie hodowli komórek w zbyt wysokim stężeniu tlenu. Badania te będą kontynuowane z użyciem inkubatora pozwalającego na redukcję stężenia tlenu do 5% (tzw. hypoksja). Sprowadzono z repozytorium Addgene podstawowe plazmidy systemu CRISPR/Cas9 oraz metody FLIP. Pozytywnie namnożono i wyizolowano te plazmidy co zostało potwierdzone metodami PCR, analizą restrykcyjną oraz sekwencjonowaniem. Zaprojektowano dwie sekwencje sgRNA niezbędne do wycelowania w gen HTT metodą CRISPR i z sukcesem wklonowano je do pustego plazmidu sgRNA. Wszystkie plazmidy zostały zmagazynowane. Wyniki prac nad amplifikacją ramion homologicznych HTT do celowanej (knock-in) modyfikacji tego genu oraz uzyskane plazmidy zostaną wykorzystane w przyszłych projektach.

## **Projekty**

---

### **1. Definiowanie nowych mechanizmów neurodegeneracji z użyciem pierwszego modelu knock-in SCA3/MJD (SONATA BIS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Projekt dotyczy zdefiniowania nowych mechanizmów neurodegeneracji poprzez identyfikację

biomolekuł zaangażowanych w patogenezę myszy SCA3 Ki91. Dodatkowo celem jest zdefiniowanie roli nowo odkrytych biomolekuł i procesów na różnych etapach rozwoju choroby neurodegeneracyjnej oraz roli ataksyny-3 w regulacji ekspresji genów. Proteomika: Identyfikacja biomolekuł zaangażowanych w neurodegenerację w myszy Ki91 mut/mut została zakończona na zwierzętach w okresie przypadającym na progresję choroby. Zidentyfikowano biomolekuły za pomocą podejścia cało-proteomicznego w myszach 2, 4, 6, 8, 10, 12 i 14 miesięcy w korze mózgowej i mózdzku. Zidentyfikowano ok. 1000 deregulowanych biomolekuł. Molekuły poddano analizie metodami bioinformatycznymi: wyznaczono deregulowane procesy, ścieżki sygnałowe i białka typowe dla różnych rodzajów komórek w mózgu, wyznaczając komórkowe źródła patologii. Transkryptomika: Do przeprowadzonego głębokiego sekwencjonowania transkryptów z kory i mózdzku dwu miesięcznej myszy Ki91 mut/mut dodano walidację hitów transkryptomicznych. Do analizy dodano korę mózgową i mózdzek z myszy FVB jako kontrolę. Okazało się, że uzyskane poprzednio 10 hitów transkryptomicznych nie było deregulowanych w FVB (kontrola komórek 129sv, których użyto do transgenezy Ki91). Pokazano w sposób systematyczny, że u młodych myszy SCA3/MJD Ki91 (2 miesiące) nie wystąpiły istotne zmiany transkrypcyjne, natomiast ujawniły się u nich zmiany w proteomie. Analizy behawioralne *rotarod*, *static rod* i *parallel rod* wykonano na myszach 2, 4, 6, 8, 10, 12-miesięcznych.

## Publikacje

---

**W.J. Szlachcic, K. Wiatr, M. Trzeciak, M. Figlerowicz, M. Figiel**

The Generation of Mouse and Human Huntington Disease iPS Cells Suitable for In vitro Studies on Huntingtin Function

*Frontiers in Molecular Neuroscience* 2017, 10, 312

Prace przyjęte do druku:

**K. Wiatr, W.J. Szlachcic, M. Trzeciak, M. Figlerowicz, M. Figiel**

Huntington Disease as a Neurodevelopmental Disorder and Early Signs of the Disease in Stem Cells  
*Molecular Neurobiology*

## Zakład Biochemii Produktów Naturalnych

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Maciej Stobiecki (STATUT)<sup>43</sup>**

**Skład osobowy<sup>44</sup>**

Pracownicy naukowci:

dr Marta Sikora (STATUT)

Pracownicy techniczni:

mgr Danuta Ciesiołka (STATUT)

Doktoranci:

mgr Izabela Bielińska (stypendium KNOW)

mgr Olga Utyro (stypendium KNOW)

mgr Jacek Wróblewski (stypendium KNOW)

mgr Marianna Sassek (stypendium KNOW)

mgr Marta Nolka-Szaszner (stypendium KNOW)

mgr Joanna Tracz (stypendium NCN)

---

<sup>43</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>44</sup> Stan na 31.12.2017 r.

## **Pracownia Spektrometrii Mas**

Kierownik: dr Łukasz Marczak (STATUT)

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN (STATUT)

Pracownicy techniczni:

mgr inż. Jakub Idkowiak (STATUT)

## **Pracownia Analiz Wysokoprzepustowych**

Kierownik: dr Radosław Pilarski (STATUT)

Pracownicy techniczni:

inż. Jan Sadoch (STATUT)

## **Działalność statutowa**

### **I. Wykorzystanie technik spektrometrii mas do monitorowania zmian w składzie metabolitów wtórnych (prof. dr hab. Maciej Stobiecki)**

#### *Cel badań*

Określenie profili fenolowych metabolitów wtórnych w częściach zielonych 18 gatunków roślin rodzaju *Hypericum*.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Przeprowadzono ekstrakcję metabolitów wtórnych z 17 gatunków roślin rodzaju *Hypericum*. Próbkę przygotowano w 4 powtórzeniach biologicznych, w celu przeprowadzenia profilowania produktów naturalnych metodami LC/ESIMS pod kątem jakościowym i ilościowym. Przeprowadzono identyfikację i analizę statystyczną wyników ilościowych.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Zidentyfikowano 37 metabolitów należących do klasy flawonoidów, pochodnych anthrachinonu, kwasów fenylopropenowych. Wykazano duże zróżnicowanie w zawartości hyperycyny w poszczególnych gatunkach roślin rodzaju *Hypericum*.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Badania wykonano we współpracy z zespołem Prof. Ewy Celarowej z Uniwersytetu w Koszycach, Słowacja. Uzyskane wyniki zostały wykorzystane podczas przygotowania publikacji.

## **Projekty**

---

### **1. Poszukiwanie molekularnych mechanizmów progresji miażdżycy w przewlekłej chorobie nerek (OPUS)**

**Kierownik projektu: dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Zakończono etap zbierania próbek komórek krwi, osocza i surowicy do projektu (zadanie 1). Przeprowadzono porównawczą analizę frakcji komórek jednojądrzastych krwi obwodowej pochodzącej od następujących grup eksperymentalnych: zdrowych ochotników, pacjentów cierpiących na przewlekłą chorobę nerek w różnym stopniu zaawansowania oraz pacjentów z chorobą sercowo-naczyniową. Wykonano również oznaczenia wybranych parametrów stresu oksydacyjnego w próbkach komórek i osocza, między innymi poziomu homocysteiny, frakcji oxLDL, glutationu, peroksyredoksyny VI, zaawansowanych produktów utlenienia białek oraz białek karbonylowanych. Do oznaczeń wykorzystano metody spektrometrii mas sprzężone z chromatografią cieczą, metody immunoenzymatyczne oraz elektroforetyczne. Wykonano optymalizację przygotowania prób, a następnie przeanalizowano 220 próbek. Dane eksperymentalne opracowano.

Wykonano następnie oznaczenia różnych klas lipidów w próbkach osocza. Do oznaczeń wykorzystano metody spektrometrii mas oraz chromatografii cieczowej. Separację frakcji lipidowej z osocza krwi prowadzono z zastosowaniem zoptymalizowanej metody ekstrakcji MTBE opracowanej przez V. Matyasha, a do przeprowadzenia analizy ilościowo-statystycznej profilu metabolicznego wykorzystano dwa rodzaje spektrometrów masowych – MALDI-TOF/TOF oraz nanoESI-Q/OT. Wykonano optymalizacje przygotowania osocza, a następnie przeanalizowano 120 próbek. Dane eksperymentalne opracowano i przeanalizowano z wykorzystaniem oprogramowania Simlipid oraz statystycznie z użyciem programu Perseus. Przygotowano wstępną wersję manuskryptu publikacji.

## **2. Ewolucyjne modelowanie fizykochemicznych warunków nadekspresji wirusowych replikonów w płynnych kulturach roślinnych (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Radosław Pilarski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Realizowany projekt ma na celu adaptację istniejących metod produkcji rekombinowanych białek do stosowania w płynnych kulturach roślinnych poprzez optymalizację fizykochemicznych warunków transformacji i ekspresji. Istniejące systemy są niskowydajne, nie oferują właściwego wzorca glikozylacji i fałdowania białek. Do nielicznych wyjątków należą wirusowe systemy ekspresji przejściowej w komórkach roślinnych. Niestety systemy takie opracowano z myślą o agroinfiltracji dojrzałych i ukształtowanych roślin. Najczęściej DNA wirusów zostaje wprowadzane do komórek roślinnych przez *Agrobacterium*. Wektory iniekowane są w niewielkim podciśnieniu w wiązki przewodzące liści. Metoda ta jest pracochłonna, a przede wszystkim trudna to standaryzacji i kontrolowania zgodnie ze standardami GLP/GMP, gdyż transfekcja przeprowadzana jest w niesterylnych i zmiennych warunkach szklarniowych. Dla osiągnięcia przedstawionego celu wykorzystane zostały algorytmy genetyczne wspomagane sieciami neuronowymi. Opracowano sposób prowadzenia doświadczeń w mikroskali do przygotowywania pożywek oraz wykorzystania samodzielnie zaprojektowanych niskogabarytowych fitotronów, umożliwiających efektywne przeszukanie milionów kombinacji różnych parametrów fizykochemicznych, mogących mieć wpływ na ekspresję replikonów w komórkach roślinnych.

## **3. Przeżywalność i stres oksydacyjny w hiperhomocysteinemii (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Marta Sikora**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Kontynuowano hodowlę myszy typu dzikiego C57BL/B6, 6 grup po 5 osobników (grupa samców i grupa samic na diecie kontrolnej, na diecie z 1% Metioniną oraz z 2% Met dodawaną do wody pitnej), zbierano krew oraz mocz raz w miesiącu oraz ważono myszy 2 razy w miesiącu. Za pomocą testów immunoenzymatycznych ELISA wykonano analizy kilku czynników stresu oksydacyjnego w próbkach osocza, m.in. dysmutazy ponadtlenkowej, zaawansowanych produktów utleniania białek, peroksyredoksyny 1. Ponadto wykonano analizy proteomiczne, mające na celu porównanie proteomu osocza myszy na diecie wysokometionowej oraz kontrolnych, z wykorzystaniem metod spektrometrii mas. Statystyczne opracowanie wyników analiz za pomocą programu Perseus pozwoliło na wyłonienie grupy białek różnicujących w osoczu między grupą myszy kontrolnych, a grupą myszy z zaindukowaną dietetycznie hiperhomocysteinemią. Wykazano również różnice w proteomie myszy z zaindukowaną hiperhomocysteinemią ze względu na płeć.

## **4. Rola hiperhomocysteinemii w sygnalizacji zapachowej u myszy (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: mgr Jacek Wróblewski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Dotychczasowo przeprowadzone badania dowodzą, iż myszy z homocystinurią (wywołaną przez

*knock-out* genu *cbs*) wykazują zmiany ilościowe, jak i jakościowe w proteomie moczu. W porównaniu z myszami typu dzikiego, u myszy tych obserwowany jest istotnie obniżony poziom białek *Major Urinary Proteins* w moczu. Ponadto u samic *cbs*<sup>-/-</sup> występuje białko charakterystyczne dla samców – MUP21 (znane również jako darcyna). Zmiany ilościowe i jakościowe w profilach białek MUP zostały również potwierdzone z wykorzystaniem analiz typu Western blot dla wątrób i nerek. Zbadano również poziom ekspresji genów białek MUP z wykorzystaniem analiz *Real Time* qRT-PCR – otrzymane wyniki są zgodne z przyjętą hipotezą badawczą. Wykazano również, iż reszty lizynowe w białkach MUP mogą ulegać *N*-homocysteinyłacji w warunkach *in vitro*. Analizy behawioralne wskazały, że mocz samców *cbs*<sup>-/-</sup> nie jest atrakcyjny dla samic myszy typu dzikiego (C57BL/B6), podobnie – mocz samic typu *cbs*<sup>-/-</sup> jest mniej atrakcyjny dla samców typu dzikiego. W celu określenia podłoża zaobserwowanych zmian, wykonano również analizy *Real-Time* qRT-PCR dla genów kodujących receptory wybranych hormonów, które mogą być powiązane z regulacją ekspresji białek MUP w wątrobie. Wykazano znaczne, istotne statystycznie różnice dla transkryptów receptorów hormonów: androgenowego oraz hormonu wzrostu, co może sugerować wpływ zaburzeń metabolizmu homocysteiny na gospodarkę hormonalną myszy.

## **5. Patofizjologiczne konsekwencje N-homocysteinyłacji histonów w hiperhomocysteinemii spowodowanej niedoborem CBS (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: mgr Izabela Bielińska**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Badania koncentrowały się wokół zagadnienia hiperhomocysteinemii i jej negatywnego oddziaływania na funkcjonowanie organizmu. Kontynuowano przeprowadzanie analizy proteomu wybranych organów myszy *Cbs*<sup>-/-</sup> (z hiperhomocysteinemią wywołaną genetycznie) oraz myszy *Cbs*<sup>+/+</sup> metodą elektroforezy 2DE, spektrometrii mas MALDI-TOF oraz metodą „*label free proteomics*” z wykorzystaniem spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią cieczą. Otrzymane dane poddano obróbce przy użyciu narzędzi bioinformatycznych. Przeprowadzono analizę statystyczną otrzymanych danych z wykorzystaniem programu Perseus. W przypadku danych uzyskanych metodą elektroforezy dwukierunkowej, do analizy otrzymanych danych wykorzystano oprogramowanie SameSpots. Wykonano także analizę, integrację i interpretację danych proteomicznych za pomocą aplikacji Ingenuity Pathway Analysis. Przygotowywany jest manuskrypt publikacji.

## **6. Struktura i funkcja białka Glod4 (PRELUDIUM)**

**Kierownik projektu: mgr inż. Olga Utyro**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Wykonano analizę ilości białka GLOD4 (ang. *glyoxalase domain containing protein 4*), tkanek mózgów osób cierpiących na chorobę Alzheimera i osób, u których nie stwierdzono zaburzeń poznawczych. Wykorzystano metodę Western blot. Analogiczne analizy przeprowadzono dla mózgu myszy typu *Blmh*<sup>-/-</sup> oraz myszy typu dzikiego. Metodą qRT-PCR określono względną ilość mRNA Glod4 w tkance mózgu myszy typu *Blmh*<sup>-/-</sup> oraz myszy typu dzikiego.

## **Publikacje**

---

1. **M. Baranek, A. Belter, M.Z. Naskret-Barciszewska, M. Stobiecki, W.T. Markiewicz, J. Barciszewski** Effect of small molecules on cell reprogramming  
*Molecular BioSystems* 2017, 13, 277-313

2. **B. Swarczewicz**, A. Sawikowska, **L. Marczak**, **M. Luczak**, **D. Ciesiolka**, K. Krystkowiak, A. Kuczynska, **M. Pislewska-Bednarek**, P. Krajewski, **M. Stobiecki**  
Effect of drought stress on metabolite contents in barley recombinant inbred line population revealed by untargeted GC-MS profiling  
*Acta Physiologiae Plantarum* 2017, 39, 158
3. A. Wozniak, M. Formela, P. Bilman, K. Grzeskiewicz, W. Bednarski, **L. Marczak**, D. Narozna, K. Dancewicz, V.C. Mai, B. Borowiak-Sobkowiak, J. Floryszak-Wieczorek, B. Gabrys, I. Morkunas  
The Dynamics of the Defense Strategy of Pea Induced by Exogenous Nitric Oxide in Response to Aphid Infestation  
*International Journal of Molecular Sciences* 2017, 18, 329
4. W. Smulek, A. Zdarta, A. Pacholak, A. Zgola-Grzeskowiak, **L. Marczak**, M. Jarzebski, E. Kaczorek  
Saponaria officinalis L. extract: Surface active properties and impact on environmental bacterial strains  
*Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* 2017, 150, 209-215
5. M. Ros-Mazurczyk, A. Wojakowska, **L. Marczak**, K. Polanski, M. Pietrowska, K. Jelonek, I. Dominczyk, A. Hajduk, T. Rutkowski, K. Skladowski, P. Widlak  
Ionizing radiation affects profile of serum metabolites: increased level of 3-hydroxybutyric acid in serum of cancer patients treated with radiotherapy  
*Acta Biochimica Polonica* 2017, 64, 189-193
6. R.M. Thompson, D. Dytfeld, L. Reyes, R.M. Robinson, B. Smith, Y. Manevich, A. Jakubowiak, M. Komarnicki, A. Przybylowicz-Chalecka, T. Szczepaniak, A.K. Mitra, B.G. Van Ness, **M. Luczak**, N. G. Dolloff  
Glutaminase inhibitor CB-839 synergizes with carfilzomib in resistant multiple myeloma cells  
*Oncotarget* 2017, 8, 35863-35876
7. A. Wozniak, K. Drzewiecka, **J. Kesy**, **L. Marczak**, D. Narozna, M. Grobela, R. Motala, J. Bocianowski, I. Morkunas  
The Influence of Lead on Generation of Signalling Molecules and Accumulation of Flavonoids in Pea Seedlings in Response to Pea Aphid Infestation  
*Molecules* 2017, 22, 1404
8. **M. Luczak**, T. Kubicki, Z. Rzetelska, T. Szczepaniak, A. Przybylowicz-Chalecka, B. Ratajczak, J. Czerwinska-Rybak, A. Nowicki, M. Joks, A. Jakubowiak, M. Komarnicki, D. Dytfeld  
Comparative proteomic profiling of sera from patients with refractory multiple myeloma for predicting response to bortezomib-based therapy  
*Polish Archives of Internal Medicine-Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej* 2017, 127, 392-400
9. A. Zdarta, **J. Tracz**, **M. Luczak**, U. Guzik, E. Kaczorek  
Hydrocarbon-induced changes in proteins and fatty acids profiles of *Raoultella ornithinolytica* M03  
*Journal of Proteomics* 2017, 164, 43-51
10. A.A. Rawluszko-Wieczorek, **L. Marczak**, N. Horst, K. Horbacka, P. Krokowicz, P.P. Jagodzinski  
Significance of intratissue estrogen concentration coupled with estrogen receptors levels in colorectal cancer prognosis  
*Oncotarget* 2017, 8, 115546-115560
11. M. Ros-Mazurczyk, A. Wojakowska, **L. Marczak**, K. Polanski, M. Pietrowska, J. Polanska, R. Dziadziuszko, J. Jassem, W. Rzyman, P. Widlak  
Panel of serum metabolites discriminates cancer patients and healthy participants of lung cancer screening – a pilot study  
*Acta Biochimica Polonica* 2017, 64, 513-518
12. **K. Chmielewska**, **P. Rodziewicz**, **B. Swarczewicz**, A. Sawikowska, P. Krajewski, **L. Marczak**, **D. Ciesiolka**, A. Kuczynska, K. Mikolajczak, P. Ogrodowicz, K. Krystkowiak, M. Surma, T. Adamski, **P. Bednarek**, **M. Stobiecki**

Analysis of Drought-Induced Proteomic and Metabolomic Changes in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Leaves and Roots Unravels Some Aspects of Biochemical Mechanisms Involved in Drought Tolerance w: *Plants, Stress & Proteins*  
(red. D. Ghosh, Q. Lin, J. Xu, H. A. Hellmann)  
2017, 93-105, Frontiers Media

## **Zakład Biologii Medycznej**

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska**  
**(0,2 STATUT/0,5 NCBR)<sup>45</sup>**

### **Skład osobowy<sup>46</sup>**

Pracownicy techniczni:

dr Agnieszka Belter (STATUT)

Doktoranci:

mgr inż. Paweł Głodowicz (stypendium KNOW)

### **Działalność statutowa**

#### **VI. Wykorzystanie zmodyfikowanych nukleotydów RNA i DNA w diagnostyce medycznej i biotechnologii (prof. dr hab. Mirosława Z. Naskręt-Barciszewska)**

##### *Cel badań*

Wykorzystanie zmodyfikowanych składników DNA (5-metylocytozyny i 8-hydroksyguanozyny) do diagnozowania guzów mózgu oraz innych nowotworów.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Dla realizacji zadań konieczne jest wydzielenie czystego, niezdegradowanego genomowego DNA, który pozyskiwano z krwi, tkanek nowotworowych oraz spermy (ludzi). Za pomocą unikalnej metody opracowanej w zakładzie zawartość ilościową metylo-5-cytozyny w DNA określano metodą chromatografii cienkowarstwowej a 8-hydroksyguanozynę analizowano za pomocą HPLC z detektorem elektrochemicznym. Powyższą metodę zastosowano do:

- zakresu badań związanych z efektem epigenetycznym leków stosowanych w różnych patologiach (wpływ deksametazonu i kwasu walproinowego na przeżywalność komórek nowotworowych oraz na zmiany ilościowe zmodyfikowanych nukleotydów w DNA),
- oceny zawartości m<sup>5</sup>C w DNA z krwi pacjentów w różnych stanach bólowych.

Kontynuowano badania nad DNA z tkanki nowotworowej guzów zwiększając liczebność grupy pacjentów oraz poszerzono o badanie metylacji w krwi u tych pacjentów oceniając relację metylacji w obu miejscach, a także badano zawartości 8-hydroksyguanozyny, poszerzając ocenę o kolejne podtypy guzów zgodnie z klasyfikacją WHO

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Stwierdzono, że w DNA krwi pacjentów cierpiących z powodu bólu zawartość m<sup>5</sup>C a także 8-hydroksyguanozyny zależna jest od stopnia nasilenia bólu i czasu jego trwania. W DNA guzów przerzutowych (tkanka oraz krew) stwierdzono zróżnicowaną zawartość m<sup>5</sup>C zależną od źródła przerzutu (płuco, nerki, czerniak skóry, jelito grube). Obserwacja ta pozwoli na skuteczniejsze ustalenie pochodzenia zmiany przerzutowej. Poziom obserwowanych zmian w krwi i tkance jest podobny. Zaobserwowano także, że zawartości 5-metylocytozyny w DNA mężczyzn z niepłodnością znacznie się obniża.

---

<sup>45</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>46</sup> Stan na 31.12.2017 r.

### Wykozystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki wskazują, że metoda ilościowego oznaczania zmodyfikowanych składników DNA może być przydatna do: diagnostyki nowotworów, leczenia bezpłodności mężczyzn oraz testowania leków.

## Projekty

---

### Katalityczne RNA jako narzędzie w biotechnologii mitochondriów ludzkich (PRELUDIUM)

**Kierownik projektu: mgr inż. Piotr Głodowicz**

#### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Jednym z głównych zadań projektu jest rozszerzenie strategii transportu sekwencji podobnych do tRNA (*tRNA-like*) do mitochondriów komórek ludzkich. Mitochondria wykazują swoistą autonomię, w związku z czym nie ma skutecznych metod interwencji w ich program genetyczny. Dane literaturowe pokazują, że pomimo posiadania pełnego zestawu genów kodujących tRNA, mitochondria komórek ludzkich zachowały zdolność do ich importu z cytoplazmy. W naszym podejściu wykorzystaliśmy ten mechanizm w celu dostarczenia do mitochondriów struktur podobnych do tRNA. W pierwszym etapie zaprojektowano struktury *tRNA-like* o różnych wariantach aminoacylacji. Następnie wybrane cząsteczki, których zdolność do aminoacylacji została potwierdzona, poddane zostały testom mającym określić zdolności mitochondriów do ich importu. W tym celu z komórek HepG2 wyizolowano mitochondria i inkubowano je w odpowiednim buforze wraz ze znakowanymi radioaktywnie strukturami *tRNA-like*. Po 30 minutach inkubacji mieszanina reakcyjna poddawana była działaniu RNaz w celu usunięcia pozostałego w niej niezaimportowanego RNA. Mitochondria były odwirowywane, a następnie izolowano z nich RNA metodą Chomczyńskiego. Produkty reakcji poddawano rozdzielowi w 10% denaturującym żelu PAA w buforze 1x TEB, a następnie analizowano za pomocą autoradiografii. Uzyskane wyniki pokazują, że w obecności białek HmIDPs możliwy jest transport struktur podobnych do tRNA do izolowanych mitochondriów komórek ludzkich.

## Publikacje

---

1. **M. Baranek, A. Belter, M.Z. Naskret-Barciszewska, M. Stobiecki, W.T. Markiewicz, J. Barciszewski**  
Effect of small molecules on cell reprogramming  
*Molecular BioSystems* 2017, 13, 277-313
2. **M. Skupinska, P. Stepniak, I. Letowska, L. Rychlewski, M.Z. Naskret- Barciszewska, J. Barciszewski, M. Giel-Pietraszuk**  
Natural compounds as inhibitors of tyrosyl-tRNA Synthetase  
*Microbial Drug Resistance* 2017, 23, 308-320
3. **M. Olszewska, M.Z. Barciszewska, M. Fraczek, N. Huleyuk, V.B. Chernykh, D. Zastavna, J. Barciszewski, M. Kurpisz**  
Global methylation status of sperm DNA in carriers of chromosome structural aberrations  
*Asian Journal Andrology* 2017, 19, 117-124

### Prace przyjęte do druku:

B.P. Plitta-Michalak, **M.Z. Naskręt-Barciszewska**, S. Kotlarski, D. Tomaszewski, T. Tylkowski, **J. Barciszewski**, P. Chmielarz, M. Michalak

Changes in genomic 5-methylcytosine level mirror the response of orthodox (*Acer platanoides* L.) and recalcitrant (*Acer pseudoplatanus* L.) seeds to severe desiccation  
*Tree Physiology* 2017

## Działalność patentowa

---

### Patenty międzynarodowe

*Hammerhead ribozymes targeting MIR-21*

patent: EP 2978847 z 15.02.2017 r.

zgłoszenie: EP 14719866.7 z 16.10.2015 r.

Twórcy: **Mirosława Naskręt-Barciszewska, Agnieszka Belter, Katarzyna Rolle, Monika Piwecka**, Patrycja Sosińska, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska**

ICHB PAN

## Zakład Biosyntezy Białka

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Tomasz Twardowski (STATUT)<sup>47</sup>**

### Skład osobowy<sup>48</sup>

Pracownicy naukowci:

dr Joanna Gracz (NCN)

Pracownicy techniczni:

mgr Ewa Woźniak (0,5 STATUT)

Doktoranci:

mgr Jakub Kuczyński (stypendium NCN)

mgr Medhad Mahmoud (stypendium NCN)

### Działalność statutowa

#### **IX. Bioekonomia i biotechnologia - aspekty społeczne i prawne (prof. dr hab. Tomasz Twardowski)**

##### *Cel badań*

Celem prac jest promocja polskiej biotechnologii wśród środowiska polskich i międzynarodowych biotechnologów. Postęp nauki, technologii, a w szczególności biotechnologii jest niezwykle ważny dla dalszego rozwoju biogospodarki. Jednakże mamy wiele przykładów ilustrujących trudności transferu współczesnej nauki i techniki do gospodarki. Naukowcy zebrali już ogromne ilości danych; najlepiej znanym przykładem ilustrującym tę kwestię jest sekwencjonowanie genomu człowieka, jak i wielu innych organizmów. Jednakże, nie potrafimy wyekstrahować konkluzji ze zgromadzonych informacji, mimo rozwoju bioinformatyki i technologii komputerowych. Problemem jest także korelacja pomiędzy badaniami podstawowymi a wdrożeniami przemysłowymi. Innymi słowy funkcjonowanie ekspertów w dziedzinie biznesu i administracji na skrzyżowaniu dróg z naukami podstawowymi. Jak przekształcać rewelacyjne wyniki nauk podstawowych do produktów komercyjnych i kto powinien to robić w sposób systematyczny i zyskowy, jednocześnie w pełni honorując prawa społeczeństwa, jak i badaczy (prawa autorskie) oraz efekty ekonomiczne? Obserwujemy rosnącą przepaść między badaczami specjalistycznych dyscyplin (np. podstawowe badania procesów molekularnych) a eksploatacją nowych wynalazków

---

<sup>47</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>48</sup> Stan na 31.12.2017 r.

dotyczących innowacyjnych produktów handlowych. Jest to krzyżowanie się nauk podstawowych i aplikacyjnych z ustawodawstwem (nauki prawne, w szczególności w zakresie praw własności intelektualnej) i z naukami społecznymi. Zagadnienia te doskonale obrazuje rozbieżność pomiędzy uzyskiwanymi wynikami naukowymi, zgłoszeniami patentowymi a wdrożeniami.

#### *Opis zrealizowanych prac*

Cel był realizowany poprzez publikacje, wykłady i aktywny udział (wygłaszanie wykładów) na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

#### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Dwa zasadnicze osiągnięcia to: 1. organizacja międzynarodowego kongresu Eurobiotech2017 (6th Central European Congress of Life Sciences Eurobiotech 2017), 11-14 września 2017 r., Kraków: Międzynarodowe Centrum Targowo-Kongresowe EXPO oraz 2. przygotowanie i elektroniczne opublikowanie ekspertyzy pt. „Biogospodarka, biotechnologia i nowe techniki inżynierii genetycznej. Nowoczesna Biotechnologia Podstawą Biogospodarki, Raport Komitetu Biotechnologii PAN”.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

O efektach prac informowane było zarówno środowisko naukowe (poprzez publikacje), a także władze administracyjne i polityczne kraju, którym dostarczono egzemplarz raportu.

### **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

#### **Optymalizacja metody badawczej digital droplet PCR dla wykrywania mikroRNA u różnych odmian soi**

**Kierownik zadania: mgr Jakub Kuczyński**

##### *Cel badań*

Weryfikacja użyteczności metody ddPCR do wykrywania i oceny ilościowej wybranych miRNA u dwóch odmian soi.

##### *Opis realizowanych prac*

Dokonano izolacji frakcji krótkich RNA z materiału roślinnego pochodzącego z soi odmiany Augusta i Fiskeby V. Następnie otrzymane RNA zostało przepisane na cDNA w reakcji odwrotnej transkrypcji. Tak wygenerowane cDNA posłużyło jako matryca do reakcji emulsyjnego PCR (ddPCR). W celu wykrycia wyselekcjonowanych mikroRNA zastosowano odpowiednie pary starterów. Co istotne, oprócz oznaczenia obecności wybranych mikroRNA, dzięki metodzie ddPCR uzyskano informacje na temat ich bezwzględnego poziomu ekspresji. Takie dane posłużą do określenia istotności poszczególnych mikroRNA w odpowiedzi wybranych odmian soi na stres niskich temperatur. W trakcie badań dokonano niezbędnej optymalizacji metody izolacji oraz oczyszczania RNA z materiału roślinnego, jak również dostosowano warunki reakcji ddPCR (w szczególności stężenie matrycy).

### **Projekty**

---

#### **1. Kompleksowe podejście w celu zdefiniowania molekularnych podstaw odpowiedzi kukurydzy na stres herbicydowy (MAESTRO)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Tomasz Twardowski**

##### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

W roku 2017 przeprowadzono badania mające na celu określenie obecności oraz poziomów ekspresji 13 wcześniej zaproponowanych mikroRNA w badanych próbach pochodzących z kukurydzy zwyczajnej. Badania prowadzone były na trzech wybranych liniach kukurydzy S299,

S41336 oraz S41789. Linie S299 oraz S41336 traktowane były trzema herbicydami (Basta, Titus i Roundup), a poddawany analizie materiał pochodził z dnia 0 oraz dnia 7 po zastosowaniu oprysku. Linia S41789 poddawana była jedynie działaniu herbicydu Basta, a materiał do analizy pochodził jak w poprzednich dwóch liniach z dnia 0 i 7. W toku prowadzonych badań z puli 13 mikroRNA wyodrębniono 6 mikroRNA, które dawały najlepsze wyniki, a następnie rozpoczęto przygotowania do przeprowadzenia analiz z pomocą techniki Droplet Digital PCR (ddPCR). MikroRNA wybrane do analiz metodą ddPCR to: 166a, 167c, 167g, 167e, 396a oraz 396c. Prowadzona obecnie optymalizacja warunków reakcji ddPCR pozwoliła wstępnie określić stężenia matrycy dla prób mikroRNA 166a, 167c, 167g. Natomiast dalszego prowadzenia analiz wymagają próby mikroRNA 167e, 396a, 396c. W celu uzyskania wymiernych wyników prowadzonych analiz, wymagane jest przeprowadzenie kolejnych powtórzeń celem określenia poziomów ekspresji wybranych mikroRNA.

## **2. Identyfikacja mechanizmów molekularnych zaangażowanych w odpowiedź soi na stres niskich temperatur w warunkach klimatu umiarkowanego (OPUS)**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Tomasz Twardowski**

### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Wykorzystując materiał roślinny pochodzący od czterech odmian soi (Augusta, Fiskeby V, Toyomusume, Glycine soja) poddanych stresowi chłodu, dokonano szeregu izolacji RNA. Część puli totalnego RNA posłużyła do przygotowania bibliotek sekwencyjnych, potrzebnych do sekwencjonowania krótkich RNA oraz degradomu. Dzięki zastosowaniu sekwencjonowania nowej generacji możliwe będzie określenie, które mikroRNA zaangażowane są w odpowiedź soi na stres niskich temperatur. Natomiast izolacja frakcji krótkich RNA dostarczyła materiału do analiz biochemicznych. Pierwszą techniką wykorzystaną w tych analizach był Northern blot, bazujący na działaniu znakowanych sond DNA, komplementarnych względem sekwencji docelowej. Metoda hybrydyzacji sond – Northern blot – dostarczyła ogólnych informacji na temat poziomu ekspresji wybranych mikroRNA u soi odmiany Augusta oraz Fiskeby V. Mimo to, rozdzielczość tejże metody okazała się mało satysfakcjonująca, w związku z czym rozpoczęto poszukiwania innego sposobu ilościowego oznaczenia miRNA. Korzystając z dostępności aparatury, wykorzystano technikę emulsyjnego PCR (ddPCR), w której amplifikacja poszczególnych cząsteczek matrycy zachodzi w nanokroplach, frakcjonowanych i zliczanych w późniejszych etapach reakcji. Na potrzeby emulsyjnego PCR przeprowadzono również reakcję odwrotnej transkrypcji frakcji krótkich RNA pochodzących z odmian Augusta i Fiskeby V uprawianych zarówno w warunkach kontrolnych, jak i poddanych stresowi chłodu.

## **Publikacje**

---

1. **T. Twardowski**, A. Aguilar, P. Puigdomenech, A. Linkiewicz, S. Sowa, T. Zimny  
European Union needs agro-bioeconomy  
*BioTechnologia* 2017, 98, 73-78
2. T. Zimny, **T. Twardowski**  
Legislacja technik „bio” – pilna konieczność?  
*NAUKA* 2017, 3, 143–158
3. E. Bartnik, S. Bielecki, J. Dulak, M. Kęsik-Brodacka, M. Łobocka,  
A. Małyska, A. Sip, W. Białas, S. Sowa, J. Surmacz-Górska, **T. Twardowski** (opracowanie),  
E. Waszkowska  
Biogospodarka, biotechnologia i nowe techniki inżynierii genetycznej Ekspertyza Komitetu  
Biotechnologii PAN  
*NAUKA* 2017, 4, 183–196

Prace przyjęte do druku:

1. A. Aguilar, R. Wohlgemuth, **T. Twardowski**

Preface to the special issue bioeconomy

*New Biotechnology*

2. A. Aguilar, R. Wohlgemuth, **T. Twardowski**

Perspectives on bioeconomy

*New Biotechnology*

3. E. Wozniak, **T. Twardowski**

The bioeconomy in Poland within the context of the European Union.

*New Biotechnology*

4. **M. Mahmoud**, M. Zywicki, **T. Twardowski**, W.M. Karłowski

Efficiency of PacBio long read correction by 2nd generation Illumina sequencing

*Genomics*

5. A. Malyska, R. Bolla, **T. Twardowski**

Communicating Biotech Advances: Fiction versus Reality

*Trends in Biotechnology*

## **Zakład Chemii Kwasów Nukleinowych**

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Adam Kraszewski (STATUT)<sup>49</sup>**

**Skład osobowy<sup>50</sup>**

Pracownicy naukowcy:

prof. dr hab. Jacek Stawiński (0,2 STATUT)

### **Działalność statutowa**

#### **XI. Pronukleotydy dla terapii antywirusowej i antynowotworowej (prof. dr hab. Adam Kraszewski)**

##### *Cel badań*

Celem badań były koncepcyjnie nowe pronukleotydy antynowotworowe – pochodne 2'-deoksy-5-fluorourydyn-5'-ylo fosforanu (FdUMP). Związki te razem z ugrupowaniami aminowymi podstawników na reszcie fosforanowej tworzyły zwitterjony. Związki zawierające jony obojnacze (zwitterjony) zostały wybrane celowo, z założeniem, że w oddziaływaniu z błonami komórkowymi mogą korzystnie wpływać na ich transport dokomórkowy. Celami biologicznymi badań były linie komórek glejaka wielopostaciowego.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Związki do badań, pronukleotydy FdUMP projektowano według charakteru zasady organicznej przyłączonej do reszty fosforanowej 3'-O-benzoilo-2'-deoksy-5-fluorourydyny. Otrzymano kilkanaście nowych analogów FdUMP z różnymi fosforoestrowymi podstawnikami zawierającymi ugrupowania aminowe. Synteza związków została przeprowadzona w Pracowni Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych, a badania aktywności cytostatycznej związków przeprowadzono w Zakładzie Epigenetyki.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Pośród badanych związków pięć z nich wykazało wysoką (IC<sub>50</sub> w zakresie nM) aktywność antyproliferacyjną na badanych liniach glejaka wielopostaciowego przy znacznie niższej aktywności na referencyjnych liniach zdrowych komórek (MRC5).

---

<sup>49</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>50</sup> Stan na 31.12.2017 r.

*Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Otrzymane wyniki zostały opisane i przyjęte do druku w *European Journal of Medicinal Chemistry*.

## Publikacje

---

Prace przyjęte do druku:

**A. Szymanska-Michalak, D. Wawrzyniak, G. Framski, J. Stawinski, J. Barciszewski, A. Kraszewski**

New anti-glioma zwitterionic pronucleotides with a FdUMP framework

*European Journal of Medicinal Chemistry*

## Zakład Epigenetyki

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jan Barciszewski (0,2 STATUT/0,5 NCBR)<sup>51</sup>**

**Skład osobowy<sup>52</sup>**

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Katarzyna Rolle (STATUT)

dr Patrick Perrigue (STATUT)

Pracownicy techniczni:

mgr Dariusz Wawrzyniak (STATUT)

Iwona Gawrońska (0,75 STATUT)

Doktoranci:

mgr Małgorzata Grabowska (stypendium NCN)

### Działalność statutowa

#### **XIII. Poszukiwanie nowego modelu dla badań epigenetycznych**

**(prof. dr hab. Jan Barciszewski, wspólnie z dr. hab. Rafałem Cioskiem, prof. ICHB PAN)**

*Cel badań*

Celem badań jest wprowadzenie do praktyki laboratoryjnej modelowego organizmu, jakim są płazińce.

*Opis zrealizowanych prac*

Na podstawie wcześniejszych badań prowadzonych w Zakładzie Epigenetyki (K. Pawlicka *et al.*, Regulatory RNAs in Planarians, *Acta Biochim. Polon.* 63,681-686, 2016), opracowano warunki hodowli płazińców oraz stosowania epigenetycznych modulatorów ekspresji genów. Badano techniki dostarczania małych cząsteczkowych związków oraz przeprowadzono fenotypową i genetyczną ocenę efektów ich działania. Analizowano wpływ hormonów roślinnych oraz krótkich kwasów nukleinowych RNA i DNA. Obserwowane fenotypowe efekty analizowane były na poziomie DNA.

*Opis najważniejszych osiągnięć*

Opracowanie sposobu dostarczania płazińcom katalitycznych kwasów nukleinowych. Wykazanie aktywności egzogenicznych kwasów nukleinowych.

*Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Płazińce jako organizm modelowy będą wykorzystane do badania epigenetycznego mechanizmu regulacji ekspresji genów.

---

<sup>51</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>52</sup> Stan na 31.12.2017 r.

## Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

### Aktywność przeciwnowotworowa modyfikowanych nukleozydów purynowych i pirymidynowych w wybranych liniach komórek nowotworowych

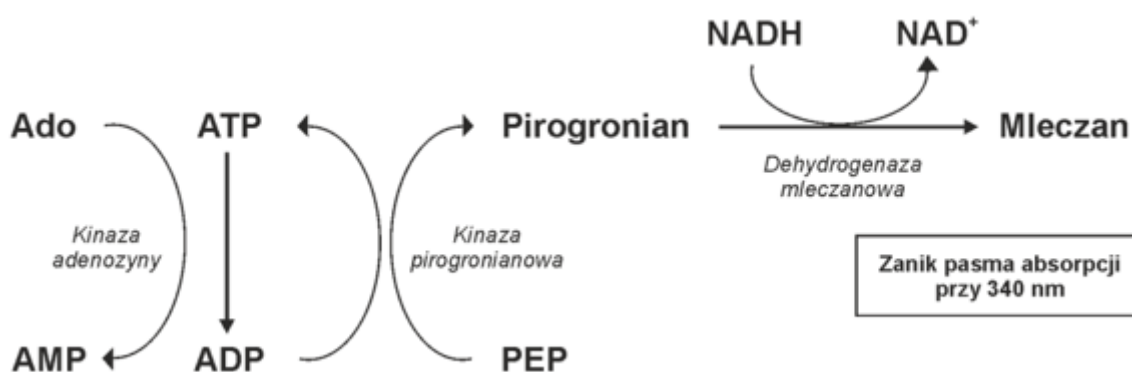
**Kierownik zadania:** mgr Dariusz Wawrzyniak

#### Cel badań

Celem badań było (1) opracowanie enzymatycznie-sprzężonego testu spektrofotometryczno-fluorymetrycznego dla kinazy adenozynowej prowadzonego w sposób ciągły, a następnie (2) zbadanie katalizowanej kinazą adenozynową fosforylacji nukleozydów purynowych będących potencjalnymi prolekami anty-GBM.

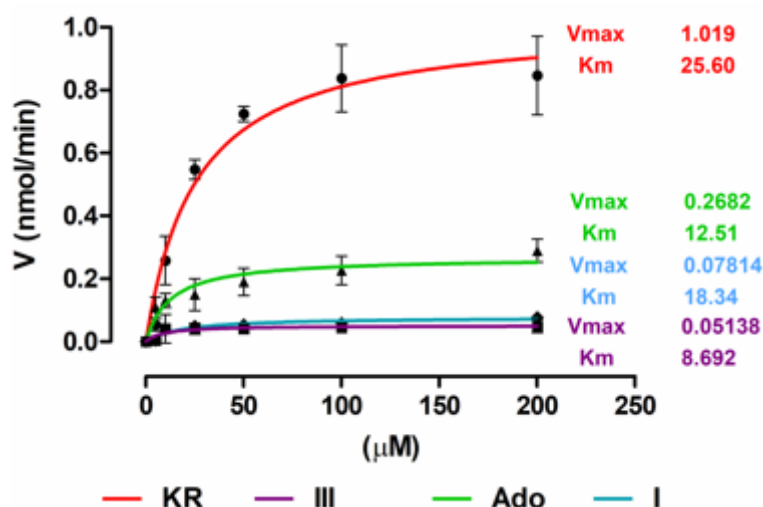
#### Opis realizowanych prac

Pierwszy etap pracy obejmował przygotowanie enzymatycznie-sprzężonego testu spektrofotometryczno-fluorymetrycznego dla kinazy adenozynowej (opis zamieszczono na Ryc. 1).



**Ryc. 1.** Schemat enzymatycznie-sprzężonego testu spektrofotometrycznego dla ADK. Ado:adenozyna (przykładowy substrat reakcji fosforylacji) jest przekształcana do AMP, a PEP: fosfoenolopirogronian do pirogronianu. Redukcji pirogronianu do mleczanu towarzyszy zanik pasma absorpcji przy 340 nm NADH. Zredukowany dinukleotyd-deninowy, NAD<sup>+</sup>: utleniony dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (D. Wawrzyniak)

W drugim etapie wdrożono test do badania mechanizmu fosforylacji rybonukleozydów przez kinazę adenozynową (Ryc. 2).



**Ryc. 2.** Kinetyka fosforylacji nukleozydów purynowych katalizowana przez AdK (D. Wawrzyniak)

Analiza obejmowała rybozyd kinetyny i jego pochodne modyfikowane w części cukrowej: 3',5'-*O*-(tetraizopropylodisiloksano-1,3-diylo)-*N*<sup>6</sup> furfuryloadenozynę (II); 2'-*C*-metylo-*N*<sup>6</sup>-furfuryloadenozynę (I); 2',3'-*O*-izopropylideno-*N*<sup>6</sup>-furfurylo-adenozynę (III) oraz adenozynę (Ado). Uzyskana wartość  $K_m$  dla naturalnego substratu ADK – adenozyny wynosi 12,51  $\mu\text{M}$  i jest identyczna z deklaracją producenta enzymu – Novocib (11,4  $\mu\text{M}$ ). Powinowactwo modyfikowanych rybonukleozydów: rybozydu kinetyny oraz pochodnych I i III do kinazy adenozynowej jest podobne do adenozyny. Jednak szybkość reakcji fosforylacji rybozydu kinetyny ( $V_{\max} = 1,019$  nmol/min) jest 3,8 razy szybsza niż adenozyny ( $V_{\max} = 0,268$  nmol/min). Szybkość fosforylacji 2'-*C*-metylo-*N*<sup>6</sup>-furfuryloadenozyny ( $V_{\max} = 0,078$  nmol/min) jest 3,5 razy mniejsza niż adenozyny, co jest spowodowane obecnością grupy 2'-*C*-metylowej. Modyfikacja części cukrowej adenozyny obniża wydajność fosforylacji 2–5-krotnie, stąd tak niskie wartości  $V_{\max}$  dla pochodnych I i III.

## Projekty

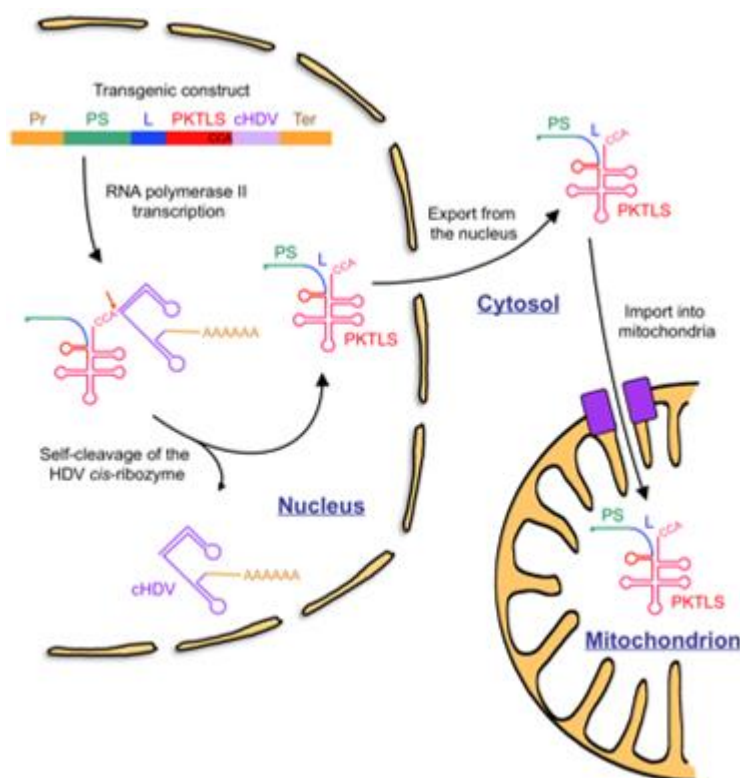
### 1. Rybozimy jako nowe narzędzia do badania genomu mitochondrialnego (OPUS)

**Kierownik projektu: prof. dr hab. Jan Barciszewski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Do najważniejszych osiągnięć projektu zaliczyć należy:

1. Opracowanie platformy, dla transkrypcji, obróbki i efektywnego transportu katalitycznego RNA z cytoplazmy do mitochondrium. Platforma ta zawiera sekwencję kodującą rybozym typu *hammerhead* oraz rybozym HDV, wycinający cząsteczkę rybozimu *hammerhead* oraz sekwencję struktury podobnej tRNA (ang. *tRNA-like structure*), która transportuje dojrzały rybozym do mitochondriów;
2. Specyficzne i efektywne obniżenie poziomu ekspresji docelowych genów wskazuje na skuteczny transport cząsteczki aktywnej katalitycznie do miejsca przeznaczenia. Konstrukty takie mogą być zatem wykorzystywane jako specyficzne i efektywne narzędzia do badania ekspresji i funkcji genów;



**Ryc. 3.** Schemat strategii wyciszania genów mitochondrialnych przez katalityczne kwasy nukleinowe. Komórka roślinna jest transformowana konstruktem zawierającym sekwencję dla tRNA-like (PKTLS). W celu wygenerowania końca 3' wolnego dla aminoacylacji, w niniejszym konstrukcie znajduje się sekwencja dla rybozimu HDV działającego in CiS. Samowycinanie rybozimu HDV pozwoli na pozostawienie wolnego eksportera z jądra do cytozolu, rozpoznana przez mitochondrialny system importu z udziałem tRNA, a następnie importowana do mitochondrium (A. Dietrich)

3. Zcharakteryzowanie funkcji mat-R i wykazanie jej udziału w procesie składania i dojrzewania transkryptów mitochondrialnych;
4. Strategia ta jest pierwszą i unikatową bezpośrednią metodą transformacji mitochondriów, co pozwoliło na jej zastrzeżenie patentowe (US 9441243 B2).

## 2. Katalityczne kwasy nukleinowe nowej generacji w regulacji ekspresji informacji genetycznej (OPUS)

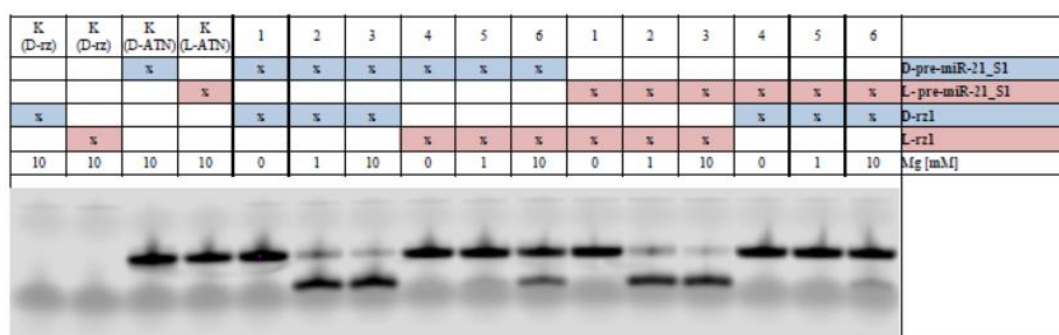
**Kierownik projektu: prof. dr hab. Jan Barciszewski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

W projekcie badane są zmiany ekspresji: tenascyny-C oraz miRNA-21. Zaprojektowano rybozym typu *hammerhead* miR21rz1 (rz1) skierowany na sekwencję miR-21 oraz prekursorzy tego miRNA. 34 nt sekwencja rybozymów obejmuje 22 nt rdzeń katalityczny o sekwencji 5'-CUGAUGAGGCCGAAAGGCCGAA-3' oraz zlokalizowane po obu stronach sześciopokreślowe ramiona o sekwencjach komplementarnych do rejonu w obrębie miR-21 i prekursorów miR-21. Rybozymy zaprojektowano tak, aby hydrolizowały wiązania na końcu 3'-C w obrębie sekwencji AUC. Obecność tych sekwencji oraz komplementarność ramion rybozymów do substratu są warunkami koniecznymi do zaistnienia hydrolizy.

1. Zsyntetyzowano rybozym miR21rz1 oraz jego odpowiednik o tej samej sekwencji w serii beta-L-RNA - rz1 i L-rz1.
2. Zsyntetyzowano substrat dla rybozymu miR21rz1 zawierający sekwencję AUC oraz po obu jej stronach sekwencje komplementarne do ramion miR21rz1 oraz jego odpowiednik w serii beta-L-RNA, odpowiednio S1 oraz L-S1.

Testy aktywności rybozymów anty-miR21: miR21rz1 (D-rz1) oraz jego odpowiednika w serii beta-L-RNA (L-rz1) względem D/L-RNA o sekwencji komplementarnej do ramion rybozymów (D/L-S1) pozwoliły na określenie wydajności hydrolizy RNA z użyciem rybozymów w różnych stężeniach jonów  $Mg^{2+}$  (0, 1, 10 mM). Nowo zsyntetyzowane rybozymy wydajnie hydrolizują RNA zarówno w układzie homo- jak i heterochiralnym. Wydajność hydrolizy RNA przez rybozym zależy od stężenia  $Mg^{2+}$  i jest wyższa w układzie homochiralnym (Ryc. 4).



**Ryc. 4.** Hydroliza D-S1 oraz L-S1 z użyciem rybozymów D-rze1 oraz L-rz1 w różnych stężeniach jonów  $Mg^{2+}$  (0,1,10 mM). Reakcję prowadzono w 10-krotnym nadmiarze rybozymu względem substratu, w 10  $\mu$ l, 50 mM Tris/HCl, pH 7.5, w 37°C, przez 16h (A. Belter).

## 3. Nowe, wielozadaniowe nanocząstki w skojarzonej geno- i fototerapii (OPUS) – projekt realizowany na podstawie umowy konsorcjum (Lider konsorcjum – Uniwersytet im.

**A. Mickiewicza, prof. dr hab. Stefan Jurga – kierownik projektu)**

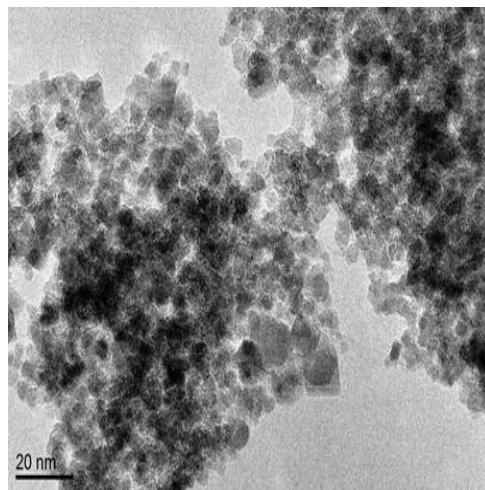
**Kierownik zadań z ramienia ICHB: prof. dr hab. Jan Barciszewski**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Celem projektu jest synteza i charakteryzacja nowych, wielozadaniowych nanocząstek opartych na rdzeniu nieorganicznym (magnetyt, sfery magnetyczne i nanostruktury złota) i polimerowym

(polidopamina) dla dostarczenia dwuniciowego RNA o sekwencji homologicznej do tenascyny-C (TN-C) do komórek glejaka wielopostaciowego i ocena ich zastosowania w skojarzonej genotera- i fototerapii. W wyniku realizacji projektu zsyntetyzowano nanocząstki oparte o magnetyt oraz polidopaminę. Otrzymane nanocząstki efektywnie wiążą drRNA (ATN-RNA), a w przeprowadzonych testach z wykorzystaniem linii komórkowej glejaka wielopostaciowego, obniżają poziom ekspresji tenascyny-C wydajniej, niż stosowane powszechnie nośniki do transfekcji komórek. Zastosowane narzędzia nie mają toksycznego wpływu na komórki ludzkie, co potwierdzono za pomocą testów MTT oraz WST.

**Ryc. 5.** Obraz nanocząstek magnetytowo-polidopaminowych w mikroskopie TEM (R. Mrówczyński)



Ponieważ założeniem projektu jest próba opracowania skutecznego narzędzia o znaczeniu terapeutycznym w guzach mózgu, zbadano również poziom aktywacji genów zaangażowanych w indukcję odpowiedzi immunologicznej. Nowe nanocząstki nie wpłynęły na znaczącą aktywację żadnego z pięciu testowanych genów (OAS1, OAS3, RIG1, TLR3 oraz INF $\gamma$ ), co sugeruje, że potencjalnie mogłyby być użyte jako bezpieczne nośniki terapeutyczne. Nowe narzędzia sko- niugowane z dsRNA wpłynęły także na znaczące obniżenie tempa migracji komórek nowotwo- rowych, co może wskazywać na użyteczność zastosowanego narzędzia do ograniczenia progresji nowotworu.

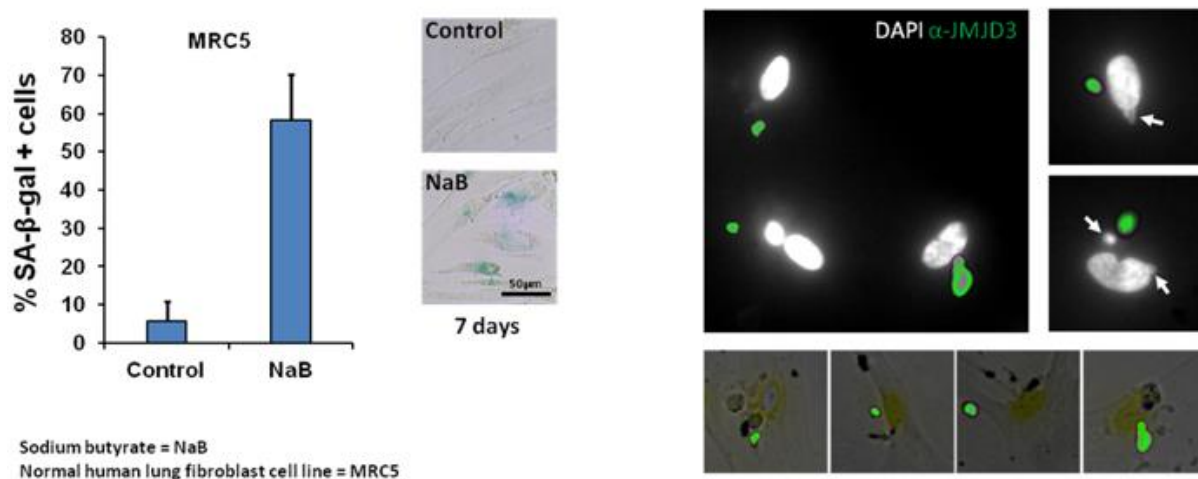
#### **4. Demetylaza histonów JMJD3 jako epigenetyczny regulator procesów senescencji oraz nowotworzenia (SONATA)**

**Kierownik projektu: dr Patrick Perrigoe**

*Syntetyczne omówienie wyników badań*

Maślan sodu (NaB) to lek epigenetyczny, który wyzwała starzenie komórkowe. Mechanizm działania NaB polega na hamowaniu deacetylaz histonowych (HDAC). Pierwszy etap pracy obejmował opracowanie schematu dawkowania NaB w celu dostarczenia modelu komórkowego do badania fenotypu sekrecyjnego związanego ze starzeniem (SASP). Eksperymenty z fibroblastami MRC5 wskazują, że traktowanie 4 mM NaB przez 7 dni wystarcza do zahamowania HDAC, aby uruchomić zależną od starzenia aktywność markera  $\beta$ -galaktozydazy (SA- $\beta$ -gal+). Lewy panel na Ryc. 6 pokazuje, że SA- $\beta$ -gal+ występuje w >50% komórek MRC5 po traktowaniu NaB przez 7 dni (niebieskie zabarwienie = SA- $\beta$ -gal+). Komórkowej reakcji na stres towarzyszy nadekspresja demetylazy histonu H3K27 (*Jumonjido domain containing-3 histone*, JMJD3), która działa jako główny regulator odpowiedzi na starzenie się komórek, kontrolując stan metylacji kluczowych efektorów senescencji odpowiedzialnych za zatrzymanie wzrostu komórkowego. Późniejsze barwienie immunofluorescencyjne dla JMJD3 w starzejących się fibroblastach MRC5 ujawniło nieocze- kiwany wzór barwienia w cytoplazmie, który kolokalizuje z fragmentami chromatyny poza

jądrem (Ryc. 6, prawy panel). Co ciekawe, JMJD3 jest białkiem jądrowym, które obserwowano poza starzejącymi się komórkami MRC5, ale zawsze w pobliżu błony komórkowej. Natomiast znaczenie jego błędnej lokalizacji (cytoplazma) nie jest jeszcze jasne, ale daje unikalny model, w którym można badać wpływ struktury, funkcji i regulacji chromatyny w kontekście starzenia komórkowego czy procesu nowotworzenia.



Ryc. 6. Indukcja starzenia komórkowego fibroblastów MRC-5 (P. Perrigue)

## Publikacje

1. M. Rogalinska, P. Goralski, J.Z. Blonski, P. Robak, **J. Barciszewski**, A. Koceva-Chyła, H. Piekarski, T. Robak, Z.M. Kilianska  
Personalized therapy tests for the monitoring of chronic lymphocytic leukemia development  
*Oncologi Letters* 2017, 13, 2079-2084
2. M. Szymanski, **J. Barciszewski**  
The path to the genetic code  
*Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects – General Subjects* 2017, 1861, 2674-2679
3. **A. Szymanska-Michalak, D. Wawrzyniak, G. Framski, J. Stawinski, J. Barciszewski, A. Kraszewski**  
New antiglioma zwitterionic pronucleotides with an FdUMP framework  
*European Journal of Medicinal Chemistry* 2017, 144, 682-691
4. **Fedoruk-Wyszomirska, W.T. Markiewicz, J. Barciszewski**  
New inhibitors of DNA methyltransferase 1 based on cytosine scaffold  
*BioTechnologia* 2016, 97C, 323-325 (nie wykazano w Sprawozdaniu za 2016 r.)
5. M. Olszewska, **M.Z. Barciszewska**, M. Fraczek, N. Huleyuk, V.B. Chernykh, D. Zastavna, **J. Barciszewski**, M. Kurpisz  
Global methylation status of sperm DNA in carriers of chromosome structural aberrations  
*Asian Journal Andrology* 2017, 19, 117-124
6. N. Rajewsky, S. Jurga, **J. Barciszewski** (red.)  
Plant Epigenetics (seria *RNA Technologies*)  
Springer, 2017, ISBN 978-3-319-55519-5

## Prace przyjęte do druku:

1. Na pograniczu chemii i biologii, H. Koroniak, **J. Barciszewski** (red.)  
2017, tom XXXVII, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań

2. B.P. Plitta-Michalak, **M.Z. Naskręt-Barciszewska**, S. Kotlarski, D. Tomaszewski, T. Tylkowski, **J. Barciszewski**, P. Chmielarz, M. Michalak  
Changes in genomic 5-methylcytosine level mirror the response of orthodox (*Acer platanoides* L.) and recalcitrant (*Acer pseudoplatanus* L.) seeds to severe desiccation  
*Tree Physiology* 2017

## Działalność patentowa

---

### Patenty międzynarodowe

*Hammerhead ribozymes targeting MIR-21*

patent: EP 2978847 z 15.02.2017 r.

zgłoszenie: EP 14719866.7 z 16.10.2015 r.

Twórcy: **Mirosława Naskręt-Barciszewska**, **Agnieszka Belter**, **Katarzyna Rolle**, **Monika Piwecka**, **Patrycja Sosińska**, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska**  
ICHB PAN

## Zakład Struktury i Funkcji RNA

---

**Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Ryszard Adamiak (0,2 STATUT)<sup>53</sup>**

### Skład osobowy<sup>54</sup>

Pracownicy naukowci:

dr Katarzyna Purzycka (STATUT, urlop bezpłatny)

Pracownicy techniczni:

dr Katarzyna Pachulska-Wieczorek (STATUT)

Doktoranci:

mgr Marcin Biesiada (stypendium KNOW)

mgr Julita Gumna (stypendium KNOW)

mgr Małgorzata Zawadzka (stypendium NCN)

mgr Anna Durska (stypendium NCN)

### Działalność statutowa

#### **XX. Struktura i funkcja retroelementów (prof. dr hab. Ryszard W. Adamiak)**

##### *Cel badań*

Optymalizacja metod eksperymentalnych oraz obliczeniowych dla badań struktur drugorzędowych i przestrzennych RNA.

##### *Opis zrealizowanych prac*

Prowadzono prace nad rozwojem metod pozyskania więzów eksperymentalnych dla procesów przewidywania różnych struktur 3D RNA z wykorzystaniem metody RNAComposer. Testowano nowe odczynniki modyfikujące RNA, które mogą być wykorzystane w metodzie SHAPE.

##### *Opis najważniejszych osiągnięć*

Opracowano ulepszone metody ilościowej analizy danych z eksperymentów próbkowania, które mogą być wprowadzone do obliczeniowych systemów przewidywania struktury przestrzennej. Ustalono strukturę dimeru mini Ty1 RNA *in vitro*.

---

<sup>53</sup> W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

<sup>54</sup> Stan na 31.12.2017 r.

#### *Wykorzystanie uzyskanych wyników*

Otrzymane wyniki zostaną wykorzystane do rozwoju nowych funkcjonalów metody RNAComposer. Wyniki dotyczące struktury dimeru elementu mini Ty1 RNA zostaną wykorzystane w badaniach procesów pakowania gRNA Ty1 do cząstek wirusopodobnych w komórce drożdżowej.

### **Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich**

#### **Analiza funkcji sekwencji PAL w procesie dimeryzacji genomowego RNA retrotranspozonu Ty1**

**Kierownik zadania: mgr Julita Gumna**

##### *Cel badań*

Celem badań było ustalenie roli palindromowych sekwencji (PAL) w procesie dimeryzacji genomowego RNA retrotranspozonu Ty1. Dostępne dane wskazują, że wewnątrz cząstek wirusopodobnych gRNA Ty1 występuje w formie dimerycznej, jednak wiedza na temat sekwencji nukleotydowych zaangażowanych w ten proces jest bardzo ograniczona.

##### *Opis realizowanych prac*

W badaniach wykorzystano cząsteczkę minimalnego funkcjonalnego RNA Ty1 – mTy1 RNA, która zawiera sekwencję wystarczającą dla pakowania Ty1 RNA do VLP. Metodą ukierunkowanej mutagenazy przygotowano kilka wariantów RNA mTy1. Wprowadzone zmiany obejmowały substytucje pojedynczych nukleotydów lub ciągu kilku nukleotydów oraz delecje sekwencji PAL. W eksperymentach próbkowania strukturalnego RNA metodą SHAPE sprawdzono strukturę drugorzędową RNA mTy1 wszystkich wariantów RNA. W większości przypadków zmiany strukturalne występowały jedynie w obrębie wprowadzonych mutacji. Tylko dla dwóch wariantów RNA mTy1 zaobserwowano zmiany w ogólnej strukturze drugorzędowej RNA. Wykonano szereg eksperymentów dimeryzacji *in vitro* w obecności białka Gag Ty1. Dla wariantów RNA zawierających punktowe mutacje nie zaobserwowano znaczących zmian w poziomie dimeru. Większe zmiany w sekwencji wywołały efekt obniżonej wydajności dimeryzacji. Przeprowadzone badania będą częścią publikacji na temat dimeryzacji i pakowania do cząstek wirusopodobnych gRNA retrotranspozonu Ty1.

### **Projekty**

---

#### **Struktura RNA i jego oddziaływanie z białkiem Gag warunkujące funkcje RNA Ty1 Na różnych etapach replikacji retrotranspozonu (SONATA BIS)**

**Kierownik projektu: dr Katarzyna Pachulska-Wieczorek**

##### *Syntetyczne omówienie wyników badań*

Celem prowadzonych badań jest ustalenie struktury gRNA Ty1 na kolejnych etapach jego replikacji w różnych przedziałach komórkowych. Zaprojektowano i otrzymano mutanty *S. cerevisiae*, w których genomowy RNA retrotranspozonu Ty1 zatrzymywany jest w wybranych przedziałach komórki (jądro, cytoplazma) lub w retrosomach i cząstkach wirusopodobnych. Oceniono wpływ wprowadzonych mutacji na poziom RNA Ty1, białka Gag oraz poziom retrotranspozycji. Otrzymane mutanty zostaną wykorzystane w badaniach struktury gRNA Ty1 w komórce. Zwyczajowo stosowany w badaniach strukturalnych RNA *in vitro* reagent 1M7 słabo przenika przez błony biologiczne, dlatego przeprowadzono syntezę chemiczną nowych reagentów do modyfikacji RNA w komórce: NAI i FAI. Analiza porównawcza aktywności otrzymanych reagentów i 1M7 wykazała, że otrzymywane wzory modyfikacji RNA w warunkach *in vitro* są bardzo zbliżone.

1. K. Lepeta, **K.J. Purzycka**, **K. Pachulska-Wieczorek**, M. Mitjans, M. Begemann, B. Vafadari, K. Bijata, **R.W. Adamiak**, H. Ehrenreich, M. Dziembowska, L. Kaczmarek  
A normal genetic variation modulates synaptic MMP-9 protein levels and the severity of schizophrenia symptoms  
*EMBO Molecular Medicine* 2017, 9, 1100-1116
2. Z. Miao, **R.W. Adamiak**, M. Antczak, R.T. Batey, A.J. Becka, M. Biesiada, M.J. Boniecki, J. Bujnicki, S.J. Chen, C.Y. Cheng, F.C. Chou, A.R. Ferré-D'Amaré, R. Das, W.K. Dawson, D. Feng, N.V. Dokholyan, S. Dunin-Horkawicz, C. Geniesse, K. Kappel, W. Kladwang, A. Krokhotin, G.E. Lach, F. Major, T.H. Mann, M. Magnus, **K. Pachulska-Wieczorek**, D.J. Patel, J.A. Piccirilli, **M. Popenda**, **K.J. Purzycka**, A. Ren, G.M. Rice, J. Jr. Santalucia, **J. Sarzynska**, **M. Szachniuk**, A. Tandon, J.J. Trausch, S. Tian, J. Wang, K.M. Weeks, B. 2nd Williams, Y. Xiao, X. Xu, D. Zhang, T. Zok, E. Westhof  
RNA-Puzzles Round III: 3D RNA structure prediction of five riboswitches and one ribozyme  
*RNA* 2017, 23, 655-672
3. L.M. Gómez Ramos, N.N. Degtyareva, N.A. Kovacs, S.Y. Holguin, L. Jiang, A.S. Petrov, **M. Biesiada**, M.Y. Hu, **K.J. Purzycka**, D.P. Arya, L.D. Williams  
Eukaryotic Ribosomal Expansion Segments as Antimicrobial Targets  
*Biochemistry* 2017, 56, 5288-5299
4. **L. Blaszczyk**, **M. Biesiada**, A. Saha, D.J. Garfinkel, **K.J. Purzycka**  
Structure of Ty1 Internally Initiated RNA Influences Restriction Factor Expression  
*Viruses* 2017, 9, E74
5. S.F. Le Grice, J. Sztuba-Solinska, E. Maccioni, **K.J. Purzycka**, C. Parolin, E. Tramontano  
Meeting report: Third Summer School on Innovative Approaches for Identification of Antiviral Agents (IAAASS)  
*Antiviral Research* 2017, 139, 13-17

### Prace przyjęte do druku:

M. Antczak, **M. Popenda**, T. Zok, M. Zurkowski, **R.W. Adamiak**, M. Szachniuk  
New algorithms to represent complex pseudoknotted RNA structures in dot-bracket notation  
*Bioinformatics*

## Spis publikacji

### 1. Publikacje

#### 1.A. Publikacje recenzowane z listy Thomson Reuters „Web of Science”

| Lp | Nazwa czasopisma                                    | Autor/rzy                                                                                                                                                                                          | Tytuł, rok, tom, strony /artykuł                                                                                                                                           | IF    | Lista MNiSW |
|----|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------------|
| 1. | Acta Biochimica Polonica                            | M. Ros-Mazurczyk, A. Wojakowska, <b>L. Marczak</b> , K. Polanski, M. Pietrowska, K. Jelonek, I. Dominczyk, A. Hajduk, T. Rutkowski, K. Składowski, P. Widlak                                       | Ionizing radiation affects profile of serum metabolites: increased level of 3-hydroxybutyric acid in serum of cancer patients treated with radiotherapy, 2017, 64, 189-193 | 1.159 | 15          |
| 2. | Acta Biochimica Polonica                            | M. Ros-Mazurczyk, A. Wojakowska, <b>L. Marczak</b> , K. Polanski, M. Pietrowska, J. Polanska, R. Dziadziuszko, J. Jassem, W. Rzyman, P. Widlak                                                     | Panel of serum metabolites discriminates cancer patients and healthy participants of lung cancer screening - a pilot study, 2017, 64, 513-518                              | 1.159 | 15          |
| 3. | Acta Crystallographica Section D-Structural Biology | H. Zheng, K.M. Langner, G.P. Shields, J. Hou, <b>M. Kowiel</b> , F.H. Allen, G. Murshudov, W. Minor                                                                                                | Data mining of iron(II) and iron(III) bond-valence parameters, and their relevance for macromolecular crystallography, 2017, 73, 316-325                                   | 2.114 | 45          |
| 4. | Acta Crystallographica Section D-Structural Biology | Z. Luo, Z. Dauter, <b>M. Gilski</b>                                                                                                                                                                | Four highly pseudosymmetric and/or twinned structures of d(CGCGCG) <sub>2</sub> extend the repertoire of crystal structures of Z-DNA, 2017, D73, 940-951                   | 2.114 | 45          |
| 5. | Acta Physiologiae Plantarum                         | <b>B. Swarczewicz</b> , A. Sawikowska, <b>L. Marczak</b> , <b>M. Luczak</b> , <b>D. Ciesiolka</b> , K. Krystkowiak, A. Kuczynska, <b>M. Pislewska-Bednarek</b> , P. Krajewski, <b>M. Stobiecki</b> | Effect of drought stress on metabolite contents in barley recombinant inbred line population revealed by untargeted GC-MS profiling, 2017, 39,158                          | 1.364 | 25          |
| 6. | Analytica Chimica Acta                              | A.Dembska, <b>E. Kierzek</b> , B. Juskowiak                                                                                                                                                        | Studying the influence of stem composition in pH-sensitive molecular beacons onto their sensing properties, 2017, 990, 157-167                                             | 4.950 | 45          |

|     |                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                    |       |    |
|-----|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 7.  | Antiviral Research                               | S.F. Le Grice, J. Sztuba-Solinska, E. Maccioni, <b>K.J. Purzycka</b> , C. Parolin, E. Tramontano                                                                                                                                                                            | Meeting report: Third Summer School on Innovative Approaches for Identification of Antiviral Agents (IAAASS), 2017, 139, 13-17                                     | 4.271 | 35 |
| 8.  | Archives of Control Sciences                     | K. Chmielewska, D. Formanowicz, <b>P. Formanowicz</b>                                                                                                                                                                                                                       | The effect of cigarette smoking on endothelial damage and atherosclerosis development - modeled and analyzed using Petri nets, 2017, 27, 211-228                   | 0.705 | 15 |
| 9.  | Archives of Control Sciences                     | K. Rzosinska, D. Formanowicz, <b>P. Formanowicz</b>                                                                                                                                                                                                                         | The study of the influence of micro-environmental signals on macrophage differentiation using a quantitative Petri net based model, 2017, 27, 331-349              | 0.705 | 15 |
| 10. | Astronomy & Astrophysics                         | P. Krehlik, L. Buczek, J. Kolodziej, M. Lipinski, L. Sliwczynski, J. Narocki, P. Nogas, A. Marecki, E. Pazderski, P. Ablewski, M. Bober, R. Ciurylo, A. Cygan, D. Lisak, P. Maslowski, P. Morzynski, M. Zawada, R.M. Campbell, J. Pieczerak, <b>A. Binczewski, K. Turza</b> | Fibre-optic delivery of time and frequency to VLBI station, 2017, 603, A48, 1-8                                                                                    | 5.014 | 35 |
| 11. | Asian Journal of Andrology                       | M. Olszewska, <b>M.Z. Barciszewska</b> , M. Fraczek, N. Huleyuk, V.B. Chernykh, D. Zastavna, <b>J. Barciszewski</b> , M. Kurpisz                                                                                                                                            | Global methylation status of sperm DNA in carriers of chromosome structural aberrations, 2017, 19, 117-124                                                         | 2.996 | 40 |
| 12. | Biochemistry                                     | L.M. Gómez Ramos, N.N. Degtyareva, N.A. Kovacs, S.Y. Holguin, L. Jiang, A.S. Petrov, <b>M. Biesiada</b> , M.Y. Hu, <b>K.J. Purzycka</b> , D.P. Arya, L.D. Williams                                                                                                          | Eukaryotic Ribosomal Expansion Segments as Antimicrobial Targets, 2017, 56, 5288-5299                                                                              | 2.938 | 25 |
| 13. | Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects | M. Szymanski, <b>J. Barciszewski</b>                                                                                                                                                                                                                                        | The path to the genetic code, 2017, 1861, 2674-2679                                                                                                                | 4.702 | 35 |
| 14. | Bioinformatics                                   | <b>M. Radom, A. Rybarczyk</b> , B. Szawulak, H. Andrzejewski, P. Chabelski, A. Kozak, <b>P. Formanowicz</b>                                                                                                                                                                 | Holmes: a graphical tool for development, simulation and analysis of Petri net based models of complex biological systems, 2017, 33, 3822-3823                     | 7.307 | 45 |
| 15. | BioMed Research International                    | B. Gryszczynska, D. Formanowicz, M. Budzyn, M. Wanic-Kossowska, E. Pawliczak, <b>P. Formanowicz</b> ,                                                                                                                                                                       | Advanced Oxidation Protein Products and Carbonylated Proteins as Biomarkers of Oxidative Stress in Selected Atherosclerosis-Mediated Diseases, 2017, 2017, 4975264 | 2.476 | 25 |

|     |                                |                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                       |       |    |
|-----|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
|     |                                | W. Majewski, K.W. Strzyzewski, M.P. Kasprzak, M. Iskra                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                       |       |    |
| 16. | BioMed Research International  | J. Miskiewicz, K. Tomczyk, A. Mickiewicz, <b>J. Sarzynska, M. Szachniuk</b>                                                                                                                                                                                  | Bioinformatics study of structural patterns in plant microRNA precursors, 2017, ID 6783010                                                                            | 2.476 | 25 |
| 17. | Bioorganic Chemistry           | <b>M. Gladysz</b> , A. Nowak, <b>A. Pasternak</b> , J. Milecki                                                                                                                                                                                               | Synthesis and hybridization properties of oligonucleotide analogues with novel acyclic triazole internucleotide linkages, 2017, 72, 161-167                           | 3.231 | 25 |
| 18. | Bioorganic Chemistry           | <b>Z. Jahnz-Wechmann, J. Lisowiec-Wachnicka, G. Framski</b> , J. Kosman, <b>J. Boryski, A. Pasternak</b>                                                                                                                                                     | Thermodynamic, structural and fluorescent characteristics of DNA hairpins containing functionalized pyrrolo-2'-deoxycytidines, 2017, 71, 294-298                      | 3.231 | 25 |
| 19. | Bioscience Reports             | H. Wu, M. Kwaaitaal, R. Strugala, U. Schaffrath, <b>P. Bednarek</b> , R. Panstruga                                                                                                                                                                           | Chemical suppressors of <i>mlo</i> -mediated powdery mildew Resistance, 2017, 37, BSR20171389                                                                         | 2.906 | 20 |
| 20. | BMC Bioinformatics             | J. Wiedemann, <b>T. Zok, M. Milostan, M. Szachniuk</b>                                                                                                                                                                                                       | LCS-TA to identify similar fragments in RNA 3D structures, 2017, 18, 456                                                                                              | 2.448 | 35 |
| 21. | BMC Cancer                     | J. Trubicka, <b>T. Zemojtel</b> , J. Hecht, K. Falana, D. Piekutowska-Abramczuk, R. Ploski, M. Perek-Polnik, M. Drogosiewicz, W. Grajkowska, E. Ciara, E. Moszczynska, B. Dembowska-Baginska, D. Perek, K.H. Chrzanowska, M. Krajewska-Walasek, M. Lastowska | The germline variants in DNA repair genes in pediatric medulloblastoma: a challenge for current therapeutic strategies, 2017,17, 239                                  | 3.288 | 30 |
| 22. | BMC Genomics                   | <b>P. Jackowiak, A. Hojka-Osinska, A. Philips, A. Zmienko, L. Budzko</b> , P. Maillard, A. Budkowska, <b>M. Figlerowicz</b>                                                                                                                                  | Small RNA fragments derived from multiple RNA classes – the missing element of multi-omics characteristics of the hepatitis C virus cell culture model, 2017, 18, 502 | 3.729 | 35 |
| 23. | Chemical Biology & Drug Design | M. Wierzchowski, Z. Dutkiewicz, A.Gielara-Korzanska, A. Korzański, <b>A. Teubert</b> , A. Tezyk, T. Stefanski, W. Baer-Dubowska, R. Mikstacka                                                                                                                | Synthesis, biological evaluation and docking studies of trans-stilbene methylthio derivatives as cytochromes P450 family 1 inhibitors, 2017, 90, 1226–1236            | 2.396 | 25 |
| 24. | Chemical Papers                | I. Wojciechowska, A. Wojciechowska, K. Wieszczycka, P. Aksamitowski, J. Zembrzuska, <b>G. Framski</b>                                                                                                                                                        | Quantitative analysis of amphiphilic N-alkyloxypyridine-carboximidamide by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, 2017, 71, 553-560                          | 1.258 | 20 |

|     |                                                                           |                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                      |       |    |
|-----|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 25. | ChemistryOpen                                                             | <b>A. Kasprawicz</b> , K. Stokowa-Soltys, M. Jezowska-Bojczuk, <b>J. Wrzesinski</b> , <b>J. Ciesiolka</b>                                                                                             | Characterization of highly efficient RNA-cleaving DNazymes that function at an acidic pH with no divalent metal ion cofactors, 2017, 6, 46-56                                                        | 2.918 | 30 |
| 26. | Cluster Computing-The Journal of Networks Software Tools and Applications | <b>M. Ciznicki</b> , <b>K. Kurowski</b> , J. Weglarz                                                                                                                                                  | Energy aware scheduling model and online heuristics for stencil codes on heterogeneous computing architectures, 2017, 20, 2535-2549                                                                  | 2.04  | 30 |
| 27. | Colloids And Surfaces B- Biointerfaces                                    | W. Smulek, A. Zdarta, A. Pacholak, A. Zgola-Grzeskowiak, <b>L. Marczak</b> , M. Jarzebski, E. Kaczorek                                                                                                | Saponaria officinalis L. extract: Surface active properties and impact on environmental bacterial strains, 2017, 150, 209-215                                                                        | 3.887 | 35 |
| 28. | Computational Biology and Chemistry                                       | <b>A. Mickiewicz</b> , <b>J. Sarzynska</b> , M. Milostan, <b>A. Kurzynska-Kokorniak</b> , <b>A. Rybarczyk</b> , <b>P. Lukasiak</b> , <b>T. Kulinski</b> , <b>M. Figlerowicz</b> , <b>J. Blazewicz</b> | Modeling of the catalytic core of Arabidopsis thaliana Dicer-like 4 protein and its complex with double-stranded RNA, 2017, 66, 44-56                                                                | 1.331 | 20 |
| 29. | Concurrency And Computation-Practice & Experience                         | H. Astsatryan, W. Narsisian, A. Kocharyan, G. Da Costa, A. Hankel, <b>A. Oleksiak</b>                                                                                                                 | Energy optimization methodology for e-infrastructure providers, 2017, 29, e4703                                                                                                                      | 1.133 | 20 |
| 30. | Current Organic Chemistry                                                 | K. Szubert, M. Piepiorka, M. Jankowska-Wajda, <b>J. Brzezinska</b> , K. Pasternak, N. Remszel, E. Frydrych-Tomczak, H. Maciejewski, <b>M.K. Chmielewski</b>                                           | Amino-functional Silsesquioxanes (POSS) – Effective Glass Surface Modifiers in Solid-Phase Nucleic Acid Synthesis, 2017, 21, 2597-2604                                                               | 2.075 | 30 |
| 31. | Current Organic Chemistry                                                 | <b>A. Krajczyk</b> , <b>J. Boryski</b>                                                                                                                                                                | Dimroth Rearrangement – Old But Not Outdated, 2017, 21, 2515-2529                                                                                                                                    | 2.075 | 30 |
| 32. | Disease Models & Mechanisms                                               | J.S. Napierala, Y. Li, Y. Lu, K. Lin, L.A. Hauser, D.R. Lynch, <b>M. Napierala</b>                                                                                                                    | Comprehensive analysis of gene expression patterns in Friedreich's ataxia fibroblasts by RNA sequencing reveals altered levels of protein synthesis factors and solute carriers, 2017, 10, 1353-1369 | 4.691 | 40 |
| 33. | EMBO Molecular Medicine                                                   | K. Lepeta, K.J. Purzycka, <b>K. Pachulska-Wieczorek</b> , M. Mitjans, M. Begemann, B. Vafadari, K. Bijata, <b>R.W. Adamiak</b> , H. Ehrenreich, M. Dziembowska, L. Kaczmarek                          | A normal genetic variation modulates synaptic MMP-9 protein levels and the severity of schizophrenia symptoms, 2017, 9, 1100-1116                                                                    | 9.249 | 45 |

|     |                                                                          |                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                         |       |    |
|-----|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 34. | Endocrine                                                                | B. Budny, E. Szczepanek-Parulska, <b>T. Zemojtel</b> , W. Szaflarski, M. Rydzanicz, J. Wesoly, <b>L. Handschuh</b> , K. Wolinski, K. Piatek, M. Niedziela, K. Ziemnicka, <b>M. Figlerowicz</b> , M. Zabel, M. Ruchala | Mutations in proteasome-related genes are associated with thyroid hemiagenesis, 2017, 56, 279-285                                                                       | 3.131 | 25 |
| 35. | European Review                                                          | <b>N. Szostak, S. Wasik, J. Blazewicz</b>                                                                                                                                                                             | Understanding life: a bioinformatics perspective, 2017, 2, 231-245                                                                                                      | 0.281 | 15 |
| 36. | FASEB Journal                                                            | K. Khayati, H. Antikainen, E.M. Bonder, G.F. Weber, W. D. Kruger, <b>H. Jakubowski</b> , R. Dobrowolski                                                                                                               | The amino acid metabolite homocysteine activates mTORC1 to inhibit autophagy and form abnormal proteins in human neurons and mice, 2017, 31, 598-609                    | 5,498 | 40 |
| 37. | FEBS Journal                                                             | <b>M. Szabat, R. Kierzek</b>                                                                                                                                                                                          | Parallel-stranded DNA and RNA duplexes - structural features and potential applications, 2017, 284, 3986-3998                                                           | 3,902 | 30 |
| 38. | Frontiers in Cellular Neuroscience                                       | <b>M.O. Urbanek, A. Fiszer, W.J. Krzyzosiak</b>                                                                                                                                                                       | Reduction of Huntington's Disease RNA Foci by CAG Repeat-Targeting Reagents, 2017, 11, 82                                                                               | 4.555 | 35 |
| 39. | Frontiers in Cellular Neuroscience                                       | <b>A. Ciesiolka, M. Jazurek, K. Drazkowska, W.J. Krzyzosiak</b>                                                                                                                                                       | Structural Characteristics of Simple RNA Repeats Associated with Disease and their Deleterious Protein Interactions, 2017, 11, 97                                       | 4.555 | 35 |
| 40. | Frontiers in Molecular Neuroscience                                      | <b>W.J. Szlachcic, K. Wiatr, M. Trzeciak, M. Figlerowicz, M. Figiel</b>                                                                                                                                               | The Generation of Mouse and Human Huntington Disease iPS Cells Suitable for In vitro Studies on Huntingtin Function, 2017, 10, 312                                      | 5,076 | 35 |
| 41. | Frontiers in Plant Science                                               | H. Kuhn, J. Lorek, M. Kwaaitaal, C. Consonni, K. Becker, C. Micali, E. Ver Loren van Themaat, <b>P. Bednarek</b> , T.M. Raaymakers, M. Appiano, Y. Bai, D. Meldau, S. Baum, U. Conrath, I. Feussner, R. Panstruga     | Key Components of Different Plant Defense Pathways Are Dispensable for Powdery Mildew Resistance of the Arabidopsis <i>mlo2 mlo6 mlo12</i> Triple Mutant, 2017, 8, 1006 | 4.291 | 40 |
| 42. | Frontiers in Plant Science                                               | <b>A. Samelak-Czajka, M. Marszalek-Zenczak, M. Marcinkowska-Swojak, P. Kozłowski, M. Figlerowicz, A. Zmienko</b>                                                                                                      | MLPA-Based Analysis of Copy Number Variation in Plant Populations, 2017, 8, 222                                                                                         | 4.291 | 40 |
| 43. | Future Generation Computer Systems-The International Journal Of Escience | <b>M. Kierzynka</b> , L. Kosmann, M. vor dem Berge, S. Krupop, J. Hagemeyer, R. Griessl, M. Peykanu, <b>A. Oleksiak</b>                                                                                               | Energy efficiency of sequence alignment tools-Software and hardware perspectives, 2017, 67, 455-465                                                                     | 3.997 | 40 |

|     |                                                                   |                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                               |       |    |
|-----|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 44. | G3-Genes Genomes Genetics                                         | V. Makrantonis, <b>A. Ciesiolka</b> , C. Lawless, J. Fernius, A. Marston, D. Lydall, MJR. Stark                                                                                                | A Functional Link Between Bir1 and the Saccharomyces cerevisiae Ctf19 Kinetochore Complex Revealed Through Quantitative Fitness Analysis, 2017, 7, 3203-3215                                                  | 2.861 | 30 |
| 45. | Gigascience                                                       | <b>A. Philips, I. Stolarek, B. Kuczkowska</b> , A. Juras, <b>L. Handschuh</b> , J. Piontek, <b>P. Kozłowski, M. Figlerowicz</b>                                                                | Comprehensive analysis of microorganisms accompanying human archaeological remains, 2017, 6, 1-13                                                                                                             | 6.871 | 45 |
| 46. | IEEE Systems Man And Cybernetics Magazine                         | J.H. Haga, C. Fernandez., A. Takefusa, T. Ikeda, J. Tanaka, <b>B. Belter</b> , T. Kudoh                                                                                                        | Building Intelligent Future Internet Infrastructures FELIX_ for Federating Software-Defined Networking Experimental Networks in Europe and Japan, 2017, 3, 35-42                                              | -     | -  |
| 47. | Heteroatom Chemistry                                              | <b>G. Framski</b> , T. Goslinski, <b>P. Januszczyk, B. Golankiewicz, T. Ostrowski</b>                                                                                                          | Alkylation of 9-substituted guanine derivatives with $\alpha,\omega$ -dihaloalkanes, 2017, 28, e21399                                                                                                         | 1.221 | 20 |
| 48. | International Journal of Applied Mathematics and Computer Science | <b>A. Rybarczyk</b> , A. Hertz, <b>M. Kasprzak, J. Blazewicz</b>                                                                                                                               | Tabu Search for the RNA Partial Degradation Problem, 2017, 27, 401-415                                                                                                                                        | 1.420 | 25 |
| 49. | International Journal of Biochemistry & Cell Biology              | <b>P. Jackowiak, A. Hojka-Osinska, K. Gasiorek, M. Stelmaszczuk, D. Gudanis, Z. Gdaniec, M. Figlerowicz</b>                                                                                    | Effects of G-quadruplex topology on translational inhibition by tRNA fragments in mammalian and plant systems in vitro, 2017, 92, 148-154                                                                     | 3,505 | 35 |
| 50. | International Journal of Biological Macromolecules                | K. Brzezinski, J. Czyrko, <b>J. Sliwiak</b> , E. Nalewajko-Sieliwoniuk, <b>M. Jaskolski</b> , B. Nocek, Z. Dauter                                                                              | S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from a hyper-thermophile ( <i>Thermatoga maritima</i> ) is expressed in <i>Escherichia coli</i> in inactive form – biochemical and structural studies, 2017, 104, 584-596 | 3.671 | 35 |
| 51. | International Journal of Biological Macromolecules                | A. Switalska, <b>R. Kierzek</b> , A. Dembska, B. Juskowiak                                                                                                                                     | Spectroscopic study of fluorescent probes based on G-quadruplex oligonucleotides labeled with ethynylpyrenyl-deoxyuridine, 2017, 105, 862-872                                                                 | 3.671 | 35 |
| 52. | International Journal of Molecular Sciences                       | A. Wozniak, M. Formela, P. Bilman, K. Grzeskiewicz, W. Bednarski, <b>L. Marczak</b> , D. Narozna, K. Dancewicz, VC. Mai, B. Borowiak-Sobkowiak, J. Floryszak-Wieczorek, B. Gabrys, I. Morkunas | The Dynamics of the Defense Strategy of Pea Induced by Exogenous Nitric Oxide in Response to Aphid Infestation, 2017, 18, 329                                                                                 | 3.226 | 30 |

|     |                                                                                          |                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                     |       |    |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 53. | International Journal of Molecular Sciences                                              | E. Koziel, <b>J.J. Bujarski</b> , K. Otulak                                                                                                                        | Molecular Biology of Prune Dwarf Virus-A Lesser Known Member of the Bromoviridae but a Vital Component in the Dynamic Virus-Host Cell Interaction Network, 2017, 18, 12             | 3.226 | 30 |
| 54. | IUCrJ                                                                                    | <b>T. Manszewski, K. Szpotkowski, M. Jaskolski</b>                                                                                                                 | Crystallographic and SAXS studies of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from <i>Bradyrhizobium elkanii</i> , 2017, 4, 271-282                                                      | 5.793 | 35 |
| 55. | Journal of Chemistry                                                                     | K. Czaja, J. Kujawski, E. Jodłowska-Siewert, P. Szulc, <b>T. Ratajczak, D. Krygier, M.K. Chmielewski</b> , M.K. Bernard                                            | On the Interactions of Fused Pyrazole Derivative with Selected Amino Acids: DFT Calculations, 2017, 8124323                                                                         | 1.300 | 20 |
| 56. | Journal Of Chromatography B- Analytical Technologies In The Biomedical And Life Sciences | <b>A. Strugała</b> , M. Krecisz, J.D. Rybka, <b>A. Urbanowicz, K. Szpotkowski, P. Bierwagen, M. Figlerowicz</b> , M. Kozak, C. Bottcher, M. Giersig                | Biophysical analysis of BMV virions purified using a novel method, 2017, 1068-1069, 157-163                                                                                         | 2.603 | 30 |
| 57. | Journal of Computational Biology                                                         | <b>M.C. Milewski, K. Kamel, A. Kurzynska-Kokorniak, M.K. Chmielewski, M. Figlerowicz</b>                                                                           | EvOligo: A Novel Software to Design and Group Libraries of Oligonucleotides Applicable for Nucleic Acid-Based Experiments, 2017, 24, 1014-1028                                      | 1.032 | 25 |
| 58. | Journal of Computational Science                                                         | M. Owsiak, M. Płociennik, B. Palak, T. Zok, C. Reux, L. Di Gallo, D. Kalupin, T. Johnson, M. Schneider                                                             | Running simultaneous Kepler sessions for the parallelization of parametric scans and optimization studies applied to complex workflows, 2017, 20, 103-111                           | 1.748 | 30 |
| 59. | Journal of Experimental Botany                                                           | <b>W. Biała, J. Banasiak, K. Jarzyniak, A. Paweła, M. Jasinski</b>                                                                                                 | Medicago truncatula ABCG10 is a transporter of 4-coumarate and liquiritigenin in the medicarpin biosynthetic pathway, 2017, 68, 3231-3241                                           | 5.830 | 45 |
| 60. | Journal of Fluorine Chemistry                                                            | <b>B. Marciniak</b> , J. Walkowiak-Kulikowska, H. Koroniak                                                                                                         | On the halofluorination reactions of olefins as selective, and an efficient methodology for the introduction of fluorine into organic molecules, 2017, 203, 47-61                   | 2.101 | 30 |
| 61. | Journal of Inorganic Biochemistry                                                        | J. Długaszevska, W. Szczolko, T. Koczorowski, P. Skupin-Mrugalska, <b>A. Teubert</b> , K. Konopka, M. Kucinska, M. Murias, N. Duzgunes, J. Mielcarek, T. Goslinski | Antimicrobial and anticancer photodynamic activity of a phthalocyanine photosensitizer with N-methyl morpholiniummethoxy substituents in non-peripheral positions, 2017, 172, 67-79 | 3.348 | 35 |

|     |                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                |       |    |
|-----|---------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 62. | Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic | M. Krzakowa, <b>K. Bakowska-Zywicka</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Peroxidase polymorphism in pubescent oak ( <i>Quercus pubescens</i> Willd.) in relation to <i>Q. petraea</i> Matt. Liebl and <i>Q. robur</i> L, 2016, 133, S194-S199<br>(nie wykazano w Sprawozdaniu za 2016 r.)                                                               | 2.269 | 25 |
| 63. | Journal of Molecular Graphics and Modelling | A. Jarmula, P. Wilk, P. Maj, J. Ludwiczak, A. Dowiercial, <b>K. Banaszak, W. Rypniewski</b> , J. Ciesla, M. Dabrowska, T. Fraczyk, A.K. Bronowska, J. Jakowiecki, S. Filipek, W. Rode                                                                                                                                                                                                                                  | Crystal structures of nematode (parasitic <i>T. spiralis</i> and free living <i>C. elegans</i> ), compared to mammalian, thymidylate synthases (TS). J. Molecular docking and molecular dynamics simulations in search for nematode-specific inhibitors of TS, 2017, 77, 33-50 | 1.754 | 25 |
| 64. | Journal of Proteomics                       | A. Zdarta, <b>J. Tracz, M. Luczak</b> , U. Guzik, E. Kaczorek,                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Hydrocarbon-induced changes in proteins and fatty acids profiles of <i>Raoultella ornithinolytica</i> M03, 2017, 164, 43-51                                                                                                                                                    | 3.914 | 35 |
| 65. | Methods                                     | <b>M.O. Urbanek, M. Michalak, W.J. Krzyzosiak</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2D and 3D FISH of expanded repeat RNAs in human lymphoblasts, 2017, 120, 49-57                                                                                                                                                                                                 | 3.802 | 35 |
| 66. | Microbial Drug Resistance                   | <b>M. Skupinska</b> , P. Stepniak, I. Letowska, L. Rychlewski, <b>M. Barciszewska, J. Barciszewski, M. Giel-Pietraszuk</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Natural compounds as inhibitors of tyrosyl-tRNA Synthetase, 2017, 23, 308-320                                                                                                                                                                                                  | 2.306 | 25 |
| 67. | Microprocessors and Microsystems            | <b>A. Oleksiak, M. Kierzynka, W. Piatek</b> , G. Agosta, A. Barengi, C. Brandolese, W. Fornaciari, G. Pelosi, M. Cecowski, R. Plestenjak, J. Cinkelj, M. Porromann, J. Hagemeyer, R. Griessl, J. Lachmair, M. Peykanu, L. Tigges, M. von dem Berge, W. Christmann, S. Krupop, A. Carbon, L. Cudennec, T. Goubier, JM. Philippe, S. Rosinger, D. Schlitt, C. Pierper, C. Adeniyi-Jones, J. Setoain, L. Ceva, U. Janssen | M2DC-Modular Microserver DataCentre with heterogeneous hardware, 2017, 52, 117-130                                                                                                                                                                                             | 1.025 | 20 |
| 68. | Mini-Reviews in Organic Chemistry           | <b>M.K. Chmielewski, T.P. Kaczynski</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Mini-Review of the Phosphate Center Activation Strategy in Nucleoside Triphosphate Preparation, 2017, 14, 448                                                                                                                                                                  | 1.095 | 20 |
| 69. | Molecular BioSystems                        | <b>M. Baranek, A. Belter, M.Z. Naskret-Barciszewska, M. Stobiecki, W.T. Markiewicz, J. Barciszewski</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Effect of small molecules on cell reprogramming, 2017, 13, 277-313                                                                                                                                                                                                             | 2.781 | 25 |

|     |                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                  |        |    |
|-----|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|----|
| 70. | Molecules              | A. Wozniak, K. Drzewiecka, J. Kesy, <b>L. Marczak</b> , D. Narozna, M. Grobela, R. Motala, J. Bocianowski, I. Morkunas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | The Influence of Lead on Generation of Signalling Molecules and Accumulation of Flavonoids in Pea Seedlings in Response to Pea Aphid Infestation, 2017, 22, 1404 | 2.861  | 30 |
| 71. | Molecules              | A. Kosmider, E. Czepielewska, M. Kuras, <b>K. Gulewicz</b> , W. Pietrzak, R. Nowak, G. Nowicka                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Uncaria tomentosa Leaves Decoction Modulates Differently ROS Production in Cancer and Normal Cells, and Effects Cisplatin Cytotoxicity, 2017, 22, 620            | 2.861  | 30 |
| 72. | Mutation Research      | <b>M.O. Urbanek, W.J. Krzyzosiak</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Discriminating RNA variants with single-molecule allele-specific FISH, 2017, 773, 230-241                                                                        | 5.500  | 40 |
| 73. | Nature Communications  | S.M. Lyons, <b>D. Gudanis</b> , S.M. Coyne, <b>Z. Gdaniec</b> , P. Ivanov                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Identification of functional tetramolecular RNA G-quadruplexes derived from transfer RNAs, 2017, 8, 1127                                                         | 12.124 | 50 |
| 74. | Nature Genetics        | H. Svardal, <b>A.J. Jasinska</b> , C. Apetrei, G. Coppola, Y. Huang, C.A. Schmitt, B. Jacquelin, V. Ramensky, M. Müller-Trutwin, M. Antonio, G. Weinstock, J.P. Grobler, K. Dewar, R.K. Wilson, T.R. Turner, W.C. Warren, N.B. Freimer, M. Nordborg                                                                                                                                                                                                            | Ancient hybridization and strong adaptation to viruses across African vervet monkey populations, 2017, 49, 1705-1713                                             | 27.959 | 50 |
| 75. | Nature Genetics        | <b>A.J. Jasinska</b> , I. Zelaya, S.K. Service, C.B. Peterson, R.M. Cantor, O.W. Choi, J. DeYoung, E. Eskin, L.A. Fairbanks, S. Fears, A.E. Furterer, Y.S. Huang, V. Ramensky, C.A. Schmitt, H. Svardal, M.J. Jorgensen, J.R. Kaplan, D. Villar, B.L. Aken, P. Flicek, R. Nag, E.S. Wong, J. Blangero, T.D. Dyer, M. Bogomolov, Y. Benjamini, G.M. Weinstock, K. Dewar, C. Sabatti, R.K. Wilson, J.D. Jentsch, W. Warren, G. Coppola, R.P. Woods, N.B. Freimer | Genetic variation and gene expression across multiple tissues and developmental stages in a nonhuman primate, 2017, 49, 1714-1721                                | 27.959 | 50 |
| 76. | Nucleic Acids Research | M. Matuszewski, J. Wojciechowski, K. Miyauchi, <b>Z. Gdaniec</b> , W.M. Wolf, T. Suzuki, E. Sochacka                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | A hydantoin isoform of cyclic N6-threonylcarbamoyladenine (ct6A) is present in tRNAs, 2017, 45, 2137-2149                                                        | 10.162 | 40 |

|     |                                     |                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                    |        |    |
|-----|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|----|
| 77. | Nucleic Acids Research              | T. Penzkofer, M. Jager, <b>M. Figlerowicz</b> , R. Badge, S. Mundlos, P.N.Robinson, <b>T. Zemojtel</b>                                                                                                     | L1Base 2: more retrotransposition-active LINE-1s, more mammalian genomes, 2017, 45, 68-73                                                                                                                                          | 10.162 | 40 |
| 78. | Nucleic Acids Research              | <b>L. Galganski, M.O. Urbanek, W.J. Krzyzosiak</b>                                                                                                                                                         | Nuclear speckles: molecular organization, biological function and role in disease, 2017, 45, 10350-10368                                                                                                                           | 10.162 | 40 |
| 79. | Nucleic Acids Research              | <b>A. Kiliszek, L. Blaszczyk, R. Kierzek, W. Rypniewski</b>                                                                                                                                                | Stabilization of RNA hairpins using non-nucleotide linkers and circularization, 2017, 45, e92                                                                                                                                      | 10.162 | 40 |
| 80. | Numerical Algorithms                | A. Marciniak, MA. Jankowska, <b>T. Hoffmann</b>                                                                                                                                                            | On interval predictor-corrector methods 2017, 75, 777-80                                                                                                                                                                           | 1.241  | 35 |
| 81. | Oncology Letters                    | M. Rogalinska, P. Goralski, J.Z. Blonski, P. Robak, <b>J. Barciszewski</b> , A. Koceva-Chyla, H. Piekarski, T. Robak, Z.M. Kilianska                                                                       | Personalized therapy tests for the monitoring of chronic lymphocytic leukemia development, 2017, 13, 2079-2084                                                                                                                     | 1.390  | 15 |
| 82. | Oncotarget                          | R.M. Thompson, D. Dytfeld, L. Reyes, R.M. Robinson, B. Smith, Manevich, A. Jakubowiak, M. Komarnicki, A. Przybylowicz-Chalecka, T. Szczepaniak, A.K. Mitra, B.G. Van Ness, <b>M. Luczak</b> , N.G. Dolloff | Glutaminase inhibitor CB-839 synergizes with carfilzomib in resistant multiple myeloma cells, 2017, 8, 35863-35876                                                                                                                 | 5.168  | 35 |
| 83. | Oncotarget                          | A.A. Rawluszko-Wieczorek, <b>L. Marczak</b> , N. Horst, K. Horbacka, P. Krokowicz, P.P. Jagodzinski                                                                                                        | Significance of intratissue estrogen concentration coupled with estrogen receptors levels in colorectal cancer prognosis, 2017, 8, 115546-115560                                                                                   | 5.168  | 35 |
| 84. | Oncotarget                          | <b>K. Klonowska</b> , W. Kluzniak, B. Rusak, A. Jakubowska, M. Ratajska, N. Krawczynska, D. Vasilevska, <b>K. Czubak, M. Wojciechowska</b> , C. Cybulski, J. Lubinski, <b>P. Kozlowski</b>                 | The 30 kb deletion in the APOBEC3 cluster decreases APOBEC3A and APOBEC3B expression and creates a transcriptionally active hybrid gene but does not associate with breast cancer in the European population, 2017, 8, 76357-76374 | 5.168  | 35 |
| 85. | Physical Chemistry Chemical Physics | M. Lozynski, J. Pernak, <b>Z. Gdaniec</b> , B. Gorska, F. Beguin                                                                                                                                           | Proof of ion-pair structures in ammonium-based protic ionic liquids using combined NMR and DFT/PCM-based chemical shift calculations, 2017, 19, 25033-25043                                                                        | 4.123  | 40 |
| 86. | Physiology & Behavior               | M. Ozarowski , P. L. Mikolajczak, <b>A. Piasecka</b> , R. Kujawski,                                                                                                                                        | Effect of Salvia miltiorrhiza root extract on brain acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities,                                                                                                                     | 2.341  | 30 |

|     |                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |       |    |
|-----|----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
|     |                                                                            | J. Bartkowiak-Wieczorek, A. Bogacz, M. Szulc, E. Kaminska, M. Kujawska, A. Gryszczynska, P. Kachlicki, W. Buchwald, A. Klejewski, A. Seremak- Mrozikiewicz                                                                           | their mRNA levels and memory evaluation in rats, 2017, 173, 223-230                                                                                                                     |       |    |
| 87. | Plant Journal                                                              | S. Fukunaga, M. Sogame, M. Hata, S. Singkaravanit-Ogawa, <b>M. Pislewska-Bednarek</b> , M. Onozawa-Komori, T. Nishiuchi, K. Hiruma, H. Saitoh, R. Terauchi, S. Kitakura, Y. Inoue, <b>P. Bednarek</b> , P. Schulze-Lefert, Y. Takano | Dysfunction of Arabidopsis MACPF domain protein activates programmed cell death via tryptophan metabolism in MAMP-triggered immunity, 2017, 89, 381-393                                 | 5.901 | 45 |
| 88. | Plant Journal                                                              | R.T. Nakano, <b>M. Pislewska-Bednarek</b> , K. Yamada, P.P. Edger, M. Miyahara, M. Kondo, C. Bottcher, M. Mori, M. Nishimura, P. Schulze-Lefert, I. Hara-Nishimura, <b>P. Bednarek</b>                                               | PYK10 myrosinase reveals a functional coordination between endoplasmic reticulum bodies and glucosinolates in <i>Arabidopsis thaliana</i> , 2017, 89, 204-220                           | 5.901 | 45 |
| 89. | PLoS Neglected Tropical Diseases                                           | M. Kesik-Brodacka, A. Lipiec, M.Kozak-Ljunggren, L. Jedlina, <b>K. Miedzinska</b> , <b>M. Mikolajczak</b> , A. Plucienniczak, <b>A.B. Legocki</b> , H. Wedrychowicz                                                                  | Immune response of rats vaccinated orally with various plant-expressed recombinant cysteine proteinase constructs when challenged with <i>Fasciola hepatica</i> metacercariae, 2017, 11 | 3.834 | 45 |
| 90. | PLoS One                                                                   | K.M. Lamperska, T. Kolenda, A. Teresiak, A. Kowalik, M. Kruszyna-Mochalska, W. Jackowiak, R. Blizniak, W. Przybyla, M. Kapalczyńska, <b>P. Kozłowski</b>                                                                             | Different levels of let-7d expression modulate response of FaDu cells to irradiation and chemotherapeutics, 2017, 12, e0180265                                                          | 2.806 | 35 |
| 91. | PLoS One                                                                   | D. Formanowicz, <b>M. Radom</b> , P. Zawierucha, <b>P. Formanowicz</b>                                                                                                                                                               | Petri net-based approach to modeling and analysis of selected aspects of the molecular regulation of angiogenesis, 2017, 12, e0173020                                                   | 2.806 | 35 |
| 92. | PLoS One                                                                   | <b>N. Szostak</b> , J. Synak, M. Borowski, <b>S. Wasik</b> , <b>J. Blazewicz</b>                                                                                                                                                     | Simulating the origins of life: The dual role of RNA replicases as an obstacle to evolution, 2017,12, e0180827                                                                          | 2.806 | 35 |
| 93. | Polish Archives Of Internal Medicine-Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej | <b>M. Luczak</b> , T. Kubicki, Z. Rzetelska, T. Szczepaniak, A. Przybyłowicz-Chalecka, B. Ratajczak, J. Czerwinska-Rybak,                                                                                                            | Comparative proteomic profiling of sera from patients with refractory multiple myeloma for predicting response to bortezomib-based therapy, 2017, 127, 392-400                          | 2.309 | 30 |

|     |                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                           |       |    |
|-----|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
|     |                             | A. Nowicki, M. Joks, A. Jakubowiak, M. Komarnicki, D. Dytfeld                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                           |       |    |
| 94. | Protein And Peptide Letters | A. Walaszczyk, M. Pietrowska, A. Wojakowska, A. Abramowicz, A. Chmura, B. Maslyk, <b>P. Rodziewicz</b> , J. Polanska, K. Behrendt, E. Nowicka, R. Tarnawski, P. Widlak                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Therapy-Related Changes in the Serum Proteome Patterns of Early Stage Breast Cancer Patients with Different Outcomes, 2017, 24, 37-45     | 0.964 | 15 |
| 95. | RNA                         | Z. Miao, <b>R.W. Adamiak</b> , M. Antczak, R.T. Batey, A.J. Becka, M. Biesiada, M.J. Boniecki, J.M. Bujnicki, S.-J. Chen, C.Y. Cheng, F.-C. Chou, A.R., Ferre-D'Amare, R. Das, W.K. Dawson, F. Ding, N.V. Dokholyan, S. Dunin-Horkawicz, C. Geniesse, K. Kappel, W. Kladwang, A. Krokhotin, G.E., Lach, F. Major, T.H. Mann, M. Magnus, K. Pachulska-Wieczorek, D.J. Patel, J.A. Piccirilli, <b>M. Popenda</b> , <b>K.J. Purzycka</b> , A. Ren, G.M. Rice, J.Jr., Santalucia, <b>J. Sarzynska</b> , <b>M. Szachniuk</b> , A. Tandon, J.J. Trausch, S. Tian, J. Wang, K.M. Weeks, B. Williams II, Y. Xiao, X. Xu, D. Zhang, T. Zok, E. Westhof | RNA-Puzzles Round III: 3D RNA structure prediction of five riboswitches and one ribozyme, 2017, 23, 655-672                               | 4.605 | 35 |
| 96. | RNA Biology                 | J. Gebetsberger, L. Wyss, <b>A.M. Mleczko</b> , J.Reuther, N. Polacek                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | A tRNA-derived fragment competes with mRNA for ribosome binding and regulates translation during stress, 2017, 14, 1364-1373              | 3.900 | 35 |
| 97. | Scientific Reports          | <b>D. Magner</b> , <b>E. Biala</b> , <b>J. Lisowiec-Wachnicka</b> , <b>R. Kierzek</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Influence of mismatched and bulged nucleotides on SNPpreferential RNase H cleavage of RNA-antisense gapmer heteroduplexes, 2017, 7, 12532 | 4.259 | 40 |
| 98. | Scientific Reports          | <b>M. Soszynska-Jozwiak</b> , <b>P. Michalak</b> , W.N. Moss, <b>R. Kierzek</b> , <b>J. Kesy</b> , <b>E. Kierzek</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Influenza virus segment 5 (+) RNA - secondary structure and new targets for antiviral strategies, 2017, 7, 15041                          | 4.259 | 40 |

|      |                      |                                                                                                        |                                                                                                                                                 |       |    |
|------|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 99.  | Scientific Reports   | <b>L. Budzko, P. Jackowiak, K. Kamel, J. Sarzynska, J.M.Bujnicki, M. Figlerowicz</b>                   | Mutations in human AID differentially affect its ability to deaminate cytidine and 5-methylcytidine in ssDNA substrates in vitro, 2017, 7, 3873 | 4.259 | 40 |
| 100. | Structural Chemistry | A. Dowiercial, A. Jarmula, P. Wilk, <b>W. Rypniewski</b> , M. Kowalska, T. Fraczyk, J. Ciesla, W. Rode | Mouse thymidylate synthase does not show the inactive conformation, observed for the human enzyme, 2017, 28, 667-674                            | 1.582 | 25 |
| 101. | Viruses              | <b>L. Blaszczyk, M. Biesiada</b> , A. Saha, D.J. Garfinkel, <b>K.J. Purzycka</b>                       | Structure of Ty1 Internally Initiated RNA Influences Restriction Factor Expression, 2017, 9, E74                                                | 3.465 | 30 |
| 102. | WIREs RNA            | <b>L. Blaszczyk, W. Rypniewski, A. Kiliszek</b>                                                        | Structures of RNA repeats associated with neurological diseases, 2017, 8, UNSP e1412                                                            | 4.838 | 35 |

1. B. Publikacje recenzowane z listy B MNiSW

| Lp | Nazwa czasopisma                       | Autor/Autorzy                                                                                                                                                                     | Tytuł, rok, tom, strony /nr artykułu                                                                                             | Punkty |
|----|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1. | Biotechnologia                         | <b>T. Twardowski</b> , A. Aguilar, P. Puigdomenech, A. Linkiewicz, S. Sowa, T. Zimny                                                                                              | European Union needs agro-bioeconomy, 2017, 98, 73-78                                                                            | 13     |
| 2. | Biotechnologia                         | <b>A. Fedoruk-Wyszomirska, W.T. Markiewicz, J. Barciszewski</b>                                                                                                                   | New inhibitors of DNA methyltransferase 1 based on cytosine scaffold, 2016, 97, 323-325 (nie wykazano w Sprawozdaniu za 2016 r.) | 13     |
| 3. | Nauka                                  | E. Bartnik, S. Bielecki, J.Dulak, M. Kęsik-Brodacka, M. Łobocka, A. Małyska, A. Sip, W. Białas, S. Sowa, J. Surmacz-Górska, <b>T. Twardowski</b> (opracowanie), E. Waszkowska     | Biogospodarka, biotechnologia i nowe techniki inżynierii genetycznej Ekspertyza Komitetu Biotechnologii PAN, 2017, 4, 183-196    | 10     |
| 4. | Nauka                                  | T. Zimny, <b>T. Twardowski</b>                                                                                                                                                    | Legislacja technik „bio” – pilna konieczność?, 2017, 3, 143-156                                                                  | 10     |
| 5. | Opolskie Studia Administracyjno-Prawne | <b>L. Handschuh, I. Stolarek</b> , A. Juras, <b>M. Zeńczak</b> , M. Marcinkowska-Swojak, A. Myszk, D. Trzciński, A. Losik-Sidorska, J. Wojtczak, <b>A. Philips</b> , A. Rożanski, | W poszukiwaniu Piastów, 2016,14, 63-77 (nie wykazano w Sprawozdaniu za 2016 r.)                                                  | 8      |

|    |                                                           |                                                                                                                            |                                                                                                                        |   |
|----|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
|    |                                                           | A. Debski, <b>P. Kozłowski</b> , M. Matla,<br>J. Dobosz, J. Jasinski, J. Piontek,<br>H. Kóčka-Krenz, <b>M. Figlerowicz</b> |                                                                                                                        |   |
| 6. | Przegląd Telekomunikacyjny i Wiadomości Telekomunikacyjne | M. Dobski, G. Frankowski, <b>N. Meyer</b> ,<br>M. Pilc                                                                     | Bezpieczeństwo w sfederalizowanych sieciach Internetu Rzeczy na przykładzie projektu H2020 symboloTe, 2017, 6, 595-600 | 9 |

#### 1.C. Pozostałe publikacje oraz artykuły popularnonaukowe

| Lp | Nazwa czasopisma                  | Autor/Autorzy                                                                                | Tytuł, rok, tom, strony /nr artykułu                                                                            |
|----|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | IFLA WLIC 2017                    | <b>M. Werla</b>                                                                              | Cloud technologies as a solution for digital collections management in small libraries, 2017, 1-8               |
| 2. | Modern Organic Chemistry Research | P. Aksamitowski, K. Wieszczycka,<br>A. Wojciechowska, I. Wojciechowska,<br><b>G. Framski</b> | Efficient synthesis of long-chain N'-hydroxy-N-alkyl- and -N,N-dialkylpyridine-carboximidamides, 2017, 2, 17-24 |
| 3. | Modern Organic Chemistry Research | A. Wojciechowska, K. Wieszczycka,<br><b>G. Framski</b>                                       | Synthesis and spectral analysis of pyridine derivatives, 2017, 2, 41-47                                         |
| 4. | Modern Organic Chemistry Research | K. Wieszczycka, K. Bukowski, <b>G. Framski</b>                                               | Synthesis of pyridyl- $\beta$ -ketophosphonates, 2017, 2, 67-73                                                 |

#### 2.A. Autorstwo rozdziału w monografii lub podręczniku akademickim:

| Lp. | Wydawca monografii/<br>podręcznika | Autor             | Tytuł rozdziału, tytuł monografii                                                                                                                                    | Rok, tom, strony |
|-----|------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 1.  | InTech                             | <b>A. Swiercz</b> | Hyper-Heuristics and Metaheuristics for Selected Bio-Inspired Combinatorial Optimization Problems [w:] Heuristics and Hyper-Heuristics - Principles and Applications | 2017, 3-20       |

|    |             |                                                                                                                |                                                                                                                                                                       |                          |
|----|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| 2. | SNAP Poznań | <b>L. Handschuh, M. Marcinkowska-Swojak, A. Philips, I. Stolarek, M. Zeńczak, P. Kozłowski, M. Figlerowicz</b> | Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle badań genomicznych [w:] Chrzest — przemiany religijne, kulturowe i sepulkralne. Funeralia Lednickie – spotkanie 19 | 2017, 203–209            |
| 3. | Springer    | A. Wlodawer, Z. Dauter, <b>M. Jaskolski</b>                                                                    | Structure Refinement at Atomic Resolution [w:] Protein Crystallography Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology                                            | 2017, 1607, 549-563      |
| 4. | Wiley       | <b>K. Drazkowska</b> , R. Tomecki                                                                              | Cytoplasmic RNA Decay [w:] Encyclopedia of Life Sciences                                                                                                              | 2017                     |
| 5. | Wiley       | <b>J. Brzezinska, A. Witkowska, T.P. Kaczynski, D. Krygier, T. Ratajczak, M.K. Chmielewski</b>                 | 2-Pyridinyl thermolabile groups as general protectants for hydroxyl, phosphate, and carboxyl functions [w:] Current Protocols, Nucleic Acid Chemistry                 | 2017, 68, 2.20.1-2.20.25 |

#### 2.B. Redakcja monografii lub podręcznika

| Lp. | Wydawca monografii/<br>podręcznika | Redaktorzy                                    | Tytuł, rok, tom/ strony                                                |
|-----|------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | Humana Press, New York, NY         | A. Wlodawer, Z. Dauter, <b>M. Jaskolski</b>   | Protein Crystallography. Methods in Molecular Biology, 2017, 1607, 672 |
| 2.  | Springer                           | N. Rajewsky, S. Jurga, <b>J. Barciszewski</b> | RNA Technologies. Plant Epigenetics, 2017, 536                         |

## Prace przyjęte do druku

1. **P. Formanowicz**, M. Nowicki, D. Formanowicz  
Mathematical Modeling of Aortic Aneurysm Progression, [w:] *New Approaches to the Aortic Disease from Valve to Abdominal Bifurcation* (red. I.C. Tintoiu, J. A. Elefteriades, A. Ursulescu, M.J. Underwood, I. Droc)  
Academic Press
2. **M. Radom, P. Formanowicz**  
An Algorithm for Sequencing by Hybridization Based on an Alternating DNA Chip  
*Computational Biology and Chemistry*
3. M. Antczak, **M. Popenda**, T. Zok, M. Zurkowski, R., **W. Adamiak, M. Szachniuk**  
New algorithms to represent complex pseudoknotted RNA structures in dot-bracket notation  
*Bioinformatics*
4. D. Formanowicz, **A. Rybarczyk, P. Formanowicz**  
Factors influencing essential hypertension and cardiovascular disease modeled and analyzed using stochastic Petri nets  
*Fundamenta Informaticae*
5. **J. Blazewicz, M. Kasprzak**, M. Kierzyńska, W. Frohmberg, **A. Swiercz**, P. Wojciechowski, P. Zurkowski  
Graph algorithms for DNA sequencing -origins, current models and the future  
*European Journal of Operational Research*
6. A. Aguilar, R. Wohlgemuth, **T. Twardowski**  
Preface to the special issue bioeconomy  
*New Biotechnology*
7. A. Aguilar, R. Wohlgemuth, **T. Twardowski**  
Perspectives on bioeconomy  
*New Biotechnology*
8. E. Wozniak, **T. Twardowski**  
The bioeconomy in Poland within the context of the European Union.  
*New Biotechnology*
9. **M. Mahmouda**, M. Zywicki, **T. Twardowski**, W. M. Karłowski  
Efficiency of PacBio long read correction by 2nd generation Illumina sequencing  
*Genomics*
10. M. Sydow, M. Owsianiak, **G. Framski**, M. Wozniak-Karczewska, A. Piotrowska-Cyplik, L. Lawniczak, A. Szulc, A. Zgola-Grzeskowiak, H.J. Heipieper, L. Chrzanowski  
Biodiversity of soil bacteria exposed to sub-lethal concentrations of phosphonium-based ionic liquids: Effects of toxicity and biodegradation  
*Ecotoxicology and Environmental Safety*
11. **P. Zydowicz-Machtel, A. Swiatkowska**, L. Popenda, **A. Gorska, J. Ciesiolka**  
Variants of the 5'-terminal region of p53 mRNA influence the ribosomal scanning and translation efficiency.  
*Scientific Reports*
12. **A. Szymańska-Michalak, D. Wawrzyniak, G. Framski, J. Stawinski, J. Barciszewski, A. Kraszewski**  
New anti-glioma zwitterionic pronucleotides with a FdUMP framework  
*European Journal of Medicinal Chemistry*
14. **M. Pislewska-Bednarek**, R.T. Nakano, K. Hiruma, **M. Pastorczyk**, A. Sánchez-Vallet, S. Singkaravanit-Ogawa, **D. Ciesiolka**, Y. Takano, A. Molina, P. Schulze-Lefert, **P. Bednarek**  
Glutathione transferase U13 functions in pathogen-triggered glucosinolate metabolism  
*Plant Physiology*

15. Z. Dauter, **M. Jaskolski**  
On the helical arrangements of protein molecules  
*Protein Science*
16. **K. Wiatr, W.J. Szlachcic**, M. Trzeciak, **M. Figlerowicz, M. Figiel**  
Huntington Disease as a Neurodevelopmental Disorder and Early Signs of the Disease in Stem Cells  
*Molecular Neurobiology*
17. A. Malyska, R. Bolla, **T. Twardowski**  
Communicating Biotech Advances: Fiction versus Reality  
*Trends in Biotechnology*
18. T. Glowacki, A. Kozak, **P. Formanowicz**  
Dedicated Heuristic for Peptide Assembly Problem  
*Current Bioinformatics*
19. **J. Kolanowski**, F. Liu, E.J. New  
Fluorescent probes for the simultaneous detection of multiple analytes in biology  
*Chemical Society Reviews*
20. **L. Handschuh**, M. Kazmierczak, **M.C. Milewski, M. Goralski, M. Luczak**, M. Wojtaszewska, B. Uszczyńska-Ratajczak, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **M. Figlerowicz**  
Gene expression profiling of acute myeloid leukemia samples from adult AML-M1 and M2 patients through boutique microarrays, real-time PCR and droplet digital PCR  
*International Journal of Oncology*
21. C.A. Schmitt, S.K. Service, **A.J. Jasinska**, T.D. Dyer, M.J. Jorgensen, R.M. Cantor, G.M. Weinstock, J. Blangero, J.R. Kaplan, N.B. Freimer  
Obesity and obesogenic growth are both highly heritable and modified by diet in a non-human primate model, the African green monkey (*Chlorocebus aethiops sabaeus*)  
*International Journal of Obesity*
22. F. Almeida, M.D. Assuncao, J. Barbosa, V. Blanco, I. Brandic, G. Da Costa, M.F. Dolz, A.C. Elster, M. Jarus, H.D. Karatza, L. Lefevre, I. Mavridis, **A. Oleksiak**, A-C. Orgerie, J.M. Pierson  
Energy monitoring as an essential building block towards sustainable ultrascale systems,  
*Sustainable Computing: Informatics and Systems*
23. Z. Dauter, A. Wlodawek, P.J. Porebski W. Minor, R. Stanfield, **M. Jaskolski**, E. Pozharski, C.X. Weichenberger, B. Rupp  
Detect, Correct, Retract: How to manage incorrect structural model  
*FEBS Journal*
24. B.P. Plitta-Michalak, **M.Z. Naskręt-Barciszewska**, S. Kotlarski, D. Tomaszewski, T. Tylikowski, **J. Barciszewski**, P. Chmielarz, M. Michalak  
Changes in genomic 5-methylcytosine level mirror the response of orthodox (*Acer platanoides* L.) and recalcitrant (*Acer pseudoplatanus* L.) seeds to severe desiccation *Tree Physiology*
25. Na pograniczu chemii i biologii, H. Koroniak, **J. Barciszewski** (red.)  
2017, tom XXXVII, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań

## Współpraca naukowa z partnerami krajowymi

---

1. **Związki małowcząsteczkowe zawierające klastry boru**  
Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, dr Agnieszka Kiliszek, Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł  
Dr hab. Agnieszka Olejniczak, prof. IBM PAN, Laboratorium Skriningowe Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi
2. **Badania strukturalne syntazy tymidylanowej**  
Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł

Prof. dr hab. Wojciech Rode, dr hab. Adam Jarmuła, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie

3. **Badania strukturalne ureazy i jej inhibitorów**

Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, dr Magdalena Bejger, Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł  
Dr hab. Łukasz Berlicki, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska

4. **Badania strukturalne aminotransferaz z grzybów patogennych**

Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, dr Agnieszka Kiliszek, Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł

Prof. dr hab. Sławomir Milewski, Wydział Chemii, Politechnika Gdańska

5. **Kontenery molekularne**

Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, dr hab. Mirosław Gilski, Zakład Krystalografii-Centrum Badań Biokrystalograficznych

Prof. dr hab. A. Szumna, Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie

6. **Kalorymetryczne badania oddziaływania hydrolazy L-adenozylhomocysteiny z *Pseudomonas aeruginosa* i *Thermotoga maritima* z adenozyną, NADH i cynkiem. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO-2013/09/B/NZ1/01880**

Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, dr Joanna Śliwiak, Zakład Krystalografii-Centrum Badań Biokrystalograficznych

Dr Krzysztof Brzeziński, Instytut Chemii Teoretycznej, Uniwersytet w Białymstoku

7. **Zastosowanie narzędzi informatycznych w biologii strukturalnej**

Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, dr Marcin Kowiel, Zakład Krystalografii-Centrum Badań Biokrystalograficznych

Dr Dariusz Brzeziński, Instytut Informatyki, Politechnika Poznańska

8. **Badania molekularne gamma-konglutyny nasion łubinu – białka o unikalnych właściwościach hipoglikemicznych. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO-2015/19/NZ9/00065**

Dr Jakub Barciszewski, Pracownia Inżynierii Białek

Dr Jarosław Czubiński, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

9. **Badania strukturalne uwarunkowania właściwości biologicznych mięśniowego izoenzymu fruktozo-1,6-bisfosfatazy (FBPazy) – regulatorowego enzymu glikoneogenezy i białka wielofunkcyjnego, zaangażowanego w ochronę mitochondriów i regulację cyklu komórkowego. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO – 2013/09/B/NZ1/01081**

Dr Jakub Barciszewski, Pracownia Inżynierii Białek

Prof. dr hab. Dariusz Rakus, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

10. **Badanie aktywności anty-HIV triazolowych analogów dinukleozydomonofosforanów**

Dr Dagmara Baraniak, Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów

Dr Aleksandra Dąbrowska, Narodowy Instytut Zdrowia w Warszawie

11. **Badanie cytotoksyczności triazolowych analogów dinukleozydomonofosforanów**

Dr Dagmara Baraniak, Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów

Dr Piotr Ruszkowski, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

12. **Otrzymywanie wybranych pochodnych glukozydowych w celu oceny ich zastosowania do wymywania metali z gleby**

Dr Grzegorz Framski, Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych

Dr inż. Anna Parus, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska

13. **Nowe hydrofobowe ligandy z grupy pochodnych pirydyny jako ekstrahenty jonów miedzi(II) z roztworów wodnych**

Dr Grzegorz Framski, Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych

Mgr Aleksandra Wojciechowska, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska

14. **Określenie zależności pomiędzy strukturą chemiczną a właściwościami antybakteryjnymi dla homologów glikozydów na bazie ramnozy zawierających różne podstawniki aglikonowe**  
Dr Grzegorz Framski, Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych  
Dr Łukasz Ławniczak, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
15. **Separacja oraz identyfikacja metabolitów powstających w procesie biodegradacji leków nootropowych przez mikroorganizmy środowiskowe**  
Dr Grzegorz Framski, Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych  
Dr Marta Woźniak-Karczewska, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
16. **Ocena podatności estrów trójcyklicznej pochodnej acyklowiru na hydrolizę enzymatyczną**  
Dr hab. Tomasz Ostrowski, Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych  
Dr hab. Izabela Muszalska, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
17. **Synteza nukleozydowych ligandów dla związków koordynacyjnych o potencjalnych właściwościach cytotoksycznych**  
Dr hab. Tomasz Ostrowski, dr Grzegorz Framski, Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych  
Dr hab. Iwona Łakomska, Wydział Chemii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
18. **Badania wstępne prowadzące do wspólnego grantu pt. Synteza i badania strukturalne oligonukleotydów o sekwencjach ramion antykodonów tRNA zawierających nowe modyfikowane nukleozydy:  $ct^6A$ ,  $ms^2ct^6A$ ,  $ges^2U$**   
Prof. dr hab. Zofia Gdaniec, dr Witold Andrałojć, dr Karol Pasternak, Zakład Chemii i Biologii Kwasów Nukleinowych  
Prof. dr hab. Elżbieta Sochacka, dr Michał Matuszewski, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka
19. **„Biodegradacja wybranych związków nootropowych oraz określenie ich szlaków metabolicznych w kontekście epidemiologii ścieków”, realizowany na podstawie umowy nr 2017/25/N/NZ9/00919**  
Dr Daniel Baranowski, Pracownia Biomolekularnego NMR  
Mgr Marta Woźniak-Karczewska, dr hab. inż. Łukasz Chrzanowski, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
20. **Analiza spektroskopowa nieznanego metabolitu z *Streptomyces* sp. 8812**  
Dr Dorota Gudanis, Pracownia Biomolekularnego NMR  
Dr hab. Jolanta Solecka, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny w Warszawie
21. **Genetyczna predyspozycja do rodzinnego raka piersi**  
Dr hab. Piotr Kozłowski, ICHB PAN, dr Katarzyna Klonowska, Zakład Genetyki Molekularnej  
Prof. dr hab. n. med. Jan Lubiński, Wydział Lekarsko-Biotechnologiczny i Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
22. **Genetyczna predyspozycja do rodzinnego raka piersi**  
Dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN, dr Katarzyna Klonowska, Zakład Genetyki Molekularnej  
Prof. dr hab. n. med. Janusz Limon, Katedra i Zakład Biologii i Genetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny
23. **Rola miRNA w raku głowy i szyi**  
Dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN, Zakład Genetyki Molekularnej  
Dr Katarzyna Lamperska, Pracownia Genetyki Nowotworów, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu
24. **Analiza statystyczna asocjacji genetycznej, markerów genetycznych związanych z chorobami ginekologicznymi**  
Dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN, Zakład Genetyki Molekularnej

Dr hab. Ewa Czczuga-Semeniuk, Klinika Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

25. **Analiza zmian poziomu ekspresji kolistych RNA w dystrofii miotonicznej typu 1 i 2**  
Dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN, dr Karol Czubak, Zakład Genetyki Molekularnej  
Dr hab. Krzysztof Sobczak, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
26. **Badania struktury drugorzędowej RNA *in vivo* z zastosowaniem metod wysokowydajnego sekwencjonowania w ramach projektu nr 2011/03/d/NZ2/0334**  
Dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka, Zakład Genetyki Molekularnej  
Dr Marek Żywicki, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
27. **Badanie zróżnicowania genetycznego populacji *Quercus pubescens* w odniesieniu do rodzimych gatunków dębów**  
Dr Kamilla Bąkowska-Żywicka, Zakład Genetyki Molekularnej  
Prof. dr hab. Maria Krzakowa, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
28. **Badanie interakcji roślina-wirus-satelitarny RNA w układzie *Nicotiana benthamiana* – wirus karłowatości orzecha ziemnego (PSV) i jego satRNA**  
Dr Agnieszka Żmieńko, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
Dr hab. Aleksandra Obrępańska-Stęplowska, Instytut Ochrony Roślin, Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu
29. **Globalna regulacja mRNA przez PUMILIO oraz rola MAELSTROM, składnika nuage oraz markera nowotworów jądra, w nasieniaku człowieka (projekt NCN nr 2013/09/B/NZ1/01878) oraz badania potencjalnej roli białek NANOS w kontroli translacji funkcjonalnie powiązanych ze sobą mRNA, w ludzkich komórkach linii płciowej: poszukiwanie mechanizmu potranskrypcyjnych regulonów u ssaków (projekt NCN nr 2014/15/B/NZ1/03384)**  
Dr Luiza Handschuh, dr Jan Podkowiński, dr Aleksandra Świercz, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
Dr hab. Kamila Kusz-Zamelczyk, mgr inż. Maciej Śmiałek, prof. Jadwiga Jaruzelska, Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
30. **Analiza szlaków przekazywania sygnałów indukowanych przez erytropoetynę, cisplatynę i paklitaksel w komórkach raka jajnika**  
Dr Luiza Handschuh, dr Aleksandra Świercz, Pracownia Genomiki  
Dr Jolanta Szenajch, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie
31. **Analiza jakości DNA z próbek FFPE**  
Dr Luiza Handschuh, dr Tomasz Żemojtel, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
Dr Bartłomiej Budny, Martyna Borowczyk, Wydział Lekarski II, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
32. **Badania kopalnego DNA z okresu neolitu**  
Dr Luiza Handschuh, mgr Ireneusz Stolarek, dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak, mgr inż. Michał Zeńczak, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
Prof. Krzysztof Szostek, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
33. **Analiza mikromacierzy białkowych**  
Dr Luiza Handschuh, Pracownia Genomiki  
Mgr Izabella Bzoma, prof. dr hab. med. Ewa Bryl, Zakład Patologii i Reumatologii Doświadczalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny
34. **Badania metagenomiczne rozprzestrzenia genu oporności na antybiotyki beta-laktamowe i glikopeptydowe w rezystomie ścieków miejskich**  
Dr Jan Podkowiński, Pracownia Genomiki  
Mgr Nicoletta Makowska, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

35. **Zastosowanie PCR do ilościowej analizy genomu roślin**  
 Dr Jan Podkowiński, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Dr Michał Książkiewicz, Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu
36. **Badanie aktywności rybonukleazy Dicer w kontekście infekcji herpeswirusowej**  
 Dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, prof. ICHB PAN, mgr Marek Milewski, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Prof. Krystyna Bieńkowska-Szewczyk, mgr Weronika Hoffmann, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed, Gdańsk
37. **Ukierunkowane nanocząstki o magnetycznym rdzeniu i wirusowej powłoce**  
 Mgr inż. Aleksander Strugała, dr Anna Urbanowicz, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej, Zakład Krystalografii-Centrum Badań Biokrystalograficznych  
 Mgr Adam Mieloch, mgr Monika Kręcisz, dr Jakub Rybka, prof. dr hab. Maciej Kozak, prof. Michael Giersig, Wielkopolskie Centrum Zaawansowanych Technologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
38. **Realizacja projektu „Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek dla potrzeb medycyny regeneracyjnej”, STRATEGMED1/233624/5/NCBR/2014, 1.01.2015-31.12.2017**  
 Prof. Wojciech T. Markiewicz, Zakład Biologii Chemicznej, prof. Maciej Stobiecki, dr hab. Magdalena Łuczak, dr Łukasz Marczak, dr Radosław Pilarski, mgr Marta Nolka-Szaszner, mgr Jan Sadoch, Zakład Biochemii Produktów Naturalnych  
 Instytut Genetyki Człowieka PAN, Szpital im. Przemienienia Pańskiego UM w Poznaniu, Med. Polonia Sp. z o.o., Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
39. **Modelowanie i analiza metabolizmu IL-18**  
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr Agnieszka Rybarczyk, dr Marcin Radom, Zakład Bioinformatyki  
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
40. **Modelowanie i analiza metabolizmu cholesterolu w procesie rozwoju miażdżycy**  
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr Marcin Radom, dr Agnieszka Rybarczyk, Zakład Bioinformatyki  
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
41. **Modelowanie i analiza roli żelaza w procesie powstawania i rozwoju miażdżycy**  
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr Marcin Radom, dr hab. Agnieszka Rybarczyk, Zakład Bioinformatyki  
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
42. **Modelowanie i analiza roli zapalenia i układu odpornościowego w powstawaniu samostannego nadciśnienia tętniczego**  
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr Agnieszka Rybarczyk, dr Marcin Radom, Zakład Bioinformatyki  
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
43. **Zastosowanie teorii informacji do detekcji sygnatur życia**  
 Prof. dr hab. Jacek Błazewicz, dr Szymon Wąsik, Natalia Szóstak, Zakład Bioinformatyki  
 Prof. dr hab. inż. Krzysztof Krawiec, Instytut Informatyki, Politechnika Poznańska
44. **Analiza specyficzności wiązania RNA przez białko TRIM-NHL - LIN-41**  
 Dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN, Zakład Biologii Integratywnej  
 Prof. dr hab. Janusz Bujnicki, dr Pritha Ghosh, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie

45. **Regulacja poziomu neuroaktywnych  $\beta$ -karbolin w diecie w oparciu o wybrane produkty 2014/13/B/ST5/04144**  
 Dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB, dr Dorota Gurda, dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska, mgr Marta Orlicka-Płocka, Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych  
 Prof. dr hab. inż. Renata Zawirska-Wojtasiak, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
46. **Koniugaty kłasterów boru i naftalimidów – synteza i właściwości biologiczne w ramach projektu NCN nr 2014/14/E/ST5/00577**  
 Dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN, dr Dorota Gurda, mgr Marta Orlicka-Płocka, Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych  
 Dr hab. Agnieszka Olejniczak, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi
47. **Analiza przestrzenna rzepek komórek nabłonka oddechowego w hodowlach sferoidów przy użyciu mikroskopii konfokalnej w ramach projektu NCN nr 2014/13/B/NZ2/03858**  
 Dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN, dr Agnieszka Fedoruk –Wyszomirska, Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych  
 Prof. dr hab. n. med. Ewa Ziętkiewicz, Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
48. **Analiza 3D rzepek nabłonka oddechowego - opracowanie oprogramowania do analizy obrazu w ramach projektu NCN nr 2013/09/NZ4/01692**  
 Dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN, dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska, Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych  
 Dr Zuzanna Bukowy-Bieryłło, Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
49. **Analiza konfokalna inkorporacji sond molekularnych na bazie G-kwadrupleksu bez oraz z wbudowanym łącznikiem cholesterolowym do błon komórkowych w ramach projektu NCN nr 2015/17/B/ST4/03627**  
 Dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN, dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska, Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych  
 Dr Anna Dembska, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
50. **Rybozomy HDV jako potencjalny cel terapii przeciwwirusowej oraz użyteczne biosensory**  
 Prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka, dr hab. Jan Wrzesiński, prof. ICHB PAN, Zakład Biochemii RNA  
 Prof. dr hab. Magdalena Jeżowska-Bojczuk, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski
51. **Struktura i funkcja RNA wirusa VSV**  
 Dr Mariola Dutkiewicz, Zakład Biochemii RNA  
 Dr Beata Orzechowska, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu
52. **Realizacja projektu NCN „Nowe, wielozadaniowe nanocząsteczki w skojarzonej genoterapii” nr 2016/21/B/ST8/00477**  
 Prof. dr hab. Jan Barciszewski, dr hab. Katarzyna Rolle, mgr Małgorzata Grabowska, mgr Dariusz Wawrzyniak, Zakład Epigenetyki  
 Prof. dr hab. Stefan Jurga, Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
53. **Analiza form polimorficznych mRNA MMP9**  
 Dr Katarzyna Pachulska-Wieczorek, Katarzyna J. Purzycka, Ryszard W. Adamiak, Zakład Struktury i Funkcji RNA  
 prof. Leszek Kaczmarek, dr Magdalena Dziembowska, mgr Katarzyna Łepeta, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie
54. **Analiza proteomiczna komórek nowotworowych szpiczaka plazmocytozy opornych oraz nieopornych na działanie bortezomibu**  
 dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN, Pracownia Spektrometrii Mas  
 Dr Dominik Dytfeld, Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

55. **Badania wpływu związków organicznych na profile białkowe wybranych mikroorganizmów**  
Dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN, Pracownia Spektrometrii Mas  
Dr hab. Ewa Kaczorek, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
56. **Charakteryzacja proteomu igieł sosny zwyczajnej – optymalizacja wydajnej metody ekstrakcji i oczyszczania białek do analiz typu shotgun**  
Dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN, Pracownia Spektrometrii Mas  
Dr Emilia Pers-Kamczyc, prof. Jacek Oleksyn, Instytut Dendrologii PAN w Kórniku
57. **Analiza płynów otrzewnowych chorych dializowanych metodą dializy otrzewnowej pobranych od pacjentów na różnym etapie leczenia**  
Dr hab. Magdalena Łuczak, Pracownia Spektrometrii Mas  
Dr hab. Maria Wanic-Kossowska, prof. UM, Wydział Lekarski II Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
58. **Bioinżynieria sekwencji jedwabiu pajęczego, w celu kontrolowania jego powinowactwa do leków**  
Dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN, Pracownia Spektrometrii Mas  
Dr hab. Hanna Dams-Kozłowska, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu
59. **Analiza proteomiczna oraz metabolomiczna surowicy krwi oraz tkanek nowotworowych pod kątem poszukiwania markerów nowotworów tarczycy z wykorzystaniem metod spektrometrii mas**  
Dr Łukasz Marczak, Pracownia Spektrometrii Mas  
Prof. dr hab. Piotr Widłak, dr hab. Monika Pietrowska, dr Karol Jelonek, dr Anna Wojakowska, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach
60. **Analiza proteomiczna egzosomów izolowanych z surowicy krwi oraz z komórek linii nowotworowych (FaDu)**  
Dr Łukasz Marczak, Pracownia Spektrometrii Mas Dr hab. Monika Pietrowska, dr Anna Wojakowska, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach
61. **Analiza cukrów oraz związków fenolowych łubinu i grochu pod kątem odpowiedzi roślin na infekcje grzybowe oraz na interakcje z insektami (mszyce)**  
Dr Łukasz Marczak, Pracownia Spektrometrii Mas Dr hab. Iwona Morkunas, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
62. **Analiza ilościowa estrogenów (E1, E2) tkanki nowotworowej jelita grubego oraz płuc**  
dr Łukasz Marczak, Pracownia Spektrometrii Mas prof. Paweł Jagodziński, dr Agnieszka Rawłuszko-Wieczorek, mgr Bartosz Słowikowski, Wydział Lekarski II, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
63. **Analiza jakościowa oraz ilościowa białek oraz fenolowych metabolitów obecnych w liściach oraz korzeniach topoli poddawanych działaniu metali ciężkich do projektu Sonata pt.: "Analiza wpływu ektomikoryz na tolerancję topoli *Populus x canescens* na ołów wykonana metodami proteomicznymi i metabolomicznymi" (UMO 2011/03/D/NZ9/05500)**  
Dr Łukasz Marczak, Pracownia Spektrometrii Mas Dr Agnieszka Szuba, Instytut Dendrologii PAN w Kórniku
64. **Identyfikacja metabolitów obecnych w ekstraktach roślinnych z kaliny oraz kasztanowca. Identyfikacja metabolitów w tkankach skóry poddanych działaniu ekstraktów z kasztanowca**  
Dr Łukasz Marczak, Pracownia Spektrometrii Mas Prof. Wiesława Bylka, dr Marlena Dudek-Makuch, Wydział Farmacji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
65. **Analiza proteomiczna oraz metabolomiczna próbek osocza krwi pacjentów po przebytych udarach różnego typu**  
Dr Łukasz Marczak, Pracownia Spektrometrii Mas Prof. Radosław Kaźmierski, Klinika Neurologii UM Szpitala MSWiA w Poznaniu

66. **Analiza związków niskocząsteczkowych oraz lipidów w świeżych oraz suszonych owocach goji**  
Dr Łukasz Marczak, mgr inż. Jakub Idkowiak, Pracownia Spektrometrii Mas  
Dr hab. Agnieszka Zgoła-Grześkowiak, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
67. **Analiza gibberelin w siewkach jęczmienia poddanych stresowi suszy**  
Dr Łukasz Marczak, Zakład Biochemii Produktów Naturalnych  
Prof. dr hab. Zofia Szweykowska-Kulińska, dr Andrzej Pacak, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
68. **Zachowanie zasobów genowych zagrożonych i ginących gatunków metodami kriogenicznymi w leśnym banku genów oraz ochrona zasobów genowych najstarszych drzew w Polsce, poprzez sklonowanie *in vivo* i kriokonserwację – Dyrekcja Generalna Lasów Państwowych DGLP, 2013 – 2017**  
Prof. dr hab. Mirosława Z. Naskręt-Barciszewska, Zakład Biologii Medycznej  
Dr hab. Paweł Chmielarz prof. ID, Instytut Dendrologii PAN w Kórniku
69. **Epigenetyczne konsekwencje podsuszania nasion w ramach projektu Narodowe Centrum Nauki prowadzonego w latach 2013 – 2017**  
Prof. dr hab. Mirosława Z. Naskręt-Barciszewska, Zakład Biologii Medycznej  
Dr hab. Paweł Chmielarz prof. ID, Instytut Dendrologii PAN w Kórniku
70. **Współpraca przy realizacji grantu pt. „Kompleksowe podejście w celu zdefiniowania molekularnych podstaw odpowiedzi kukurydzy na stres herbicydowy” oraz „Identyfikacja mechanizmów molekularnych zaangażowanych w odpowiedź soi na stres niskich temperatur w warunkach klimatu umiarkowanego)**  
Prof. Tomasz Twardowski, dr Joanna Gracz, mgr Medhat Mahmout, Zakład Biosyntezy Białek  
dr Agata Tyczewska, Pracownia Modelowych Organizmów Zwierzęcych  
Dr Marek Żywicki, prof. Wojciech Karłowski, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
71. **Współpraca przy realizacji grantu pt. „Identyfikacja mechanizmów molekularnych zaangażowanych w odpowiedź soi na stres niskich temperatur w warunkach klimatu umiarkowanego”**  
Prof. Tomasz Twardowski, dr Joanna Gracz, mgr Jakub Kuczyński, Zakład Biosyntezy Białek  
dr Agata Tyczewska, Pracownia Modelowych Organizmów Zwierzęcych  
Prof. Jerzy Nawracała, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
72. **Ciałka retikulum endoplazmatycznego w metabolizmie glukozytolanów w *Arabidopsis thaliana*.**  
Dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin, Mariola Piślewska-Bednarek, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
Dr. Kenji Yamada, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
73. **Transformacji rośliny modelowej *Brachypodium distachyon***  
Mgr inż. Nicolas Jedrzejczak-Rey, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin  
Dr Andrzej Pacak, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
74. **Badania *in vitro* koniugatów kwasów nukleinowych z barwnikami do potencjalnego zastosowania w terapii fotodynamicznej**  
Dr Weronika Kotkowiak, Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych  
Dr inż. Michał Kotkowiak, Wydział Fizyki Technicznej, Instytut Fizyki, Politechnika Poznańska
75. **Właściwości przeciwzakrzepowe nanocząstek tlenku miedzi(I) oraz ich koniugatów**  
Dr Weronika Kotkowiak, dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN, Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych  
Dr Marta Woźniak-Budych, Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
76. **Modyfikacja powierzchni krzemianowych organofunkcyjnymi silanami**  
Dr hab. Marcin K. Chmielewski, dr Jolanta Brzezińska, Zakład Chemii Biopolimerów  
Prof. Hieronim Maciejewski, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

77. **Modyfikacja powierzchni krzemianowych do trwałego wiązania oligonukleotydów**  
Dr hab. Marcin K. Chmielewski, dr Jolanta Brzezińska, Zakład Chemii Biopolimerów  
Dr hab. Grzegorz Hreczycho, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
78. **Teoretyczne obliczenia i eksperymentalna weryfikacja miejsc protonacji w termoza-  
leżnym procesie wykorzystujących 2-pirydynylowe grupy**  
Dr hab. Marcin K. Chmielewski, dr Jolanta Brzezińska, Zakład Chemii Biopolimerów  
Dr Jacek Kujawski, Wydział Farmacji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego  
w Poznaniu

## Współpraca naukowa z partnerami zagranicznymi

---

1. **Badania strukturalne syntetycznych ligandów oddziałujących z patogennymi powtórze-  
niami RNA o znaczeniu w patogenezie TRED**  
Dr Agnieszka Kiliszek, dr Leszek Błaszczuk, prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, Zakład Struk-  
tury i Funkcji Biomolekuł  
Prof. Kzuhiko Nakatani, Dr. Chikara Dohno, Dr. Sanjukta Mukherjee, Osaka University, Osaka,  
Japonia
2. **Badania strukturalne RNA zawierające modyfikowane nukleotydy**  
Dr Agnieszka Kiliszek, dr Leszek Błaszczuk, prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, Zakład Struk-  
tury i Funkcji Biomolekuł  
Prof. Ronald Micura, Leopold Franzens University, Innsbruck, Austria
3. **Badania struktury drugorzędowej cząsteczek RNA zawierających modyfikowane  
nukleotydy**  
Dr Agnieszka Kiliszek, dr Leszek Błaszczuk, prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, Zakład Struk-  
tury i Funkcji Biomolekuł  
Prof. Alexandra Lusser, Leopold Franzens University, Innsbruck, Austria
4. **Struktura i funkcja enzymów z organizmów ekstremofilnych**  
Dr Magdalena Bejger, mgr Katarzyna Biniak Antosiak, prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, Za-  
kład Struktury i Funkcji Biomolekuł  
Prof. Constantinos Vorgias, National and Kapodistrian University of Athens, Ateny, Grecja
5. **Metodologia krystalografii**  
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, dr hab. Mirosław Gilski, Zakład Krystalografii – Centrum Badań  
Biokrystalograficznych  
Dr hab. Zbigniew Dauter, Argonne National Laboratory, Argonne, Stany Zjednoczone
6. **Krystalograficzne bazy danych**  
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, dr hab. Mirosław Gilski, Zakład Krystalografii – Centrum Badań  
Biokrystalograficznych  
Prof. Wladek Minor, University of Virginia, Charlottesville, Stany Zjednoczone
7. **Epistemologia badań strukturalnych**  
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, Zakład Krystalografii – Centrum Badań Biokrystalograficznych  
Prof. Bernhard Rupp, Hofkristallamt, Vista, Stany Zjednoczone & Medical University of  
Innsbruck, Innsbruck, Austria
8. **Metody walidacyjne w badaniach strukturalnych**  
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, Zakład Krystalografii – Centrum Badań Biokrystalograficznych  
Dr. Alexander Wlodawer, National Cancer Institute, Frederick, Stany Zjednoczone
9. **Zastosowanie metod spektroskopowych do ustalenie preferowanych struktur drugo-  
rzędowych tworzonych przez tRNA<sup>Ala</sup> w roztworze**  
Prof. dr hab. Zofia Gdaniec, dr Dorota Gudanis, Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów  
Nukleinowych  
Dr. Pavel Ivanov, Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital, Division of  
Rheumatology, Immunology and Allergy, Boston, Stany Zjednoczone

10. **Zastosowanie metod spektroskopowych do wyznaczenia dynamiki łańcucha głównego białka dehaloperoksydazy**  
 Prof. dr hab. Zofia Gdaniec, dr Dorota Gudanis, Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych  
 Dr. Stefan Franzen, North Carolina State University, Department of Chemistry, Raleigh, Stany Zjednoczone
11. **Szeroko zakrojona analiza CNV genu *BARD1* u kobiet z rodzinną agregacją raka piersi – użycie testu MLPA w celu walidacji wyników NGS**  
 Dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN, dr Katarzyna Klonowska, Zakład Genetyki Molekularnej  
 Dr. Britta Blümcke, Zentrum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs am Universitätsklinikum Köln (AÖR) I Kerpener, Universität zu Köln – Medizinische Fakultät, Kolonia, Niemcy
12. **Metoda CLAIM**  
 Dr Aleksandra Świercz, dr Agnieszka Żmieńko, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Dr. Giovanni Felici, Dr. Daniele Santoni, Istituto di Analisi dei Sistemi ed Informatica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Rzym, Włochy
13. **Identyfikacja i charakterystyka niekodujących RNA w modelu hodowli komórkowej wirusa zapalenia wątroby typu C**  
 Dr Paulina Jackowiak, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Dr Agata Budkowska, Unité Hépacivirus et Immunité Innée, Institut Pasteur, Paryż, Francja
14. **Badania funkcjonalne niekodujących RNA w modelu hodowli komórkowej wirusa zapalenia wątroby typu C**  
 Dr Paulina Jackowiak, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Dr. Annette Martin, Génétique Moléculaire des Virus à ARN, Institut Pasteur, Paryż, Francja
15. **Projektowanie i testowanie inhibitorów żabiej rybonukleazy Dicer**  
 Dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, prof. ICHB PAN, mgr Natalia Koralewska, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Dr. Marie-Laure Baudet, University of Trento, Trento, Włochy
16. **Badania historycznych dynastii europejskich na podstawie analiz kopalnego DNA**  
 Dr Luiza Handschuh, mgr Ireneusz Stolarek, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Prof. Jan Frolík, Instytut Archeologii Czeskiej Akademii Nauk w Pradze, Praga, Czechy
17. **Współpraca w zakresie teoretycznych i praktycznych aspektów problemu degradacji RNA**  
 Dr Agnieszka Rybarczyk, prof. dr hab. Marta Kasprzak, prof. dr hab. Jacek Błazewicz, Zakład Bioinformatyki  
 Prof. Alain Hertz, Department of Mathematics and Industrial Engineering Polytechnique Montreal/GERAD, Montreal, Kanada
18. **Współpraca w zakresie wykrywania wiedzy z sieci powiązań funkcjonalnych**  
 Prof. dr hab. Marta Kasprzak, Zakład Bioinformatyki  
 Dr Aleksandra Świercz, Dr Agnieszka Żmieńko, Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej  
 Dr. Giovanni Felici, Dr. Daniele Santoni, Institute for Systems Analysis and Computer Science "Antonio Ruberti", National Research Council of Italy, Rzym, Włochy
19. **Analiza specyficzności wiązania RNA przez białko TRIM-NHL - LIN-41**  
 Dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN, Zakład Biologii Integratywnej  
 Dr. Helge Großhans, Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research, Bazylea, Szwajcaria
20. **Regulacja ekspresji genów w mitochondriach**  
 Dr hab. Katarzyna Rolle, Zakład Epigenetyki  
 Dr. Andre Dietrich, Instytut Biologii Molekularnej Roślin, Strasbourg, Francja

21. **Nowe mechanizmy kontroli liczby kopii retrotranspozonów eukariotycznych w komórce**  
 Dr Katarzyna Pachulska-Wieczorek, dr Katarzyna Purzycka, mgr Julita Gumna, Zakład Struktury i Funkcji RNA  
 Prof. David Garfinkel, University of Georgia, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Athens, Stany Zjednoczone
22. **Ewolucja rybosomalnych RNA**  
 Mgr Marcin Biesiada, dr Katarzyna Purzycka, dr Katarzyna Pachulska-Wieczorek, Zakład Struktury i Funkcji RNA  
 Prof. Loren Dean Williams, Dr. Anton Petrov, School of Chemistry and Biochemistry, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Stany Zjednoczone
23. **Fenotypowa analiza roślin rodzaju *Hypericum* – profilowanie fenolowych metabolitów wtórnych metodami LC/MS, kluczowe pochodne w szlaku biosyntezy skiryny**  
 Dr Łukasz Marczak, mgr inż. Jakub Idkowiak, prof. dr hab. Maciej Stobiecki, Zakład Biochemii Produktów Naturalnych  
 Prof. Eva Čellárová, Department of Genetics, Pavol Jozef Šafárik University w Koszycach, Słowacja
24. **Identyfikacja mechanizmów molekularnych oporności na bortezomib w szpiczaku mnogim**  
 Dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN, mgr Joanna Tracz, Zakład Biochemii Produktów Naturalnych  
 Dr Nate Doloff, Medical University of South Carolina, Department of Cell and Molecular Pharmacology, Charleston, Stany Zjednoczone & Prof. Andrzej Jakubowiak, University of Chicago Medicine, Chicago, Stany Zjednoczone
25. **Rybozomy jako nowe narzędzia do badania genomu mitochondrialnego**  
 Mgr Paweł Głodowicz, Zakład Biologii Medycznej  
 Dr. Andre Dietrich, Instytut Biologii Molekularnej Roślin, Strasbourg, Francja
26. **Udział w konsorcjum E-rare IMPACT-SCA**  
 Dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN, Zakład Neurobiologii Molekularnej  
 Dr. Thorsten Schmidt, University of Tuebingen, Institute of Medical Genetics & Applied Genomics SCA3 research group, Tybinga, Niemcy  
 Dr. Yvon Trottier, IGBMC/CNRS/INSERM/UNISTRA Department of Translational Medicine & Neurogenetics, Strasbourg, Francja  
 Dr. Pascal Villa, PCBIS UMS3286 CNRS & University of Strasbourg, Strasbourg, Francja  
 Dr. Patrícia Espinheira Sá Maciel, Bn'ML - Behavioral & Molecular Lab, Life and Health Sciences Research Institute (ICVS) (Campus de Gualtar), Braga, Portugalia
27. **Udział w konsorcjum E-rare SCA-CYP**  
 Dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN, Zakład Neurobiologii Molekularnej  
 Dr. Nathalie Cartier, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Paryż, Francja  
 Dr. Alexandra Durr, Institut du Cerveau et de la Moelle (ICM), Paryż, Francja  
 Dr. Thorsten Schmidt, University of Tuebingen Institute of Medical Genetics & Applied Genomics SCA3 research group, Tybinga, Niemcy  
 Dr. Luis Pereira de Almeida, CNC – Center for Neuroscience and Cell Biology of the University of Coimbra, Coimbra, Portugalia
28. **Funkcja roślinnych metabolitów wtórnych w promocji wzrostu indukowanej przez endofity grzybowe, w ramach projektu NCN HARMONIA 2015/18/M/NZ1/00406**  
 Dr Anna Piasecka, dr Mariola Piślewska-Bednarek, dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin  
 Prof. Paul Schulze-Lefert, Dr. Stephane Hacquard, Dr. Henning Frerigmann, Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Kolonia, Niemcy  
 Dr. Kei Hiruma, Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology, Nara, Japonia

29. **Charakterystyka  $\beta$ -glukozydazy PYK10 z *Arabidopsis thaliana***  
 Dr Mariola Piślewska-Bednarek, dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin  
 Prof. Ikuko Hara-Nishimura, Department of Botany Graduate School of Science, Kyoto University, Kyoto, Japonia  
 Prof. Paul Schulze-Lefert, Dr. Ryohei Thomas Nakano, Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Kolonia, Niemcy
30. **Funkcja pochodnych tryptofanu w odporności na patogeny z rodzaju *Colletotrichum***  
 Dr Marta Pastorczyk, dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin  
 Dr. Yoshitaka Takano, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japonia
31. **Mechanizmy odporności rośliny modelowej *A. thaliana* na infekcję przez patogeny nekrotroficzne**  
 Dr Marta Pastorczyk, dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin  
 Dr. Antonio Molina, Centre for Biotechnology and Genomics of Plants, Universidad Politécnica de Madrid, Madryt, Hiszpania
32. **Mechanizmy odporności roślin na mączniaka właściwego**  
 Dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin  
 Prof. Ralph Panstruga, Uniwersytet Aachen, Aachen, Niemcy
33. **System immunologiczny w gatunkach pokrewnych z *Arabidopsis thaliana***  
 Dr Anna Piasecka, mgr Karolina Kułak, dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN, Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin  
 Dr. Kenichi Tsuda, Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Kolonia, Niemcy
34. **Realizacja grantu: NIH "Folding RNA: From AIDS to the Human Genome"**  
 Dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN, dr Elżbieta Lenartowicz, Zakład Genomiki Strukturalnej RNA  
 Prof. Douglas H. Turner, University of Rochester, Rochester, Stany Zjednoczone
35. **Wykorzystanie niskocząsteczkowych ligandów naceLOWANYCH na motywy strukturalne RNA**  
 Dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN, mgr inż. Paula Michalak, Zakład Genomiki Strukturalnej RNA  
 Prof. Matthew D. Disney, The Scripps Research Institute, Jupiter, Stany Zjednoczone
36. **Poszukiwanie inhibitorów wirusa grypy**  
 Dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN, mgr Julita Kęsy, mgr inż. Paula Michalak, dr Elżbieta Lenartowicz, Zakład Genomiki Strukturalnej RNA  
 Prof. Luis Martinez-Sobrido, Department of Microbiology & Immunology, University of Rochester, Rochester, Stany Zjednoczone
37. **Trypleksy RNA**  
 Dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN, mgr Julita Kęsy, Zakład Genomiki Strukturalnej RNA  
 Prof. Gang Chen, Department of Chemistry, Nanyang Technological University, Singapur
38. **Realizacja zadań w ramach projektu HARMONIA 2013/10/M/NZ3/00260, Badania translokacji kwasu abscysynowego w rozwijających się zarodkach lucerny**  
 Dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN, dr Joanna Banasiak, mgr Aleksandra Paweła, Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin  
 Prof. Enrico Martinoia Zurich University (UNIZH), Zurych, Szwajcaria
39. **Realizacja zadań w ramach projektu SONATA 2015/17/D/NZ3/03625. Aktywne systemy transportu jako element kontrolujący „molekularną rozmowę” między symbiontami podczas formowania mikoryzy arbuskularnej.**  
 Dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN, dr Joanna Banasiak, Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin  
 Dr. Lorenzo Borghi Zurich University (UNIZH), Zurych, Szwajcaria

40. **Termodynamika koniugatów kwasów nukleinowych z peptydami**  
Dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN, Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych  
Prof. Jesper Wengel, Department Physics, Chemistry and Pharmacy, University of Southern Denmark, Odense, Dania
41. **Opracowanie mapowania metodą SHAPE długich cząsteczek RNA z zaburzoną, przez wprowadzenie oligonukleotydów antysensowych, strukturą drugorzędową**  
Dr inż. Jolanta Lisowiec-Wąchnicka, Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych  
Prof. Gang Chen, Division of Chemistry and Biological Chemistry, School of Physical and Mathematical Sciences, Nanyang Technological University, Singapur

**Pełnomocnik Dyrektora ds. PCSS – prof. dr hab. Jan Węglarz**  
**Zastępca Pełnomocnika PCSS – dr Maciej Stroiński**

## **Najważniejsze osiągnięcia PCSS**

---

### **1 Sukcesy i wyróżnienia**

#### **1.1.1. Badania i projekty**

1.1.1 Pozyskanie 19 nowych projektów, w tym: w ramach Programu Horyzont 2020 (14), w ramach EUREKA (1), strukturalne (4).

1.1.2 Wybrane, najważniejsze, nowe projekty:

- Hub4NGI, Up2U, DataBio, Fed4Fireplus, DEW-COOL-4-CDC, CLONETS, PRACE-5IP, AARC2, MONROE, MIDIH, CATALYST, EOSCpilot, IMMERSIFY, DEEP-HybridDataCloud;
- PALETTEV2;
- IVA.

1.1.3 Kontynuacja prac w 31 projektach naukowych.

#### **1.2 Najważniejsze wydarzenia**

1.2.1 **22 września 2017 roku** odbyła się **uroczystość nadania ulicy, prowadzącej do kompleksu CBPIO, imienia Profesora Jacka Rychlewskiego**, współzałożyciela Poznańskiego Centrum Superkomputerowo-Sieciowego.

1.2.2 Na początku listopada **w siedzibie PCSS uruchomiona została fontanna cezowa**, zbudowana w Narodowym Laboratorium Fizyki (NPL – National Physical Laboratory) w Teddington pod Londynem pod kierunkiem wybitnego specjalisty w dziedzinie atomowych wzorców częstotliwości dra Krzysztofa Szymańca. **Fontanna cezowa dołączy do grona kilkunastu najdokładniejszych zegarów atomowych na świecie i jest drugim tego typu zegarem w Polsce.**

1.2.3 Podczas posiedzenia Prezydium Rady Użytkowników PCSS, **wybrano nowe kierownictwo na kolejną kadencję, obejmującą lata 2017-2020.** Przewodniczącym Rady został prof. dr hab. Jerzy Moczko z Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, stanowisko wiceprzewodniczącego objął prof. zw. dr hab. Jacek Komasa z Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, a Sekretarzem Rady pozostał Zastępca Pełnomocnika Dyrektora IChB PAN ds. PCSS – dr inż. Maciej Stroiński.

#### **1.3 Nagrody i wyróżnienia**

1.3.1 **PCSS zostało laureatem Konkursu Smart City**, w kategorii Inteligentne rozwiązanie - Smart City Solution. Nagrodę, podczas uroczystej gali Smart City Forum w Warszawie, odebrał dr inż. Cezary Mazurek. Kapituła Konkursu wyróżniła PCSS za dostarczenie i obsługę elektronicznej platformy informacyjno-usługowej – Miejskiego Informatora Multimedialnego – dla miasta Poznania. Platforma, obsługująca średnio miesięcznie blisko 6 mln użytkowników, udostępnia szereg e-usług dedykowanych mieszkańcom, turystom oraz urzędnikom.

- 1.3.2 **Dr inż. Maciej Stroiński** – Zastępca Pełnomocnika Dyrektora IChB PAN ds. PCSS został laureatem **Nagrody im. Marka Cara**. Wyróżnienie, za wybitne osiągnięcia w tworzeniu warunków rozwoju społeczeństwa informacyjnego w Polsce, wręczono podczas **XXIII Forum Teleinformatyki**, odbywającego się w Miedzeszynie.

## 2 Konferencje, spotkania i warsztaty

### 2.1 Konferencje, spotkania i warsztaty organizowane (współorganizowane) przez PCSS

- 2.1.1 **22 stycznia 2017 r.** odbyło się, organizowane przez Dział Bezpieczeństwa ICT PCSS, **szkolenie "Najważniejsze aspekty bezpieczeństwa platformy hostingowej"**. W jego ramach, na przykładzie środowiska hostingu aplikacji Web opartego na technologiach LAMP (Linux - Apache - MySQL - PHP), zostały przedstawione najważniejsze aspekty bezpieczeństwa platformy.
- 2.1.2 **27-28 lutego 2017 r.** odbyły się w PCSS **warsztaty projektu ESCAPE**. PCSS jest partnerem projektu. Podczas 2-dniowego szkolenia uczestnicy zapoznali się z fundamentalnymi dla NPP algorytmami oraz technikami wydajnego przetwarzania: obliczeniowo (HPC) i energetycznie.
- 2.1.3 **7-9 marca 2017 r.** w siedzibie PCSS odbyło się **spotkanie grup roboczych Géant: SIG-Marcomms oraz SIG-MSP**. Podczas spotkań omawiane były aktualne zagadnienia, związane z zadaniami grup. Wydarzenie było również okazją do zaprezentowania gościom wyników prac w ramach projektów prowadzonych przez PCSS oraz laboratoriów CBPIO i FutureLab.
- 2.1.4 **Od 13 do 17 marca 2017 r.** w Ośrodku Nauki Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu przy ul. H. Wieniawskiego odbywała się **9. edycja Tygodnia Mózgu**. Transmisję z tego wydarzenia „na żywo” przeprowadził PLATON TV (PCSS).
- 2.1.5 **15 i 16 marca 2017 r.** w siedzibie PCSS odbyło się **spotkanie EAP Digitisation workshop w ramach grupy EAPConnect** (Eastern Partnership Connect). W ramach spotkania zaplanowano m.in. warsztaty z budowania bibliotek cyfrowych i pakietu DInGO.
- 2.1.6 **22-24 marca 2017 r.** w siedzibie PCSS odbyło się **spotkanie plenarne projektu EVER-EST**. Celem 3-dniowego wydarzenia było przedstawienie i omówienie koncepcji generycznego interfejsu użytkownika tworzonego na potrzeby wirtualnych społeczności badawczych (VRC). Naukowcy, zajmujący się obserwacją morza, lądu, badaniem zagrożeń geologicznych i naturalnych, rozpoczęli pracę z pierwszym prototypem wirtualnego środowiska badawczego (VRE).
- 2.1.7 W ramach działalności Sekcji Metod Obliczeniowych i Optymalizacji Komitetu Mechaniki PAN, Politechnika Poznańska, PCSS oraz konsorcjum PLGrid zorganizowały **seminarium poświęcone nowoczesnym metodom prowadzenia obliczeń numerycznych z wykorzystaniem ogólnopolskiej, naukowej infrastruktury komputerów dużej mocy – PLGrid**. Spotkanie odbyło się **24 marca 2017 r.** w siedzibie PCSS.
- 2.1.8 **Od 8 do 19 maja 2017 r.** w siedzibie PCSS odbywało się spotkanie w ramach **EUROfusion Code Camp** – międzynarodowej grupy fizyków zajmujących się, w ramach programu EUROfusion, modelowaniem przepływu plazmy w tokamakach.

- 2.1.9 23 i 24 maja 2017 r. pod hasłem „Nowe trendy w użytkowaniu KDM” odbyła się, organizowana przez PCSS i i Radę Użytkowników PCSS **Konferencja KDM** (Komputerów Dużej Mocy) 2017. Jak co roku, konferencja miała charakter sprawozdawczy i stanowiła przegląd badań naukowych, w ramach których wykorzystane zostały zasoby KDM. Coraz częściej nie są to już tylko i wyłącznie obliczenia w trybie wsadowym, ale także realizowane w inny sposób w chmurze obliczeniowej.
- 2.1.10 **PCSS było partnerem technologicznym TNC 2017 w Linz (30.05.-02.06.2017).** Jako partner technologiczny Konferencji, PCSS zapewniało m.in. multimedialną oprawę wydarzenia, a także – dzięki PlatonTV – bezpośrednią transmisję on-line wszystkich sesji. PCSS zaprezentowało się także podczas wystawy, towarzyszącej Konferencji, zaprezentowane zostaną najnowsze dokonania w ramach prowadzonych przez PCSS projektów badawczych, takich jak: LoCloud, Rohub, czy ImmersiaTV.
- 2.1.11 **8 czerwca 2017 r. w siedzibie PCSS odbyły się warsztaty konsultacyjne Komisji Europejskiej zatytułowane "The Next Generation Internet (NGI) Workshop. Widen The European Space of Life and Work".** Celem warsztatów było zgłębienie możliwości współpracy sektora badań, przemysłu, MŚP i StartUpów w ramach inicjatywy NGI.
- 2.1.12 **Od 19 do 21 czerwca w PCSS gościły międzynarodowe warsztaty dotyczące portali naukowych.** Były to dziewiąte warsztaty z cyklu IWSG (**International Workshop on Science Gateways**), ale pierwsze, które odbywały się w Polsce.
- 2.1.13 **4-6 lipca 2017 r. odbywało się w PCSS spotkanie projektu SymbIoTe.** Głównym celem projektu jest zapewnienie interoperacyjności i dostarczenie usług typu b2b pomiędzy platformami IoT (Internet of Things).
- 2.1.14 **7 do 9 lipca 2017 roku, w przestrzeni Laboratorium Szkoły Przyszłości EduLab PCSS (ul. Zwierzyniecka 20 w Poznaniu), odbywały się szkolenia w ramach programu wolontariackiego "SHE for IT".** PCSS jest technologicznym partnerem tego projektu.
- 2.1.15 **4 i 5 września 2017 r. w przestrzeniach EduLabPCSS odbyło się ósme posiedzenie Komitetu do spraw Edukacji Polsko-Niemieckiej Komisji Międzyrządowej do spraw Współpracy Regionalnej i Przygranicznej.** Wydarzenie – organizowane było przy ścisłej współpracy polskiego Ministerstwa Edukacji Narodowej oraz niemieckiego Ministerstwa Edukacji i Kultury. W posiedzeniu wzięli udział m.in. Marzenna Drab, podsekretarz stanu w Ministerstwie Edukacji Narodowej, Steffen Freiberg, sekretarz stanu w Ministerstwie Edukacji i Kultury oraz Wicewojewoda Wielkopolski - Pani Marlena Małąg.
- 2.1.16 **12 września 2017 r. w siedzibie Poznańskiego Centrum Superkomputerowo-Sieciowego – Centrum Badawczego Polskiego Internetu Optycznego odbyło się posiedzenie Prezydium Polskiej Akademii Nauk.** Podczas wizyty, oprócz omówienia aktualnych zadań i zagadnień związanych z działalnością PAN, członkowie Prezydium Polskiej Akademii Nauk będą mieli okazję zwiedzić Centrum Badawcze Polskiego Internetu Optycznego i zapoznać się z zapleczem laboratoryjnym.

- 2.1.17 Po raz drugi w historii **Noc Naukowców** odbyła się w przestrzeniach Future-Lab, czyli Laboratoriów Przyszłości PCSS na Zwierzyniecką 20 w Poznaniu. W „Jedyną taką noc w Europie” – **29 września 2017 r.**, można było zajrzeć m.in. do Laboratorium innowacyjnej edukacji, Laboratorium inteligentnego otoczenia oraz wirtualnie zwiedzić superkomputery w nowoczesnej serwerowni.
- 2.1.18 6 października 2017 r. w siedzibie PCSS odbyła się Konferencja **EYE-Tech**, prezentująca oryginalne osiągnięcia polskiej myśli naukowej w dziedzinie badań nad neuropatią jaskrową ze szczególnym uwzględnieniem roli współpracy interdyscyplinarnej pomiędzy przedstawicielami świata okulistyki i świata najnowocześniejszych technologii.
- 2.1.19 **7 i 8 listopada 2017 r.** odbyła się, przy współpracy Poznańskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk oraz Poznańskiego Centrum Superkomputerowo-Sięciowego, **Konferencja Euro-CASE**, której głównym tematem było szeroko pojęte cyberbezpieczeństwo.
- 2.1.20 **4 i 25 listopada 2017 roku** w przestrzeni EduLab PCSS odbyły się **dwudniowe warsztaty poświęcone wykorzystaniu cyfrowych zasobów Europeany** oraz polskich serwisów z cyfrowymi kolekcjami w innowacyjnych działaniach edukacyjnych.
- 2.1.21 **13 grudnia 2017 roku** odbyła się **trzecia edycja Europejskiej Sesji Internetowej „Chirurgia Laryngologiczna LIVE”**. Wydarzenie organizowane było przy współpracy European Laryngological Society (ELS), Kliniki Otolaryngologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (UMP) oraz Poznańskiego Centrum Superkomputerowo-Sięciowego (PCSS) i Miasta Poznań. Celem sesji było pokazanie najnowszych metod operacyjnych stosowanych przez chirurgów z czołowych europejskich klinikach laryngologicznych. Aktywny udział w wydarzeniu wzięły szpitale z Genui, Barcelony, Marsylii, Luksemburga, Giessen, Leiden, Essen, Cagliari oraz Poznania. Kliniki, biorące udział w wydarzeniu, były ze sobą połączone poprzez platformę zdalnej współpracy medycznej medVC, umożliwiającą wielopunktową komunikację audio-wideo w czasie rzeczywistym. medVC pozwala na wielostrumieniową transmisję wideo z kamer operacyjnych, mikroskopów, endoskopów oraz innych urządzeń medycznych w jakości High Definition (HD). Dzięki takiemu połączeniu chirurdzy z klinik byli w ciągłym kontakcie podczas całej sesji oraz mogli wymieniać się spostrzeżeniami i wzajemnie przekazywać sobie wiedzę. W celu spotęgowania efektu edukacyjnego, cała sesja była również nadawana w jakości HD przez Internet z wykorzystaniem Platformy Naukowej Interaktywnej Telewizji PlatonTV, której operatorem jest PCSS.

## **2.2 Uczestnictwo w najważniejszych wydarzeniach**

- 2.2.1 Już po raz 21. na Politechnice Poznańskiej odbyły się Targi Pracy (28-29.03.2017 r.). Swoją ofertę, dla poszukujących nowej, ciekawej ścieżki kariery, zaprezentowało także Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sięciowe.
- 2.2.2 6 kwietnia 2017 r. w Warszawie odbył się XX Kongres Bezpieczeństwa Sieci, podczas którego Michał Pilc z Działu Bezpieczeństwa PCSS przedstawił prezentację „Kierunki rozwoju zagrożeń bezpieczeństwa cyberprzestrzeni”. Wydarzenie skierowane było do szerokiego grona osób związanych z cyberbezpieczeństwem.
- 2.2.3 PCSS był partnerem technologicznym 13. edycji Konferencji KASSK (Konferencja Administratorów Szkolnych Sieci Komputerowych, 7-9.04.2017 r.). W piątek, 7

kwietnia, dr inż. Krzysztof Kurowski – kierownik Pionu Zastosowań PCSS, przedstawił prezentację „Szkoła przyszłości”. Drugiego dnia – w sobotę 8 kwietnia – odbyła się część warsztatowa, podczas której specjaliści z PCSS przeprowadzili szereg warsztatów.

- 2.2.4 24 kwietnia 2017 r. PCSS był współorganizatorem XX Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki, w ramach którego zaprezentowano dwa multimedialne stoiska: Telewizję w wirtualnej rzeczywistości oraz Edukację przyszłości w dzisiejszej szkole.
- 2.2.5 W dniach od 26 do 28 kwietnia 2017 r. przedstawiciele PCSS wzięli udział w Międzynarodowych Targach Techniki i Wyposażenia Służb Policyjnych oraz Formacji Bezpieczeństwa Państwa – EUROPOLTECH 2017. Te wysoce specjalistyczne i dostępne jedynie dla profesjonalistów branżowych targi, są organizowane przez Międzynarodowe Targi Gdańskie S.A. w ścisłej współpracy z Komendą Główną Policji oraz we współdziałaniu ze służbami Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji, formacjami bezpieczeństwa państwa, Wojskami Specjalnymi i Żandarmerią Wojskową. W ramach ekspozycji targowej PCSS zaprezentował usługi związane z cyberbezpieczeństwem, m.in. zadania realizowane w projektach europejskich, a także system rozpoznawania mowy ARM.
- 2.2.6 Podczas IV Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Nauka o informacji (informacja naukowa) w okresie zmian. Innowacyjne usługi informacyjne” (15-16.05.2017 r.), organizowanej przez Katedrę Informatologii Uniwersytetu Warszawskiego, specjaliści z PCSS przedstawili referaty dotyczące analityki webowej repozytoriów i systemów informacji naukowej oraz jakości danych w systemie informacji naukowej.
- 2.2.7 W ramach 8. edycji konferencji ACM e-Energy 2017, goszczącej w Hong Kongu (16.05.2017), odbył się, współorganizowany przez PCSS, workshop dotyczący efektywności energetycznej centrów danych (6th International Workshop on Energy Efficient Data Centres).
- 2.2.8 17 maja 2017 r. na Wydziale Studiów Edukacyjnych UAM odbyła się Konferencja (Nie)pełnosprawni w dobie technologii. Głównym celem wydarzenia było poruszenie zagadnień związanych z szeroką paletą niepełnosprawności i niedostosowań społecznych oraz możliwościami, jakie niesie ze sobą wykorzystywanie nowych technologii. PCSS, będący partnerem technologicznym Konferencji, zaprezentował m.in. rozwiązania dedykowane osobom z niepełnosprawnościami, rozwijane w ramach projektów SelfFind oraz HELPS.
- 2.2.9 24 i 25 maja 2017 roku w Krakowie odbyła się, organizowana przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie oraz Instytut Nauk o Informacji, IV Konferencja Naukowa Biblioteka w przestrzeni edukacyjnej zatytułowana „Książki w plikach – publikowanie, udostępnianie i użytkowanie”. Podczas wydarzenia specjaliści z Działu Bibliotek Cyfrowych i Platform Wiedzy PCSS zaprezentowali system dLibra.
- 2.2.10 31 maja i 1 czerwca 2017 r. w siedzibie PCSS odbyło się, organizowane przez PCSS-KDM i Intel, spotkanie „Przegląd narzędzi wspomagających programowanie” Intel® Software Development Tools for HPC – 2 Day Workshop in PSNC. W ramach wydarzenia specjaliści z firmy Intel poprowadzili szkolenie i laboratorium 'hands-on' w zakresie narzędzi wspomagających pracę programisty wysokoskalowalnych aplikacji HPC.
- 2.2.11 1 i 2 czerwca w Regionalnym Centrum Transferu Nowoczesnych Technologii Wytwarzania w Mielcu odbywał się VIII Festiwal Nauki i Techniki. Podczas

- pokazów i warsztatów zaprezentowano elementy nowatorskiej przestrzeni edukacyjnej EduLab, przygotowanej przez specjalistów z Laboratorium Szkoły Przyszłości PCSS; zorganizowano pokazową lekcję „Przygody Scottiego”, w której udział wzięli uczniowie ze Szkoły Podstawowej Nr 3 w Mielcu. Specjaliści z PCSS przeprowadzili również warsztaty „Nauka programowania z grą Scottie Go!”, a także pokazy Laboratoria szkoły przyszłości.*
- 2.2.12 8 i 9 czerwca 2017 roku, na konferencji „XX Dni Otolaryngologii Dziecięcej”, PCSS prezentował pionierskie rozwiązanie do zdalnej współpracy lekarzy z wykorzystaniem obrazu stereoskopowego (3D). Na wspólnym stoisku z firmami Karl Storz Endoskop Polska oraz medVC.eu sp. z o.o. pokazana została platforma medVC, pozwalająca na transmisję obrazów wideo 3D z najnowszej sprzętu firmy Storz – endoskopu 3D oraz kamery operacyjnej Vitom 3D.*
- 2.2.13 9 czerwca 2017 roku odbyło się spotkanie „Biznes bliżej nauki - spotkajmy się na Wielkopolskim Forum Inteligentnych Specjalizacji”, organizowane przez Departament Gospodarki Urzędu Marszałkowskiego Województwa Wielkopolskiego. W Forum wzięło udział kilkanaście wielkopolskich instytutów naukowo-badawczych, w tym PCSS.*
- 2.2.14 11-13 września 2017 r. przedstawiciele PCSS wzięli udział w konferencji naukowej, poświęconej bazom danych dla polskiej nauki – INFOBAZY 2017. Pierwszego dnia, podczas pierwszej sesji naukowej „Rozwój bibliotek cyfrowych” przedstawione zostały prezentacje przygotowane przez zespoły z PCSS: „Research Object jako mechanizm zapewnienia powtarzalności eksperymentu naukowego w ramach Wirtualnych Środowisk Badawczych” (Marcin Krystek, Cezary Mazurek, Raul Palma, PCSS) oraz „Nowe usługi Federacji Bibliotek Cyfrowych sieci PIONIER” (Cezary Mazurek, Aleksandra Nowak, Maciej Stroński, Marcin Werla, Jan Węglarz). W drugiej sesji zatytułowanej „Otwarta nauka na wyższych uczelniach” zaprezentowany został referat :System SINUS – w stronę kompleksowej e-usługi do zarządzania dorobkiem naukowym uczelni wyższej” (Jakub Bajer, Marzena Błaszczńska, Michał Kozak, Karolina Popławska, Marcin Werla).*
- 2.2.15 Podczas międzynarodowej konferencji Ubicomp, odbywającej się na Hawajach (11-15.09.2017 r.) odbyła się wspólna demonstracja systemu opracowanego w projekcie Fit4Work, przygotowana przez PCSS oraz Jozef Stefan Institute ze Słowenii. Prezentacja cieszyła się dużym zainteresowaniem uczestników wydarzenia.*
- 2.2.16 2-4 października 2017 r. projekt Fit4Work, koordynowany przez PCSS, zaprezentował system opracowany w ramach swoich prac B+R na dorocznym spotkaniu środowiska skupionego wokół Programu AAL – AAL Forum. Tegoroczna edycja odbyła się portugalskim mieście Coimbra.*
- 2.2.17 6 i 7 grudnia 2017 roku w Poznaniu odbyło się Forum Rozwoju Miast. Zaproszeni goście oraz poznaniacy debatowali nad wykorzystaniem potencjału miasta i współczesnym postrzeganiu jego rozwoju. Współorganizatorem i partnerem technologicznym wydarzenia był PCSS.*
- 2.2.18 Już po raz dwunasty PCSS prezentował swoje dokonania na największej na świecie konferencji skupionej wokół tematyki HPC. Podczas SC w 2017 roku (12-17.11.2017 r., Denver, Kolorado) na stoisku poznańskiego Centrum prezentowane zostały m.in. system wideokonferencyjny WebRTC w jakości 4K oraz system serwerowy o niskim poborze mocy M2DC.*

- 2.2.19 17 listopada 2017 r. w Centrum Wykładowym Politechniki Poznańskiej odbyło się Seminarium Bioinżynierii Biomedycznej. Patronat honorowy nad wydarzeniem objął PCSS. Podczas wydarzenia zaprezentowano system Fit4Work, opracowany w ramach koordynowanego przez PCSS projektu współfinansowanego w ramach Programu AAL.
- 2.2.20 12-13 grudnia 2017 r. odbyła się, organizowana przez Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, Konferencja „Instytut wart Poznania”. Miała ona charakter popularnonaukowy i edukacyjny, skierowana była do wszystkich mieszkańców Poznania i Wielkopolski, w tym szczególnie nauczycieli i uczniów liceów.

### 2.3 Pozostała aktywność

- 2.3.2 PCSS po raz kolejny obsługiwało systemowo rekrutację do przedszkoli i szkół w całej Polsce z użyciem projektu **NABÓR** opracowanego w PCSS.
- 2.3.3 System Orzeł **znalazł się po raz pierwszy na 76. pozycji na liście HPCG (High Performance Conjugate Gradients)**. Test HPCG powstał z myślą o zastąpieniu lub uzupełnieniu znanego testu LINPACK (HPL), na którym bazuje znany ranking TOP500. Jednocześnie Orzeł w dalszym ciągu znajduje się na liście TOP500, na pozycji 172, w tym na drugim miejscu wśród pięciu polskich superkomputerów.
- 2.3.4 W 2017 r. mobilny asystent konferencji stworzony przez PCSS – aplikacja **Conference4me** był sukcesywnie rozwijany i wdrażany na kolejnych 100 wydarzeniach. Opracowana i rozwijana przez specjalistów z PCSS aplikacja, od ponad pięciu lat pojawia się na największych, najważniejszych i najbardziej prestiżowych wydarzeniach na całym świecie (do tej pory na 6 kontynentach, w 52 krajach). W sumie skorzystało z niej ponad 65 tysięcy użytkowników.
- 2.3.5 Dział Usług Internetu Przyszłości PCSS, we współpracy z Urzędem Miasta Poznania, w ramach projektu tworzenia miejskiej platformy internetowej, opracował **nową wersję Biuletynu Informacji Publicznej**. BIP to portal, który zapewnia mieszkańcom dostęp do informacji i decyzji podejmowanych przez urząd miasta. Na stronie znaleźć można m.in. komunikaty o opłatach, ulgach, zmianach w procedurach, interpretacje przepisów podatkowych czy wiadomości na temat tego, gdzie załatwić daną sprawę. Nowa szata graficzna biuletynu pozwoli na szybkie i intuicyjne znalezienie poszukiwanych przez mieszkańców informacji,
- 2.3.6 Mapa lokalizacji wspomnianych w zeznaniach, tło historyczne wydarzeń, zdjęcia ofiar i świadków zbrodni – to tylko przykłady nowych możliwości portalu ZapisyTerroru.pl, jednego z największych zbiorów świadectw ludności cywilnej okupowanej Europy. **Portal został stworzony przez PCSS** na bazie oprogramowania dLibra, a od 5 czerwca 2017 roku można korzystać z jego nowej wersji,
- 2.3.7 W ramach prac w europejskim konsorcjum DARIAH ERIC, zajmującym się rozwojem cyfrowej infrastruktury badawczej dla nauk humanistycznych i nauk o sztuce, **PCSS objął kierownictwo Wirtualnego Centrum Kompetencji** odpowiedzialnego za zarządzanie treściami naukowymi.
- 2.3.8 Centrum Kompetencji Impact uruchomiło nową odsłonę serwisu. PCSS jest członkiem założycielem Centrum, międzynarodowej organizacji non-profit, której misją jest udoskonalanie szeroko rozumianej digitalizacji dokumentów historycznych.

- 2.3.9 W nowym portalu polskiej Federacji Bibliotek Cyfrowych znalazło się około pięć tysięcy tytułów czasopism ze zbiorów polskich instytucji kultury i nauki można bezpłatnie przeglądać. Portal FBC Czasopisma, daje dostęp do ponad dwóch milionów numerów czasopism wydawanych od XVII wieku, aż do czasów współczesnych. Serwis przygotował Dział Bibliotek Cyfrowych i Platform Wiedzy PCSS.
- 2.3.10 Wielkopolski Ośrodek Doradztwa Rolniczego w Poznaniu we współpracy z Poznańskim Centrum Superkomputerowo-Sieciowym z myślą o rolnikach z województwa Wielkopolskiego przygotował aplikację na smartfony o nazwie EPSU Mobilne. Do tej pory pod nazwą EPSU, czyli Elektronicznej Platformy Świadczenia Usług, kryło się oprogramowanie udostępnione rolnikom i mieszkańcom obszarów wiejskich za pośrednictwem strony internetowej.
- 2.3.11 Zespół telewizji **PlatonTV z PCSS** aktywnie uczestniczył w przygotowywaniu dwóch sezonów naukowych programów cyklicznych. Kontynuowano także współpracę z wieloma podmiotami, przeprowadzono bezpośrednie transmisje on-line z kilkunastu ważnych wydarzeń, m.in.:
- kontynuacja współpracy z Kliniką i Katedrą Otolaryngologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Współpraca polegała m.in. na realizacji transmisji z sal operacyjnych „na żywo”,
  - transmisje on-line na żywo oraz relacje z TNC'17 (partner technologiczny),
  - 9. Tydzień Mózgu (13-17 marca 2017 r., Ośrodek Nauki PAN w Poznaniu),
  - we współpracy z firmą Colour Pictures Paweł Zabel, PlatonTV PCSS był producentem wykonawczym rejestracji i transmisji spektaklu operowego Feliksa Nowowiejskiego pt. „Legenda Bałtyku”. Przy okazji tego wydarzenia, udało się także zrealizować zdjęcia w technologii 8K i 360° (podczas prób scenicznych), co zbiegło się z równoległym wyzwaniem realizacji zdjęć 8K podczas jubileuszowego koncertu TVP Poznań w Iglicy Międzynarodowych Targów Poznańskich,
  - w ramach współpracy Działu Nowych Mediów PCSS oraz PlatonTV zrealizowano sesję wzorcowych zdjęć 8K w poznańskiej Palmiarni. Celem sesji jest stworzenie materiałów poglądowych i demonstracyjnych,
  - w ramach współpracy PlatonTV, Działu Nowych Mediów PCSS oraz Stowarzyszenia Gen-i-już z Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, zorganizowano pokazową lekcję, w formie warsztatów, zatytułowaną „DNA, komórki i bystre dzieciaki”.

### **3 Projekty naukowo-badawcze (50)**

#### **3.1 Projekty w 7 Programie Ramowym Unii Europejskiej (2)**

3.1.1 ceFIMS-CONNECT

3.1.2 PRACE-3IP

#### **3.2 Program HORYZONT 2020 (35)**

3.2.1 Eurofusion H2020

3.2.2 COMPLETE

3.2.3 ROAM

3.2.4 AARC

3.2.5 INDIGO-DataCloud

3.2.6 PRACE-4IP

3.2.7 EUDAT 2020

- 3.2.8 *SesameNET*
- 3.2.9 *ImmeriaTV*
- 3.2.10 *EVER-EST*
- 3.2.11 *ComPat*
- 3.2.12 *EoCoE*
- 3.2.13 *Coeggs*
- 3.2.14 *M2DC*
- 3.2.15 *ESCAPE*
- 3.2.16 *symbloTe*
- 3.2.17 *Protective*
- 3.2.18 *OFTEN*
- 3.2.19 *GEANT2020 (GN4-2)*
- 3.2.20 *EVERYDAYNIGHT*
- 3.2.21 *eIRGSP5*
- 3.2.22 *Hub4NGI*
- 3.2.23 *Up2U*
- 3.2.24 *DataBio*
- 3.2.25 *Fed4Fireplus*
- 3.2.26 *DEW-COOL-4-CDC*
- 3.2.27 *CLONETS*
- 3.2.28 *PRACE-5IP*
- 3.2.29 *AARC2*
- 3.2.30 *MONROE*
- 3.2.31 *MIDIH*
- 3.2.32 *CATALYST*
- 3.2.33 *EOSCpilot*
- 3.2.34 *IMMERSIFY*
- 3.2.35 *DEEP-HybridDataCloud*

### **3.2 Inne inicjatywy europejskie: e-Contentplus/CIP, EUREKA/AAL (4):**

- 3.2.1.1 *FOODIE*
- 3.2.1.2 *Europeana (DSI II)*
- 3.2.1.3 *Fit4Work*
- 3.2.1.4 *PALETTEV2*

### **3.3 Projekty strukturalne (5)**

- 3.3.1.1 *WINS*
- 3.3.1.2 *IVA*
- 3.3.1.3 *NUTS3 Kaliski*
- 3.3.1.4 *NUTS3 Leszczyński*
  - 3.3.1.4.1 *NUTS3 Poznański*

### **3.4 Projekty rozwojowe i inne (4)**

- 3.4.1 *EMMA22*
- 3.4.2 *PBL*
- 3.4.3 *PRACE AISBL2016*
- 3.4.4 *SelFind*

## ZAŁĄCZNIKI

---

### Załącznik 1. Skład Rady Naukowej kadencji 2015–2018

---

Przewodniczący Rady Naukowej: prof. dr hab. Andrzej B. Legocki

Zastępcy Przewodniczącego: prof. dr hab. Ewa Bartnik, prof. dr hab. Henryk Koroniak

Sekretarz: dr Joanna Banasiak

#### Członkowie z ICHB PAN

Prof. dr hab. Ryszard W. Adamiak  
Dr Joanna Banasiak  
Prof. dr hab. Jan Barciszewski  
Dr hab. Kamila Bąkowska-Żywicka  
Dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB  
Prof. dr hab. Jacek Błazewicz  
Prof. dr hab. Jerzy Boryski  
Dr hab. Marcin Chmielewski, prof. ICHB  
Prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka  
Prof. dr hab. Marek Figlerowicz  
Prof. dr hab. Zofia Gdaniec  
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski  
Dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB  
Prof. dr hab. Ryszard Kierzek  
Dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB  
Prof. dr hab. Adam Kraszewski

Prof. dr hab. Włodzimierz J. Krzyżosiak  
Mgr Anna Mleczko  
Prof. dr hab. Andrzej B. Legocki  
Prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz  
Prof. dr hab. Mirosława Z. Naskręt-  
-Barciszewska  
Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski  
Dr hab. Michał Sikorski, prof. ICHB  
Dr hab. Michał Sobkowski, prof. ICHB  
Prof. dr hab. Jacek Stawiński  
Prof. dr hab. Maciej Stobiecki  
Prof. dr hab. Tomasz Twardowski  
Prof. dr hab. Jan Węglarz  
Dr hab. Jan Wrzeński, prof. ICHB  
Dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB

#### Członkowie zewnętrzni

Dr hab. inż. Krzysztof Alejski, prof. PP  
Politechnika Poznańska, Poznań  
Prof. dr hab. Ewa Bartnik  
Uniwersytet Warszawski, Warszawa  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa  
Prof. dr hab. Janusz M. Bujnicki  
Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej  
i Komórkowej, Warszawa  
Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań  
Prof. dr hab. Agnieszka Dobrzyń, prof. IBD  
Instytut Biologii Doświadczalnej  
im. M. Nenckiego PAN, Warszawa  
Prof. dr hab. Jacek Gawroński  
Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań  
Prof. dr hab. Bogdan Jackowiak  
Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań  
Prof. dr hab. Henryk Koroniak  
Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań

Prof. dr hab. Barbara Nawrot  
Centrum Badań Molekularnych, Łódź  
Prof. dr hab. med. Jerzy Nowak  
Instytut Genetyki Człowieka PAN, Poznań  
Prof. dr hab. Krzysztof W. Nowak  
Uniwersytet Przyrodniczy, Poznań  
Prof. dr hab. Andrzej Paszewski  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa  
Prof. dr hab. Wojciech Stec  
Centrum Badań Molekularnych  
i Makromolekularnych PAN, Łódź  
Prof. dr hab. Adam Szewczyk  
Instytut Biologii Doświadczalnej  
im. M. Nenckiego PAN, Warszawa  
Prof. dr hab. Kazimierz L. Wierchowski  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa  
Prof. dr hab. Piotr Zielenkiewicz  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

## Załącznik 2. Struktura organizacyjna zakładów naukowych ICHB PAN (2017)

| Nazwa zakładu                                                | Kierownik                                    | Typ zakładu |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------|
| Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł                        | prof. dr hab. Wojciech Rypniewski            | ZW          |
| Zakład Krystalografii - Centrum Badań Biokrystalograficznych | prof. dr hab. Mariusz Jaskólski              | ZW          |
| Zakład Genetyki Molekularnej                                 | dr hab. Piotr Kozłowski, prof. ICHB PAN      | ZW          |
| Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów                      | prof. dr hab. Jerzy Boryski                  | ZW          |
| Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych   | prof. dr hab. Ryszard Kierzek                | ZW          |
| Zakład Biomedycyny Molekularnej                              | prof. dr hab. Włodzimierz Krzyżosiak         | ZW          |
| Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej                    | prof. dr hab. Marek Figlerowicz              | ZW          |
| Zakład Biologii Chemicznej                                   | prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz         | ZW          |
| Zakład Bioinformatyki                                        | prof. dr hab. Jacek Błażewicz                | ZW          |
| Zakład Biologii Integratywnej                                | dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN          | ZW          |
| Zakład Biochemii RNA                                         | prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka                | ZW          |
| Zakład Epigenetyki                                           | prof. dr hab. Jan Barciszewski               | ZS          |
| Zakład Struktury i Funkcji RNA                               | prof. dr hab. Ryszard Adamiak                | ZS          |
| Zakład Biochemii Produktów Naturalnych                       | prof. dr hab. Maciej Stobiecki               | ZS          |
| Zakład Biologii Medycznej                                    | prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska | ZS          |
| Zakład Biosyntezy Białka                                     | prof. dr hab. Tomasz Twardowski              | ZS          |
| Zakład Chemii Kwasów Nukleinowych                            | prof. dr hab. Adam Kraszewski                | ZS          |
| Zakład Neurobiologii Molekularnej                            | dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN        | ZML         |
| Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin                     | dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN       | ZML         |
| Zakład Genomiki Strukturalnej RNA                            | dr hab. Elżbieta Kierzek, prof. ICHB PAN     | ZML         |
| Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin                        | dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN      | ZML         |
| Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych                     | dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN       | ZML         |
| Zakład Chemii Biopolimerów                                   | dr hab. Marcin Chmielewski, prof. ICHB PAN   | ZML         |

**ZW** – zakłady wiodące; **ZS** – zakłady senioralne; **ZML** – zakłady młodych liderów

### Załącznik 3. Seminaria Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN

---

Prowadzenie: prof. dr hab. Jerzy Boryski

- |            |                                                                                                                                                                                                                |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 9.01.2017  | <b>Dr hab. Anna Pasternak, prof. IChB</b><br>Charakterystyka fizykochemiczna oligonukleotydów<br>modyfikowanych pochodnymi pirolo-2'-deoksycytydyny                                                            |
| 16.01.2017 | <b>Dr Kamila Bąkowska-Żywicka</b><br>Nowa klasa krótkich regulatorowych RNA oddziałujących<br>z rybosomem                                                                                                      |
| 13.02.2017 | <b>Mgr Magdalena Materna</b><br>N-Tlenki amin w chemii kwasów nukleinowych                                                                                                                                     |
| 17.02.2017 | <b>Dr. Rafał Mostowy</b><br><i>School of Public Health, Imperial College London, Great Britain</i><br>How evolution shapes diversity of polysaccharide capsules in<br>gram-positive and gram-negative bacteria |
| 20.02.2017 | <b>Dr Witold Andrałojć</b><br>Metody paramagnetycznego NMR w badaniach struktury<br>i dynamiki biomolekuł                                                                                                      |
| 27.02.2017 | <b>Mgr Joanna Sroka</b><br>Identyfikacja i charakterystyka struktury drugorzędowej regionu<br>niekodującego<br>5' mRNA p53 u myszy                                                                             |
| 6.03.2017  | <b>Dr Bartosz Marciniak</b><br>Synteza i właściwości azolowych pochodnych 9-metyloadeniny                                                                                                                      |
| 13.03.2017 | <b>Mgr Anna Samelak-Czajka</b><br>Naturalna zmienność liczby kopii genów kodujących białka<br>u <i>Arabidopsis thaliana</i>                                                                                    |
| 20.03.2017 | <b>Mgr inż. Rafał Holubowicz</b><br><i>Zakład Biochemii, Wydział Chemii Politechniki Wrocławskiej</i><br>Domena C1q otoliny-1 danio przegowanego i człowieka – relacje<br>struktura-funkcja                    |
| 27.03.2017 | <b>Dr Magdalena Jazurek</b><br>Nietypowa translacja (RAN translacja) inicjowana na sekwencjach<br>powtórzonych                                                                                                 |
| 3.04.2017  | <b>Mgr Jakub Wiedemann</b><br>LCS-TA to identify similarities in RNA 3D structures                                                                                                                             |
| 10.04.2017 | <b>Dr. Patrick Perrigue</b><br>Płazińce – organizm modelowy do badań epigenetycznych                                                                                                                           |
| 8.05.2017  | <b>Dr Agnieszka Kiliszek</b><br>Nowy typ niekanonicznej pary G-G w RNA. Analiza<br>krystalograficzna                                                                                                           |

- 15.05.2017 **Dr inż. Marta Woźniak-Budych**  
Centrum Nanobiomedyczne UAM  
Synthesis and medical applications of copper/copper oxide nanoparticles
- 22.05.2017 **Mgr Katarzyna Klonowska**  
Struktura delekcji genu APOBEC3B oraz rola delekcji w determinacji ryzyka raka piersi - analiza asocjacji genetycznej
- 29.05.2017 **Dr Anna Piasecka**  
Profilowanie zmian w metabolizmie wtórnym rośliny modelowej *Brachypodium distachyon* zachodzący podczas odpowiedzi na infekcję
- 5.06.2017 **Mgr Julita Kęsy**  
siRNA nakierowane na mRNA segmentu 5 wirusa grypy typu A
- 12.06.2017 **Mgr Aleksandra Paweła**  
Rola transporterów ABCG w dystrybucji kwasu abscysynowego w *Medicago truncatula*
- 12.06.2017 **Prof. Dr. Judith A. Heiny**  
Department of Molecular and Cellular Physiology,  
University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, USA  
The Na,K-ATPase Keeps us Moving
- 16.08.2017 **Dr. Peter Müller**  
Department of Chemistry, Massachusetts Institute of Technology,  
Cambridge, MA, USA  
Single-Crystal X-Ray Diffraction: Structure Determination for Chemistry Research
- 5.09.2017 **Prof. Dr. Markus Geisler**  
Department of Biology, University of Fribourg, Switzerland  
Regulation of auxin transport
- 21.09.2017 **Dr Anna M. Kietrys**  
Department of Chemistry, Stanford University, CA, USA  
Modyfikacje RNA i NGS: To nie błąd, a zakodowana informacja
- 9.10.2017 **Mgr Tomasz Czapik**  
Badanie struktury i funkcji biologicznych zdeterminowanych konformacyjnie kwasów nukleinowych
- 5.09.2017 **Prof. Dr. Enrico Martinoia**  
Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich, Switzerland  
ABC transporters involved in phytohormone transport
- 16.10.2017 **Mgr Paulina Żydowicz-Machtel**  
Szybkość skanowania wariantów regionu niekodującego 5' mRNA p53 przez rybosom oraz wpływ tego regionu na efektywność translacji - od czego zależą?
- 23.10.2017 **Dr hab. Tadeusz Kuliński, prof. ICHB**  
Integracyjna, dynamiczna biologia strukturalna o atomowej zdolności rozdzielczej - aktualny potencjał chemii obliczeniowej

- 23.10.2017 **Dr. Andrzej Joachimiak, Sc.D.**  
*Structural Biology Center & Midwest Center for Structural Genomics*  
*Argonne National Laboratory, Argonne, IL, USA*  
 Structure of *Mycobacterium Tuberculosis* Tryptophan Synthase:  
 a Model System for Allosteric Inhibition
- 27.10.2017 **Dr. Andre Dietrich, Sc. D.**  
*CNRS & Universite de Strasbourg, Institut de Biologie*  
*Moleculaire des Plantes,*  
*Strasbourg, France*  
 Dynamics and manipulation of mitochondrial genetics: recent data  
 and prospects for mitochondrial medicine
- 30.10.2017 **Dr Anna Philps**  
 Mikroorganizmy towarzyszące tysiącletnim szczątkom ludzkim
- 6.11.2017 **Mgr Paulina Bierwagen**  
 Białka zaangażowane w oddziaływanie pomiędzy krętkiem  
 z rodzaju *Borrelia*, kleszczem i gospodarzem na przykładzie OspC  
 z *Borrelia burgdorferi* i ligandów
- 20.11.2017 **Dr Łukasz Gałgański**  
 Od wizualizacji zmutowanych transkryptów do proteomiki  
 wizualnej
- 13.11.2017 **Dr. Kenji Yamada**  
*Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński,*  
*Kraków*  
 ER-bodies are responsible for glucosinolate-based defense against  
 insects in *Brassicaceae*
- 13.11.2017 **Dr. Ryohei Thomas Nakano**  
*Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Cologne,*  
*Germany*  
 Root microbiota membership of rhizobia as a predisposition to  
 nitrogen-fixing symbiosis with legumes
- 27.11.2017 **Mgr Kaja Chmielewska**  
 Zastosowanie sieci Petriego do modelowania i analizy wpływu  
 interleukiny 18 na miażdżycę
- 27.11.2017 **Dr. Grzegorz Popowicz**  
*Institute of Structural Biology, Helmholtz Zentrum München,*  
*Germany*  
 Trypanosoma Achilles' heel: Peroxisomal transport inhibitors  
 against parasites
- 4.12.2017 **Dr hab. Katarzyna Rolle**  
 Koliste RNA
- 11.12.2017 **Dr Karol Czubak**  
 Analiza poziomu kolistych RNA w dystrofii miotonicznej
- 18.12.2017 **Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski**  
 Niespodziewanie rozwiązana struktura bakterioferrytyny z *E. coli*



**Polska Akademia Nauk, Oddział w Poznaniu**  
**Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu**

zapraszają na wykłady otwarte pt.

# NAUKA NA WAKACJACH

w Domu Pracy Twórczej Polskiej Akademii Nauk w Juracie,  
ul. Wojska Polskiego 5/7

Organizacja i prowadzenie  
Prof. dr hab. Jan Barciszewski - Instytut Chemii Bioorganicznej PAN  
(Jan.Barciszewski@ibch.poznan.pl; tel. 61 852 85 03 w. 132)

|                                          |                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6 lipca 2017, godz. 19 <sup>00</sup>     | <b>Prof. dr hab. n. med. Włodzimierz Baranowski</b><br>Centralny Szpital Kliniczny MON, Warszawa<br><i>Rak jajnika. Cichy zabójca kobiet</i>                                                        |
| 13 lipca 2017, godz. 19 <sup>00</sup>    | <b>Dr n. med. Anna Maria Barciszewska</b><br>Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, Poznań<br><i>Rozpoznawanie i leczenie guzów mózgu</i>                                                     |
| 20 lipca 2017, godz. 19 <sup>00</sup>    | <b>Prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn</b><br>Uniwersytet Gdański, Gdańsk<br><i>Choroby neurodegeneracyjne - czy jest nadzieja na skuteczne leczenie?</i>                                                |
| 27 lipca 2017, godz. 19 <sup>00</sup>    | <b>Dr Jan Słowiński</b><br>Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań<br><i>Małżeństwo w prawie kanonicznym</i>                                                                                      |
| 3 sierpnia 2017, godz. 19 <sup>00</sup>  | <b>Prof. dr hab. Jacek W. Paluchowski</b><br>Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań<br><i>Co i jak mierzą testy psychologiczne?</i>                                                                 |
| 10 sierpnia 2017, godz. 19 <sup>00</sup> | <b>Prof. dr hab. Artur Jarmołowski</b><br>Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań<br><i>Terapia genowa - wcześniejsze porażki i nowe nadzieje</i>                                                    |
| 17 sierpnia 2017, godz. 19 <sup>00</sup> | <b>Prof. dr hab. Urszula Wojda</b><br>Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN, Warszawa<br><i>Choroba Alzheimera: rozwój nowych metod diagnostyki i terapii</i>                      |
| 24 sierpnia 2017, godz. 19 <sup>00</sup> | <b>Dr inż. Cezary Mazurek</b><br>Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe, Poznań<br><i>Internet Nowej Generacji i jego znaczenie dla rozwoju nauki, gospodarki i społeczeństwa przyszłości</i> |



ODDZIAŁ  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
W POZNANIU



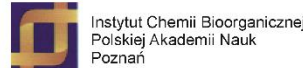
KNOW  
RNA  
Research Centre  
in Poznań



Krajowy Naukowy  
Ośrodek Wiodący



UNIwersYTET  
IM. ADAMA MICKIEWICZA  
w POZNANIU  
WYDZIAŁ BIOLOGII



Instytut Chemii Bioorganicznej  
Polskiej Akademii Nauk  
Poznań



CentrumBadan DNA  
Laboratorium Genetyki Molekularnej



CENTRUM NANOBIOMEDYCZNE  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu



MERANCO



eppendorf



polpharma



Strauss



BIOFARM  
POLSKI PRODUCENT LEKÓW



Selvita

## Załącznik 5. Plakat i program konferencji „INSTYTUT wart POZNANIA”



Instytut Chemii Bioorganicznej  
Polskiej Akademii Nauk  
<http://www.ibch.poznan.pl>

zaprasza na konferencję  
**INSTYTUT wart POZNANIA**

MIKRO  
**siRNA**  
CAG APTAMERY  
TERAPIA

DNA  
KOPALNE  
ARCHEOGENOMIKA  
GENOMICZNA MAPA POLSKI  
**GENOM**  
EWOLUCJA  
CZŁOWIEKA  
POCHODZENIE SŁOWIAN  
I PIASTÓW

**GENETYKA**  
CNV  
PODŁOŻE CHOROBY  
WIRUSY  
HCV AH1N1 RETROWIRUSY

INTERNET OPTYCZNY  
SUPERKOMPUTERY  
**INSTYTUT OTWARTY**  
CHEMIA I SYNTEZY  
KRISTALOGRAFIA  
INFO NANO  
TECHNOLOGIE

ORGANIZMY MODELOWE  
KOMÓRKI MACIERZYSTY  
CHOROBA HUNTINGTONA  
BIOLOGIA MOLEKULARNA  
CHOROBY NEURODEGENERACYJNE

**NEUROBIOLOGIA**

**BIOLOGIA ROŚLIN**

**Sesja I: Instytut dla Poznania**  
Sala Biała Urzędu Miasta Poznania

**Sesja II: PAN z Wieniawskiego zaprasza**  
Sala Duża Ośrodka Nauki PAN

12 grudnia 2017, godz. 9.00  
plac Kolegiacki 17

13 grudnia 2017, godz. 9.00  
ul. Wieniawskiego 17

**WSTĘP WOLNY**

Rejestracja, e-mail: [instytut\\_wart\\_poznania@ibch.poznan.pl](mailto:instytut_wart_poznania@ibch.poznan.pl)



## PROGRAM KONFERENCJI

### **Sesja I: Instytut dla Poznania**

Sala Biała Urzędu Miasta Poznania

12 grudnia 2017, godz. 9:00

plac Kolegiacki 17

Sesja dedykowana prof. Wojciechowi T. Markiewiczowi w 70. rocznicę urodzin

- 9:00-9:30** Instytut Chemii Bioorganicznej – Instytut wart Poznania  
MAREK FIGLEROWICZ
- 9:30-10:00** Od chemii do serca z robotem  
WOJCIECH T. MARKIEWICZ
- 10:00-10:30** Przerwa kawowa
- 10:30-11:00** Genomika w poznawaniu naszej przeszłości  
LUIZA HANDSCHUH
- 11:00-11:30** PCSS na rzecz cyfrowej nauki i gospodarki  
MACIEJ STROIŃSKI, Cezary Mazurek
- 11:30-12:00** Idea instytutu otwartego  
MAREK FIGLEROWICZ

### **Sesja II: PAN z Wieniawskiego zaprasza**

Sala Duża Ośrodka Nauki PAN

13 grudnia 2017, godz. 9:00

ul. Wieniawskiego 17

- 9:00-9:30** Dlaczego warto zaprzyjaźnić się z ICHB PAN  
MAREK FIGLEROWICZ
- 9:30-10:30** Nasze zainteresowania i badania  
ANNA MLECZKO, MARTYNA URBANEK, PAULINA BIERWAGEN
- 10:30-11:00** Przerwa
- 11:00-11:30** Drogi do i z Instytutu  
IRENEUSZ STOLAREK, ZUZANNA JEDLIŃSKA, JACEK KOLANOWSKI
- 11:30-12:00** Zapraszamy do ICHB PAN  
MAREK FIGLEROWICZ

## **Załącznik 6. Program konferencji Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego RNA-RNA: RUN**

---

**27.09.2017**

T. Miki *Multifunctional RNase XRN2*

B. Jackowskiak *Sprawozdanie z działalności KNOW*

**28.09.2017**

### ***Niekodujące RNA: biogeneza i funkcja***

A. Mykowska *MEF2C transcription factor regulates positively and negatively expression of several miRNA during myogenesis*

H. Pietrykowska *The role of sex-specific M.polymorpha miRNA in generative organs development*

P. Plewka *Arabidopsis long noncoding RNA GUT15 encodes a tRNA-like molecule*

A. Pacak *Identification of Pi-starvation responsive small RNAs in barley root and shoot*

M. Bajczyk *A role of the NEXT complex in microRNA biogenesis*

T. Witkoś *A dialect of stuttering sequences in the competing endogenous RNA crosstalk*

A. Philips *Circular RNA in Arabidopsis thaliana*

P. Jackowskiak *Effects of G-quadruplex topology on translational inhibition by tRNA fragments in mammalian and plant system in vitro*

A. Mleczko *Revealing stress-dependence of ribosome-associated noncoding RNAs (rancRNAs)*

T. Czapik *From North to South through syn and anti conformationally restricted nucleosides in model functional RNAs*

J. Kuczyński *Chilling stress influences biosynthesis of miRNA in soybean*

### ***Życie mRNA: od syntezy do rozpadu***

J. Mazur *The contribution of matchmaker protein Hfq to the annealing of MgrR sRNA to target mRNAs*

K. Taylor *Structural basis of MBNL activity in regulation of alternative splicing*

K. Kruszka *Interactions between SERRATE protein and minor spliceosome components in Arabidopsis*

A. Świątkowska *Variants of the 5'-terminal region of p53 mRNA influence the ribosomal scanning and translation efficiency*

### ***RNA i choroby: patomechanizmy i strategie terapeutyczne***

M. Derbis *Antisense oligonucleotides as potential therapeutics in the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS)*

M. Borowiak *Single cell transcriptome analysis for pancreatic endocrine determination*

M. Plens-Gałąska *Targeted inhibition of STATs as a potential treatment strategy in cardiovascular diseases*

- A. Kajdasz *Landscape of RNA and protein processing of TMEMs in clear cell renal cell carcinoma*  
 A. Ciesiołka *Development of novel methods to decipher RNA-mediated toxicity in polyglutamine disorders*  
 M. Dąbrowska *Precise excision of the CAG tract from the huntingtin gene by Cas9 nickases*

**29.09.2017**

***RNA i choroby: patomechanizmy i strategie terapeutyczne cd.***

- M. Figiel *Transcriptomic and proteomic analyses of SCA3/MJD mouse model*  
 L. Błaszczuk *Stabilization of RNA hairpins for structural studies*  
 W. Andrałojć *Unraveling the structural basis for the exceptional stability of RNA G-quadruplexes capped by the GGU sequence at the 3' terminus*  
 P. Głodowicz *Nucleic acids as a tool to regulate the expression of mitochondrial genes*  
 M. Grabowska *Double stranded RNA delivered by magnetic nanoparticles in potential therapy of glioblastoma multiforme*  
 K. Kuczyński *circRNAs: a novel promising biomarkers in glioblastoma multiforme*

***Bioinformatyka RNA***

- M. Szcześniak *Transcriptional and functional diversity of long noncoding RNAs across human transcriptomes*  
 M. Szymański *Reannotation of tRNA genes in Arabidopsis thaliana*  
 M. Dobrychłop *PyRy3D: software for modeling macromolecular complex structures*  
 M. Biesiada *RNAComposer: recent advances and applications*  
 T. Ratajczak *RNAAssess – platform for efficient RNA analysis*

***Wirusy RNA***

- J. Kęsy *Modified PNA oligomers selectively targeting influenza virus RNA*  
 A. Strugała *Viral capsids as carriers of nanoparticles*

## Załącznik 7. Program spotkań w ramach Poznańskiego Klubu RNA

---

|                      |                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 11 stycznia 2017     | <b>Dr Tomasz Żemojtel</b><br><i>Charité-Universitätsmedizin Berlin, Niemcy</i><br>3Gbp                                                                                                                              |
| 8 lutego 2017        | <b>Dr hab. Aleksander Czogalla</b><br><i>Uniwersytet Wrocławski</i><br>Nanotechnologia, origami DNA, biologia syntetyczna<br>– czy potrzeba nam nowych narzędzi do badania procesów komórkowych?                    |
| 8 marca 2017         | <b>Prof. dr hab. Piotr Stępień</b><br><i>Uniwersytet Warszawski i Instytut Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie</i><br>Wędrówki mitochondrialnych RNA                                                              |
| 19 kwietnia 2017     | <b>Dr Witold Szaflarski</b><br><i>Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu</i><br>Chemioterapia nowotworów in vitro – od badań nad ciałkami stresowymi poprzez RNA po nowe mechanizmy działania leków |
| 17 maja 2017         | <b>Prof. dr. Wojciech Makałowski</b><br><i>Institute of Bioinformatics, Faculty of Medicine, University of Muenster, Niemcy</i><br>Regulacja translacji przez dodatkowe ramki odczytu                               |
| 21 czerwca 2017      | <b>Dr hab. Krzysztof T. Zwierzyński</b><br><i>Instytut Automatyki i Inżynierii Informatycznej, Politechnika Poznańska</i><br>Hipoteza o możliwości hydroakustycznej komunikacji między żywymi komórkami             |
| 28 czerwca 2017      | <b>Dr hab. Emanuel Kulczycki</b><br><i>Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu</i><br>Jak polityka naukowa kształtuje krajową ewaluację nauki                                                                     |
| 11 października 2017 | <b>Dr n. med. Andrzej Ossowski</b><br><i>Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie</i><br>Masowe profilowanie DNA ofiar zbrodni systemów totalitarnych                                                             |
| 8 listopada 2017     | <b>Prof. dr hab. Piotr Pierański</b><br><i>Politechnika Poznańska</i><br>Nagroda Nobla 2017 z chemii                                                                                                                |
| 13 grudnia 2017      | <b>Dr Jacek Kolanowski</b><br><i>Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu</i><br>Małocząsteczkowe narzędzia do badania biologii systemów                                                    |

Na okładce wykorzystano fragment obrazu *Alchemist's workshop*  
Jana van der Straeta (1523-1605) znanego jako Giovanni Stradano