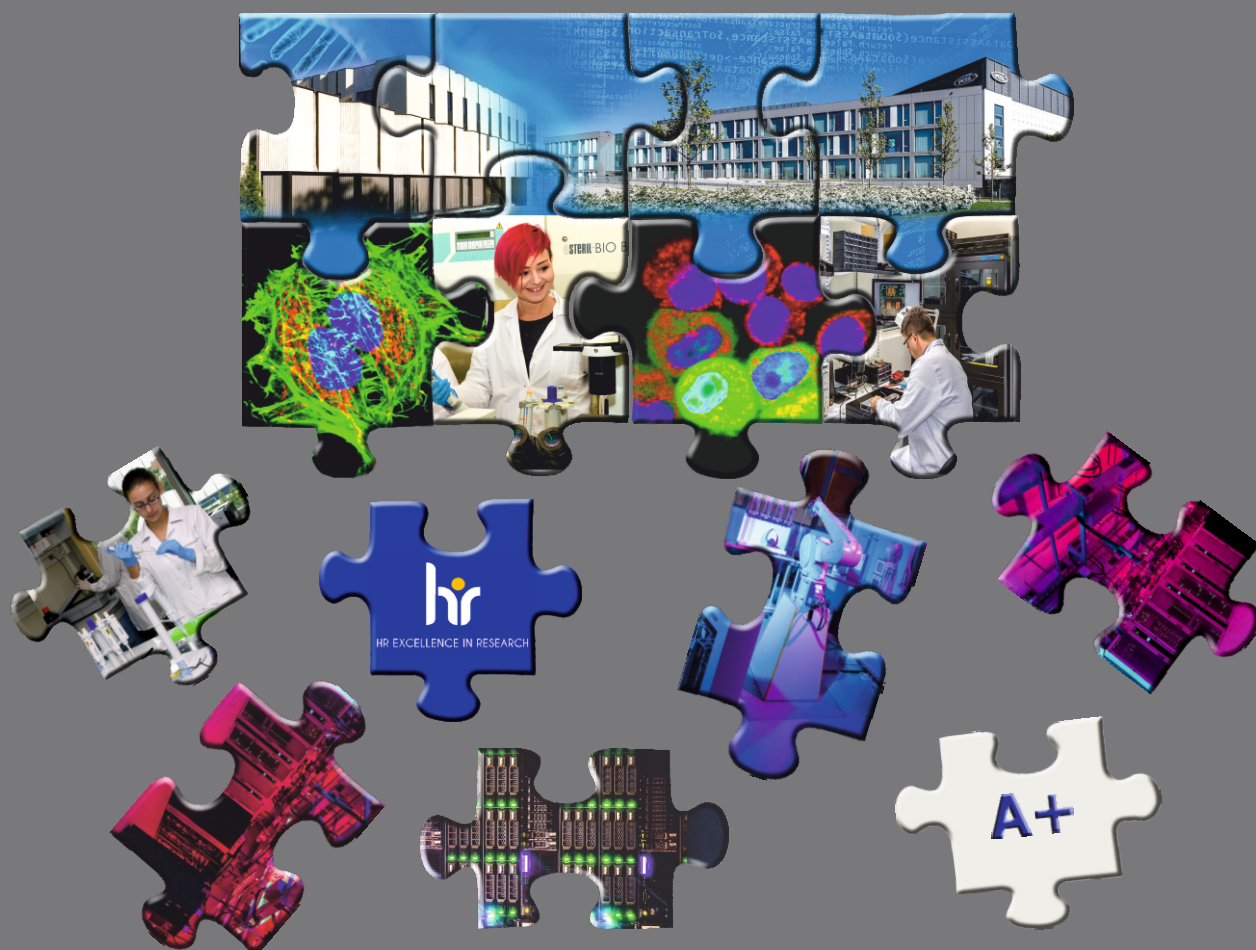




INSTYTUT CHEMII BIOORGANICZNEJ

Polskiej Akademii Nauk



SPRAWOZDANIE z działalności w roku 2018

Poznań, luty 2019

SPRAWOZDANIE

z działalności w roku 2018

Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk
Ośrodek Wydawnictw Naukowych • Poznań, luty 2019

**Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk
Sprawozdanie z działalności w roku 2018**

Redakcja

**Julia Brzoska-Karwat,
Michał Sobkowski,
Zespół Sekretariatu Naukowego**

Redakcja techniczna

Ewa Rozmiarek

Fotografie na okładce

**Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe**

Wydawca

**Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Ośrodek Wydawnictw Naukowych
Noskowskiego 12/14 61-704 Poznań**

Druk i oprawa

Moś i Łuczak, Poznań

SPIS TREŚCI

WSTĘP	5
INFORMACJE OGÓLNE	7
Dyrekcja	7
Uprawiane specjalności naukowe	7
Struktura organizacyjna	7
Zatrudnienie	10
Międzynarodowy Zespół Doradczy	10
Działalność publikacyjna	10
Działalność naukowa	11
Dotacje, finansowanie projektów badawczych, inwestycyjnych i innych	11
Rozwój kadry naukowej	12
Studia doktoranckie	13
Uczestnicy innych form kształcenia	13
Wynalazki i znaki towarowe	14
Działalność wydawnicza	15
Nagrody i wyróżnienia	16
Organizacja seminariów i konferencji naukowych	18
Najważniejsze osiągnięcia	18
Pozostałe ważne wyniki	20
Działalność statutowa	23
Tematy i zadania statutowe realizowane w roku 2018	23
Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich	25
Informacja o wykorzystaniu dotacji na finansowanie kosztów związanych z utrzymaniem specjalnego urządzenia badawczego (SPUB)	28
Opis działalności naukowej	29
Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł	29
Zakład Krystalografii – Centrum Badań Biokrystalograficznych	31
Zakład Genetyki Molekularnej	36
Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów	43
Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych	50
Zakład Biomedycyny Molekularnej	55
Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej	62
Zakład Bioinformatyki	77
Zakład Biologii Integratywnej	81
Zakład Biochemii RNA	86
Zakład Biomolekularnego NMR	90
Zakład Biologii Chemicznej	95

Zakład Epigenetyki	98
Zakład Struktury i Funkcji RNA	101
Zakład Biochemii Produktów Naturalnych	102
Zakład Biologii Medycznej.....	105
Zakład Biosyntezy Białka.....	107
Zakład Chemii Kwasów Nukleinowych	111
Zakład Neurobiologii Molekularnej	112
Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin	116
Zakład Genomiki Strukturalnej RNA	120
Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin.....	123
Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych	125
Zakład Chemii Biopolimerów	129
Zakład Proteomiki Biomedycznej.....	132
Zakład Bioinformatyki Strukturalnej	133
Zakład Inżynierii Genomowej.....	135
Zakład Biochemii Rybonukleoprotein	138
Zakład Struktury i Funkcji Retrotranspozonów.....	139
Zakład Neuroonkologii Molekularnej.....	141
Zakład Sond Molekularnych i Proleków	146
Zakład Metabolizmu RNA	148
Projekty realizowane w Instytucie w 2018 roku	151
Współpraca naukowa z partnerami krajowymi.....	165
Współpraca naukowa z partnerami zagranicznymi	173
Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe	180
Najważniejsze osiągnięcia PCSS	180
Spis publikacji.....	186
ZAŁĄCZNIKI	208
Załącznik 1. Skład Rady Naukowej kadencji 2015–2018	208
Załącznik 2. Schemat organizacyjny ICHB PAN (2018).....	209
Załącznik 3. Struktura organizacyjna zakładów naukowych ICHB PAN (2018).....	210
Załącznik 4. Seminaria Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN realizowane w ramach konsorcjum KNOW.....	211
Załącznik 5. Program „Nauka na wakacjach”	213
Załącznik 6. Program konferencji Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego RNA–RNA: WIN	214
Załącznik 7. Program spotkań w ramach Poznańskiego Klubu RNA	216
Załącznik 8. Program konferencji „International Conference on Biotechnology and Bioengineering”	217
Załącznik 9. Plakat i program konferencji „Interdisciplinary Approaches to Complex Biological Systems”	218

WSTĘP

Szanowni Państwo!

Jak zwykle o tej porze mamy przyjemność złożyć na Państwa ręce sprawozdanie z ubiegłorocznej działalności ICHB PAN. Rok 2018 był niewątpliwie okresem, w którym skumulowały się efekty naszych wcześniejszych osiągnięć. Kończyliśmy realizację programu KNOW, jednocześnie Instytut uzyskał kategorię A+. W rezultacie łączna dotacja uzyskana z MNiSW osiągnęła rekordową wysokość 27,7 mln zł (w roku 2017 wyniosła ona 19,4 mln). Znacząco, bo o 11 mln zł, wzrosły też fundusze przyznane nam na realizację różnorodnych projektów (w sumie około 29 mln zł). Utrzymana została wysoka efektywność pozyskiwania grantów NCN. Zwiększyła się kwota uzyskana z NCBR na realizację projektów badawczo-rozwojowych. Dodatkowo Ministerstwo przyznało Instytutowi wsparcie w związku z udziałem w programie *EU-OpenScreen ERIC* (blisko 10 mln zł). Tradycyjnie bardzo wysoką skutecznością w pozyskiwaniu środków na finansowanie prac badawczych i rozwojowych wykazało się afiliowane przy Instytucie Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe – ponad 133 mln zł. Łącznie daje to imponującą kwotę ok. 190 mln zł uzyskanych przez ICHB PAN na działalność statutową.

Zdobyte fundusze umożliwiły dalszy rozwój Instytutu. Powołanych zostało 8 nowych Zakładów Młodego Lidera i jeden Zakład Wiodący. Powstało też Centrum Wysokoprzepustowych Badań Przesiewowych, obejmujące 3 pracownie i 2 zespoły merytoryczne. W miejscu tym warto zauważyć, że pracownicy i doktoranci Zakładów Młodego Lidera w zdecydowanej większości finansowani byli ze środków grantowych.

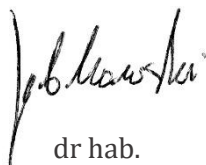
Przyjęta w ubiegłym roku Ustawa 2.0 zainicjowała głęboką reformę szkolnictwa wyższego i nauki w Polsce. Wzbudza ona sporo kontrowersji, nie ulega jednak wątpliwości, że wraz z nią wprowadzone zostało jedno bardzo korzystne dla funkcjonowania instytutów PAN rozwiązanie: dotacja na utrzymanie potencjału badawczego zmieniona została w subwencję. W rezultacie niewykorzystane środki nie będą musiały być, jak dotąd zwracane, lecz staną się własnością Instytutu. W ten oto sposób stworzone zostały podstawy do dalszej racjonalizacji gospodarki finansowej jednostki. W związku z reformą podjęliśmy także intensywne działania zmierzające do stworzenia szkoły doktorskiej, która w niedalekiej przyszłości zastąpi działające prężnie od lat Środowiskowe Studium Doktoranckie ICHB PAN. W 2018 roku kształciło się w nim

115 słuchaczy, w tym 10 przyjętych w ramach dwóch nowo pozyskanych interdyscyplinarnych projektów POWER.

Rok 2018 to również okres, w którym istotnie zwiększył się dorobek naukowy ICHB PAN. Dobrze charakteryzuje go 139 rekordów odnotowanych w serwisie Web of Science Core Collection (w 2017 roku rekordów takich było 127). Na szczególną uwagę zasługują publikacje pracowników ICHB PAN w tak prestiżowych czasopismach jak *Nature Biotechnology* (IF 43,3), *Chemical Society Reviews* (IF 41,3) czy *Nature Communications* (IF 13,7). O rosnącym znaczeniu i renomie Instytutu świadczy także uzyskanie statusu „Partner site” w programie *EU-OpenScreen ERIC* oraz zakwalifikowanie się dwóch konsorcjów współtworzonych przez ICHB PAN (*LifeTime* i *Time Machine*) do ścisłego finału konkursu *FET-Flagship-CSA* (w finale znalazło się 6 najlepszych europejskich projektów obejmujących wszystkie dziedziny nauki).

Podsumowując tym sprawozdaniem miniony rok wierzymy, że obecny będzie co najmniej równie pomyślny zarówno dla Instytutu, jak i jego pracowników.

Zastępca Dyrektora
ICHB PAN
ds. Naukowych



dr hab.
Michał Sobkowski

Zastępca Dyrektora
ICHB PAN
ds. Koordynacji Badań



mgr
Julia Brzoska-Karwat

Dyrektor
ICHB PAN



prof. dr hab.
Marek Figlerowicz

INFORMACJE OGÓLNE

Dyrekcja

Dyrektor: PROF. DR HAB. MAREK FIGLEROWICZ

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

Zastępca Dyrektora ds. Ogólnoadministracyjnych: 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.

Najistotniejsze zmiany organizacyjne w 2018 r.

1. Zmieniono kategorię Zakładu Biologii Chemicznej (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz) z kategorii Zakładu Wiodącego na kategorię Zakładu Senioralnego (1.01.2018 r.).
2. Powołano Zakład Biochemii Rybonukleoprotein (dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (2.01.2018 r.).
3. Powołano Zakład Bioinformatyki Strukturalnej (dr hab. Marta Szachniuk) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (2.01.2018 r.).
4. Powołano Zakład Inżynierii Genomowej (dr hab. Marta Olejniczak) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (2.01.2018 r.).
5. Powołano Zakład Proteomiki Biomedycznej (dr hab. Magdalena Łuczak) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (2.01.2018 r.).
6. Powołano Zakład Struktury i Funkcji Retrotranspozonów (dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (2.01.2018 r.).
7. Powołano Zakład Biomolekularnego NMR (prof. dr hab. Zofia Gdaniec) i przyznano mu kategorię Zakładu Wiodącego (1.03.2018 r.).
8. Powołano Zakład Neuroonkologii Molekularnej (dr hab. Katarzyna Rolle) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (1.03.2018 r.).
9. Powołano Zakład Sond Molekularnych i Proleków (dr Jacek Kolanowski) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (1.03.2018 r.).
10. Rozwiązano Pracownię Sond Molekularnych i Pro-leków (dr Jacek Kolanowski, 1.03.2018 r.).
11. Zmieniono nazwę Pracowni Biomolekularnego NMR na Pracownię NMR i afiliowano ją przy Zakładzie Biomolekularnego NMR. Jej kierownikiem został dr Karol Pasternak (1.03.2018 r.).
12. Powołano Zakład Metabolizmu RNA (dr Zbigniew Warkocki) i przyznano mu kategorię Zakładu Młodego Lidera (8.05.2018 r.).
13. Powołano Centrum Wysokoprzepustowych Badań Przesiewowych (dr Jacek Kolanowski, 1.10.2018 r.), w skład którego weszły 3 pracownie i 2 zespoły merytoryczne:
 - Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych (dr hab. Tomasz Ostrowski)
 - Pracownia Analiz Wysokoprzepustowych (dr Radosław Pilarski)
 - Pracownia Testów Molekularnych (dr Jacek Kolanowski)
 - Zespół Transkryptomiki Funkcjonalnej (dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka)
 - Zespół Regulatorów Epigenetycznych (w organizacji).
14. Wprowadzone zostały zmiany w schemacie organizacyjnym ICHB PAN, polegające na:
 - utworzeniu Pionu Koordynacji Badań podlegającego Z-cy Dyrektora ds. Koordynacji Badań
 - utworzeniu Pionu Administracji i Obsługi podlegającego Z-cy Dyrektora ds. Ogólno-administracyjnych
 - zmianie stanowiska Administratora Bezpieczeństwa Informacji na Dział Ochrony Danych Osobowych (w celu dostosowania do RODO).

Utworzenie nowych pionów pozwoliło na uproszczenie i ujednolicenie schematu organizacyjnego. W wyniku przeprowadzonych zmian na koniec 2018 r. w Instytucie działały 32 zakłady (11 ZW, 7 ZS i 14 ZML), 10 pracowni specjalistycznych oraz 2 zespoły merytoryczne. Dla porównania, 31 grudnia 2017 r. były to 23 zakłady (11 ZW, 6 ZS i 6 ZML) i 10 pracowni.

W skład Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w 2018 r. wchodziły następujące jednostki organizacyjne:

I. Instytut

1. Pion Zakładów Naukowych

- Zakład Biochemii Produktów Naturalnych (prof. dr hab. Maciej Stobiecki),
- Zakład Biochemii RNA (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka),
- Zakład Biochemii Rybonukleoprotein (dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, prof. ICHB PAN),
- Zakład Bioinformatyki (prof. dr hab. Jacek Błazewicz),
- Zakład Bioinformatyki Strukturalnej (dr hab. Marta Szachniuk, prof. ICHB PAN),
- Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych (dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN),
- Zakład Biologii Chemicznej (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz),
- Zakład Biologii Integratywnej (dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN),
- Zakład Biologii Medycznej (prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska),
- Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej (prof. dr hab. Marek Figlerowicz),
- Zakład Biomedycyny Molekularnej (dr Agnieszka Fiszer),
- Zakład Biomolekularnego NMR (prof. dr hab. Zofia Gdaniec),
- Zakład Biosyntezy Białka (prof. dr hab. Tomasz Twardowski),
- Zakład Chemii Biopolimerów (dr hab. Marcin K. Chmielewski, prof. ICHB PAN),
- Zakład Chemii i Biologii Strukturalnej Kwasów Nukleinowych (prof. dr hab. Ryszard Kierzek),
- Zakład Chemii Kwasów Nukleinowych (prof. dr hab. Adam Kraszewski),
- Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów (prof. dr hab. Jerzy Boryski),
- Zakład Epigenetyki (prof. dr hab. Jan Barciszewski),
- Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin (dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN),
- Zakład Genetyki Molekularnej (prof. dr hab. Piotr Kozłowski),
- Zakład Genomiki Strukturalnej RNA (prof. dr hab. Elżbieta Kierzek),
- Zakład Inżynierii Genomowej (dr hab. Marta Olejniczak, prof. ICHB PAN),
- Zakład Krystalografii – Centrum Badań Biokrystalograficznych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski),
- Zakład Metabolizmu RNA (dr Zbigniew Warkocki),
- Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin (dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN),
- Zakład Neurobiologii Molekularnej (dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN),
- Zakład Neuroonkologii Molekularnej (dr hab. Katarzyna Rolle, prof. ICHB PAN),
- Zakład Proteomiki Biomedycznej (dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN),
- Zakład Sond Molekularnych i Proleków (dr Jacek Kolanowski),
- Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł (prof. dr hab. Wojciech Rypniewski),
- Zakład Struktury i Funkcji Retrotranspozonów (dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek),
- Zakład Struktury i Funkcji RNA (prof. dr hab. Ryszard Adamiak).

2. Pion Pracowni Specjalistycznych (zgrupowanych w trzy centra)

Centrum Biologii Strukturalnej:

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

Centrum Multiomiczne:

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

Centrum Wysokoprzepustowych Badań Przesiewowych:

- Pracownia Analiz Wysokoprzepustowych (dr Radosław Pilarski),
 - Pracownia Syntezy Pochodnych Kwasów Nukleinowych (dr hab. Tomasz Ostrowski, prof. ICHB PAN),
 - Pracownia Testów Molekularnych (dr Jacek Kolanowski),
 - Zespół Regulatorów Epigenetycznych (w organizacji),
 - Zespół Transkryptomiki Funkcjonalnej (dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka, prof. ICHB PAN).
3. **Studium Doktoranckie** (prof. dr hab. Adam Kraszewski).
 4. **Pion Koordynacji Badań.**
 5. **Pion Administracji i Obsługi.**
 6. **Pion Ochrony Informacji Niejawnych.**
 7. **Księgowność.**
 8. **Inne jednostki organizacyjne i stanowiska.**

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

1. **Pion Technologii Sieciowych.**
2. **Pion Technologii Przetwarzania Danych.**
3. **Pion Usług Sieciowych.**
4. **Pion Zastosowań.**
5. **Inne jednostki organizacyjne i stanowiska.**

Zatrudnienie

ICHB PAN zatrudniał 595 pracowników (stan na 31.12.2018 r.). Liczba ta obejmuje: 299 pracowników zatrudnionych w Instytucie oraz 296 zatrudnionych w afiliowanym przy Instytucie Poznańskim Centrum Superkomputerowo-Sieciowym (PCSS):

- 20 profesorów zwyczajnych + 1 w PCSS,
- 20 profesorów nadzwyczajnych,
- 52 adiunktów, w tym 3 ze stopniem dr hab.,
- 17 asystentów (wszyscy ze stopniem doktora),
- 190 pozostałych (w tym 69 pracowników inżynieryjno-technicznych i technicznych w Zakładach i Pracowniach, 4 z nich ze stopniem dr hab.) oraz 295 w PCSS.

Zatrudnienie średnioroczne: Instytut – 257,44 etatów, PCSS – 234,77 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 2018 r. pracownicy ICHB PAN opublikowali łącznie 154 prac naukowych, w tym:

- artykuły, rozprawy w czasopismach naukowych –136 (w tym 122 w czasopismach recenzowanych, wyróżnionych przez *Journal Citation Reports*);

- książki i rozdziały – 13;
- redakcja monografii lub podręcznika – 5.

Działalność naukowa

W roku sprawozdawczym w Instytucie realizowano:

- 36 zadań statutowych zgrupowanych w 26 działach tematycznych,
- 63 tematy badań młodych naukowców finansowanych w ramach działalności statutowej, w tym 20 kontynuowanych (z 2017 r.),
- 97 projektów finansowanych z:
 - Narodowego Centrum Nauki (NCN) – 82,
 - Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (NCBR) – 9 (1 w ramach POIR¹, 2 w ramach POWER², 4 w ramach inicjatyw międzynarodowych, 1 w ramach Programu Lider, 1 w ramach Programu Strategmed),
 - Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) – 2,
 - Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (FNP) – 2 (w ramach POIR),
 - Ośrodka Przetwarzania Informacji (OPI) – 1 (w ramach POIR),
 - European Molecular Biology Organisation (EMBO) – 1.

Informacje nt. projektów realizowanych przez PCSS znajdują się na str. 184-185.

Dotacje, finansowanie projektów badawczych, inwestycyjnych i innych

Dotacja MNiSW – utrzymanie potencjału badawczego: 21 485,15 tys. zł

Dotacja MNiSW – badania związane z rozwojem młodych naukowców i doktorantów:
690,30 tys. zł

Dotacja MNiSW – utrzymanie specjalnego urządzenia badawczego (SPUB): 1 300 tys. zł

Dotacja MNiSW – działalność upowszechniająca naukę (DUN): 63,30 tys. zł

Dotacja MNiSW – Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący (KNOW): 3 657,37 tys. zł

Dotacja MNiSW – inwestycja budowlana: 297,51 tys. zł

Dotacja MNiSW – wniesienie wkładu krajowego na rzecz udziału we wspólnym międzynarodowym programie lub przedsięwzięciu: 143 tys. zł

Projekty: 28 998,17 tys. zł, w tym:

Projekty NCN: 16 907,98 tys. zł

Projekty NCBR: 2 549,44 tys. zł

Projekty MNiSW: 183,56 tys. zł

Projekty strukturalne: 9 176,84 tys. zł

Projekty zagraniczne: 202,86 tys. zł

¹ Program Operacyjny Inteligentny Rozwój 2014-2020

² Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020

Przy Instytucie 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 2018 wyniosły **133 399 tys. zł (w tym na dotacje na inwestycje 68 757 tys. zł)**.

Sprawozdanie PCSS, strony 180-185

Rozwój kadry naukowej

Tytuł naukowy profesora zwyczajnego uzyskali:

Prof. dr hab. Elżbieta Kierzek

Prof. dr hab. Piotr Kozłowski

Stopień naukowy doktora habilitowanego uzyskali:

Dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek

Tytuł rozprawy: Aktywność opiekuńcza białek Gag i Gag- pochodnych względem RNA w aspekcie ich funkcji w replikacji retroelementów

Data nadania: 21.11. 2018 r.

Dr hab. Mariola Dutkiewicz

Tytuł rozprawy: Badanie struktury oraz atakowanie wirusowego RNA za pomocą narzędzi oligonukleotydowych

Data nadania 26.01.2018 r.

Stopień naukowy doktora uzyskali:

Wojciech Szlachcic

Tytuł rozprawy: Nowe modele komórkowe iPSC choroby Huntingtona do zastosowań w eksperymentalnej terapii komórkowej oraz w badaniach funkcji neurorozwojowych normalnej i zmutowanej huntingtyny

Promotor: dr hab. Maciej Figiel

Data obrony: 15.12.2017 r.

Data nadania: 28.02.2018 r.

Medhat Helmy Shehata Mahmoud

Tytuł rozprawy: Comparative genomic analysis of two maize lines differing in herbicide resistance

Promotor: prof. dr hab. Wojciech M. Karłowski

Promotor pomocniczy: dr Marek Żywicki

Data obrony: 31.01.2018 r.

Data nadania: 14.02.2018 r.

Karolina Kułak

Tytuł rozprawy: Metabolizm wtórny w odpowiedzi immunologicznej wybranych gatunków Brassicaceae

Promotor: dr hab. Paweł Bednarek

Data obrony: 05.02.2018 r.

Data nadania: 14.02.2018 r.

Krystian Kołodziej

Tytuł rozprawy: Badania syntetyczne i aplikacyjne nukleozydo (*N*-arylo)amidofosforanów – potencjalnych pronukleotydów anty-HIV

Promotor: dr hab. Michał Sobkowski

Data obrony: 23.03.2018 r.

Data nadania: 25.04.2018 r.

Paula Michalak

Tytuł rozprawy: Struktura drugorzędowa piątego segmentu vRNA wirusa grypy typu A i jej wykorzystanie w projektowaniu antysensowych oligonukleotydów

Promotor: prof. dr hab. Elżbieta Kierzek

Data obrony: 26.03.2018 r.

Data nadania: 25.04.2018 r.

Natalia Szóstak

Tytuł rozprawy: Bioinformatyczne metody modelowania i weryfikacji hipotezy Świata RNA

Promotor: prof. dr hab. Jacek Błazewicz

Data obrony: 22.06.2018 r.

Data nadania: 26.06.2018 r.

Anna Samelak-Czajka

Tytuł rozprawy: Adaptacja i zastosowanie multipleksowej zależnej od ligacji amplifikacji sond oraz emulsyjnego PCR w badaniach populacyjnych polimorfizmu liczby kopii DNA u roślin, na przykładzie modelowej rośliny dwuliściennej *Arabidopsis thaliana*

Promotor: prof. dr hab. Marek Figlerowicz

Promotor pomocniczy: dr Agnieszka Żmieńko

Data obrony: 25.06.2018 r.

Data nadania: 27.06.2018 r.

Weronika Wendlandt-Stanek

Tytuł rozprawy: Insights into the transport mechanism of Energy-Coupling Factor transporters

Promotor: Prof. D. J. Slotboom, Prof. B. Poolman

Data obrony: 26.10.2018 r.

Data nadania: 26.10.2018 r.

Paulina Żydowicz-Machtel

Tytuł rozprawy: Rola elementów strukturalnych w regionie terminalnym 5' transkryptów mRNA genu *TP53* w procesie inicjacji translacji

Promotor: prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka

Promotor pomocniczy: dr Agata Świątkowska

Data obrony: 29.10.2018 r.

Data nadania: 21.11.2018 r.

Studia doktoranckie

Studium doktoranckie działające przy Instytucie w 2018 roku liczyło 115 słuchaczy (w tym 26 nowo przyjętych). Spośród nich w ICHB PAN doktoraty przygotowywało 80, z których 38 miało otwarte przewody doktorskie (w tym w 2018 roku otwarto przewody 17 osobom).

Uczestnicy innych form kształcenia

W 2018 roku 78 studentów z wyższych uczelni, zarówno polskich, jak i zagranicznych (głównie z Politechniki Poznańskiej, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Uniwersytetu

Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu), wykonywało w laboratoriach Instytutu prace magisterskie lub odbywało praktyki, staże albo zajęcia według indywidualnego toku studiów.

Wynalazki i znaki towarowe

W 2018 r. uzyskano łącznie 7 patentów na wynalazki, w tym: 4 patenty na wynalazki zgłoszone w Urzędzie Patentowym Rzeczypospolitej Polskiej, 2 patenty europejskie oraz 1 w Stanach Zjednoczonych. Dokonano 1 zgłoszenia wynazku do amerykańskiego urzędu patentowego. Do Urzędu Unii Europejskiej ds. Własności Intelektualnej w Alicante zgłoszono dwa słowne znaki towarowe – *Agamede* oraz *Inteligent Screening System*.

Patenty międzynarodowe

Method for protecting hydroxyl, amine or thiol functional groups with tetraisopropylidisilane and the corresponding protected compounds

patent: EP 2841401 z 4.07.2018 r.

zgłoszenie: EP 13727666.2 z 19.10.2014 r.

Twórcy: **Wojciech T. Markiewicz, Marcin K. Chmielewski**, Sylwia Musiał, Hieronim Maciejewski, Grzegorz Hreczycho

A composition showing activation-induced cytidine deaminase (AID) activity, a method of preparation of such composition in a bacterial system and use of the composition in the analyses of DNA/RNA amination/deamination and/or methylation/demethylation

patent: EP 2870241 B1 z 14.03.2018 r.

zgłoszenie: EP 14703938.2 z 9.10.2014 r.

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

Nucleic acid molecule, expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

patent: US 9,970,004 B2 z 15.05.2018 r.

zgłoszenie: US 14/916,039 z 2.03.2016 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak, Marta Olejniczak, Paulina Gałka-Marciniak, Agnieszka Fiszer**

Patenty krajowe

Zastosowanie molekularnych biomarkerów do oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłónka naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią wywołaną podwyższonym poziomem tiolaktonu homocysteiny we krwi

patent: PL 227930 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 289 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda**, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, **Luiza Handschuh, Marek Figlerowicz, Tomasz Twardowski**, Joanna Suszyńska-Zajczyk

Sposób określania zmian ekspresji cząsteczek miRNA in vitro w celu oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłónka naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią

patent: PL 227931 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 291 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda**, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, **Luiza Handschuh, Marek Figlerowicz, Tomasz Twardowski**, Joanna Suszyńska-Zajczyk

Rybozomy typu „hammerhead”, kompozycja, środek terapeutyczny je obejmujące, ich zastosowania oraz sposób selektywnej hydrolizy ex-vivo miR21 i prekursorów miR21

patent: PL 228060 z 19.02.2018 r.

zgłoszenie: P 403 341 z 27.03.2013 r.

Twórcy: **Mirosława Z. Naskręt-Barciszewska, Agnieszka Belter, Katarzyna M. Rolle,**
Monika Piwecka, Patrycja Sosińska-Zawierucha

Analog cytozyny i jego zastosowanie w leczeniu chorób związanych z zaburzeniami metylacji DNA

patent: PL 229581 z 3.09.2018 r.

zgłoszenie: P 390 769 z 19.03.2010 r.

Twórcy: **Jan Barciszewski, Wojciech T. Markiewicz,** Ewelina Adamska, Beata Plitta,
Małgorzata Giel-Pietraszuk, Eliza Wyszko, Maria Markiewicz, **Agnieszka Fedoruk-**
Wyszomirska, Tadeusz Kuliński, Marcin K. Chmielewski

Zgłoszenia międzynarodowe

Nucleic acid molecule expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

zgłoszenie: US 15/954,561 z 16.04.2018 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak, Marta Olejniczak, Paulina Gałka -Marciniak,**
Agnieszka Fiszer

Znaki towarowe - zgłoszenia międzynarodowe

Agamede

zgłoszenie: 017960626 z 24.09. 2018 r.

Twórcy: **Radosław Pilarski**

Intelligent Screening System

zgłoszenie: 017960628 z 24.09. 2018 r.

Twórcy: **Radosław Pilarski**

W 2018 r. postępowania walidacyjne przeprowadzono dla 2 patentów europejskich. Wynalazki objęte poniższymi patentami, uzyskały ochronę łącznie w 11 państwach:

- patent EP 2841401 został walidowany w 6 krajach (Niemcy, Francja Wielka Brytania, Belgia, Luksemburg, Szwajcaria)
Tytuł: *Method for protecting hydroxyl, amine or thiol functional groups with tetraisopropylsilane and the corresponding protected compounds*
Twórcy: **Wojciech T. Markiewicz, Marcin K. Chmielewski,** Sylwia Musiał, Hieronim Maciejewski, Grzegorz Hreczycho
- patent EP 2870241 został walidowany w 5 krajach (Francja, Dania, Niemcy, Szwajcaria, Wielka Brytania)
Tytuł: *A composition showing activation-induced cytidine deaminase (AID) activity, a method of preparation of such composition in a bacterial system and use of the composition in the analyses of DNA/RNA amination/deamination and/or methylation/demethylation*
Twórcy: Lucyna Budżko, **Marek Figlerowicz, Paulina Jackowiak**

Działalność wydawnicza

Kwartalnik „BioTechnologia” wydawany jest przez Komitet Biotechnologii i Instytut Chemii Bioorganicznej PAN. Redaktor Naczelny – prof. dr hab. Marek Figlerowicz, zastępca Redaktora Naczelnego – dr Agata Tyczewska. Nakład kwartalnika w 2018 r. wyniósł 1090 egz. (4 numery).

Poruszana w nim tematyka obejmuje nie tylko obszary biotechnologii, ale również biologii obliczeniowej oraz bionanotechnologii. „BioTechnologia” wydawana jest w języku angielskim. Na liście MNiSW czasopismo ma 13 punktów. Publikowane artykuły znajdują się w Internecie na zasadzie Open Access.

W 2018 r. czasopismo „BioTechnologia” otrzymało dofinansowanie w ramach konkursu MNiSW na działania upowszechniające naukę. W ciągu dwóch lat ze środków Ministerstwa zostaną sfinansowane następujące zadania: zapewnienie otwartego dostępu do publikacji naukowych przez zamieszczanie ich na stronie internetowej czasopisma; korekta językowa manuskryptów przyjętych do druku; udostępnianie programu antyplagiatowego CrossCheck (iThenticate) na potrzeby procesu wydawniczego.

Nagrody i wyróżnienia

- Złoty Medal „Za długoletnią służbę” nadany przez Prezydenta RP za długoletnią wyróżniającą się pracę w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN dla Jolanty Kaczyńskiej-Kubiak i mgr Grażyny Wawrzyniak.
- Stypendium START dla młodych, wybitnych naukowców z Fundacji na rzecz Nauki Polskiej przyznane za osiągnięcia naukowe dr. Łukaszowi Przybyłowi.
- Nagroda Prezydenta Miasta Poznania za Wyróżniającą się Pracę Doktorską „Kompleksy białek PR-10 z hormonami roślinnymi: badania biofizyczne i krystalograficzne”, przyznana dr Joannie Śliwiak.
- Nagroda Poznańskiego Oddziału PAN za najlepszą pracę badawczą opublikowaną w 2017 roku, której wiodącym autorem jest doktorant, za publikację „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”, przyznana dr Katarzynie Klonowskiej.
- Wyróżnienie Poznańskiego Oddziału PAN za najlepszą pracę badawczą opublikowaną w obszarze nauk biologicznych i rolniczych w 2017 roku, której wiodącym autorem jest doktorant, za publikację „Medicago truncatula ABCG10 is transporter of 4-coumarate and liquiritigenin in the medicarpin biosynthetic pathway”, przyznana dr Wandzie Białej.
- Nagroda za najlepszy poster podczas konferencji „Integrative Plant Biology Conference”, przyznana przez Komitet Organizacyjny dr Marcie Pastorczyk.
- Wyróżnienie za jeden z najlepszych posterów podczas konferencji „Folic Acid, Vitamin B12, and One-Carbon Metabolism” przyznane przez Federation of American Societies for Experimental Biology mgr. Łukaszowi Wituckiemu.
- Nagrody Fundacji Profesora Wacława Szybalskiego za najlepsze postery podczas konferencji „III kongres BIO 2018”, przyznane przez Polskie Towarzystwo Biochemiczne i Fundację im. Wacława Szybalskiego mgr inż. Oldze Utyro, mgr. Markowi Milewskiemu i mgr. inż. Aleksandrowi Strugale.
- I nagroda w konkursie na najlepsze wystąpienie posterowe podczas Międzyuczelnianego Sympozjum Biotechnologicznego „Symbioza” przyznana przez Warszawskie Stowarzyszenie Biotechnologiczne Symbioza Julianowi Zacharjaszowi.
- Wyróżnienie w konkursie na najlepsze wystąpienie posterowe podczas I Ogólnopolskiej Konferencji „Biotechnologia niejedno ma imię” przyznane przez Koło Naukowe Studentów Biotechnologii Julianowi Zacharjaszowi.
- I Wyróżnienie w konkursie o Nagrodę im. Włodzimierza Mozołowskiego za prezentację pracy „The genetic landscape of pre-state Iron Ages societies of the East Central Europe”, przyznane przez Polskie Towarzystwo Biochemiczne mgr. Ireneuszowi Stolarkowi.

- II Wyróżnienie w konkursie o Nagrodę im. Włodzimierza Mozołowskiego za prezentację pracy „Circular RNAs in *Arabidopsis thaliana*”, przyznane przez Polskie Towarzystwo Biochemiczne mgr. Michałowi Stelmaszczukowi.
- Nagroda Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN za najlepszą publikację eksperymentalną powstałą w Instytucie w 2017 roku dla:
 - dr Agnieszki Kiliszek, dr. Leszka Błaszczyka, prof. dr. hab. Ryszarda Kierzka i prof. dr. hab. Wojciecha Rypniewskiego (*Stabilization of RNA hairpins using non-nucleotide linkers and circularization*);
 - dr Wandy Białej, dr Joanny Banasiak, mgr Aleksandry Paweli, dr. hab. Michała Jasińskiego (*Medicago truncatula ABCG10 is a transporter of 4-coumarate and liquiritigenin in the medicarpin biosynthetic pathway*);
 - dr Anny Philips, mgr. Ireneusza Stolarka, mgr Bogny Kuczkowskiej, dr Luizy Handschuh, prof. dr. hab. Piotra Kozłowskiego i prof. dr. hab. Marka Figlerowicza (*Comprehensive analysis of microorganisms accompanying human archaeological remains*);
 - dr Doroty Gudanis, prof. dr. hab. Zofii Gdaniec (*Identification of functional tetramolecular RNA G-quadruplexes derived from transfer RNAs*).
- Nagroda Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN za najlepszą publikację przeglądową w roku 2017 dla dr Martyny Urbanek i prof. dr. hab. Włodzimierza J. Krzyżosiaka (*Nuclear speckles: molecular organization, biological function and role in disease*).
- Wyróżnienie rozprawy doktorskiej „Nowe modele komórkowe iPSC choroby Huntingtona do zastosowań w eksperymentalnej terapii komórkowej oraz w badaniach funkcji neurorozwojowych normalnej i zmutowanej huntingtyny”, przyznane przez Radę Naukową Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN dr. Wojciechowi Szlachcicowi.
- Wyróżnienie rozprawy doktorskiej „Adaptacja i zastosowanie multipleksowej zależnej od ligacji amplifikacji sond oraz emulsyjnego PCR w badaniach populacyjnych polimorfizmu liczby kopii DNA u roślin, na przykładzie modelowej rośliny dwuliściennej *Arabidopsis thaliana*”, przyznane przez Radę Naukową Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN dr Annie Samelak-Czajce.
- Wyróżnienie rozprawy doktorskiej „Rola elementów strukturalnych w regionie terminalnym 5' transkryptów mRNA genu *TP53* w procesie inicjacji translacji”, przyznane przez Radę Naukową Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN dr. Paulinie Żydowicz-Machtel.
- Nagroda Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN za najlepszą rozprawę doktorską „Charakterystyka jądrowych skupień RNA w komórkowych modelach chorób poliglutaminowych” w roku 2017 dla dr Martyny Urbanek.
- Nagroda specjalna Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN „HELIX” za zasługi na rzecz Instytutu dla: prof. dr. hab. Włodzimierza J. Krzyżosiaka – pośmiertnie, prof. dr. hab. Ryszarda W. Adamiaka, prof. dr. hab. Jana Barciszewskiego, prof. dr. hab. Jacka Błazewicza, prof. dr. hab. Jerzego Boryskiego, prof. dr. hab. Jerzego Ciesiołki, prof. dr. hab. Zofii Gdaniec, prof. dr. hab. Mariusza Jaskólskiego, prof. dr. hab. Ryszarda Kierzka, prof. dr. hab. Adama Kraszewskiego, prof. dr. hab. Mirosławy Naskręt-Barciszewskiej, prof. dr. hab. Wojciecha Rypniewskiego, prof. dr. hab. Jacka Stawińskiego, prof. dr. hab. Macieja Stobieckiego, prof. dr. hab. Tomasza Twardowskiego i prof. dr. hab. Jana Węglarza.
- Medal przyznany przez Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN za zasługi dla Instytutu dla: mgr Iwony Femiak – pośmiertnie, dr Magaleny Alejskiej, dr Ewy Białej, mgr Danuty Ciesiołki, mgr Teresy Dymarek-Babś, Iwony Gawrońskiej, Hanny Glapiak, inż. Neli Malinowskiej, Elżbiety Pasternak, Iwony Podeszwy, Renaty Schoenfeld, dr. hab. Michała Sikorskiego, mgr inż. Katarzyny Wielentejczyk, dr. hab. Jana Wrzesińskiego i dr. hab. Joanny Zeidler oraz dla dr. Macieja Stroińskiego i dr. Cezarego Mazurka.

Organizacja seminariów i konferencji naukowych

Instytutowe Seminaria Naukowe – 23 seminaria

Organizacja i prowadzenie: prof. dr hab. Jerzy Boryski
(program w załączeniu, str. 211-212).

10. Tydzień Mózgu

12-16.03.2018 r. Poznań, organizatorzy: Polska Akademia Nauk – Oddział w Poznaniu, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Instytut Genetyki Człowieka PAN; ok. 800 uczestników, 12 referatów.

Nauka na wakacjach

Cykl wykładów popularnonaukowych odbywających się w okresie od lipca do sierpnia 2018 r. w Juracie. Organizacja i prowadzenie: prof. dr hab. Jan Barciszewski (program w załączeniu, str. 213).

Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący RNA: WIN

24-26.09.2018 r. Poznań/Obrzycko, organizatorzy: Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN; ok. 200 uczestników, 38 referatów (program w załączeniu, str. 214-215).

2018 International Conference on Biotechnology and Bioengineering

24-27.10.2018 r. Budapeszt/Węgry, organizatorzy: Asia-Pacific Association of Science, Engineering and Technology (APASET), Szent Istvan University, Centre for Agricultural Research – Hungarian Academy of Sciences, Chinese Journal of Biologicals, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN; 60 uczestników, 18 referatów (program w załączeniu, str. 217).

Interdisciplinary Approaches to Complex Biological Systems

12-14.11.2018 r. Poznań, konferencja międzynarodowa z okazji 100-lecia urodzin Profesora Macieja Wiewiórowskiego i 30-lecia powołania Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN, organizator: ICHB PAN; ok. 250 uczestników, 33 referaty (program w załączeniu str. 218-221).

Poznański Klub RNA

Spotkania dyskusyjne poświęcone naukom o życiu, organizowane cyklicznie od stycznia do grudnia 2018 r. w ICHB PAN (10 spotkań), organizacja i prowadzenie: prof. dr hab. Jan Barciszewski (program w załączeniu, str. 216).

Najważniejsze osiągnięcia

Poznanie nowych elementów sytemu odpornościowego *Arabidopsis thaliana*

M. Piślewska-Bednarek, M. Pastorczyk, D. Ciesiołka i P. Bednarek (we współpracy z partnerami zagranicznymi)

Celem badań było poznanie elementów sytemu odpornościowego modelowej rośliny dwuliściennej *Arabidopsis thaliana*. Ustalono, że enzymem zaangażowanym w biosyntezę pochodnych tryptofanu ograniczających penetrację patogenów grzybowych do komórek epidermy jest transferaza glutationu U13. Dodatkowo wykazano, że kinaza YODA, odpowiedzialna za kontrolę rozwoju *Arabidopsis*, bierze również udział w regulacji odpowiedzi immunologicznej. Wyniki opublikowano w dwóch artykułach na łamach *Plant Physiology* i *New Phytologist*.

Opracowanie nowych narzędzi bioinformatycznych do badania struktur RNA

T. Żok, M. Antczak, M. Popena, J. Błażewicz, R.W. Adamiak i M. Szachniuk (we współpracy z partnerami z Politechniki Poznańskiej i Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)

Opracowano dwa nowe narzędzia obliczeniowe do badania struktur RNA, RNAfitme i RNAvista, oraz nową wersję systemu RNApdbee. Wszystkie trzy są dostępne jako webserwery. RNAfitme służy do modelowania i udoskonalania struktury 3D RNA. Umożliwia edycję struktury przy zachowaniu nietkniętego szkieletu. RNAvista pozwala na przewidywanie rozszerzonej struktury II-rzędowej RNA. RNApdbee 2.0 to wielofunkcyjne narzędzie, którego podstawowym zadaniem jest adnotowanie struktury II-rzędowej RNA. Wyniki opublikowano w czterech artykułach na łamach *Bioinformatics* (2x), *BMC Bioinformatics* i *Nucleic Acids Research*.

Określenie właściwości termodynamicznych, antykoagulacyjnych oraz antyproliferacyjnych analogów aptameru wiążącego trombinę (TBA) modyfikowanego nowymi pochodnymi UNA (*unlocked nucleic acid*)

W. Kotkowiak, J. Lisowiec-Wąchnicka, R. Kierzek, T. Czapik, A. Pasternak (we współpracy z partnerami z University of Southern Denmark i Politechniki Gdańskiej)

TBA przyjmuje strukturę G-kwadrupleksu i ma właściwości antykoagulacyjne. Wykazano, że nowe pochodne UNA mogą skutecznie modulować stabilność termodynamiczną i aktywność biologiczną tego aptameru. Wprowadzenie reszt UNA wyraźnie poprawiło właściwości antykoagulacyjne TBA. Co ważne, niektóre z wariantów TBA, o obniżonych właściwościach antykoagulacyjnych, wykazały znaczące właściwości antyproliferacyjne obniżając żywotność linii komórkowej HeLa nawet o 95%. Wyniki opublikowano w czasopismach *Molecular Therapy* – *Nucleic Acids* i *PLoS One*.

Otrzymanie i scharakteryzowanie nowych pronukleotydów o właściwościach antywirusowych i antynowotworowych

K. Kołodziej, M. Rachwałak, T. Jakubowski, J. Gołębiewska, A. Dąbrowska, A. Szymańska-Michalak, D. Wawrzyniak, G. Framski, M. Sobkowski, J. Boryski, J. Barciszewski, J. Romanowska, J. Stawiński i A. Kraszewski

Opracowano nowe metody syntezy arylo 2',3'-dideoksynukleozydo (*N*-arylo)amidofosforanów jako pronukleotydów anty-HIV. Niektóre z nich wykazały bardzo wysoką aktywność przeciw HIV przy niskiej toksyczności wobec komórek CEM-T4. Stosując nowe podejścia uzyskano też serię pronukleotydów będących pochodnymi FdU z unikatowymi ugrupowaniami zwitter-jonowymi na reszcie fosforanowej. Związki te łatwo wnikały do komórek glejaka wielopostaciowego i wykazywały wysoką i selektywną cytotoksyczność. Wyniki opublikowano w dwóch artykułach w *European Journal of Medicinal Chemistry*.

Opracowanie nowej metody służącej do oceny efektywności systemu CRISPR-Cas

M. Dąbrowska, K. Czubak, W.J. Krzyżosiak, M. Olejniczak, P. Kozłowski (we współpracy z partnerami z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu)

Opracowano nową metodę qEva-CRISPR służącą do oceny efektu działania systemu CRISPR-Cas w komórkach. Wykorzystuje ona sondy MLPA wiążące się do miejsca modyfikacji DNA przez białko Cas9 i pozwala na czułe oraz ilościowe określanie udziału dowolnego typu mutacji. qEva-CRISPR pokonuje ograniczenia stosowanych obecnie metod i pozwala na jednoczesną analizę wydajności modyfikacji wielu regionów oraz detekcję zmian powstałych w wyniku naprawy homologicznej. Wyniki opublikowano w *Nucleic Acids Research*.

Pozostałe ważne wyniki

- Zaproponowano na podstawie wyników analiz metabolomicznych (profilowania metabolitów wtórnych) przebiegu syntezy hiperycyny w roślinach rodzaju *Hypericum* (M. Stobiecki, Ł. Marczak).
- Scharakteryzowano lipidom osocza pacjentów z przewlekłą chorobą nerek i klasyczną chorobą sercowo-naczyniową (Ł. Marczak, J. Idkowiak, J. Tracz, M. Stobiecki, M. Łuczak).
- Zaproponowano modele struktur drugorzędowych regionów niekodujących 5' wybranych transkryptów mysiego genu *Trp53*. Porównano wyniki translacji mysich mRNA p53 z wynikami otrzymanymi wcześniej dla ich odpowiedników izolowanych z komórek ludzkich (J. Szpotkowska, A. Świątkowska, J. Ciesiołka;).
- Opracowano nowy algorytm GRASShopPER dla problemu asemlacji łańcuchów DNA *de novo* (A. Świercz, M. Kierzyńska, P. Wojciechowski, M. Kasprzak, J. Błażewicz).
- Szczegółowa analiza wpływu asymetrii termodynamicznej 5'-końców dupleksów siRNA w kontekście ich potencjału do wyciszania genów (J. Lisowiec-Wąchnicka, N. Bartyś, A. Pasternak).
- Opracowano syntezę bibliotek małocząsteczkowych związków chemicznych jako potencjalnych modulatorów indukcji pluripotencji oraz związków umożliwiających transformację komórek macierzystych w kierunku kardiomiocytów (A. Chełstowska, K. Malczewska-Jaskóła, B. Marciniak, W.T. Markiewicz, A. Zarecki).
- Wykazano stabilność bloku di-t-butylosililenowego dla wprowadzenia acetalowych grup ochronnych funkcji 2'-hydroksylowej rybonukleozydów w reakcji katalizowanej chlorkiem cyny(IV) (K. Adrych-Rożek, W.T. Markiewicz).
- Stwierdzono zróżnicowanie energii stabilności termodynamicznej oraz zróżnicowanie energii stanów przejściowych dla różnych pochodnych sililowych. (W.T. Markiewicz, T. Kuliński).
- Monitorowano poziom GLP-1 *in vivo* korzystając z linii zarodkowej *C. elegans*, w której przekazywanie sygnałów za pośrednictwem GLP-1/Notch jest niezbędne do utrzymania komórek macierzystych (R. Ciosk).
- Wykorzystując analizy bioinformatyczne, metody biologii strukturalnej i metody *in vivo*, w badaniach na nicieniach i komórkach ludzkich stwierdzono, że dodatnio naładowana kieszeń, specyficzna dla domeny NHL LIN-41 i jej homologów, rozpoznaje fragment RNA z motywem spinki do włosów, którego kształt określa swoistość wiązania (K. Pachulska-Wieczorek, R. Ciosk).
- Określono nową funkcję szlaku CSR-1 w zapobieganiu przedwczesnej aktywacji zarodkowej transkrypcji w rozwijających się komórkach jajowych, któremu towarzyszy ogólna aktywacja polimerazy II (Pol II) (R. Ciosk).
- Wielopłaszczyznowa diagnostyka guzów mózgu z wykorzystaniem zmodyfikowanych nukleozydów (M.Z. Naskręt-Barciszewska).
- Zoptymalizowano i wdrożono do praktyki laboratoryjnej hodowle zawieszinowe pierwotnych komórek nowotworowych pochodzących bezpośrednio z tkanek pacjentów cierpiących na nowotwór mózgu (Ż. Zarębska, K. Kuczyński, M. Grabowska, P. Głodowicz, D. Wawrzyński, K. Rolle).
- Znalezione korelacje pomiędzy poziomem ekspresji alternatywnych transkryptów genu *NPM1* u pacjentów z ostrą białaczką szpikową i limfoblastyczną a tempem rozwoju choroby nowotworowej (L. Handschuh, P. Wojciechowski, M. Marcinkowska-Swojak, M. Łuczak, J. Błażewicz, P. Kozłowski, M. Figlerowicz).

- Zidentyfikowano wysoce konserwatywne aminokwasy istotne dla funkcjonowania roślinnych białek szlaku syntezy ligniny CCoAOMT (M. Rakoczy, I. Femiak, M. Alejska, M. Figlerowicz, J. Podkowiński).
- Zastosowano wyniki sekwencjonowania w technologii Nanopore do identyfikacji regionów o zmiennej liczbie kopii DNA (CNV) u *Arabidopsis thaliana* (A. Żmieńko, M. Marszałek-Zeńczak, A. Samelak-Czajka, P. Wojciechowski, M. Figlerowicz).
- Zbadano występowanie sekwencji powtórzonych w różnego typu transkryptach i określono ich potencjalną regulację przez miRNA (W.J. Krzyżosiak, A. Fiszer, E. Kościańska).
- Scharakteryzowano uwarunkowania strukturalnych aktywności wspierających proces parowania sekwencji komplementarnych występujących w kwasach nukleinowych prezentowanych przez ludzką rybonukleazę Dicer (M. Pokornowska, M. C. Milewski, M. Figlerowicz, A. Kurzyńska-Kokorniak).
- Wykorzystano zmodyfikowaną wersję systemu CRISPR/Cas9, tzw. nikaz Cas9 do wyłączenia zmutowanego fragmentu genu odpowiedzialnego za chorobę Huntingtona w komórkach fibroblastów pochodzących od pacjentów z HD (M. Dąbrowska, W.J. Krzyżosiak, M. Olejniczak).
- Przygotowano publikację przeglądową zbierającą informacje na temat wpływu warunków stresowych na biogenezę cząsteczek miRNA (M. Olejniczak, A. Kotowska-Zimmer, W.J. Krzyżosiak).
- Pełna charakterystyka proteomiczna fazy presymptomatycznej i symptomatycznej SCA3/MJD w modelu Ki91 (M. Figiel, K. Wiatr).
- Pełna charakterystyka behawioralna modelu Ki91 (M. Figiel, K. Wiatr).
- Wygenerowano model Ki150 z liczbą powtórzeń większą niż 150 CAG (model nadający się do badań przedklinicznych) (M. Figiel, P. Piasecki).
- Odkryto, że rozpoczęcie SCA3/MJD nie jest zależne od zmian transkrypcyjnych w mózgu, natomiast zmiany transkrypcyjne są obecne na dalszym stadium choroby (M. Figiel, P. Piasecki).
- Odkryto pierwsze molekularne objawy SCA3, którymi są zmiany w fosfoproteomie i proteomie w mózgu. Zdefiniowano kinazy interagujące z ataksyną 3 na wczesnym etapie choroby (M. Figiel, K. Wiatr).
- Odkryto molekularne zdarzenia w mózgu Ki91 i w SCA3 iPSC, które mogą wskazywać na neurorozwojowy charakter SCA3 (M. Figiel, K. Wiatr, P. Piasecki).
- Opublikowano w formie książki ekspertyzy pt. „Biogospodarka, biotechnologia i nowe techniki inżynierii genetycznej: nowoczesna biotechnologia podstawą biogospodarki, ekspertyza Komitetu Biotechnologii PAN” (redaktor naukowy i koordynator: T. Twardowski).
- Opracowano metody trwałego wiązania oligonukleotydów z szklanymi kulkami typu CPG (M. K. Chmielewski).
- Określono miejsca protonacji na podstawie danych NMR oraz obliczeń statycznych w termolabilnych grupach ochronnych (2-PyTGO) (A. Witkowska, J. Brzezińska, M. K. Chmielewski).
- Opracowano nową metodę określania struktury drugorzędowej RNA z wykorzystaniem poliwinylpirolidonu (M. Soszyńska-Jóźwiak, P. Zmora, E. Kierzek, R. Kierzek).
- Ustalono przyczynę bardzo dużej stabilności termicznej G-kwadrupleksów RNA zawierających tetradę urydynową (U-tetradę) na 3'-końcu, poprzez rozwiązanie struktury trójwymiarowej kwadrupleksu r(UGGUGGU)₄ metodami spektroskopii NMR (Z. Gdaniec, W. Andrałojć, K. Pasternak).
- Po raz pierwszy przeprowadzono syntezę oligorybonukleotydów zawierających modyfikowaną jednostkę – 7-rybozyloguaninę, oraz określono jej wpływ na trwałość i strukturę dupleksów RNA, w zależności od kontekstu sekwencji i możliwości parowania

- z naturalnymi nukleotydami (A. Szymańska-Michalak, P. Januszczuk, G. Framski, R. Kierzek, J. Boryski).
- Określono strukturę niekodującego RNA BC200 (J. Barciszewski, P. Sosińska-Zawierucha).
 - Wydano kolejny tom *RNA Technologies* w wydawnictwie Springer – „Systems Biology” (J. Barciszewski).
 - Określono rolę transportera błonowego MtABCG4 w lokalnej odpowiedzi korzenia lucerny na dostępność azotu i fosforu w środowisku (T. Jamruszka, J. Banasiak, M. Jasiński).
 - Charakterystyka transportera PDR23 z *Medicago truncatula* oraz określenie jego roli w formowaniu mikoryzy arbuskularnej (AM) (J. Banasiak, M. Jasiński).
 - Precyzyjnie wyznaczono współczynnik ryzyka raka piersi i raka jajnika związanego z wystąpieniem mutacji w 37 genach – zidentyfikowano gen CDKN2A jako nowy gen związany z wysokim ryzykiem raka piersi (M. Suszyńska, K. Klonowska, P. Kozłowski).
 - Wykazano podwyższony globalny poziom kolistych RNA (circRNA) w dystrofii miotonicznej typu pierwszego (DM1) – identyfikacja wielu circRNA oraz puli circRNA powstających z poszczególnych genów, których poziom jest podniesiony w DM1. Implikacje dla patomechanizmu choroby (K. Czubak, K. Kozłowska, A. Phillips, M. Wojciechowska, P. Kozłowski).
 - Scharakteryzowano mechanizm regulacji biosyntezy białek przez krótkie RNA pochodzące z tRNA (tRF) oddziałujące z rybosomami *Saccharomyces cerevisiae* (A. Mleczko, K. Bąkowska-Żywicka).
 - Wykazano związek między warunkami środowiskowymi a występowaniem, jak i oddziaływaniem z rybosomami, krótkich RNA powstających ze snoRNA (sdRNA) w *Saccharomyces cerevisiae* (A. Mleczko, K. Bąkowska-Żywicka).
 - Opracowano metodę cięcia transkryptów w miejscu zdefiniowanym sekwencyjnie i zastosowano ją do badania regulacji ekspresji genów z udziałem ryboprzełączników w modelowej bakterii Gram + *Bacillus subtilis* (P. Machtel, K. Bąkowska-Żywicka).
 - Określono strukturę drugorzędową segmentu 5 vRNA (vRNA5) wirusa grypy typu A na podstawie szczepu A/California/04/2009 (E. Kierzek, P. Michalak, J. Kęsy, B. Szutkowska, E. Lenartowicz, R. Kierzek, M. Soszyńska-Jóźwiak, E. Biata).
 - Wykazano właściwości inhibitorowe oligonukleotydów antysensowych nacelowanych na segment 5 vRNA wirusa grypy typu A (E. Kierzek, P. Michalak, J. Kęsy, B. Szutkowska, E. Lenartowicz, R. Kierzek, M. Soszyńska-Jóźwiak, E. Biata).
 - Poddano krytycznej analizie serię struktur metalo-beta-laktamaz w PDB oraz ponownie udokładniono i zdeponowano w PDB 10 najbardziej drastycznych przypadków (J. Raczyńska, M. Jaskólski).
 - Zastosowano algorytmy uczenia maszynowego do automatycznego rozpoznawania ligandów w makromolekularnych mapach gęstości elektronowej (D. Brzeziński, M. Kowiel, M. Jaskólski).
 - Odkryto mechanizm regulacji dynamiki SAHazy za pomocą metali alkalicznych oraz inhibicji enzymu jonami cynku (K. Brzeziński, J. Śliwiak, B. Imiołczyk, Z. Gdaniec, M. Jaskólski).
 - Odkryto zdolności wiązania fibrynogenu przez białka OspC z *Borrelia afzelii*, *B. burgdorferi*, *B. garinii* i *B. spielmiani* ze stałą kD w od kilkudziesięciu do kilkuset nM (A. Urbanowicz, P. Bierwagen).
 - Poznano funkcje transferazy glutationu U13 z *Arabidopsis thaliana* w metabolizmie glukozynolanów indolowych i odporności na infekcję przez patogeny grzybowe (M. Piślewska-Bednarek, M. Pastorczyk, D. Ciesiołka, P. Bednarek).
 - Porównano profile ekspresji genów związanych z biosyntezą glukozynolanów w różnych organach i na różnych etapach rozwojowych wybranych gatunków trybu *Camelinae* (*Arabidopsis thaliana*, *Capsella bursa-pastoris*, *Capsella rubella*, *Camelina sativa* i *Neslia paniculata*) (P. Czerniawski, P. Bednarek).

- Wykazano rolę monooksygenazy cytochromu P450 CYP71A12 w promocji wzrostu indukowanej w warunkach niedoboru fosforu przez kolonizację grzybem endofitycznym *Colletotrichum tofieldiae* (M. Piślewska-Bednarek, P. Bednarek).
- Zainicjowano dynamiczny rozwój badań nad sondami dwuanalitowymi do zastosowań w żywych komórkach (J. Kolanowski).
- Określono strukturę krystaliczną trzech kompleksów RNA-ligand (A. Kiliszek, L. Błaszczuk).
- Określono strukturę drugorzędową pełnej długości mRNA p53 (L. Błaszczuk)
- Krystalizacja peptydowego foldameru (M. Bejger).
- Rozwiązano strukturę deacetylazy chityny z *P. chitonophagus* (K. Biniek-Antosiak, M. Bejger).
- Analiza amnotransferaz Aro8 i Aro9 z *C. albicans* (A. Kiliszek, W. Rypniewski).
- Ustalono, że mechanizm dimeryzacji genomowego RNA retrotranspozonów tworzących cząstki wirusopodobne jest analogiczny z procesem dimeryzacji genomowego RNA u infekcyjnych retrowirusów (J. Gumna, K. Pachulska-Wieczorek, K.J. Purzycka, M. Zawadzka).

Działalność statutowa

Tematy i zadania statutowe realizowane w roku 2018

- I. Wykorzystanie nowych podejść metodycznych w identyfikacji produktów naturalnych pochodzenia roślinnego technikami spektrometrii mas. (N) (prof. dr hab. Maciej Stobiecki i dr hab. Magdalena Łuczak)
- II. Badania struktury i funkcji kwasów rybonukleinowych oraz białek z nimi oddziałujących. (K) (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka)
 - Zadanie 1. Badanie oddziaływań regionu niekodującego 5'mRNA i ich roli w regulacji ekspresji genu białka p53. (K)
 - Zadanie 2. Struktura i funkcja długich niekodujących RNA w komórkach ludzkich. (N)
- III. Technologie bioinformatyczne w analizie kwasów nukleinowych i białek. (K) (prof. dr hab. Jacek Błażewicz i dr hab. Marta Szachniuk)
 - Zadanie 1. Modele i algorytmy wspomagające analizę strukturalną RNA i białek. (K)
 - Zadanie 2. Sekwencjonowanie DNA w małej i dużej skali. (K)
 - Zadanie 3. Modelowanie i analiza infekcji wirusowych za pomocą systemów wieloagentowych. (K)
- IV. Badania właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych modyfikowanych oligonukleotydów o potencjale diagnostycznym oraz terapeutycznym. (K) (dr hab. Anna Pasternak)
- V. Synteza komponentów i analogów kwasów nukleinowych oraz badania ich właściwości biologicznych. (K) (prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz)
 - Zadanie 1. Badania acetalowych grup ochronnych dla potrzeb chemicznej syntezy RNA. (K)
 - Zadanie 2. Modelowanie struktury układów molekularnych metodami mechaniki kwantowej i dynamiki molekularnej w aspekcie badania ich właściwości biologicznych. (K)
- VI. Regulacja posttranskrypcyjna w procesach rozwojowych modelowych organizmów zwierzęcych. (N) (dr hab. Rafał Ciosk)

- VII. Wykorzystanie zmodyfikowanych nukleotydów RNA i DNA w diagnostyce medycznej i biotechnologii. (K) (prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska i dr hab. Katarzyna Rolle)
- VIII. Poszukiwanie nowych układów modelowych znajdujących zastosowanie w biologii molekularnej i systemowej. (K) (prof. dr hab. Marek Figlerowicz i dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak)
- Zadanie 1. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby wirusologii molekularnej i systemowej. (K)
- Zadanie 2. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej roślin. (K)
- Zadanie 3. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej człowieka. (K)
- IX. Struktura i funkcja kwasów rybonukleinowych oraz ich zastosowania terapeutyczne. (K) (dr Agnieszka Fiszer)
- Zadanie 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). (K)
- X. Bioekonomia i biotechnologia – aspekty społeczne i prawne. (K) (prof. dr hab. Tomasz Twardowski)
- XI. Synteza i analityka modyfikowanych biopolimerów. (K) (dr hab. Marcin K. Chmielewski)
- XII. Chemiczne i strukturalne uwarunkowania funkcji biologicznych oraz właściwości terapeutycznych kwasów nukleinowych. (K) (prof. dr hab. Ryszard Kierzek i prof. dr hab. Zofia Gdaniec)
- Zadanie 1. Termodynamika modyfikowanych kwasów nukleinowych. (K)
- Zadanie 2. Analiza struktury i dynamiki kwasów nukleinowych metodami biomolekularnego NMR. (K)
- XIII. Pronukleotydy dla terapii antywirusowej i antynowotworowej. (K) (prof. dr hab. Adam Kraszewski)
- XIV. Synteza, struktura i aktywność biologiczna komponentów kwasów nukleinowych i ich analogów. (K) (prof. dr hab. Jerzy Boryski)
- Zadanie 1. Polifosforanowe pochodne analogów nukleozydów – nowa generacja pronukleotydów. (K)
- Zadanie 2. Transformacja nukleozydów dla nowych celów terapeutycznych i określenie mechanizmów leżących u podłoża ich aktywności biologicznej. (K)
- XV. Wypławki jako nowy model dla badań epigenetycznych. (N) (prof. dr hab. Jan Barciszewski)
- XVI. Badania mechanizmów selektywnego transportu molekuł sygnałowych decydujących o cechach użytkowych roślin uprawnych. (N) (dr hab. Michał Jasiński)
- XVII. Mechanizmy powstawania zmienności genetycznej. (N) (prof. dr hab. Piotr Kozłowski)
- XVIII. Uniwersalne elementy strukturalne w RNA wirusów grypy. (K) (prof. dr hab. Elżbieta Kierzek)
- XIX. Rozwijanie technologii edycji genomów oraz metod oceny jej efektywności i specyficzności. (N) (dr hab. Marta Olejniczak)
- XX. Badania krystalograficzne białek i kwasów nukleinowych. (K) (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)
- Zadanie 1. Struktura enzymów hydrolitycznych i ich inhibitorów. (K)
- Zadanie 2. Struktura i funkcja biologiczna białek biorących udział w sygnalizacji hormonalnej roślin. (K)
- Zadanie 3. Struktura kwasów nukleinowych. (K)
- XXI. Ewolucja metabolitów wtórnych w rodzinie Brassicaceae. (N) (dr hab. Paweł Bednarek)

- XXII. Definiowanie nowych mechanizmów chorób neurodegeneracyjnych z użyciem mysich i komórkowych (iPSC) modeli chorób poliQ. (N) (dr hab. Maciej Figiel)
- XXIII. Rozwój niskocząsteczkowych narzędzi molekularnych do zastosowań w badaniach biologicznych. (N) (dr Jacek Kolanowski)
- XXIV. Badania zależności między strukturą i funkcją biomolekuł. (K) (prof. dr hab. Wojciech Rypniewski)
- XXV. Struktura i funkcja retroelementów. (K) (prof. dr hab. Ryszard W. Adamiak, dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek i dr Zbigniew Warkocki)
- XXVI. Poszukiwanie nowych czynników przeciwbakteryjnych. (K) (wkład własny w ramach międzynarodowego projektu JPI AMR „Wspomagane strukturalnie projektowanie inhibitorów metalo- β -laktamaz o szerokim spektrum działania”) (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich

Projekty, które otrzymały dofinansowanie w 2018 r.

1. Badania strukturalne i termodynamiczne deacetylazy diacetylochitobiozy (Dac₇₄) hipertermofila *Pyrococcus chitonophogus* (mgr Katarzyna Biniek-Antosiak).
2. Identyfikacja mutacji somatycznych zlokalizowanych w genach mikroRNA w nowotworach (dr Paulina Gałka-Marciniak).
3. Stworzenie nowych linii komórkowych HEK293 i iPCS przy użyciu systemu CRISPR/Cas9 (mgr Magdalena Dąbrowska).
4. Projektowanie i testowanie wektorów ekspresyjnych shRNA-miR wyciszających alleloselektywnie huntigtynę i ataksynę 3 (mgr Anna Kotowska-Zimmer).
5. Boranofosfoniano diestry – badania nad reaktywnością grupy boranowej z N-nukleofilami w obecności różnych czynników utleniających (mgr Justyna Gołębiowska).
6. Optymalizacja metody profilowania białek zawierających grupy karbonyłowe w osoczu z wykorzystaniem technik spektrometrii mas (mgr Joanna Tracz).
7. Analiza immunofenotypu nowych modeli mysich choroby Huntingтона (dr Łukasz Przybył).
8. Nowe pochodne aptameru RE31 o potencjalnych właściwościach antykoagulacyjnych (dr Weronika Kotkowiak).
9. Struktura drugorzędowa wirusowych RNA – opracowanie nowatorskiej metody odczytu mapowań struktury drugorzędowej segmentów wirusa grypy typu A H1N1 szczepu A/California/04/2009 w komórkach ludzkich z wykorzystaniem metod głębokiego sekwencjonowania (NGS) (mgr Barbara Szutkowska).
10. Badanie zaburzeń transportu w aksonach neuronów otrzymanych z mysiego modelu SCA3/Ki91, jako kluczowego elementu patogenezy ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 (mgr Kalina Wiatr).
11. Analiza historii biologicznej populacji ludzkich na podstawie informacji o nierównowadze sprzężeń i imputacji brakujących genotypów (mgr Ireneusz Stolarek).
12. The molecular mechanism of rege-1-mediated RNA silencing in fat control (dr Daria Sobańska).
13. Examination of adipose RNA metabolism upon temperature fluctuations (dr Agnieszka Chabowska-Kita).
14. Nowa metoda syntezy B-modyfikowanych pochodnych boranofosfonianów (mgr Marta Rachwałak).

15. Deferoxamine, an iron chelator as a potential drug for neuron protection during induced hypothermia (dr Jarosław Lewandowski).
16. Zbadanie wykonalności wyznaczenia struktury trójwymiarowej DNAzemu 8-17 metodami NMR (dr Witold Andrałojć).
17. 5'-fosfoniany 5-fluoro-2'-deoksyurydyny jako nowe proleki o potencjale przeciwnowotworowym – badania w modelach *in vitro* i *in vivo*, farmakokinetycznych *in silico* oraz stabilności związków (mgr Dariusz Wawrzyniak).
18. Badanie wnikania i rozprzestrzeniania się modyfikowanych oligonukleotydów w organizmie *Schmidtea mediterranea* (dr Natalia Koralewska).
19. Opracowanie metody konstrukcji pustych kapsydów BMV z wirusowych białek płaszcza uzyskanych w heterologicznym systemie ekspresyjnym (mgr inż. Aleksander Strugała).
20. Analiza bioinformatyczna kolistych RNA w *Medicago truncatula* (mgr Katarzyna Kozłowska).
21. Wpływ dimeryzacji na stabilność RNA Ty1 w komórce i retrotranspozycję (mgr Julita Gumna).
22. Opracowanie metod określania pokrewieństwa na podstawie analiz kopalnego DNA uzyskanego ze szczątków ludzkich (mgr inż. Michał Zeńczak).
23. Badanie wpływu myrozynazy PYK10 i potencjalnej myrozynazy BGLU18 na efektywność hydrolizy glukozynolanów podczas odpowiedzi *Arabidopsis* na zranienie (mgr Paweł Czerniawski).
24. Aberrant mitochondria-endoplasmic reticulum interactions induce ER stress and neurodegeneration of Friedreich's ataxia cells (dr Julia Misiorek).
25. Nowe układy hybrydowe RNA typu dupleks-kwadrupleks o potencjale do regulacji ekspresji genów (mgr Karolina Zielińska).
26. Badanie wpływu konformacyjnie zdeterminowanych nukleotydów na aktywność rybozomu typu hammerhead, jako narzędzia biotechnologiczne inhibicji namnażania wirusa grypy (mgr Tomasz Czapik).
27. Określenie efektywności syntezy izoform białek p53 – Δ133p53 i Δ160p53 oraz mechanizmu inicjacji translacji zachodzącej z kodonów AUG3 i AUG4 w warunkach komórkowych (dr Paulina Żydowicz-Machtel).
28. Jadłospis epoki żelaza – izotopowa charakterystyka paleodiety populacji zamieszkującej tereny dzisiejszej Wielkopolski w okresie panowania rzymskiego (dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak).
29. Metody cyfrowe mapowania zmienności genotypu ludzkiego na powiązane hierarchicznie cechy fenotypu twarzy (mgr inż. Piotr Szymaniak).
30. Repozytorium heterogenicznych danych medycznych i genetycznych umożliwiające budowę systemu wspomagania decyzji klinicznych i optymalizacji leczenia pooperacyjnego u dzieci poddanych korekcjom wrodzonych wad serca (mgr Marcin Krystek).
31. Analiza wykorzystania modeli wielkoskalowych dla wybranych zastosowań medycznych (mgr inż. Bartosz Bosak).

Doktoranci spoza Instytutu

32. Charakterystyka cytogenetyczna *Festuca pratensis* oraz allotetraploidalnego mieszańca *Festuca pratensis* x *Lolium perenne* (mgr Joanna Majka).
33. Określenie subkomórkowej lokalizacji białka StBBX4 u gatunku *Solanum tuberosum* (mgr inż. Urszula Talar).
34. Unfolding the role of DNA methylation on xylogenesis modulation in *Salix purpurea* (mgr Carolina Gomes).
35. Analiza transkryptomu mieszańca *Festuca arundinacea* x *Lolium multiflorum* w warunkach deficytu wodnego przy użyciu metody RNA-seq (mgr Katarzyna Masajada).

36. Ocena efektywności konstrukcji genetycznych do transformacji miskanata w celu modyfikacji ściany komórkowej dla potrzeb zwiększenia wydajności fermentacji alkoholowej biomasy (mgr Karolina Sobańska).
37. Understanding the chitin related defense responses in during *Plasmodiophora brassicae* infection (mgr Soham Mukhopadhyay).
38. Understanding the role of chitin related defence responses during *Plasmodiophora* (mgr Juan Ochoa).
39. Częstki kapsydopodobne HBcAg otrzymywane w roślinach jako składnik szczepionek oraz bionanocząsteczek (mgr Marcin Pyrski).
40. Badanie mechanizmu powstawania jednoniciowego DNA retrotranspozonu LINE-1 w rozwoju odpowiedzi autoimmunologicznej – badania wstępne (mgr Michał Walczak).
41. Elucidating the molecular function of STARD8, A Novel Candidate Sex-Determining Gene (mgr Erkut Ilaslan).
42. Wpływ poziomu reaktywnych form tlenu na proces kiełkowania nasion klonu srebrzystego (*Acer saccharinum* L.) (mgr Karolina Bilśka).
43. Badanie zawartości protochlorofilu, chlorofilu, karotenoidów i ich zdolności antyoksydacyjnych w nasionach, różniących się odpornością na desykację, trzech gatunków drzewiastych (*Acer platanoides* L., *Acer pseudoplatanus* L. i *Fagus sylvatica* L.) (mgr Ewelina Stolarska).

Projekty, które otrzymały dofinansowanie w 2017 r., kontynuowane w 2018 r.

1. Optymalizacja układu badawczego do monitorowania alleloselektywnej aktywności anty-sensowych oligonukleotydów (dr inż. Dorota Magner).
2. Opracowanie metody określenia stabilności wiązań fosfodiesterowych RNA z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA (dr Marta Soszyńska-Jóźwiak).
3. Identyfikacja białek wchodzących w skład agregatów tworzonych przez zmutowane białka zawierające wydłużone ciągi poliglutaminowe (dr Adam Ciesiołka).
4. Wiązanie związków flawonowych przez roślinne białka związane z patogenezą PR-10 (dr Joanna Śliwiak).
5. Optymalizacja metody badawczej digital droplet PCR dla wykrywania mikroRNA u różnych odmian soi (mgr Jakub Kuczyński).
6. Wpływ modyfikacji nukleozydów purynowych na strukturę i termodynamikę modelowych RNA (mgr Tomasz Czapik).
7. Niekanoniczne formy DNA i RNA oraz ich właściwości strukturalne i biologiczne (dr Marta Szabat).
8. Analiza uszkodzeń DNA pozyskanego z kopalnych szczątków ludzkich (mgr Ireneusz Stolarek).
9. Struktura drugorzędowa piątego segmentu wirusa grypy typu A na przykładzie podtypu H1N1 (mgr inż. Paula Michalak).
10. Badanie toksyczności ataksyny trzeciej w zróżnicowanych komórkach SH-SY5Y (mgr Grzegorz Figura).
11. Analiza funkcji sekwencji PAL w procesie dimeryzacji genomowego RNA retrotranspozonu Ty1 (mgr Julita Gumna).
12. Analiza czynników strukturalnych odpowiedzialnych za stabilizujące właściwości reszt 2'-OME w obecności jonów Na⁺, NH₄⁺, K⁺ metodami biomolekularnego NMR (mgr Karolina Zielińska).
13. Analiza właściwości fluorescencyjnych i termolabilnych pochodnych 1,2-bis(2-pirydylo)-etyleny (mgr Agnieszka Witkowska).

Doktoranci spoza Instytutu (kontynuacja z 2017 r.)

14. Weryfikacja wyników sekwencjonowania całego egzomu oraz analiza segregacji wybranych wariantów sekwencji w wysokiej krótkowzroczności w rodzinach polskich (mgr inż. Joanna Świerkowska).

15. Reverse genetic tools for studying developmental processes in peas (mgr Fatema Bakro).
16. Analiza zmienności genetycznej kasztanowca zwyczajnego (*Aesculus hippocastanum* L.) z zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych w naturalnej populacji Dasos Nanitsa (mgr Łukasz Walas).
17. Funkcja wybranych białek należących do rodziny palca cynkowego typu B-box w procesach wzrostu i rozwoju u *Solanum tuberosum* (mgr inż. Urszula Talar).
18. Określenie bezpiecznego zakresu wilgotności nasion rokitnika zwyczajnego (*Hippophae rhamnoides* L.) przechowywanych w ciekłym azocie (mgr inż. Mikołaj Wawrzyniak).
19. Understanding the role of chitin related defence responses during *Plasmodiophora brassicae* infection (mgr Soham Mukhopadhyay).
20. Cząstki wirusopodobne oczyszczone z materiału roślinnego jako składnik szczepionek i nośnik epitopów (mgr inż. Marcin Pyrski).

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

Działalność podstawową sześciu pracowni w 2018 r. wsparła dotacja na finansowanie kosztów związanych z utrzymaniem specjalnego urządzenia badawczego. Były to środki przyznane na działalność Europejskiego Centrum Bioinformatyki i Genomiki (ECBiG) na lata 2017-2019, z czego na rok 2018 przeznaczono 1,5 mln zł. W ramach 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.

Dzięki dotacji w roku 2018 dokonano napraw i konserwacji następującego sprzętu: Cryo Platformy do spektroskopii NMR (koszt ok. 55 tys. zł), dwóch zasilaczy UPS zabezpieczających najważniejsze sprzęty Pracowni Genomiki oraz Pracowni Spektrometrii Mas (za łączną kwotę ponad 26 tys. zł), spektrometru mas (3,6 tys. zł), spektrofotometru Nanodrop (1,5 tys. zł), czytnika ddPCR (1,2 tys. zł) oraz kostkarki do lodu (2,5 tys. zł). Zlecono także naprawę kompresora NMR, której koszt wyniesie ponad 80 tys. zł.

Pokryto koszty materiałów eksploatacyjnych (gazy, plastiki i inne materiały zużywalne) oraz odczynników niezbędnych do przeprowadzenia rutynowych testów i konserwacji aparatury za łączną kwotę ok. 265 tys. zł, usług (26 tys. zł), a także częściowe koszty energii i obsługi finansowo-administracyjnej i 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.

Opis działalności naukowej

Zakład Struktury i Funkcji Biomolekuł

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Wojciech Rypniewski (0,9 STATUT/0,1 NCN)³

Skład osobowy⁴

Pracownicy naukowci:

dr Agnieszka Kiliszek (0,67 STATUT/0,33 NCN)

dr Leszek Błaszczyk (STATUT)

dr Magdalena Bejger (0,6 STATUT/0,4 NCN)

Pracownicy techniczni:

mgr Katarzyna Biniak-Antosiak (0,7 STATUT/0,3 NCN/doktorantka)

Doktoranci:

mgr Martyna Pluta (stypendium NCN)

mgr inż. Marcin Ryczek (stypendium NCN)

Działalność statutowa

XXIV. Badania zależności między strukturą i funkcją biomolekuł (prof. dr hab. Wojciech Rypniewski)

Cel badań

Celem badań jest analiza struktur kompleksów niskocząsteczkowych ligandów, które wiążą trój-nukleotydowe powtórzenia RNA występujące w chorobach TREDs i zaprojektowanie ligandów, które wiążą docelowe RNA z wysokim powinowactwem i specyficznością, a także zbadanie oddziaływań RNA-białko i RNA-RNA istotne dla inicjacji translacji mRNA p53.

Celem badań jest 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

Przeprowadzono analizę struktury kompleksów trzech niskocząsteczkowych ligandów wiążących RNA zawierające powtórzenia CAG. Przeprowadzono również pomiary termodynamiczne na tych kompleksach.

Zaprojektowano i otrzymano wektor kodujący pełnej długości mRNA p53 oraz warianty sekwencyjne do analizy struktury drugorzędowej. Przeprowadzono mapowanie struktury pełnej długości mRNA p53 oraz mutantów.

Przeanalizowano struktury dwóch transaminaz, Aro8 i Aro9 z *Candida albicans*, bez ligandów oraz z ligandami będącymi produktami bądź substratami reakcji enzymatycznej. Analiza struktur pozwoliła wyjaśnić kwestie dotyczące specyficzności substratowej tych enzymów i ich ewolucji.

³ W nawiasach podano źródło finansowania pracowników.

⁴ Stan na 31.12.2018 r.

Pracowano także nad projektem, który dotyczy syntetycznych peptydów, które by miały z góry określoną strukturę. Wykryształizowano i przeprowadzono pomiary synchrotronowe na jednym z foldamerów.

Opis najważniejszych osiągnięć

Największym osiągnięciem roku jest analiza struktur kompleksów RNA zawierającego powtórzenia CAG z syntetycznymi ligandami. Opisano jak ligandy te wiążą pary A-A. Są to pierwsze struktury powtórzeń CAG, jakie występują w patogenezie niektórych schorzeń typu TREDs, ze związkami, które są potencjalnymi terapeutykami lub tzw. związkami wiodącymi (*ang. lead compounds*) w poszukiwaniu leków przeciw tym nieuleczalnym schorzeniom.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Opublikowano pracę dotyczącą foldamerów, a także przygotowano do publikacji prace o transaminazach Aro8 i Aro9, jak również pracę o wiązaniu niskocząsteczkowych ligandów do powtórzeń CAG.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Badania strukturalne i termodynamiczne deacetylazy diacetylochitobiozy (Dac_74) hipertermofila *Pyrococcus chitonophagus*

Kierownik zadania: mgr Katarzyna Biniek-Antosiak

Cel badań

Celem projektu jest analiza deacetylazy chityny z hipertermofila. Jest to część szerszego frontu badań, których celem jest scharakteryzowanie enzymów chitynolitycznych z organizmów ekstremofilnych.

Opis realizowanych prac

Dokonano klonowania i ekspresji genu deacetylazy chityny w kompetentnych komórkach *E. coli*, oczyszczono białko i poddano krystalizacji. Przeprowadzono pomiary dyfrakcyjne. Scharakteryzowano kryształy deacetylazy chityny w formie natywnej i z ligandami, które mogą być substratami bądź produktami reakcji enzymatycznej.

Projekty

1. Badanie enzymów chitynolitycznych zmierzające do skonstruowania sztucznego chitynosomu; (OPUS)

Kierownik projektu: prof. dr hab. Wojciech Rypniewski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Prowadzono prace dotyczące chitynaz Chi60 z *Moritella marina*, których celem jest uzyskanie struktury krystalograficznej mutantu tego białka, który by zawierał jedynie dwie skrajne domeny oryginalnego białka: domenę katalityczną oraz domenę wiążącą chitynę, z pominięciem dwóch wewnętrznych domen typu Ig-like. Wykryształizowano też i scharakteryzowano kryształy deacetylazy chityny z hipertermofila *Pyrococcus chitonophagus*.

2. 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 Błaszczuk

Syntetyczne omówienie wyników badań

Zaprojektowano i otrzymano wektor kodujący pełnej długości mRNA p53. Na bazie tego wektora przygotowano szereg wariantów sekwencyjnych obejmujących badane regiony, a także mutanty wykorzystane w analizie struktury drugorzędowej. Przeprowadzono mapowanie struktury pełnej długości mRNA p53 oraz mutantów.

3. Opracowanie metodologii umożliwiającej stabilizację RNA w formie spinki do badań krystalograficznych; (SONATA BIS)

Kierownik projektu: dr Agnieszka Kiliszek

Syntetyczne omówienie wyników badań

Zaprojektowano serie oligomerów RNA zawierających powtórzenia trójnukleotydowe, które następnie użyto do przesiewowej krystalizacji. Otrzymano wstępne warunki krystalizacyjne. Po optymalizacji warunków krystalizacji zarejestrowano dane dyfrakcyjne dla trzech różnych kompleksów RNA-ligand. Struktury zostały rozwiązane, udokładnione i przeanalizowane. Obecnie przygotowywana jest publikacja.

Publikacje

1. M. Drewniak, E. Weglarz-Tomczak, K. Ozga, E. Rudzinska-Szostak, K. Macegoniuk, J.M. Tomczak, **M. Bejger, W. Rypniewski**, L. Berlicki; Helix-loop-helix peptide foldamers and their use in the construction of hydrolase mimetics; *Bioorganic Chemistry* 2018, 81, 356-361
2. J. Li, M. Nakamori, J. Matsumoto, A. Murata, C. Dohno, **A. Kiliszek**, K. Taylor, K. Sobczak, K. Nakatani; A Dimeric 2,9-Diamino-1,10-phenanthroline Derivative Improves Alternative Splicing in Myotonic Dystrophy Type 1 Cell and Mouse Models; *Chemistry-A European Journal* 2018, 24, 18115-18122

Zakład Krystalografii – Centrum Badań Biokrystalograficznych

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Mariusz Jaskólski (0,75 STATUT)⁵

Skład osobowy⁶

Pracownicy naukowcy:

dr Kamil Szpotkowski (STATUT)
dr Dariusz Brzeziński (0,3 STATUT)
dr Krzysztof Brzeziński (0,7 STATUT)

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)

⁵ W nawiasach podano źródło finansowania pracowników.

⁶ Stan na 31.12.2018 r.

Pracownicy naukowcy:

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

dr Joanna Śliwiak (STATUT)

dr Marta Grzechowiak (NCN)

Pracownicy techniczni:

mgr Alina Kasperska (STATUT)

dr Jakub Barciszewski (STATUT)

Doktoranci:

mgr Paulina Bierwagen (stypendium NCN)

Działalność statutowa

XX. Badania krystalograficzne białek i kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)

1. Struktura enzymów hydrolitycznych i ich inhibitorów (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)

Cel badań

Poszukiwanie korelacji pomiędzy strukturą a funkcją enzymów hydrolitycznych.

Opis zrealizowanych prac

Na podstawie określonej wcześniej struktury krystalicznej L-asparagazy z *Phaseolus vulgaris* odkryto podłoże strukturalne zależności aktywności asparaginazowej podgrupy tych enzymów od potasu. W obecnym projekcie zaplanowano i wykonano ukierunkowaną mutagenezą, manipulując kluczową dla tej zależności resztą seryny. W ten sposób zmieniono enzym potasowo-zależny w potasowo-niezależny, oraz odwrotnie: enzym potasowo-niezależny w potasowo-zależny.

Opis najważniejszych osiągnięć

Za pomocą ukierunkowanej mutagenезы wspomaganej informacją strukturalną uzyskano enzymy o pożądanych właściwościach katalitycznych.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Wyniki prac zostały opisane w publikacji naukowej w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym oraz w postaci trzech komunikatów posterowych na konferencjach naukowych.

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

Otrzymano monokryształy oraz określono i udokładniono struktury krystaliczne dla łubinowego białka PR-10 w kompleksie z melatoniną oraz z mieszaniną ligandów: melatoniną i należącą do cytokinin trans-zeatyną.

Opis najważniejszych osiągnięć

Potwierdzono wiązanie melatoniny przez roślinne białka PR-10 oraz wykazano stopień kompetycji w wiązaniu przez to białko fitohormonów z dwóch odrębnych grup: cytokininy i melatoniny.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Wyniki prac zostały opisane w publikacji naukowej w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym oraz przedstawione w postaci trzech komunikatów posterowych i jednego referatu na konferencjach naukowych.

3. Struktura kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)

Cel badań

Charakterystyka strukturalna niezwykłych form kwasów nukleinowych.

Opis zrealizowanych prac

Otrzymano oligonukleotydy RNA w postaci dupleksów zawierających tandemy niekanonicznych par zasad G.A oflankowanych parami izo-G i izo-C oraz poddano je krystalizacji i badaniom strukturalnym.

Opis najważniejszych osiągnięć

Wyznaczono szereg wysokorozdzielczych struktur krystalicznych dupleksów RNA z parami G.A oraz iG.iC. Struktury te są obecnie na etapie udokładniania.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Wyniki przedstawiono w referacie na konferencji naukowej oraz przygotowano w formie materiałów do publikacji.

XXVI. Poszukiwanie nowych czynników przeciwbakteryjnych (prof. dr hab. Mariusz Jaskólski)

Cel badań

Poszukiwanie małowartościowych czynników pozwalających ingerować w szlaki metaboliczne bakterii patogennych.

Opis zrealizowanych prac

Wyznaczono strukturę krystaliczną tetramerycznej hydrolazy S-adenozyl-L-homocysteiny (SAHazy) z bakterii *Cytophaga hutchinsonii*, opisując ciekawy przypadek powiązania symetrii krystalograficznej i niekrystalograficznej. Na przykładzie hydrolazy S-adenozyl-L-homocysteiny z *Bradyrhizobium elkanii* badano możliwość inhibicji SAHazy poprzez zastosowanie substytutu kofaktora NAD⁺ reakcji katalizowanej przez te enzymy. Na podstawie badań krystalograficznych oraz fizykochemicznych (NMR, miareczkowanie ITC, fluorescencja rentgenowska) badano rolę kationów metali jednowartościowych (alkalicznych) oraz dwuwartościowych (takich jak cynk) na przebieg reakcji katalizacyjnej SAHazy z chorobotwórczej bakterii *Pseudomonas aeruginosa*.

Opis najważniejszych osiągnięć

Na podstawie struktury krystalicznej SAHazy z *Bradyrhizobium elkanii* wykazano, że cząsteczka substratu/produktu adenozyliny może zostać efektywnie związana w miejscu kofaktorowym przewidzianym dla NAD⁺. Na podstawie szeregu struktur krystalicznych SAHazy z *Pseudomonas aeruginosa* odkryto wpływ kationów metali alkalicznych na dynamikę tego enzymu. Za pomocą dodatkowych pomiarów fluorescencji rentgenowskiej potwierdzono obecność jonów cynku w strukturze tego enzymu oraz wyjaśniono mechanizm ich efektu inhibitorowego.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Wyniki prac zostały opisane w trzech publikacjach naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym oraz w postaci dwóch posterów i dwóch referatów na konferencjach naukowych.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Wiązanie związków flawonowych przez roślinne białka związane z patogenezą PR-10

Kierownik zadania: dr Joanna Śliwiak

Cel badań

Badanie zdolności wiązania flawonoidów przez białka PR-10.

Opis realizowanych prac

W ramach wykonanych w projekcie prac udokumentowano i przeanalizowano struktury kompleksów łubinowej izoformy LIPR-10.2B z naringeniną (NAR), kwercetyną (QUE) oraz witeksyną (VIT). Na podstawie otrzymanych struktur można określić preferencyjne dla związków flawonowych miejsce wiązania w odrębnie całej kieszeni wiążącej. W ramach grantu przeanalizowano otrzymane wcześniej dane i opublikowano je w pracy dotyczącej wiązania melatoniny i współzawodnictwa melatoniny (MEL) z zeatyną (ZEA) o miejsca wiązania łubinowego białka LIPR-10.2B. Dokonano też licznych krystalizacyjnych testów współzawodnictwa, polegających na współkrystalizacji izoformy 2B z jednoczesną obecnością równomolowej mieszaniny NAR i ZEA oraz NAR i MEL w preparacie białkowym. Otrzymano kryształy kompleksu białka LIPR-10.2B z MEL i NAR. Na podstawie rozwiązanej struktury można stwierdzić, iż współzawodnictwo między MEL a NAR przebiega odmiennie od współzawodnictwa MEL i ZEA.

Projekty

1. Trójwymiarowe Peptydowo-Organiczne Szkielety Supramolekularne; (SYMFONIA) – projekt realizowany w konsorcjum; lider projektu: Instytut Chemii Organicznej PAN (kierownik projektu: dr hab. Agnieszka Szumna), konsorcjanci: ICHB PAN
Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: prof. dr hab. M. Jaskólski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Analizowano wpływ wiązań wodorowych oraz oddziaływań hydrofobowych na zdolności kawitandów zawierających elementy peptydowe do samoorganizacji, tak w środowisku wodnym, jak i w DMSO. Samoorganizację badanych kawitandów inicjowano obecnością czynnika templatowego – fulerenu C60. Uzyskano wysoki stopień integracji w wodzie, podczas gdy środowiska DMSO oraz mieszaniny DMSO-woda okazały się destrukcyjne. Co ciekawe, niektóre kawitandy można było otrzymać tylko w obecności czynnika templatującego, co wskazuje na sprzężenie syntezy chemicznej z organizacją supramolekularną (asemblingiem). Wysunięte wnioski poparto badaniami fizykochemicznymi w roztworze oraz rentgenograficznymi badaniami strukturalnymi kryształów.

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

Kierownik projektu: prof. dr hab. Mariusz Jaskólski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Uzyskano skrócone formy rekombinowanego białka OspC z różnych gatunków *Borrelia* w systemie *E. coli*. Krystalizacyjne testy przesiewowe przeprowadzone z zastosowaniem ww. formy OspC pokazują, że tworzy ona kryształy. Przeprowadzono dalsze badania funkcjonalne i strukturalne wariantów białek OspC z *B. afzelii*, *B. burgdorferi*, *B. garinii* i *B. spielmanii*. Analiza strukturalna w roztworze metodą SAXS pokazała, że pomimo identyczności sekwencji na poziomie 60-70% oraz zdecydowanie różnych właściwości elektrostatycznych białka te przyjmują w roztworze bardzo zbliżoną strukturę. Odkryto nową aktywność biologiczną badanych białek OspC – zdolność do wiązania fibrynogenu. Oznaczono K_d dla poszczególnych kompleksów OspC z fibrynogenem i zmapowano miejsce wiązania OspC na cząsteczce fibrynogenu.

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

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

Syntetyczne omówienie wyników badań

Przeprowadzono masową mutagenezę ukierunkowaną dwóch wariantów metalo-beta-laktamazy NDM oraz przeprowadzono wysokoprzepustowe testy (z zastosowaniem czytnika płytek) aktywności enzymatycznej uzyskanych mutantów, pod kątem ich zdolności do rozkładania wybranych antybiotyków beta-laktamowych. Wyniki analiz enzymatycznych są obecnie korelowane z modyfikacjami strukturalnymi towarzyszącymi mutacjom.

4. Pozyskanie izoform białek PR-10 z dziurawca zwyczajnego, jako potencjalnych receptorów melatoniny i mediatorów przekazu sygnału hormonalnego, oraz wstępna charakterystyka krystalograficzna ich kompleksów z naturalnymi ligandami; (MINIATURA)

Kierownik projektu: dr Joanna Śliwiak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Oczyszczono preparat białkowy pierwszej izoformy białkowej Hyp-1. Wykonano pomiary oddziaływania białka Hyp-1 z trans-zeatyną za pomocą miareczkowania mikrokalorymetrycznego. Wyznaczona stała wiązania K_d wyniosła $\sim 25 \mu\text{M}$. Zaprojektowano plazmidy zawierające sekwencje kodujące pozostałe 3 izoformy białek PR-10 z dziurawca zwyczajnego.

Publikacje

1. J. Czyrko, **M. Jaskolski**, K. Brzezinski; Crystal structure of s-adenosyl-l-homocysteine hydrolase from *Cytophaga hutchinsonii*, a case of combination of crystallographic and non-crystallographic symmetry; *Croatica Chemica Acta* 2018, 91, 153-162
2. **J.E. Raczynska**, I.G. Shabalin, W. Minor, A. Wlodawer, **M. Jaskolski**; A close look onto structural models and primary ligands of metallo- β -lactamases; *Drug Resistance Updates* 2018, 40, 1-12
3. A. Wlodawer, Z. Dauter, P.J. Porebski, W. Minor, R. Stanfield, **M. Jaskolski**, E. Pozharski, C.X. Weichenberger, B. Rupp; Detect, correct, retract: How to manage incorrect structural models; *FEBS Journal* 2018, 285, 444-466
4. E. Ajewole, L. Santamaria-Kisiel, A. Pajak, **M. Jaskolski**, F. Marsolais; Structural basis of potassium activation in plant asparaginases; *FEBS Journal* 2018, 285, 1528-1539
5. **J. Śliwiak**, **M. Sikorski**, **M. Jaskolski**; PR-10 proteins as potential mediators of melatonin-cytokinin cross-talk in plants: crystallographic studies of LIPR-10.2B isoform from yellow lupine; *FEBS Journal* 2018, 285, 1907-1922
6. L.L. Kailing, D. Bertinetti, C. E. Paul, **T. Manszewski**, **M. Jaskolski**, F.W. Herberg, I.V. Pavlidis; S-Adenosyl-L-Homocysteine Hydrolase Inhibition by a Synthetic Nicotinamide Cofactor Biomimetic; *Frontiers In Microbiology* 2018, 9, 505
7. Z. Dauter, **M. Jaskolski**; On the helical arrangements of protein molecules; *Protein Science* 2018, 27, 643-652
8. J. Czyrko, **J. Śliwiak**, **B. Imiolczyk**, **Z. Gdaniec**, **M. Jaskolski**, K. Brzezinski; Metal-cation regulation of enzyme dynamics is a key factor influencing the activity of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from *Pseudomonas aeruginosa*; *Scientific Reports* 2018, 8, 11334
9. E. Weryszko-Chmielewska, I. Kasprzyk, M. Nowak, A. Sulborska, J. Kaczmarek, A. Szymanska, W. Haratym, **M. Gilski**; Health hazards related to conidia of *Cladosporium*-biological air pollutants in Poland, central Europe; *Journal of Environmental Science* 2018, 65, 271-281
10. A.A. Mieloch, M. Krecisz, J.D. Rybka, **A. Strugała**, M. Krupinski, **A. Urbanowicz**, M. Kozak, B. Skalski, **M. Figlerowicz**, M. Giersig; The influence of ligand charge and length on the assembly of Brome mosaic virus derived virus-like particles with magnetic core; *AIP Advances* 2018, 8, 035005

11. **A. Zubek, J. F. Barciszewski, A. Belter, J. Barciszewski**; Teoria jestestw organicznych Jędrzeja Śniadeckiego. Rewolucja w spojrzeniu na życie; *Nauka* 2018, 4, 165-175
12. **J.F. Barciszewski, M. Szymanski, A. Malesa, D. Olszewski, W.T. Markiewicz, J. Barciszewski**; Początki molekularnych nauk o życiu – Kontekst Polski; *Postępy Biochemii* 2018, 64, 55-66
13. **M. Sikorski, M. Jaskolski**; 20 Years of Heart of Europe bio-Crystallography Meetings; Reminiscences; Ośrodek Wydawnictw Naukowych 2018, 178
14. **A. Strugała, P. Bierwagen, J.D. Rybacka, M. Giersig, M. Figlerowicz, A. Urbanowicz**; BMV propagation, extraction and purification using chromatographic methods; *Bio-Protocol* 2018, 8

Prace przyjęte do druku:

1. K. Eichstaedt, **K. Szpotkowski**, M. Grajda, **M. Gilski, S. Wosicki, M. Jaskolski**, A. Szumna; Self-assembly and ordering of peptide-based cavitands in water and DMSO – the power of hydrophobic effects combined with neutral hydrogen bonds; *Chemistry – A European Journal*, DOI:10.1002/chem.201805353
2. **M. Kowiel**, D. Brzezinski, P. Porebski, I.G. Shabalin, **M. Jaskolski**, W. Minor; Automatic recognition of ligands in electron density by machine learning; *Bioinformatics*, DOI:10.1093/bioinformatics/bty626
3. **W. Andralojc, M. Malgowska, J. Sarzynska, K. Pasternak, K. Szpotkowski, R. Kierzek, Z. Gdaniec**; Unraveling the structural basis for the exceptional stability of RNA G-quadruplexes capped by a uridine tetrad at the 3' terminus; *RNA*, DOI:10.1261/rna.068163.118

Zakład Genetyki Molekularnej

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Piotr Kozłowski (STATUT)⁷

Skład osobowy⁸

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Marzena Wojciechowska (STATUT, urlop bezpłatny do 31.01.2019 r.)
 dr Anna Jasińska (STATUT, urlop bezpłatny do 01.06.2019 r.)
 dr Martyna Urbanek-Trzeciak (0,5 STATUT)
 dr Malwina Suszyńska (NCN)
 dr Paulina Gałka-Marciniak (NCN)

Pracownicy techniczni:

dr Karol Czubak (STATUT)
 mgr Katarzyna Chojnacka (STATUT)

Doktoranci:

mgr Paulina Nawrocka (stypendium NCN)

Zespół Transkryptomiki Funkcjonalnej

Kierownik Zespołu: dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka, prof. ICHB PAN (0,8 STATUT/0,2 NCN)

⁷ W nawiasach podano źródło finansowania pracowników.

⁸ Stan na 31.12.2018 r.

Doktoranci:

mgr Piotr Machtel (stypendium KNOW)
mgr Anna Mleczko (stypendium KNOW)
mgr Piotr Pietras (stypendium NCN)
mgr Klementyna Marciniak (POWER/STATUT)

Działalność statutowa

XVII. Mechanizmy powstawania zmienności genetycznej (prof. dr hab. Piotr Kozłowski)

Cel badań

Analiza zmiany liczby kopii genów *JAK2*, *PDL-1* oraz *PDL-2* zlokalizowanych na krótkim ramieniu chromosomu 9 wśród pacjentów cierpiących na nowotwory mieloproliferacyjne.

Opis zrealizowanych prac

Mutacje w genie *JAK2* (w tym najczęściej występująca V617F) predysponują do rozwoju nowotworów mieloproliferacyjnych. Nadekspresja genów kodujących ligandy PD-L1 oraz PD-L2 powodujące dezaktywację limfocytów T, jest często wykorzystywana przez komórki nowotworowe w celu uniknięcia odpowiedzi immunologicznej. Sprawdzono, czy w przypadku nowotworów mieloproliferacyjnych obserwuje się zmianę liczby kopii genów *JAK2*, *PD-L1* oraz *PD-L2* oraz czy zmiana liczby kopii koreluje z występowaniem mutacji V617F w genie *JAK2*. Analizę przeprowadzono z użyciem zaprojektowanego w Zakładzie testu MLPA (ang. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Przeanalizowano 170 prób od pacjentów cierpiących na jeden z nowotworów mieloproliferacyjnych: czerwienicę prawdziwą, nadpłytkowość samoistną lub pierwotne włóknienie szpiku. Przeprowadzona analiza pozwoliła na wykrycie mutacji V617F w ponad połowie analizowanych prób. Zidentyfikowano także duplikację całego ramienia p chromosomu 9 w próbce posiadającej mutację V617F, pochodzącej od pacjenta cierpiącego na pierwotne włóknienie szpiku. Wykryto także amplifikację regionu od egzonu 1 genu *JAK2* do egzonu 7 genu *PD-L2* (4 kopie) w próbce pochodzącej od pacjenta z zespołem mielodysplastycznym bez mutacji V617F. Dodatkowo zidentyfikowano potencjalne mutacje typu SNP (ang. *Single Nucleotide Polymorphism*) w pięciu analizowanych próbach.

Opis najważniejszych osiągnięć

Przeprowadzona analiza wykazała, że amplifikacja badanego regionu chromosomu 9 nie jest odpowiedzialna za aktywację genów *JAK2*, *PD-L1* oraz *PD-L2* w przypadku nowotworów mieloproliferacyjnych.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki stanowią podsumowanie analiz korelacji występowania mutacji V617F w genie *JAK2* ze zmianą liczby kopii genów zlokalizowanych na krótkim ramieniu chromosomu 9. Wyniki umożliwiają wyciągnięcie wniosków na temat częstości występowania zmiany liczby kopii w tym regionie wśród pacjentów cierpiących na nowotwory mieloproliferacyjne.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Identyfikacja mutacji somatycznych zlokalizowanych w genach mikroRNA w nowotworach

Kierownik zadania: dr Paulina Gałka-Marciniak

Cel badań

Identyfikacja mutacji somatycznych w genach krótkich regulatorowych cząsteczek miRNA na podstawie analizy danych pochodzących z bazy The Cancer Genome Atlas.

Opis realizowanych prac

Analizę występowania mutacji somatycznych w genach kodujących cząsteczki miRNA przeprowadzono z wykorzystaniem danych od 569 pacjentów z gruczolakorakiem płuc pochodzących z sekwencjonowania DNA nowej generacji. W pierwszym etapie przygotowano listę genów miRNA, których koordynaty genomowe pokrywają się z zastosowanym zakresem wzbogacania egzomu. W wyniku przeprowadzonej analizy zidentyfikowano 545 mutacji somatycznych zlokalizowanych w 350 genach miRNA. Mutacje te występowały u połowy pacjentów, z czego ~75% pacjentów posiadało 1 lub 2 zmutowane geny miRNA. Zdecydowaną większość zidentyfikowanych mutacji stanowiły substytucje o stosunku tranzycji do transwersji 0,54. Ponad połowę zmutowanych genów miRNA stanowiły miRNA zaklasyfikowane jako *'high confidence'* (wg miRBase v.22). W kolejnym etapie uzyskane wyniki pokazały, iż mutacje są równomiernie rozmieszczone we wszystkich regionach prekursorów miRNA, jednak obserwuje się ich wzbogacenie w regionie dupleksu miRNA. Na podstawie analizy występowania mutacji wytypowano 8 często mutowanych genów miRNA (hotspot-miRNA), w których częstość mutacji jest istotnie wyższa niż spodziewana przez przypadek. Następnie eksperymentalna walidacja występowania mutacji w wybranych genach miRNA pozwoliła dotychczas na potwierdzenie występowania mutacji w genie miR-379 w 2 z ~60 analizowanych prób raka płuc.

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: prof. dr hab. Piotr Kozłowski**

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 nowotworów.

Działania eksperymentalne skupione były na przetestowaniu zaprojektowanego systemu (miRNome-enrichment) do wzbogacania bibliotek do sekwencjonowania nowej generacji (NGS), umożliwiającego analizę regionów kodujących geny miRNA, geny zaangażowane w biogenezę tych cząsteczek oraz wybrane eksony 10 genów uznawanych za „driverowe” w raku płuca. Ważnym elementem opracowanej strategii sekwencjonowania miało być uzyskanie wysokiego pokrycia badanych regionów genów miRNA, przy sekwencjonowaniu próbek o dużym stopniu degradacji DNA. W pierwszej kolejności zaprojektowany system został przetestowany z wykorzystaniem 60 próbek DNA (48 próbek z raka płuc oraz 12 próbek z raka jajnika) wyizolowanych ze skrawków tkanki utrwalonej w bloczku parafinowym (FFPE) oraz 12 próbek DNA z raka nerki wyizolowanych z materiału mrożonego. Uzyskany stopień wzbogacenia badanych regionów „on-target” wynosił 40%, co odpowiada wartościom komercyjnych testów stosowanych do wzbogacania eksomu. W konsekwencji średnie pokrycie badanych regionów wynosiło ~900x (w zakresie 300-1600x) dla próbek FFPE oraz ~1500x dla próbek z materiału mrożonego. Identyfikację mutacji przeprowadzono z zastosowaniem algorytmu MuTect2. Zidentyfikowano ~100 somatycznych mutacji w 97 genach-miRNA. W 12 genach-miRNA zidentyfikowano przynajmniej 2 mutacje występujące w różnych próbkach (od różnych pacjentów). Opracowany system sekwencjonowania miRNomu umożliwi prowadzenie dalszych badań na dużo większej liczbie próbek. Dodatkowo przeanalizowano występowanie mutacji somatycznych w obrębie regionów miRNomu w danych pochodzących z 1066 raków płuca, zdeponowanych w repozytorium The Cancer Genome Atlas. Przeprowadzone analizy pozwoliły na zidentyfikowanie ~500 zmutowanych genów-miRNA. Blisko połowa tych genów jest zmutowana w dwóch badanych typach nowotworu: w gruczolakoraku i w płaskonabłonkowym raku płuca.

2. Wyjaśnienie mechanizmu działania małowcząsteczkowych 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 małowcząsteczkowe 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 *poly(A)binding* oraz egzosomalnych. Z kolei proteomiczna analiza biotynylowanych koniugatów z komórek traktowanych związkami chemicznymi wyłoniła grupę 13 kinaz będących potencjalnymi celami tych związków. Analiza poziomu ich ekspresji wykazała, iż część z nich ulega upregulacji 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: prof. dr hab. Piotr Kozłowski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Analiza asocjacji mutacji założycielskiej, typu *case-control* oraz jej duża skala, mają na celu wyjaśnienie roli *BARD1* w genetycznej predyspozycji do raka piersi. Przeanalizowano DNA kolejnych pacjentów z rakiem piersi oraz osób z grupy kontrolnej pod kątem obecności mutacji c.1690C>T *BARD1*. Rozpoczęto analizę obecności dwóch kolejnych wariantów genetycznych *BARD1*, o nieznanym statusie patogenności (c.1972C>T oraz c.1977A>G), w badanych grupach. Zakończenie analizy mutacji c.1690C>T umożliwiło przeprowadzenie dla części wyników analiz statystycznych. Sygnalizują one, że mutacje *BARD1* w stopniu niskim – umiarkowanym, warunkują dziedziczną predyspozycję do raka piersi.

Kontynuowano meta-analizę, w celu określenia wpływu mutacji germinalnych w 37 wybranych genach, umieszczanych obecnie w wielogenowych panelach diagnostycznych NGS, na ryzyko wystąpienia raka piersi oraz raka jajnika. Wyniki sekwencjonowania NGS ~120 000 pacjentów z rakiem piersi i jajnika z opublikowanych prac, porównano do wyników sekwencjonowania ~120 000 osób (przedstawiających ogół populacji), zawartych w bazie danych (gnomAD). Wykazano, że z 37 analizowanych genów, 13 genów jest istotnie związanych z rakiem piersi, 11 – z rakiem jajnika, wskazując geny wysokiego, umiarkowanego oraz niskiego ryzyka. Geny, których mutacje predysponują do wysokiego ryzyka raka piersi, to *BRCA1*, *BRCA2*, *CDKN2A*, *PTEN*, *PALB2* oraz *TP53*. Natomiast mutacje w genach *BRCA1*, *BRCA2*, *RAD51D*, *TP53*, *RAD51C*, *BRIP1* i *PTEN* są związane z wysokim ryzykiem raka jajnika. Zaobserwowano różnice w udziale poszczególnych genów w predyspozycji do raka piersi i raka jajnika, wskazując różnicę w ich genetycznej etiologii. Dla połowy genów poddanych meta-analizie nie wykazano związku z rakiem piersi lub jajnika, co może wskazywać, że ich obecność w panelach diagnostycznych NGS powinna być ponownie rozważona.

4. Ekspresja kolistych RNA w dystrofii miotonicznej typu 1 – związek z patogenezą; (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: dr Karol Czubak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Z wykorzystaniem danych (z bazy DMseq) pochodzących z projektu całogenomowego sekwencjonowania transkryptomu pacjentów z dystrofią miotoniczną (głównie typu 1, DM1) oraz zdrowych ochotników, przeprowadzona została identyfikacja cząsteczek circRNA występujących w dwóch mięśniach szkieletowych – w mięśniu czworogłowym uda (ang. *quadriceps femoris*; QF) oraz w mięśniu piszczelowym przednim (ang. *tibialis anterior*; TA). Badaniu poddane zostały dane otrzymane dla 23 próbek QF (11 próbek kontrolnych i 12 próbek DM1) oraz dla 27 próbek TA (6 próbek kontrolnych i 21 próbek DM1). Analiza z wykorzystaniem narzędzia CIRI2 pozwoliła na zidentyfikowanie 22 816 circRNA w próbkach QF oraz 38 403 circRNA w próbkach TA. Dalsza analiza otrzymanych danych wykazała globalny wzrost poziomu circRNA w próbkach DM1. Następnie wyłoniono circRNA, które u pacjentów z DM1 ulegały największym zmianom poziomu ekspresji względem kontroli. Ten krok analizy zawężono do circRNA, które występowały powszechnie w większości badanych próbek. Efektem było wyznaczenie 38 circRNA w próbkach QF oraz 120 circRNA w próbkach TA. Zgodnie z zaobserwowanym wcześniej globalnym wzrostem poziomu circRNA w próbkach DM1, większość różnicujących circRNA ulegała podniesieniu poziomu ekspresji w DM1. Dla ośmiu losowo wybranych różnicujących circRNA zaprojektowano testy, za pomocą których eksperymentalnie potwierdzono ich występowanie w próbkach RNA od pacjentów, a także obserwowany w analizie danych RNASeq kierunek zmian.

5. 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 projektu badawczego, którego celem było przeprowadzenie kompleksowej meta-analizy wszystkich dotychczasowych doniesień na temat udziału genów kandydatów w predyspozycji do raka piersi, przygotowano podsumowanie danych na temat testów diagnostycznych służących analizie paneli genów kandydatów, stosowanych w ramach ~50 analiz/publikacji wchodzących w skład metaanalizy.

Przygotowano również kompleksową charakterystykę mutacji zidentyfikowanych w wybranych genach potencjalnie związanych z ryzykiem raka piersi (tj. *PALB2*, *ATM*, *TP53*), powszechnie włączanych do analiz paneli genów kandydatów prowadzonych z zastosowaniem technologii NGS, w tym:

- (i) oznaczono mutacje według nomenklatury Human Genome Variation Society (HGVS), powszechnie stosowanej w badaniach genetycznych,
- (ii) określono konsekwencje zidentyfikowanych mutacji, na poziomie kodowanej sekwencji aminokwasów (ang. *protein-level*) i przyporządkowano je do różnych kategorii mutacji (m.in. mutacje zmiany sensu, mutacje o wpływie na alternatywne składanie transkryptu, mutacje warunkujące przesunięcie ramki odczytu i przedwczesną terminację translacji),
- (iii) zgromadzono informacje na temat potencjalnej patogenności (baza danych ClinVar) oraz częstości występowania mutacji w populacji ogólnej (bazy danych dbSNP, ExAc oraz GnomAD).

6. Obrazowanie szlaku biogenezy miRNA i komórkowej lokalizacji reagentów technologii interferencji RNA (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: dr Martyna Urbanek-Trzeciak

Projekt opisano w Zakładzie Inżynierii Genomowej – dr hab. M. Olejniczak jest opiekunem naukowym dr M. Urbanek-Trzeciak. Str. 137.

7. Zmiany w składzie białek rybosomalnych i w oddziałujących z rybosomami krótkich niekodujących RNA w *Saccharomyces cerevisiae* w odpowiedzi na stres środowiskowy; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka

Syntetyczne omówienie wyników badań

Projekt rozpoczął się w 29 czerwca 2018 roku. Celem projektu jest określenie heterogeniczności rybosomów pod względem składu białek w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae* poddawanych zróżnicowanym warunkom środowiskowym, a także identyfikacja i charakterystyka krótkich niekodujących RNA oddziałujących z heterogenicznymi rybosomami. Do tej pory przeanalizowano wpływ 12 warunków stresowych na profile polisomowe i aktywność translacyjną drożdży oraz opracowano schemat analizy składu rybosomów pod względem białek.

8. 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

Projekt zakończył się 22 stycznia 2018 roku. Wszystkie cele założone we wniosku o finansowanie projektu zostały zrealizowane. Opracowano metodę czułego wykrywania krótkich RNA pochodzących ze snoRNA (sdRNA) występujących w małych ilościach w komórkach *Saccharomyces cerevisiae*. Absolutne ilości poszczególnych sdRNA w RNA pochodzącym z drożdży poddawanych stresom środowiskowym otrzymano z użyciem techniki emulsyjnego PCR w kroplach (ang. *digital droplet PCR*, ddPCR). Zaprojektowano startery o strukturze pnia i pętli, nacelowane na detekcję 4 sdRNA oraz startery nacelowane na detekcję prekursorów sdRNA (pełnej długości snoRNA) w puli całkowitego RNA. Zaobserwowano zależne od stresu występowanie sdRNA w komórkach drożdży. Zbadano lokalizację sdRNA w poszczególnych kompartmentach komórki. Wykazano istnienie stabilnych kompleksów sdRNA/rybosom oraz zależność ich stabilności od warunków stresowych. Określono partnera interakcji sdRNA w obrębie rybosomu. Wykazano potencjał inhibitorowy drożdżowych sdRNA na translację *in vitro* i *in vivo*. Wykazano konserwatywność potencjału inhibitorowego drożdżowych sdRNA na poziomie translacji w innych układach eukariotycznych.

9. 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

W ramach projektu udało się wykonać większość przewidzianych do realizacji zadań. Opracowano i zoptymalizowano metodę cięcia transkryptów w miejscach sekwencyjnie zdefiniowanych za pomocą RNAzyH, w warunkach *in vitro* (RNA powstałe w reakcji transkrypcji *in vitro*). Następnie powyższą metodę skutecznie zastosowano i zoptymalizowano w celu przecięcia natywnych transkryptów wyizolowanych z komórki (transkrypty *ex vivo*). Udało się także przeprowadzić analizę ilościową skróconych oraz pełnej długości transkryptów, z wykorzystaniem opracowanej metody dla wybranych genów, których ekspresja jest kontrolowana przez ryboprzełączniki transkrypcyjne (model badawczy badań terminacji transkrypcji). Do analizy ilościowej wykorzystano technikę emulsyjnego PCR (ddPCR, ang. *droplet digital PCR*). Dodatkowo, analizę ilościową przeprowadzono dla hodowli bakteryjnej prowadzonej w 4 punktach czasowych, dzięki czemu możliwe było zbadanie dynamiki zmian współczynnika indukcji ryboprzełączników w czasie.

Publikacje

1. E. Czczuga-Semeniuk, M. Galar, K. Jarzabek, **P. Kozłowski**, N.A. Sarosiek, S. Wolczynski; The preliminary association study of ADIPOQ, RBP4, and BCMO1 variants with polycystic ovary syndrome and with biochemical characteristics in a cohort of Polish women; *Advances in Medical Sciences* 2018, 63, 242-248
2. M. Koczkowska, N. Krawczynska, M. Stukan, A. Kuzniacka, I. Brozek, M. Sniadecki, J. Debniak, D. Wydra, W. Biernat, **P. Kozłowski**, J. Limon, B. Wasag, M. Ratajska; Spectrum and Prevalence of Pathogenic Variants in Ovarian Cancer Susceptibility Genes in a Group of 333 Patients; *Cancers* 2018, 10, 442
3. **L. Handschuh, P. Wojciechowski**, M. Kazmierczak, **M. Marcinkowska-Swojak, M. Luczak**, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **J. Blazewicz, M. Figlerowicz, P. Kozłowski**; NPM1 alternative transcripts are upregulated in acute myeloid and lymphoblastic leukemia and their expression level affects patient outcome; *Journal Of Translational Medicine* 2018, 16, 232
4. **M. Dabrowska, K. Czubak**, W. Juzwa, **W.J. Krzyzosiak, M. Olejniczak, P. Kozłowski**; qEva-CRISPR: a method for quantitative evaluation of CRISPR/Cas-mediated genome editing in target and off-target sites; *Nucleic Acids Research* 2018, 46, e101
5. **I. Stolarek**, A. Juras, **L. Handschuh, M. Marcinkowska-Swojak, A. Philips, M. Zenczak**, A. Debski, H. Kóčka-Krenz, J. Piontek, **P. Kozłowski, M. Figlerowicz**; A mosaic genetic structure of the human population living in the South Baltic region during the Iron Age; *Scientific Reports* 2018, 8, 2455
6. **M. Wojciechowska**, K. Sobczak, **P. Kozłowski**, S. Sedehizadeh, A. Wojtkowiak-Szlachcic, **K. Czubak**, R. Markus, A. Lusakowska, K. Kaminska, J.D. Brook; Quantitative Methods to Monitor RNA Biomarkers in Myotonic Dystrophy; *Scientific Reports* 2018, 8, 5885
7. M. Lopez-Morato, J.D. Brook, **M. Wojciechowska**; Small molecules which improve pathogenesis of myotonic dystrophy type 1; *Frontiers in Neurology* 2018, 9, 349
8. J.A. Chen, S.C. Fears, **A.J. Jasinska**, A. Huang, N.B. Al-Sharif, K.E. Scheibel, T.D. Dyer, A.M. Fagan, J. Blangero, R. Woods, M.J. Jorgensen, J.R. Kaplan, N.B. Freimer, G. Coppola; Neurodegenerative disease biomarkers A β 1-40, A β 1-42, tau, and p-tau181 in the vervet monkey cerebrospinal fluid: Relation to normal aging, genetic influences, and cerebral amyloid angiopathy; *Brain and Behavior* 2018, 8, e00903
9. 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 of Obesity* 2018, 42, 765-774
10. **M.O. Urbanek, E. Jaworska, W.J. Krzyzosiak**; miRNAmotif — A Tool for the Prediction of Pre-miRNA-Protein Interactions; *International Journal Of Molecular Sciences* 2018, 19, 4075
11. **A. Mleczko, P. Celichowski, K. Bakowska-Zywicka**; Transfer RNA-derived fragments target and regulate ribosome-associated aminoacyl-transfer RNA synthetases; *Biochimica et Biophysica Acta—Gene Regulatory Mechanisms* 2018, 1861, 647-656
12. J. Getesberger, 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* 2018, 14, 1364-1373

Wynalazki

Patenty międzynarodowe

Nucleic acid molecule, expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of the nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

patent: US 9,970,004 B2 z 15.05.2018 r.

zgłoszenie: US 14/916,039 z 2.03.2016 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak, Marta Olejniczak, Agnieszka Fiszer, Paulina Gałka-Marciniak**

Zgłoszenia międzynarodowe

Nucleic acid molecule expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of the nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

zgłoszenie: US 15/954,561 z 16.04.2018 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak, Marta Olejniczak, Paulina Gałka-Marciniak, Agnieszka Fiszer**

Zakład Chemii Nukleozydów i Nukleotydów

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jerzy Boryski (STATUT)⁹

Skład osobowy¹⁰

Pracownicy naukowci:

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

dr Dagmara Baraniak (STATUT)

dr Joanna Romanowska (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Piotr Januszczyk (STATUT)

dr Agnieszka Szymańska-Michalak (0,5 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 Maurycy Szlenkier (STATUT)

dr Grzegorz Framski (STATUT)

⁹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

¹⁰ Stan na 31.12.2018 r.

Działalność statutowa

XIV. 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)

Cel badań

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

Opis zrealizowanych prac

Kontynuowano badania nad nowymi strategiami i podejściami syntetycznymi umożliwiającymi otrzymanie trwałych analogów zawierających grupę difosforanową lub trifosforanową. Do pierwszej fosforylacji użyty został kwas pirofosfonowy w pirydynie, prowadząc do powstania monoestru 5'-H-fosfonianowego. Następnie badano możliwość neutralizacji ładunku ujemnego tej grupy poprzez działanie różnego typu czynników sililujących. W efekcie powstawała mieszanina diestru nukleozydowo-sililowego i triestru nukleozydowo-bis(sililowego). Oba te związki umożliwiały dalszą transformację poprzez kondensację oksydacyjną z fosforanami alkilowymi i aryłowymi, co prowadziło do odpowiednich pirofosforanów. Związki te badane były w kontekście trwałości hydrolitycznej.

Opis najważniejszych osiągnięć

Opracowano warunki fosforylacji grupy 5'-hydroksylowej nukleozydów. Opracowano warunki fosforylacji monoestru 5'-H-fosfonianowego. W połączeniu tych dwóch podejść, opracowana została nowa metoda syntetyczna, pozwalająca uzyskać pirofosforany zawierające jedynie po jednej grupie estrowej, przy każdym centrum fosforowym.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki są kolejnym etapem prac mających na celu uzyskanie pronukleotydów o aktywności antywirusowej, występującej również w komórkach z deficytem kinazy tymidynowej.

2. Transformacja nukleozydów dla nowych celów terapeutycznych i określenie mechanizmów leżących u podłoża ich aktywności biologicznej (prof. dr hab. Jerzy Boryski)

Cel badań

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

Opis zrealizowanych prac

W związku z odkryciem wysokiej i selektywnej aktywności *in vitro* 7-rybozyloguaniny (7G) przeciw glejakowi wielopostaciowemu T98G, przeprowadzono syntezę serii analogów tego związku modyfikowanych w części cukrowej. W przyszłym roku przeprowadzone zostaną badania aktywności tych analogów wobec kilku innych linii guzów mózgu, a badania te zostaną poszerzone o analogi modyfikowane w części zasadowej. Równolegle, współpracując z zespołem prof. Ryszarda Kierzka, przeprowadzono syntezę oligonukleotydów zawierających jednostkę 7G, w celu określenia jej wpływu na trwałość i strukturę dupleksów RNA. Ponadto kontynuowano badania nad regioselektywną syntezą 2'- i/lub 3'-modyfikowanych rybonukleozydów jako

potencjalnych inhibitorów enzymów wirusowych oraz badania nad syntezą analogów dinukleozydomonofosforanów w serii pochodnych pirymidynowych, w których wiązanie fosforanowe zostało zastąpione układem 1,2,3-triazolowym w różnych aranżacjach przestrzennych.

Opis najważniejszych osiągnięć

Przeprowadzono syntezę oligorybonukleotydów zawierających 7-rybozyloguaninę, w celu określenia jej wpływu na trwałość i strukturę dupleksów RNA.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki pozwolą na znaczne poszerzenie puli obiecujących analogów nukleozydowych o spodziewanej aktywności antynowotorowej i/lub antywirusowej, przeznaczonych do badań biologicznych. Rezultaty tych badań zostaną opublikowane w przynajmniej 5 pracach eksperymentalnych oraz w ewentualnych zgłoszeniach patentowych.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Boranofosfoniano diestry - badania nad reaktywnością grupy boranowej z N-nukleofilami w obecności różnych czynników utleniających

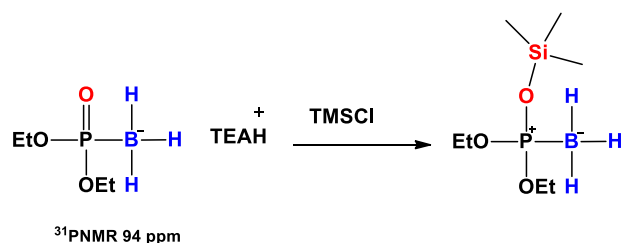
Kierownik zadania: mgr Justyna Gołębiewska

Cel badań

Celem projektu jest przebadanie wpływu tworzenia się układu wiązań typu soli fosfoniowych ($\lambda^4\sigma^4$) na reaktywność centrum boranowego w boranofosfonianach.

Opis realizowanych prac

Celem prowadzonych badań było określenie wpływu tworzenia się układu wiązań typu soli fosfoniowych ($\lambda^4\sigma^4$) na reaktywność centrum boranowego w boranofosfonianach. W pierwszej kolejności przebadano reaktywność boranofosfonianów posiadających trwały układ wiązań typu soli fosfoniowych ($\lambda^4\sigma^4$), powstały w reakcjach boranofosfonianów z chlorkiem trimetylosililu (Rys. 1) oraz chlorkiem dimetoksytrytylu.



Rys. 1. Reakcja borofosfonianu dietylu z chlorkiem trimetylosililu

W następnym etapie tak wygenerowane pochodne poddano reakcji z elementarnym jodem oraz z N-jodoimidem kwasu bursztynowego (NIS). W obu przypadkach obserwowano tworzenie się jodoboranofosfonianów. Reakcje utleniania przebiegały jednak dużo wolniej w porównaniu do analogicznych reakcji prowadzonych na pięciowiązalnych pochodnych boranofosfonianowych diestrów. Wymagały one również większej ilości utleniacza do całkowitego przereagowania substratu. Wprowadzenie alifatycznej aminy do środowiska reakcyjnego powodowało w następnym etapie tworzenie się amidofosforano diestrów. Wstępne badania ukazują, że reaktywność jonów wodorowych ugrupowania -PBH_3 na utlenianie w układach wiązań typu soli fosfoniowych ($\lambda^4\sigma^4$) jest niższa w porównaniu z układem typu $\lambda^5\sigma^4$, czyli pięciowiązalnych pochodnych boranofosfoniano diestrów. Obecnie badany jest wpływ tworzenia się układu wiązań typu soli fosfoniowych ($\lambda^4\sigma^4$) na reaktywność centrum boranowego w boranofosfonianach wobec takich czynników utleniających jak brom cząsteczkowy, NBS oraz NCS, a następnie z takimi czynnikami nukleofilowymi jak np. tiole, aminy aromatyczne czy alkohole.

2. Nowa metoda syntezy B-modyfikowanych pochodnych boranofosfonianów

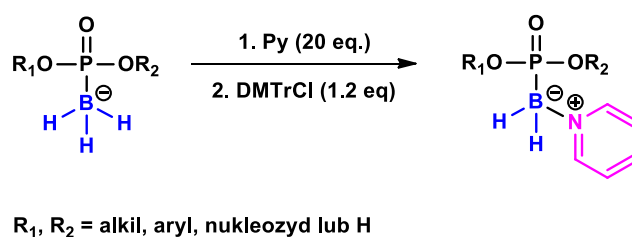
Kierownik zadania: mgr Marta Rachwałak

Cel badań

Celem projektu było sprawdzenie możliwości wykorzystania różnych źródeł kationu trytylowego jako utleniacza grupy boranowej boranofosfonianów, w celu opracowania nowej metody syntezy B-modyfikowanych analogów boranofosfonianów.

Opis realizowanych prac

W trakcie realizowanego projektu opracowana została nowa, wydajna metoda syntezy B-modyfikowanych analogów boranofosfonianów (Rys. 2). Podczas optymalizacji protokołu syntetycznego zbadano użyteczność różnych źródeł kationów trytylowych – utlenianie wodorku grupy boranowej boranofosfonianów zachodziło najwydajniej i najszybciej z wykorzystaniem chlorku dimetoksytrytylu. Sprawdzono również optymalną ilość nukleofila (pirydyny) w tej reakcji oraz najkorzystniejsze środowisko reakcji (rozpuszczalniki polarne vs niepolarne). Początkowo optymalizację metody prowadzono stosując jako substrat prosty alkilowy boranofosfonian diester. Po ustaleniu warunków reakcji, zbadano spektrum możliwości syntetycznych proponowanej metody i testowano jej użyteczność stosując różne strukturalnie boranofosfoniany (analogi alkilowe, aromatyczne oraz nukleozydowe, zarówno diestry, jak i monoestry). Okazało się, że metoda ta pozwala z dobrymi wydajnościami (50-85%) otrzymać pochodne pirydynioboranofosfonianów, zarówno diestrów, jak i monoestrów. Schemat reakcji przedstawiony jest poniżej:



Rys. 2. Ogólna metoda syntezy B-modyfikowanych pochodnych boranofosfonianów, wykorzystująca chlorek dimetoksytrytylu jako utleniacza wodorku

Obecnie badana jest możliwość wykorzystania innych nukleofili w tej reakcji (*N*-nukleofile: pirydyny z podstawnikami elektronoakceptorowymi oraz elektronodonorowymi, aminy trzeciorzędowe, acetamidy; *S*- i *O*-nukleofile). Testowane układy mogą otworzyć drogę do nowych wariantów strukturalnych pochodnych boranofosfonianów.

Projekty

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 dotychczasowych badaniach nad fosforylacją z udziałem *N*-tlenków, zoptymalizowano syntezę nukleozydowych fosfobetain oksyoniowych w układach *H*-fosfonianów diestrów pod kątem rozszerzenia aplikacji tej metody o analogi nukleozydów o znaczeniu biologicznym. Strategię *N*-tlenkowej aktywacji centrum fosforowego zweryfikowano także w szerszej perspektywie organofosforanów P^{III} i P^V . Na tej podstawie zaprojektowano nowe metody otrzymywania fosfobetain w układach *H*-fosfonianów monoestrów i dichlorofosforanów. Efektywność tworzenia fosfobetain w tychże metodach i ich dalszą użyteczność w syntezie analogów nukleotydów

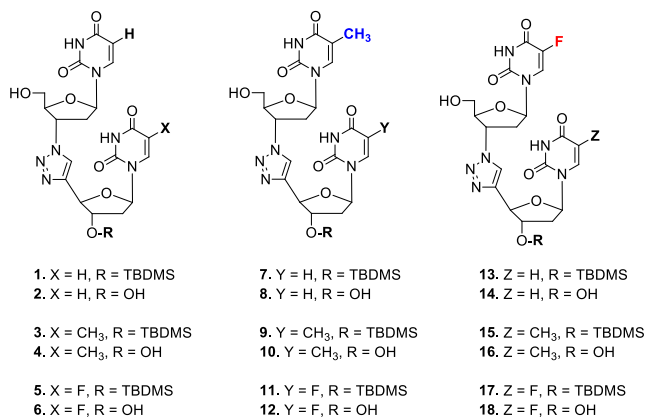
przetestowano dla *N*-tlenków amin alifatycznych, aromatycznych, a także związków o charakterze rodników aminoalkoksyłowych. Zbadano również możliwości dostosowania powyższych strategii dla nukleozydów o znanej aktywności antywirusowej i antynowotworowej (AZT, 3TC i FdU). Najbardziej optymalne układy fosfobetainowe wyselekcjonowano do stworzenia profilu reaktywności tych związków względem różnych *N*-, *O*- oraz *S*-nukleofili, np. amin, azydków, hydrazyn, alkoholi i fosforanów. Odnosząc się do metod syntezy zaproponowanych dla betain oksyoniowych zbadano potencjał tworzenia *P*-chiralnych analogów fosfobetain. Reakcje testowano na siarkowych i selenowych układach *H*-fosfonianów wobec *N*-tlenków amin aromatycznych i alifatycznych. We wstępnych eksperymentach wykazano możliwość otrzymywania reaktywnych *P*-chiralnych betain. Analiza mechanistyczna i stereochemiczna transformacji tych związków wykazała złożoność badanych układów, włączając w to labilność heteroatomu w obrębie zwitterjonowego centrum fosforowego i tworzenie połączeń polifosforanowych.

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

Synteza substancji aktywnych biologicznie, zwłaszcza potencjalnych leków, jest głównym zadaniem chemii medycznej. Celem prezentowanego projektu badawczego było otrzymanie oraz zbadanie aktywności biologicznej nowych dimerów nukleozydów pirymidynowych z krótkim, nienaturalnym pierścieniem 1,2,3-triazolowym. Jako komponentów nukleozydowych w syntezach zaplanowano użycie analogów nukleozydów zajmujących czołowe miejsce w terapii chorób wirusowych (AZT) i nowotworowych (5-FdU). Łączenie interesujących pod względem aktywności biologicznej związków umożliwiła strategia tzw. chemii *click*, a dokładniej – katalizowana jonami miedzi(I) 1,3-dipolarna cykloaddycja Huisgena.



Rys. 3. Przykłady analogów dimerów nukleozydów z krótkim łącznikiem 1,2,3-triazolowym

Wszystkie otrzymane analogi nukleozydów (Rys 3) zostały zbadane na aktywność przeciwwirusową (badania anty-HIV) w Narodowym Instytucie Leków w Warszawie. Wyniki badań cytotoksyczności udowodniły, że związek FAddU nie wykazał cienia toksyczności względem komórek w badanych stężeniach. W przypadku związków: AddU, 5'-alkin Thd, 5'-alkin 5-FdU, 3'-TBDMS-5'-alkin Thd oraz dimerów 7, 9, 11, 17 udało się wyznaczyć CC50, a dla niektórych nawet CC90. W przypadku tych związków, są to stężenia całkowicie nietoksyczne dla komórek. Wyniki aktywności przeciwwirusowej pokazały, że związki: AddU, FAddU, dimer 7 oraz 11 wykazały aktywność przeciwwirusową. Związki zostały także przekazane na zbadanie aktywności cytostatycznej w Zakładzie Neuroonkologii Molekularnej (ICHB PAN). Jednak związki są w trakcie badań i na wyniki eksperymentalne należy poczekać.

3. Nukleozydo difosforany – nowatorska koncepcja pro-nukleotydów anty-HIV; (LIDER) **Kierownik projektu: dr Joanna Romanowska**

Syntetyczne omówienie wyników badań

W 2018 roku opracowano metodę syntezy nowego typu pro-nukleotydów, które w założeniu, podczas rozpadu wewnątrz komórki generować będą pożądany difosforan oraz odpowiednio maskowany (wnosząc tym samym element lipofilowości w projektowanym proleku) fosforan, wywołując w ten sposób większą aktywność biologiczną. W celu syntezy tych związków, w pierwszej kolejności otrzymano serie arylo nukleozydo amidofosforanów, które następnie | w oparciu o opracowaną wcześniej metodę syntezy wprowadzono do cząsteczki nukleozydo 5'-difosforanu. W oparciu o opracowaną w naszym laboratorium nową metodę wprowadzania grupy amidkowej do reszty fosforanowej w nukleotydach, zaprojektowano nukleozydo 5'-difosforany zawierające pierwszorzędową grupę aminową w pozycji α -P difosforanu. W metodzie tej, nukleozydo *H*-fosfonian kondensowano z chlorkiem trimetylosililu (TPSCI) w pirydynie, generując w pierwszym etapie nukleozydo *H*-fosfonianodiester, który poddany reakcji oksydatywnej kondensacji z amidkiem litu wobec jodu, zostawał przekształcony w odpowiednie amidofosforany. W kontekście poprawy właściwości (zwiększona trwałość i lipofilowość) potencjalnych proleków, prowadzono prace nad zastosowaniem boranów BH_3 jako grup maskujących reszty fosforanowe. Nasze badania skupiały się głównie nad syntezą nukleozydo difosforanów, w których grupa boranowa usytuowana jest w pozycji mostkowej P- BH_2 -P. Syntezę ww. pronukleotydów prowadzono wykorzystując właściwość, w której jodoboranofosfoniany ulegają podstawieniu nukleofilowemu na centrum fosforowym. Przeprowadzono również badania trwałości otrzymanych analogów w medium komórkowym wzbogaconym enzymami RPMI/FBS przy użyciu HPLC.

4. Środowiskowe interdyscyplinarne studia doktoranckie w zakresie nanotechnologii; (POWER) – projekt realizowany w konsorcjum; lider projektu: Uniwersytet im. Adama Mickiewicza (kierownik projektu: prof. dr hab. Stefan Jurga), konsorcjanci: ICHB PAN, Instytut Fizyki Molekularnej PAN

Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: dr hab. Michał Sobkowski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Reprezentanci ICHB PAN brali udział w posiedzeniach zespołu koordynującego Projekt. Uzgodniony został udział ICHB PAN w programie studiów. Opracowane zostały tematy zajęć dla doktorantów, które prowadzone będą przez pracowników ICHB PAN. Na zebraniach samodzielnych pracowników naukowych ICHB PAN ustalone zostały tematy prac doktorskich w ramach Projektu, które mogą być realizowane w ICHB PAN i określone zostali potencjalni opiekunowie naukowcy doktorantów. Opracowane zostały zasady rekrutacji i przeprowadzono nabór doktorantów do Projektu. Doktoranci rozpoczęli zajęcia dydaktyczne i prace badawcze.

Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020

5. Interdyscyplinarne studia doktoranckie NanoBioTech; (POWER) – projekt realizowany w konsorcjum; lider projektu: Politechnika Poznańska (lider projektu: prof. dr hab. Teofil Jesionowski), konsorcjanci: ICHB PAN, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: dr hab. Michał Sobkowski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Reprezentanci ICHB PAN brali udział w posiedzeniach zespołu koordynującego Projekt. Uzgodniony został udział ICHB PAN w programie studiów. Opracowane zostały tematy zajęć dla

doktorantów, które prowadzone będą przez pracowników ICHB PAN. Na zebraniach samodzielnych pracowników naukowych ICHB PAN ustalone zostały tematy prac doktorskich w ramach Projektu, które mogą być realizowane w ICHB PAN i określani zostali potencjalni opiekunowie naukowcy doktorantów. Opracowane zostały zasady rekrutacji i przeprowadzono nabór doktorantów do Projektu. Doktoranci rozpoczęli zajęcia dydaktyczne i prace badawcze.

Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020

Publikacje

1. **J. Golebiewska M. Rachwalak, T. Jakubowski, J. Romanowska, J. Stawinski**; Reaction of Boranephosphonate Diesters with Amines in the Presence of Iodine: The Case for the Intermediacy of H-Phosphonate Derivatives; *Journal of Organic Chemistry* 2018, 83, 5496-55054
2. **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* 2018, 144, 682-691
3. A. Troszok, L. Kolek, J. Szczygiel, J. Wawrzeczko, E. Borzym, M. Reichert, T. Kaminska, **T. Ostrowski**, P. Jurecka, M. Adamek, K. Rakus, I. Irnazarow; Acyclovir inhibits Cyprinid herpesvirus 3 multiplication in vitro; *Journal of Fish Diseases*. 2018, 41, 1709-1718
4. M. Sydow, M. Owsiniak, **G. Framski**, M. Wozniak-Karczewska, A. Piotrowska-Cyplik, L. Lawniczak, A. Szulc, A. Zgoia-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* 2018, 147, 157-164
5. A. Parus, A. Wojciechowska, **G. Framski**, D. Radzikowska, W. Koziara, P. Szulc; Effects of quaternary pyridinium ketoximes on germination and growth of maize; *Fresenius Environmental Bulletin* 2018, 27, 1669-1680
6. A. Parus, **G. Framski**; Impact of O-alkyl-pyridineamidoximes on the soil environment; *Science of the Total Environment* 2018, 643, 1278-1284
7. A. Parus, **G. Framski**; Synthesis, characterization, and evaluation of toxicity of quaternary ammonium chlorides of glucose-based ester; *Turkish Journal of Chemistry* 2018, 42, 1095-1104
8. **M. Szlenkier**; Aktywność biologiczna modyfikowanych nukleozydów; Część I. *Wiadomości Chemiczne* 2018, 72, 109-126
9. **M. Szlenkier**; Aktywność biologiczna modyfikowanych nukleozydów; Część II, *Wiadomości Chemiczne* 2018, 72, 245-264
10. **M. Szlenkier**; Aktywność biologiczna modyfikowanych nukleozydów; Część III, *Wiadomości Chemiczne* 2018, 72, 767-787

Prace przyjęte do druku

1. **J. Romanowska, K. Kolodziej, M. Sobkowski, M. Rachwalak, T. Jakubowski, J. Golebiewska, A. Kraszewski, J. Boryski, A. Dabrowska, J. Stawinski**; Aryl H-phosphonates. 19. New anti-HIV pronucleotide phosphoramidate diesters containing amino- and hydroxypyridine auxiliaries; *European Journal of Medicinal Chemistry*, DOI:10.1016/j.ejmech.2018.12.038
2. **L. Michalska, D. Wawrzyniak, A. Szymanska-Michalak, J. Barciszewski, J. Boryski, D. Baraniak**; Synthesis and biological assay of new 2'-deoxyuridine dimers containing a 1,2,3-triazole linker. Part I; *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, DOI:10.1080/15257770.2018.1514122

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Ryszard Kierzek (STATUT)¹¹

Skład osobowy¹²

Pracownicy naukowci:

dr inż. Dorota Magner (STATUT)
dr Marta Szabat (STATUT)
dr Marta Soszyńska-Jóźwiak (STATUT)
dr Paweł Zmora (NCN)

Pracownicy techniczni:

mgr inż. Grażyna Dominiak (STATUT)
dr Joanna Sarzyńska (STATUT)
mgr inż. Rafał Nowak (STATUT)

Doktoranci:

mgr Tomasz Czapik (stypendium KNOW)
mgr Dagny Lorent (stypendium NCN)

Działalność statutowa

XII. Chemiczne i strukturalne uwarunkowania funkcji biologicznych oraz właściwości terapeutycznych kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Ryszard Kierzek, wspólnie z prof. dr hab. Zofią Gdaniec)

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

Cel badań

Celem badań było określenie wpływu 6-tioguanozyny na trwałość termodynamiczną dupleksów RNA.

Opis zrealizowanych prac

Badania dotyczyły wpływu 6-tioguanozyny na trwałość termodynamiczną dupleksów RNA. Tego typu pochodne są często wprowadzane do naturalnych RNA i służą w badaniu oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych RNA oraz oddziaływań RNA z białkami. W modelowych dupleksach RNA 6-tioguanozyna ulokowana była w różnych pozycjach dupleksów, a mianowicie, jako wewnętrzne i terminale pary zasad oraz o pozycjach 5' - i 3'-niesparowanych końców. Dodatkowo, dla wewnętrznych ułożeń 6-tioguanozyny zbadano wpływ na trwałość termodynamiczną różnych ułożeń sąsiadujących par zasad. Badano także, jak na trwałość termodynamiczną dupleksów wpływa tworzenie przez 6-tioguanoznę niesparowań z A, G i U. Wykonano także widma dichroizmu kołowego (CD) dla dupleksów RNA, a dla kilku z nich także widma NMR. Badania wykazały, że obecność 6-tioguanozyny destabilizuje trwałość dupleksów RNA niezależnie od ich ułożenia w stosunku do referencyjnych dupleksów zawierających w tych samych miejscach guanozynę. Widma CD, a szczególnie NMR wykazały, że mimo zastąpienia guanozyny pochodną 6-tioguanozyny jej wpływ na strukturę dupleksów RNA jest niewielki.

¹¹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

¹² Stan na 31.12.2018 r.

Opis najważniejszych osiągnięć

Po raz pierwszy określono wpływ pochodnych 6-tioguanozyny na trwałość termodynamiczną dupleksów RNA. Wykazano, że pomimo zmniejszenia przez 6-tioguanozynę trwałości termodynamicznej regionów dwuniciowych, nie przekłada to się na zaburzenia struktury i oddziaływań w obrębie tych regionów RNA.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki mogą zostać wykorzystane przy projektowaniu oligonukleotydowych narzędzi terapeutycznych, a także podczas badania aktywności katalitycznych rybozymów, zwłaszcza takich, w których aktywność guanozyny w obrębie centrum katalitycznego jest ważna dla ich aktywności.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Optymalizacja układu badawczego do monitorowania alleloselektywnej aktywności antysensowych oligonukleotydów (kontynuacja projektu z 2017 r.)

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 projekcie wyłoniono 3 pary starterów, które efektywnie amplifikowały regiony mRNA SOD1 zawierające SNP. Nie udało się uzyskać zmutowanych wariantów mRNA SOD1 drogą mutagenезy w czasie trwania projektu. W związku z tym, różnicowanie ekspresji wariantów SNP prowadzono wykorzystując konstrukty plazmidowe zawierające jedynie fragmenty mRNA SOD1. Współpraca z dr Joanną Kosman z Pracowni Chemii Bioanalitycznej UAM pozwoliła ulepszyć projektowane sondy zmieniając wygaszacz fluorescencji, co zwiększyło efektywność reakcji qPCR. Dla dziewięciu sond typu FAM-TAMRA korespondujących z wytypowanymi starterami zsyntezowano i oczyszczono ich warianty FAM-BHQ1. Weryfikacja sond pochłonęła większość czasu przeznaczanego na projekt. Model nie został stworzony ze względu na szereg nieoczekiwanych trudności w czasie syntezy i weryfikacji sond oraz pozyskiwania mutantów drogą mutagenезy, jednak zdobyte doświadczenie jest bezcenne w świetle własnego rozwoju naukowego autorki projektu.

2. Opracowanie metody określenia stabilności wiązań fosfodiesterowych RNA z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: dr Marta Soszyńska-Jóźwiak

Cel badań

Celem projektu było opracowanie nowej metody określenia stabilności wiązań fosfodiesterowych z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA.

Opis realizowanych zadań

Prace badawcze prowadzone w 2018 roku były kontynuacją badań rozpoczętych w 2017 roku. Eksperymenty prowadzono z wykorzystaniem genomowego 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) (metoda SHAPE oraz mapowanie chemiczne z zastosowaniem odczynnika DMS oraz CMCT) zestawiono z danymi uzyskanymi z wykorzystaniem indukowanej hydrolizy RNA. Wykazano, iż proces indukowanej hydrolizy RNA zachodzi w labilnych miejscach RNA tzn. pętlach spinek do

włosów, wybrzuszeniach wewnętrznych czy miejscach bezpośrednio sąsiadujących z rejonem jednoniciowym. Pary zasad CA oraz UA znajdujące się w rejonach labilnych RNA były głównym miejscem indukowanej hydrolizy RNA. Dla potwierdzenia związku indukowanej hydrolizy RNA z strukturą drugorzędową RNA wskazano także pary zasad CA, UA w obszarach dwuniciowych, które nie podlegały indukowanej hydrolizie 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 (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: mgr Tomasz Czapik

Cel badań

Celem badań było wyznaczenie wpływu nukleozydów purynowych na strukturę i właściwości termodynamiczne motywu strukturalnego tandemowego niesparowania AG/GA.

Opis realizowanych prac

W projekcie kontynuowanym w roku 2018 zbadano termodynamicznie dupleks samokomplementarny zawierający wewnętrzne niesparowanie AG/GA. W celu wyznaczenia parametrów entalpii, entropii i entalpii swobodnej, wykonano serie pomiarów absorbancji z podgrzewaniem roztworów oligonukleotydów dla różnych stężeń. Wśród modyfikacji wykorzystywanych w projekcie znalazły się modyfikacje guanozyny, w części zasadowej i części cukrowej. Do wykorzystanych modyfikacji należały: 8-bromoguanozyna, guanozyna-LNA, 8-metyloguanozyna-LNA, arabinoguanozyna, 8-bromoarabinoguanozyna, 2'-fluoroarabinoguanozyna, 8-bromo-2'-fluoroarabinoguanozyna, 2'-fluororyboguanozyna, inozyna, izoinozyna, 2,6-diaminopurynorybozyd, 2,6-diaminopuryno-2'-fluoroarabinozyd, purynorybozyd, 2-aminopurynorybozyd, deoksyguanozyna, 8-bromodeoksyguanozyna, izoguanozyna. Dupleksy modyfikowano w dwóch pozycjach sekwencji: w obrębie niesparowania w pozycji G, oraz w parze zamykającej niesparowanie (para GU) w pozycji G. Badania przeprowadzono również na serii zmodyfikowanego dupleksu. Modyfikacja obejmowała połączenie końca 3' jednej nici z końcem 5' drugiej przy pomocy krótkiej – czteronukleotydowej pętli. Taka spinka umożliwiła zbadanie tworzonego dupleksu, ponieważ samokomplementarne nici w niskich stężeniach mają tendencję do tworzenia termodynamicznie stabilnych krótkich spinek. Motyw dupleksu zbadano również pod kątem strukturalnym z wykorzystaniem technik NMR. Rejon iminoprotonowy umożliwi interpretację tworzących się wewnątrz badanego motywu wiązań wodorowych.

4. Niekanoniczne formy DNA i RNA oraz ich właściwości strukturalne i biologiczne (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: dr Marta Szabat

Cel badań

Zadania proponowane w ramach grantu miały na celu określenie właściwości termodynamicznych, strukturalnych oraz biologicznych trypleksów RNA i równoległych dupleksów DNA i RNA.

Opis realizowanych prac

Badania wykonane w ramach projektu przebiegały w dwóch kierunkach, tzn. równolegle przeprowadzono badania trypleksów RNA oraz równoległych dupleksów DNA i RNA. Określono, że modyfikacje chemiczne 2'-O-MeRNA, LNA i 2-tiourydyny oraz L-rybonukleotydy miały duży wpływ na trwałość termodynamiczną oraz zmiany strukturalne zarówno dupleksów DNA i RNA, jak i trypleksów RNA. Ponadto, wielokrotne podstawienie resztami LNA i 2-tiourydyny oraz L-rybonukleotydów wpłynęły korzystnie na zdolność oddziaływania oraz wartość stałej dysocjacji trypleksów RNA. Co więcej, wykazano, że obecności innych biomolekuł w ekstrakcie

cytoplazmatycznym z komórek HeLa nie wpływa w znacznym stopniu na tworzenie się równoległych dupleksów DNA i RNA. Dodatkowo przeprowadzone eksperymenty z wykorzystaniem linii komórkowej HeLa pozwoliły stwierdzić, że modelowe trypleksy RNA mogą wpływać na regulację ekspresji określonego genu. Podsumowując, stwierdzono, że połączenie termodynamicznej analizy topnienia UV, dichroizmu kołowego, spektroskopii fluorescencyjnej oraz metod hodowli komórkowej pozwoliło uzyskać globalny obraz formowania się niekanonicznych struktur DNA i RNA, tj. trypleksów RNA oraz równoległych dupleksów DNA i RNA.

5. Badanie wpływu konformacyjnie zdeterminowanych nukleotydów na aktywność rybozomu typu hammerhead, jako narzędzia biotechnologiczne inhibicji namnażania wirusa grypy

Kierownik zadania: mgr Tomasz Czapik

Cel badań

Celem badań było wyznaczenie wpływu nukleotydów purynowych na właściwości rybozomu hammerhead, który został zaprojektowany tak, by przecinał fragment segmentu 5 wirusa grypy.

Opis realizowanych prac

W badaniach zaprojektowano serię kwasów deoksyrybonukleinowych o właściwościach katalitycznych. Modelowym oligonukleotydem był rybozym hammerhead, który był modyfikowany przez wprowadzenie do jego sekwencji pojedynczych nukleotydów modyfikowanych. Wykorzystane modyfikacje: arabinoguanozyna, 2'-fluoroarabinoguanozyna, 2'-deoksyguanozyna, 8-bromoguanozyna, 8-bromoarabinoguanozyna, 8-bromo-2'-fluoroarabinoguanozyna i 8-bromo-2'-deoksyguanozyna, a w serii UNA: izoguanozyna i urydyna. Modyfikowane pozycje w sekwencji katalitycznego RNA znajdowały się w istotnych dla mechanizmu hydrolizy pozycjach G8 i G12. Modyfikowane zostały również dwie pozycje w pętli nici katalitycznej i pozycja N7. Sekwencja substratu wykorzystywanego w badaniach jest fragmentem sekwencji RNA wirusa grypy. Wybrany fragment znajduje się w 5 segmencie wirusa grypy szczepu A/California/04/2009 (H1N1). Modyfikowane rybozomy hammerhead poddano reakcji w buforze TRIS-HCl pH 7.00, 5 mM chlorku magnezu. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej i analizowano jej przebieg poprzez zatrzymywanie reakcji, a następnie rozdzielanie substratu i produktu na żelu poliakrylamidowym. Żele skanowano przy użyciu PhosphorImagera Fuji. Obrazy ze skanowania żelu korygowano przy użyciu programu MultiGauge, a otrzymane wyniki posłużyły do otrzymania krzywych kinetycznych, dzięki którym wyznaczono stałe szybkości reakcji.

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 końcowe eksperymenty z mapowaniem chemicznym, które mają określić strukturę drugorzędową tworzonych struktur. Dla trzech układów określono strukturę drugorzędową, a w czwartym układzie tworzy się prawdopodobnie kwadrupleks i trwają badania fizykochemiczne, które mają potwierdzić te obserwacje. 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 zamykające

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. Obecnie trwają badania spektroskopowe NMR, które mogą potwierdzić tworzenie się struktur z tandemowym układem AG/GA bez wybrzuszania urydyny. Są to badania bardzo złożone ze względu na konieczność wykonania widm NMR wieloma technikami dwukierunkowymi. Realizując trzecie zadanie badawcze przygotowano kilka oligonukleotydów RNA zawierających w określonych pozycjach reszty guanozyny i wiele różnego typu modyfikacji, które mają stabilizować tworzenie kwadrupeksu i wymuszać jego określoną topologię. Wreszcie, dla realizacji ostatniego zadania badawczego przygotowano konformacyjnie zdefiniowane pochodne guanozyny i wprowadzono je w pozycje G8 i G12 rybozemu typu hammerhead. Określono aktywność katalityczną wielu analogów rybozemu hammerhead zawierających modyfikowane pochodne, osobno w pozycji G8 lub G12.

2. Kotranskrypcyjne fałdowanie vRNA wirusa grypy w obecności antysensowych oligonukleotydów w zainfekowanych wirusem komórkach MDCK. Nowa metoda chemicznego mapowania struktury RNA w oparciu o metodę głębokiego sekwencjonowania; (OPUS)

Kierownik projektu: prof. dr hab. Ryszard Kierzek

Syntetyczne omówienie wyników badań

Badania rozpoczęły się wiosną 2018 r. od opracowania i optymalizacji metody określania struktury drugorzędowej RNA z wykorzystaniem specyficznej degradacji RNA w rejonach jednoniciowych wspomagających działanie poliwinylpirolidonu. Badania prowadzono na segmencie 8 vRNA (vRNA8) wirusa grypy typ A z szczepu California. Wykazano, że degradacji ulegają wiązania CA i UA w rejonach jednoniciowych lub pozycjach terminalnych fragmentów dupleksowych. Wyniki mapowania vRNA są zgodne z określonymi metodami mapowania chemicznego (SHAPE, DMS, CMCT) oraz mapowania enzymatycznego. Prowadzone są prace przygotowawcze do rozszerzenia tych badań na układ *in vivo*, co wymaga przygotowania minireplikonu. Rozpoczęto także badania na vRNA8, mające na celu inhibicję transkrypcji i pozyskanie RNA na wczesnych etapach transkrypcji. Chodzi tu o opracowanie takich metod inhibicji transkrypcji, aby możliwe było określenie struktury niepełnych transkryptów z wykorzystaniem metody głębokiego sekwencjonowania (NGS).

Publikacje

1. **W. Kotkowiak, J. Lisowiec-Wachnicka, J. Grynda, R. Kierzek, J. Wengel, A. Pasternak;** Thermodynamic, Anticoagulant, and Antiproliferative Properties of Thrombin Binding Aptamer Containing Novel UNA Derivative; *Molecular Therapy-Nucleic Acids* 2018, 10, 304-316
2. A. Spasic, S.D. Kennedy, L. Needham, M. Monoharan, **R. Kierzek**, D. H. Turner, D. H. Mathews; Molecular dynamics correctly models the unusual major conformation of the GAGU RNA internal loop and with NMR reveals an unusual minor conformation; *RNA* 2018, 24, 656-672
3. **M. Szabat, E. Kierzek, R. Kierzek;** Modified RNA triplexes: Thermodynamics, structure and biological potential; *Scientific Reports* 2018, 8, 13023
4. **W. Kotkowiak, T. Czapik, A. Pasternak;** Novel isoguanine derivative of unlocked nucleic acid-Investigations of thermodynamics and biological potential of modified thrombin binding aptamer; *Plos One* 2018, 13, e0197835

Prace przyjęte do druku

W. Andralojc, M. Malgowska, J. Sarzynska, K. Pasternak, K. Szpotkowski, R. Kierzek, Z. Gdaniec; Unraveling the structural basis for the exceptional stability of RNA G-quadruplexes capped by a uridine tetrad at the 3' terminus; *RNA*, DOI:10.1261/rna.068163.118

Zakład Biomedycyny Molekularnej

Kierownik Zakładu: p.o. dr Agnieszka Fiszer (STATUT)¹³

Skład osobowy¹⁴

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Marek Napierała, prof. ICHB PAN (0,2 STATUT)
dr Magdalena Woźna-Wysocka (STATUT)
dr Emilia Kozłowska (0,9 STATUT/0,1 NCN)
dr Adam Ciesiołka (NCN)
dr Paweł Świtoński (STATUT, urlop bezpłatny do 30.09.2020 r.)
dr Julia Misiołek (NCN)
dr Magdalena Jazurek-Ciesiołka (NCN)

Pracownicy techniczni:

mgr Teresa Dymarek-Babś (STATUT)
mgr Paula Sobieszczańska (STATUT)

Doktoranci:

mgr Grzegorz Figura (stypendium NCN)
mgr Paweł Joachimiak (stypendium NCN)
mgr Agata Łuzna (stypendium NCN)
mgr Anna Schreiber (stypendium NCN)

Działalność statutowa

IX. Struktura i funkcja kwasów rybonukleinowych oraz ich zastosowania terapeutyczne

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 Agnieszka Fiszer)

Cel badań

Optymalizacja i charakterystyka opracowanego podejścia terapeutycznego z wykorzystaniem reagentów interferencji RNA (RNAi) dla grupy dziedzicznych chorób neurodegeneracyjnych, do których należą choroby poliglutaminowe. Rozwijana jest strategia zmierzająca do selektywnego wyciszenia ekspresji allelu zmutowanego poprzez bezpośrednie 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 2018 uzyskano linie komórkowe o dużym znaczeniu dla realizacji badań. Są linie na bazie ludzkich komórek HEK z indukowalną stabilną ekspresją fragmentu huntingtyny i zestaw linii na

¹³ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

¹⁴ Stan na 31.12.2018 r.

bazie ludzkich komórek neuroblastomy z ekspresją całkowitej ataksyny-3. Ponadto dopracowywano warsztat różnicowania indukowalnych komórek macierzystych (iPSC) w komórki typu neuronalnego.

Opis najważniejszych osiągnięć

Szczegółowo scharakteryzowano działanie potencjalnie terapeutycznych reagentów siRNA w szeregu analiz i w różnych układach modelowych linii komórkowych. Ponadto wykonano pierwsze optymalizacje i eksperymenty podawania wersji syntetycznych oligonukleotydów do modelu mysiego SCA3.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Wyniki zostaną wykorzystane w badaniach mających na celu określenie mechanizmów wy-ciszania genów chorób poliglutaminowych oraz do dalszego rozwijania podejścia terapeutycznego.

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 (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: dr Adam Ciesiołka

Cel badań

Celem tego projektu była próba odróżnienia toksyczności białka od toksyczności RNA w chorobach poliglutaminowych przy wykorzystaniu wysokoprzepustowych, ilościowych badań proteomicznych (metoda iTRAQ).

Opis realizowanych prac

Jako przykład wybrano chorobę SCA3, która spowodowana jest zwielokrotnieniem ciągu CAG w rejonie kodującym genu ATXN3. W tym celu przygotowano cztery monoklonalne, izogeniczne linie komórkowe SH-SY5Y Flp-In™ T-REX™, w których indukowanej ekspresji ulegają transkrypty ATXN3 zawierające powtórzenia CAG o normalnej bądź zmutowanej długości, które ulegają bądź nie ulegają translacji i.e. 20/CAG/START, 20/CAG/STOP, 120/CAG/START oraz 120/CAG/STOP. Po otrzymaniu linii komórkowych zostały one zaindukowane doxycykliną (1 µg/ml) przez 72 godziny, a następnie przy użyciu techniki typu western blot i RT-qPCR przeprowadzono weryfikację jakościową i ilościową powstających białek i/lub RNA. Analizy te potwierdziły powstawanie białek o przewidzianej wielkości oraz pokazały, że ekspresja białek i/lub RNA zachodzi na podobnym poziomie. Następnie przygotowano całkowite lizaty białkowe z linii komórkowych, które trawiono trypsyną i Lys-C, a otrzymane peptydy wyznakowano reagentami iTRAQ 8-plex. Wyznakowane i zmieszane peptydy poddano rozdzielowi na 25 frakcji w gradiencie pH. Każdą z frakcji analizowano na spektrometrze mas. Wstępne bioinformatyczne analizy jakościowe i ilościowe przeprowadzono z użyciem programów Mascot i MaxQuant. Białka o zmienionej ekspresji poddawane były również analizie funkcjonalnej przy użyciu programów STRING, Cytoscape, David oraz Panther.

2. Badanie toksyczności ataksyny trzeciej w zróżnicowanych komórkach SH-SY5Y (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: mgr Grzegorz Figura

Cel badań

Celem badań było zbadanie wpływu ataksyny-3 (zawierającej ciąg 20 CAG lub 120 CAG) na poziom ekspresji αITGA5 w zróżnicowanych stabilnych modelach komórkowych SCA3 linii SH-SY5Y; z ekspresją ataksyny.

Opis realizowanych prac

W celu zróżnicowania komórek SH-SY5Y wybrano najpowszechniej stosowany protokół: dodatek do medium DMEM/F12 10 μ M kwasu retinowego (RA) i obniżenie poziomu FBS-u do 1%, 3% lub 10% przez okres 7 dni. Efektywność różnicowania określano na podstawie oceny morfologii komórek i analizy zmian poziomu ekspresji wybranych markerów neuronalnych za pomocą RT-qPCR. Komórki hodowane w medium do różnicowania z dodatkiem 1% FBS-u zaczęły umierać po trzecim dniu, te hodowane z dodatkiem 3% FBS-u nie wykazywały żadnych morfologicznych oznak różnicowania. Natomiast te w medium z 10% FBS-em wykazywały pierwsze morfologiczne oznaki zróżnicowania, ale osiągnęły zbyt dużą konfluencję, co uniemożliwiło dalsze tworzenie wypustek dendrytycznych. Z tego powodu do różnicowania zastosowano medium z dodatkiem 6% FBS-u i 10 μ M RA. Komórki wykazywały wtedy zmiany morfologiczne jednakże nie posiadały zmienionego poziomu ekspresji markerów neuronalnych. Zastosowano jeszcze zmodyfikowany protokół zaproponowany przez Shipley i wsp. 2016. Populację komórek SH-SY5Y frakcjonowano, aby składała się wyłącznie z komórek typu N. Poddano je różnicowaniu w medium EMEM, z dodatkiem 10 μ M RA i 6% FBS-u inaktywowanego termicznie, którego stężenie obniżono do 3% w 7 dniu. Komórki wykazały niewielkie zmiany morfologiczne, a większość nie przeżyła procedury. Reasumując przetestowano najbardziej powszechne protokoły różnicowania, jednak nie udało się zróżnicować analizowanych linii.

3. Znaczenia interakcji pomiędzy mitochondrium oraz retikulum endoplazmatycznym dla neurodegeneracji w ataksji Friedreicha

Kierownik zadania: dr Julia Misiorek

Cel badań

Zbadanie znaczenia interakcji pomiędzy mitochondrium oraz retikulum endoplazmatycznym dla neurodegeneracji w ataksji Friedreicha.

Opis realizowanych prac

W roku 2018 wykonane zostały pierwsze badania w ramach powyższego projektu. Przygotowano niezbędne protokoły do przeprowadzenia immunobarwień oraz eseju PLA (ang. *proximity ligation assay*) na fibroblastach oraz indukowanych komórkach macierzystych od pacjentów z ataksją Friedreicha. Powyższe komórki utrwalono za pomocą paraformaldehydu i przeprowadzono pierwsze testowe barwienia w celu optymalizacji protokołów. Pilotowe barwienia wykonano przy użyciu odczynników z firmy Abcam. Na tej podstawie zostały wybrane przeciwciała VDAC, IP3R oraz MFN-2, z którymi w następnym etapie przeprowadzone zostaną właściwe barwienia.

Projekty

1. Mechanizmy selektywnego wyciszania genów chorób poliglutaminowych przez nietypowe siRNA; (OPUS)

Kierownik projektu: dr Agnieszka Fiszer

Syntetyczne omówienie wyników badań

Wygenerowano stabilne, monoklonalne linie komórkowe (HEK293 Flp-In T-REx), w których indukowalna ekspresja oparta jest na promotorze dwukierunkowym (BI-16), z którego ekspresji ulega cały egzon1 Huntingtyny z normalną (20CAG) lub zmutowaną (100CAG) liczbą ciągów CAG sprzężony z genem reporterowym NanoLuc Lucyferazy, gen referencyjny Firefly Lucyferazy. Przy użyciu analiz chemiluminescencji i RT-qPCR przeprowadzono precyzyjne badania kinetyki wyciszania egzogenu *HTT* przy użyciu A2 sd-siRNA (działający jak miRNA) oraz HTT siRNA (typowy siRNA). W ww. analizach skupiono się głównie na wydarzeniach, które miejsce mają na

terenie cytoplazmy (wzbogacenie lizatów we frakcję cytoplazmatyczną). Ponadto z użyciem tych linii komórkowych przeprowadzono frakcjonowanie polisomów. W uzyskanych frakcjach wykrywano i ilościowano z użyciem RT-qPCR poziom transkryptu z fragmentem huntingtyny i obserwowano zmianę w jego występowaniu we frakcjach związanych z pojedynczymi podjednostkami rybosomu, monosomem oraz „lekkimi” i „ciężkimi” polisomami.

Do realizacji projektu wykorzystano także ludzkie komórki progenitorów neuronalnych, wyprawdzonych z fibroblastów pochodzących od pacjenta z HD. Do komórek zostały transfekowane siRNA: specyficzny dla huntingtyny i celujący w region powtórzeń trójnukleotydowych: A2. W komórkach określono efektywność i allelo-selektywność wyciszenia ekspresji genu huntingtyny poprzez analizy typu western blot. Wykonano także utrwalenie komórek i w celu mikroskopowej obserwacji pojedynczych cząsteczek transkryptu huntingtyny przeprowadzono na preparatach hybrydyzację typu smFISH.

2. Identyfikacja białek wiążących się do powtórzeń CAG i badanie interakcji RNA-białko w komórkach; (OPUS)

Kierownik projektu: dr Adam Ciesiołka

Syntetyczne omówienie wyników badań

W celu identyfikacji białek wiążących się do wydłużonych powtórzeń CAG lub CUG w komórkach przygotowano stabilne linie (HEK293 Flp-In T-REx), w których ekspresji ulega: białko MS2 z odpowiednią metką umożliwiającą immunoprecypitację (eGFP) oraz transkrypty z różnej długości ciągami powtórzeń CAG lub CUG wraz z sekwencją aptamerów MS2. Po indukcji doksycyliną (1 µg/ml) przez 48 godzin ekspresja obu egzogenów została jakościowo i ilościowo określona przy użyciu analiz immunoblottingu i RT-qPCR. Potwierdzono powstawanie białek o przewidzianej wielkości oraz pokazano, że ekspresja obu egzogenów zachodzi na podobnym poziomie. Obecnie potwierdzamy efektywność wiązania się MS2-eGFP do transkryptów CAG lub CUG sprzężonych z aptamerami MS2 i izolujemy (po frakcjonowaniu komórek) powstające transkrypty wraz ze związanymi z nimi białkami przy użyciu kulek magnetycznych (GFP-Trap). Po zoptymalizowaniu metody utrwalania komórek, a także obróbki obrazów mikroskopowych, zwizualizowano i zliczono transkrypty związane z patogenezą chorób poliglutaminowych w komórkach pozyskanych od pacjentów cierpiących na SCA3, DM1 i HD przy zastosowaniu metody fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* o rozdzielczości pojedynczej cząsteczki (smFISH). W celu opracowania niezależnej metody wizualizacji transkryptu normalnego i zmutowanego (allelo-selektywny smFISH) wykorzystującej pojedyncze różnice w sekwencji nukleotydowej pomiędzy allelami (SNPs), wklonowano i sekwencjonowano oba transkrypty pochodzące z progenitorów neuronalnych otrzymanych z komórek iPSC od pacjentów z HD.

3. Rola mikroRNA w regulacji metabolizmu żelaza w ataksji Friedreicha; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Marek Napierała

Syntetyczne omówienie wyników badań

W roku 2018 wykonany został szereg badań i eksperymentów. Na początku wykonano transdukcję wirusową komórek fibroblastów kontrolnych oraz pochodzących od pacjentów, w celu reprogramowania ich do indukowanych komórek pluripotentnych (iPSC). Wykonano szereg eksperymentów potwierdzających pluripotencję. iPSC zostały poddane edycji genomowej metodą CRISPR/Cas9 w celu usunięcia patologicznych powtórzeń GAA i osiągnięcia efektu terapeutycznego. Wyprowadzone zostały linie monoklonalne, które aktualnie poddawane są szczegółowej walidacji i posłużą jako materiał do różnicowania w kierunku komórek neuronalnych oraz serca, będących głównym obszarem patologii ataksji Friedreicha. Cząsteczki sgRNA, służące do edycji genomowej, zostały przetestowane *in vitro* w komórkach K562 oraz HEK293. W dalszej części

projektu skupiono się na badaniu genów docelowych regulowanych przez cząsteczki niekodującego RNA (tak zwane miRNA), których nadmierna ekspresja występowała w komórkach pacjentów. Potwierdzony został wpływ miRNA-10a-5p na ekspresję genu BDNF, którego normalna ekspresja umożliwia prawidłowe funkcjonowanie progenitorów neuronalnych i formowanie się synaps, a obniżenie jego ekspresji u pacjentów z ataksją Friedreicha najprawdopodobniej ma wpływ na patologię choroby. Dodatkowo wykazano, iż w komórkach pacjentów, które zostały zedytowane za pomocą nukleaz palców cynkowych, poziom BDNF wzrasta. Aktualnie sprawdzana jest również regulacja transkrypcji genu frataksyny za pomocą cząsteczek miRNA.

4. Kompleksowa analiza działania oligonukleotydów jako potencjalnych terapeutyków w chorobach poliglutaminowych; (SONATA)

Kierownik projektu: dr Agnieszka Fiszer

Syntetyczne omówienie wyników badań

Przetestowano oligonukleotydy w modelu komórkowym astrocytów, wyprowadzonych z modelu mysiego SCA3 Ki 21/110 CAG, uzyskanego na bazie wcześniejszego modelu Ki91. Wykonano dostarczanie oligonukleotydów metodą elektroporacji i lipofekcji. Obserwowano skuteczne dostarczenie oligonukleotydów poprzez analizę fluorescencji kontrolnego siRNA. Wybrane oligonukleotydy wyciszały ekspresję ataksyny-3. Powtórzono przetestowanie oligonukleotydów w modelu komórkowym mysich linii komórkowych prekursorów neuronów prążkowiego (ST Hdh, w 3 wariantach: 7/7, 7/111, 111/111 powtórzeń CAG w genie *Htt*). Uzyskano efektywne i selektywne wyciszenie ekspresji zmutowanego genu z użyciem oligonukleotydu A2. Dodatkowo wykonano eksperymenty różnicowania tych komórek do neuronów, wg opisanego w publikacji protokołu (Trettel et al. 2000 *Human Molecular Genetics*).

Zaprojektowano oligonukleotyd do badań *in vivo*, którego bazą jest sekwencja wcześniej stosowanego oligonukleotydu RNA: sd-siRNA A2, a wprowadzone chemiczne modyfikacje obejmują modyfikacje: fosfotio, 2'-fluoro, 2'-Ometylo oraz analog 5'-końcowego fosforanu w postaci grupy winylowej. Oligonukleotyd wprowadzono do mózgu myszy poprzez infuzję z użyciem pompy osmotycznej, przez 7 dni w ilości 80 ug/dzień. Traktowano 3 zwierzęta SCA3 Ki z liczbą powtórzeń 110 lub 150 na zmutowanym allele. Następnie przygotowano lizaty z określonych regionów mózgu, m.in. kory, prążkowiego, mózdzku, mostu pnia mózgu, wzgórza. Wykonano analizy typu western dla określenia poziomu białka ataksyny-3. Porównując z poziomem ataksyny-3 w zwierzętach nietraktowanych oligonukleotydem określono wyciszenie na poziomie 20-30%.

5. Translacja inicjowana na powtórzonych sekwencjach CAG w ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3; (SONATA)

Kierownik projektu: dr Magdalena Jazurek-Ciesiołka

Syntetyczne omówienie wyników badań

Badano wpływ stresu komórkowego na wydajność translacji inicjowanej na powtórzonych sekwencjach CAG (RAN translacji) w modelu komórkowych SCA3. W tym celu komórki HEK293T, w których powstawały białka RAN translacji, były dodatkowo hodowane w obecności tap-sigarginy (indukcja stresu retikulum endoplazmatycznego) oraz w obecności arsenianu sodu (indukcja stresu oksydacyjnego). Wykazano, że zarówno stres retikulum endoplazmatycznego, jak i oksydacyjnego prowadził do istotnego wzrostu poziomu produktów RAN translacji: białka zawierającego wydłużone ciągi poliglutaminowe i polialaninowe. W przypadku translacji zachodzącej w sposób kanoniczny nie zaobserwowano tak znaczących różnic w warunkach indukcji stresu komórkowego. Wzrost wydajności RAN translacji był skorelowany ze wzrostem poziomu fosforylacji czynnika inicjującego translację eIF2 α w pozycji 51, który świadczy o indukcji stresu komórkowego. Proces nieuprawnionej translacji analizowano również w liniach

komórkowych HeLa i neuroblastoma SH-SY5Y transfekowanych przejściowo wektorami umożliwiającymi badanie RAN translacji w modelu choroby SCA3 (długie ciągi powtórzeń CAG, brak kodonu start-AUG). Zaobserwowano, że w przeciwieństwie do komórek HEK293T, RAN translacja w komórkach HeLa i SH-SY5Y zachodzi ze znacząco mniejszą wydajnością.

6. Profilowanie mikroRNA w komórkowych modelach choroby Huntingtona stworzonych z użyciem technologii iPSC; (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: dr Emilia Kozłowska

Syntetyczne omówienie wyników badań

MicroRNA (miRNA) należą do grupy małych, niekodujących RNA, które poprzez niekompletne parowanie z mRNA biorą udział w wyciszaniu ekspresji większości ludzkich genów. Patogeneza wielu chorób, w tym choroby Huntingtona (HD), może wiązać się z zaburzeniami w profilu ekspresji miRNA. Celem projektu jest szczegółowa analiza miRnomu nowych, komórkowych modeli HD. W ramach projektu przeprowadzono indukcję neuronalną w ludzkich indukowanych pluripotentnych komórkach macierzystych (hiPSC), uzyskując zarówno prekursor neuronów, jak i dojrzałe neurony. Wyprowadzone linie posiadają prawidłową morfologię oraz ekspresję markerów właściwych dla tego typu komórek, co potwierdzono metodami barwień ICC oraz qPCR. Podjęto również próbę uzyskania izogenicznych linii iPSC z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas9. Stosując parę nikaz uzyskano heterozygotyczne linie monoklonalne, w których doszło do edycji genomu i nastąpiło wycięcie zmutowanych powtórzeń CAG wraz z sekwencją otaczającą. Stosując strategię z użyciem ssODN i nikaz, próbowano uzyskać linie izogeniczną posiadającą prawidłową ilość powtórzeń. Pierwsze próby nie przyniosły oczekiwanych efektów. W ramach projektu wizualizowano również metodą smFISH transkrypty huntingtyny (HTT) w komórkach neuronalnych wyprowadzonych z iPSC. mRNA HTT jest zlokalizowane głównie w jądrze komórkowym neuronów z endogenną mutacją. Nie stwierdzono obecności skupień RNA w analizowanych komórkach.

7. Ścieżki degradacji transkryptów związanych z chorobami człowieka, których podłożem jest ekspansja sekwencji mikrosatelitarnych; (FUGA)

Kierownik projektu: dr Karolina Drążkowska

Syntetyczne omówienie wyników badań

Badania skupiały się na ocenie skupisk RNA w fibroblastach od pacjentów z dystrofią miotoniczną typu 1 (DM1). Ustalono, że w fibroblastach od pacjentów z ataksją mózdkowo-rdzeniową typu 3 takie skupiska się nie tworzą, podobnie jak w komórkach modelowych Hek293 Flp-In, otrzymanych wcześniej w Zakładzie. W komórkach DM1 z zastosowaniem metody *Fluorescent Hybridization In Situ* (FISH) oraz jej wersji *single molecule* (smFISH), we współpracy z dr. Michałem Michalakiem, zaobserwowano, iż zmutowane transkrypty tworzące skupiska w jądrach komórkowych są pełnej długości (sekwencja kodująca oraz UTR). Kolejną obserwacją był fakt, że wydłużone mRNA w postaci pojedynczych cząsteczek obecne są również w cytoplazmie. Badany był także efekt wyciszenia ekspresji genów kodujących podstawowe egzorybonukleazy jądrowe, to jest DIS3, RRP6, XRN2, na skupienia zmutowanych transkryptów. Nie zaobserwowano jednak zmian w wielkości czy liczbie skupień po wyciszeniu pojedynczego czynnika, ani ich kombinacji. Możliwe, że poziom wyciszenia był za mały, aby umożliwić obserwację potencjalnych zmian. Podjęto próby ilościowania mRNA *DMPK* z komórek DM1, z odróżnieniem ilości transkryptu normalnego i wydłużonego, metodą ilościowego PCR. Przetestowano część z zaprojektowanych zestawów starterów do amplifikacji. Metoda wymaga optymalizacji, część zaplanowanych amplikonów obejmuje UTR, amplifikacja tego obszaru z uwagi na jego sekwencję jest utrudniona.

8. Badanie roli neuronalnej ścieżki PGC-1 α -PPAR δ w patogenezie i terapii choroby Parkinsona; (Mobilność Plus)

Kierownik projektu: dr Paweł Świtoński

Syntetyczne omówienie wyników badań

Badania prowadzone w 2018 roku dotyczyły określenia mechanizmów molekularnych prowadzących do obniżenia poziomu NAD⁺ w mysich i komórkowych modelach ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 7 (SCA7). Wykazano, że obniżenie NAD⁺ prowadzi do wadliwego funkcjonowania deacetylazy SIRT1, co z kolei zaburza poprawne funkcjonowanie ścieżek transkrypcyjnych zależnych od PPAR δ /PGC1 α . Postawiona hipoteza tłumacząca obniżenie poziomu NAD⁺ zakładała hiperaktywację białka PARP1, zużywającego NAD⁺ w swojej aktywności katalitycznej. PARP1 jest enzymem biorącym udział w rozpoznawaniu i naprawie uszkodzeń DNA. W pierwszej kolejności przeprowadzono analizę western blot, wykazując podwyższenie ekspresji PARP1 w mózgdżkach myszy stanowiących model SCA7. Kolejna, funkcjonalna analiza zakładała ekspresję w komórkach SCA7 i kontrolnych fluorescencyjnego białka reporterowego XRCC1, którego akumulacja w miejscach uszkodzeń DNA zależna jest od aktywności PARP1. Następnie jądro komórkowe uszkadzane było lokalnie laserem 405nm i mierzony był stopień akumulacji XRCC1 w miejscu uszkodzenia DNA. Eksperyment ten wykazał, że XRCC1 akumuluje się w większym stopniu w komórkach SCA7 względem komórek kontrolnych, potwierdzając hipotezę hiperaktywacji PARP1. Analiza IF z wykorzystaniem przeciwciała rozpoznającego modyfikację gH2AX będącą markerem uszkodzeń DNA wykazała zwiększony poziom sygnału w komórkowych i mysich modelach SCA7. Wynik ten świadczy o potencjalnych problemach z naprawą uszkodzeń DNA w komórkach SCA7, co tłumaczyłoby hiperaktywację PARP1, prowadzącą do kaskady zaburzeń regulacyjnych i skutkującą obumieraniem neuronów.

Publikacje

1. **T. Witkos, W. J. Krzyzosiak, A. Fiszer, E. Koscińska;** A potential role of extended simple sequence repeats in competing endogenous RNA crosstalk; *RNA Biology* 2018, 15, 1399-1409
2. M. Jakubowicz, W. Nowak, **L. Galganski,** D. Babula-Skowronska; Expression profiling of genes encoding ABA route components in response to dehydration or various light conditions in poplar buds and leaves; *Journal of Plant Physiology* 2018, 223, 84-95
3. J.M. Jaskowski, J. Kmiecik, A. Kierbic, M. Herudzinska, **M. Wozna-Wysocka;** Automatic systems of heat detection in cows as a tool for improving herd management; *Medycyna Weterynaryjna-Veterinary Medicine-Science and Practice* 2018, 74, 434-440
4. **M. Dabrowska, K. Czubak,** W. Juzwa, **W. J. Krzyzosiak, M. Olejniczak, P. Kozłowski;** qEva-CRISPR: a method for quantitative evaluation of CRISPR/Cas-mediated genome editing in target and off-target sites; *Nucleic Acids Research* 2018, 46, e101
5. **M. Dabrowska,** W. Juzwa, **W. J. Krzyzosiak, M. Olejniczak;** Precise Excision of the CAG Tract from the Huntingtin Gene by Cas9 Nickases; *Frontiers in Neuroscience* 2018, 12, 75
6. **M. O. Urbanek, E. Jaworska, W. J. Krzyzosiak;** miRNA motif — A Tool for the Prediction of Pre-miRNA-Protein Interactions; *International Journal of Molecular Sciences* 2018, 19, 4075
7. **M. Olejniczak, A. Kotowska-Zimmer, W. Krzyzosiak;** Stress-induced changes in miRNA biogenesis and functioning; *Cellular and Molecular Life Sciences* 2018, 75, 177-191
8. **M. Olejniczak, A. Fiszer;** Na pograniczu chemii i biologii-sztuka wyboru według Profesora Krzyżosiaka. Wspomnienie o Profesorze Włodzimierzu Krzyżosiaku (1949–2017); *Nauka* 2018, 1, 161-166

Prace przyjęte do druku

A.M. Schreiber, J. Misiorek, J.S. Napierala, M. Napierala; Progress in understanding Friedreich's ataxia using human induced pluripotent stem cells; *Expert Opinion on Orphan Drugs*, DOI:10.1080/21678707.2019.1562334

Wynalazki

Patenty międzynarodowe

Nucleic acid molecule, expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

patent: US 9,970,004 B2 z 15.05.2018 r.

zgłoszenie: US 14/916,039 z 2.03.2016 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak, Marta Olejniczak, Paulina Gałka-Marciniak, Agnieszka Fiszer**

Zgłoszenia międzynarodowe

Nucleic acid molecule expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

zgłoszenie: US 15/954,561 z 16.04.2018 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak, Marta Olejniczak, Paulina Gałka-Marciniak, Agnieszka Fiszer**

Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Marek Figlerowicz (STATUT)¹⁵

Skład osobowy¹⁶

Pracownicy naukowci:

dr Paulina Jackowiak (STATUT)
dr Natalia Koralewska (STATUT)
dr Patrick Perrigue (STATUT)
dr Anna Philips (NCBR)
dr Anna Spinek (0,5 NCN)
dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak (NCN)

Pracownicy techniczni:

dr Magdalena Alejska (STATUT)
mgr Marcin Osuch (STATUT)
prof. dr hab. Andrzej Mackiewicz (0,1 NCBR)
dr hab. Jacek Mackiewicz (0,1 NCBR)
dr hab. Marcin Schmidt (0,2 NCBR)
mgr Katarzyna Tomela (0,5 NCBR)

¹⁵ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

¹⁶ Stan na 31.12.2018 r.

Doktoranci:

mgr inż. Aleksander Strugała (stypendium KNOW)
mgr Magdalena Rakoczy (stypendium KNOW)
mgr Małgorzata Marszałek-Zeńczak (stypendium KNOW)
mgr Katarzyna Kozłowska (stypendium NCN)
mgr Michał Stelmaszczuk (stypendium NCN)
mgr Ireneusz Stolarek (stypendium NCN)
mgr inż. Michał Zeńczak (stypendium NCN)
mgr Cezary Odrzygóźdź (POWER/STATUT)

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)
dr Antonina Lorenz (STATUT)
Hanna Glapiak (0,375 STATUT)
Magdalena Puszczyk (STATUT)

Pracownia Genomiki

Kierownik: dr Luiza Handschuh (0,5 STATUT/0,5 NCBR)

Pracownicy naukowci:

dr Paweł Wojciechowski (0,5 STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Jan Podkowiński (STATUT)
dr Aleksandra Świercz (0,5 STATUT)
dr Agnieszka Żmieńko (0,625 STATUT/ 0,375 NCN)
dr Tomasz Żemojtel (0,1 STATUT)
mgr Marek Milewski (0,5 STATUT/0,5 NCBR)
dr Anna Samelak-Czajka (STATUT)

Działalność statutowa

VIII. 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

Określenie wpływu satelitarnych cząsteczek RNA na odpowiedź rośliny na infekcję wirusem RNA w układzie *Nicotiana benthamiana* – wirus karłowatości orzecha ziemnego (PSV) i jego satRNA.

Opis zrealizowanych prac

Wykonano analizy zebranych dotychczas danych transkryptomicznych pozyskanych z tkanek roślinnych zainfekowanych szczepem wirusa PSV-P, w obecności i pod nieobecność wirusowych satelitarnych cząsteczek RNA. W rezultacie zidentyfikowano geny podlegające ekspresji różni-
cowej.

Opis najważniejszych osiągnięć

Dane wykorzystano do zintegrowanej analizy transkryptów, białek i fosfoprotein występujących u roślin zainfekowanych wirusem, w kontekście ich lokalizacji komórkowej lub połączenia ich funkcji z określonymi komórkami – w celu wskazania przedziałów komórkowych najbardziej

dotkniętych patogenezą. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zakażenie PSV przyczynia się do zmian w liczbie transkryptów i białek związanych z różnymi komórkowymi przedziałami, w tym rybosomami, chloroplastami, mitochondriami, jądrem i cytozolem.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki stanowią kompleksowy wielopoziomowy opis reakcji komórek roślinnych na infekcję wirusową. W konsekwencji dają one podstawy do stworzenia wirtualnego modelu badanego układu i zastosowania podejść systemowych w modelowaniu i przewidywaniu przebiegu infekcji wirusowych u roślin.

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

Cel badań

Poznanie mechanizmów kształtujących ewolucję genów polimeraz RNA zależnych od RNA (RDRP ang. *RNA dependent RNA polymerase*) u roślin: rola duplikacji w ewolucji genu, związek duplikacji ze specjalizacją genu i nabywaniem nowych funkcji, funkcje genów RDRP na poziomie molekularnym oraz w trakcie ontogenezy na przykładzie *A. thaliana*.

Opis zrealizowanych prac

Opracowano filogenezę genów RDRP u roślin, zidentyfikowano wszystkich członków tej rodziny genowej. Opracowano konstrukcje genetyczne do badań funkcji poszczególnych genów RDRP u *A. thaliana* oraz przygotowano konstrukcje genetyczne pozwalające na wydajną, ektopiczną ekspresję trzech genów RDRP *A. thaliana*. Opracowano technologię powtarzalnej, standardowej i wydajnej hodowli *A. thaliana* koniecznej do profilowania ekspresji genów RDRP w trakcie ontogenezy oraz w odpowiedzi na zdefiniowane czynniki środowiskowe.

Opis najważniejszych osiągnięć

Analiza filogenetyczna wskazuje na bardzo wczesne rozdzielenie się genów RDRP na dwa kłady: sub-klad RDRP3 oraz sub-klad obejmujący RDRP1, RDRP2 i RDR6. Podział genów RDRP na te dwie grupy jest związany z powstaniem roślin lądowych (*Embryophyta*) lub może być nawet nieco wcześniejszy od tego wydarzenia. Relacje pomiędzy genami z sub-kladów RDRP1, RDRP2 i RDRP6, zwłaszcza brak genów RDRP1 i RDRP2 u *Marchantia polymorpha* – sugeruje, że te dwa sub-klady wykształciły się z RDRP6 (RDRP4).

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Konstrukcje genetyczne posłużą do badań funkcjonalnych genów RDRP.

3. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej człowieka (prof. dr hab. Marek Figlerowicz, wspólnie z dr hab. Anną Kurzyńską-Kokorniak)

Cel badań

Wykorzystanie *Schmidtea mediterranea* jako systemu modelowego do badania złożonych procesów fizjologicznych i patologicznych zachodzących u człowieka.

Opis zrealizowanych prac

W 2018 r. działania skupiły się na wprowadzeniu wybranego gatunku z typu płazińców (*Schmidtea mediterranea*), jako podstawowego układu modelowego stosowanego w Zakładzie Biologii Molekularnej i Systemowej. Stworzono warunki do hodowli płazińców w afiliowanej przy Zakładzie Pracowni Hodowli Komórkowych i Tkankowych oraz wprowadzono i zoptymalizowano podstawowe metody i techniki eksperymentalne wykorzystywane w badaniach tych organizmów. Wybrano także obszary, w obrębie których realizowane będą prace badawcze i przeprowadzono wstępne eksperymenty.

Opis najważniejszych osiągnięć

Wykazano, że płazińce mogą być z sukcesem stosowane w badaniach patomechanizmów chorób występujących u człowieka.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Na podstawie uzyskanych wyników stworzone zostaną wstępne modele procesu regeneracji oraz wymiany komórek u *S. mediterranea*.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Analiza uszkodzeń DNA pozyskanego z kopalnych szczątków ludzkich (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: mgr Ireneusz Stolarek

Cel badań

Analiza porównawcza stopnia przetrwania oraz wzorów uszkodzeń mitochondrialnego (mtDNA) oraz jądrowego (nuDNA) kopalnego DNA.

Opis realizowanych prac

W roku 2018 sfinalizowano zadania badawcze i sporządzono manuskrypt opisujący główne wyniki badań. Na podstawie analiz DNA izolowanego z kopalnych szczątków ludzkich pochodzących od 211 osobników wykazano, że:

- (i) w próbkach charakteryzujących się wysokim stopniem zdegradowania DNA lepiej przetrwały fragmenty mitochondrialnego niż jądrowego DNA;
- (ii) istnieje związek pomiędzy wiekiem próby a występowaniem DNA w kompleksach z białkami histonowymi;
- (iii) fragmenty mtDNA charakteryzowały się większą akumulacją substytucji niż fragmenty jądrowego nuDNA;
- (iv) regiony kodujące mtDNA kumulują mniej substytucji niż regiony niekodujące;
- (v) najczęstszymi typami substytucji w obu typach sekwencji były tranzycje C>T/G>A;
- (vi) udział tranzycji w ogólnej liczbie substytucji był wyższy we fragmentach mtDNA niż jądrowego DNA;
- (vii) fragmenty jądrowego DNA charakteryzowały się większą liczbą transwersji niż mtDNA;
- (viii) fragmenty mtDNA charakteryzowały się wyższą akumulacją substytucji niezależnie od jedno- lub dwuniciowego kontekstu strukturalnego;
- (ix) wykazano pozytywną korelację między akumulacją uszkodzeń we fragmentach dwuniciowych a długością fragmentu w obu typach DNA;
- (x) stwierdzono, że pęknięcia nici DNA zachodzą najczęściej w bezpośrednim sąsiedztwie puryn.

2. Analiza historii biologicznej populacji ludzkich na podstawie informacji o nierównowadze sprzężeń i imputacji brakujących genotypów

Kierownik zadania: mgr Ireneusz Stolarek

Cel badań

Poznanie historii biologicznej populacji ludzkich na podstawie informacji o nierównowadze sprzężeń genetycznych i imputacji brakujących genotypów oraz wyznaczenie parametrów wpływających na dokładność imputacji genotypów w próbkach kopalnego DNA.

Opis realizowanych prac

Grupę badaną stanowiły osobniki wybrane spośród populacji kopalnych badanych w ramach projektu „Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle zintegrowanych badań historycznych, antropologicznych i genomicznych” oraz dane kopalnych i współczesnych osobników

zdeponowane w publicznych repozytoriach. Dane poddano haplotypowaniu i imputacji genotypów z wykorzystaniem referencyjnego panelu zawierającego ~65 tys. haplotypów. Następnie, na podstawie dostępnych genotypów współczesnych osobników, utworzony został referencyjny zestaw danych charakteryzujący zmienność genetyczną populacji Europy Środkowej i Północnej. Genotypy wybranej grupy referencyjnej zostaną wystandaryzowane (dane pochodzą z różnych platform do genotypowania) oraz poddane analogicznej jak dla osobników kopalnych analizie uwzględniającej haplotypowanie i imputację genotypów. Uzyskane zestawy danych zostały poddane analizie substruktury genetycznej w odniesieniu do współczesnych populacji o przynależności etnolingwistycznej słowiańskiej, germańskiej i nordyckiej oraz wybranych populacji kopalnych. Dodatkowo przeprowadzono kontrolę jakości imputowanych genotypów względem wieku próbki, głębokości pokrycia oraz metody sekwencjonowania.

3. Badanie wnikania i rozprzestrzeniania się modyfikowanych oligonukleotydów w organizmie *Schmidtea mediterranea*

Kierownik zadania: dr Natalia Koralewska

Cel badań

Jedyną techniką stosowaną obecnie do charakterystyki funkcjonalnej genów *S. mediterranea* jest wyciszanie ich ekspresji z wykorzystaniem dwuniciowego RNA (dsRNA) o długości kilkuset par zasad. Brak danych literaturowych na temat zastosowania krótkich (<30 nt) oligonukleotydów powszechnie wykorzystywanych w innych układach badawczych. Celem realizowanego projektu jest zbadanie potencjału krótkich modyfikowanych oligonukleotydów do rozprzestrzeniania się w organizmie wypławka.

Opis realizowanych prac

Wykorzystując oprogramowanie EvOligo (Milewski i wsp. 2017) zaprojektowano sekwencje 3 cząsteczek o długości 12, 16 i 20 nt i zlecono ich syntezę w dwóch wersjach: jako oligonukleotydy posiadające typowe wiązania fosfodiesterowe oraz oligonukleotydy z wiązaniami tiofosforanowymi. Ponadto zdecydowano, że cząsteczki w obu seriach zawierać będą modyfikacje rybozy, które zwiększają trwałość cząsteczek oraz 5-bromouracyd (BrU), która umożliwi ustalenie ich lokalizacji komórkowej/tkankowej metodami immunohistochemicznymi. Równolegle podjęto działania zmierzające do opracowania protokołu wizualizacji oligonukleotydów znakowanych BrU wprowadzanych do organizmu *S. mediterranea*. W tym celu na drodze transkrypcji *in vitro* z wykorzystaniem BrUTP uzyskano znakowany dsRNA. Tak przygotowany dsRNA wprowadzano do światła jelita *S. mediterranea* na drodze iniekcji lub podawano z pokarmem. W wybranych punktach czasowych wypławki były uśmiercane, a ich tkanki utrwalane i poddawane badaniu immunohistochemicznemu. Trwają prace nad optymalizacją protokołu.

4. Opracowanie metody konstrukcji pustych kapsydów BMV z wirusowych białek płaszcza uzyskanych w heterologicznym systemie ekspresyjnym

Kierownik zadania: mgr Aleksander Strugała

Cel badań

Opracowanie szybkiej i wydajnej metody otrzymywania cząstek wirusopodobnych (VLP, ang. *Virus Like Particles*).

Opis realizowanych prac

W ramach projektu przeprowadzono transformację bakterii *E. coli* Rosetta2, wektorami zawierającymi sekwencje kodujące białko płaszcza (CP, ang. *Coat Protein*) wirusa mozaiki stokłosy (BMV, ang. *Brome Mosaic Virus*) oraz jego zmodyfikowaną wersję. Modyfikacja ta miała na celu wzmocnienie struktury VLP, poprzez silniejsze oddziaływania między poszczególnymi CP.

Po udanej transformacji, optymalizowano hodowlę bakterii pod kątem odpowiedniej temperatury oraz stężenia czynnika indukującego produkcję białka. Następnie dopracowywano proces izolacji i oczyszczania CP. W tym celu wykorzystywano lizę komórek przy pomocy ultradźwięków oraz chromatografię jonowymienną. Dalej, CP poddawano ocenie jakościowej i ilościowej. Kolejnym etapem była optymalizacja warunków składania VLP z pojedynczych CP. Aby potwierdzić powstawanie VLP badano homogenność i wielkość powstających cząstek z wykorzystaniem techniki dynamicznego rozpraszania światła (DLS, ang. *Dynamic Light Scattering*). W celu sprawdzenia funkcjonalności VLP, przeprowadzono próby wprowadzenia do ich wnętrza rodaminy oraz tRNA. W obu przypadkach wyniki DLS, a także pomiar stężenia kwasów nukleinowych, nie potwierdziły obecności cząsteczek w VLP. Badania funkcjonalności VLP są kontynuowane. W najbliższym czasie planowane jest przeprowadzenie analiz VLP z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej.

5. Analiza bioinformatyczna kolistych RNA w *Medicago truncatula*

Kierownik zadania: mgr Katarzyna Kozłowska

Cel badań

Scharakteryzowanie puli kolistych RNA w korzeniach, brodawkach korzeniowych oraz innych organach *Medicago truncatula*.

Opis realizowanych prac

Surowe wyniki sekwencjonowania transkryptomów korzeni i brodawek korzeniowych zostały pobrane z bazy danych SRA (SRP058185) opublikowanej przez Jardinaud i współpracowników w 2016 r. Próbkę RNA zbierane były w 2 punktach czasowych (4h i 24h po potraktowaniu czynnikiem NOD). Jako kontrolę zastosowano próbki RNA izolowane z korzeni nieindukowanych czynnikiem NOD. Każda próbka sekwencjonowana była w 3 powtórzeniach biologicznych po 6 powtórzeń technicznych (wyjątkiem są próbki traktowane czynnikiem NOD przez 24h – tylko 2 powtórzenia biologiczne po 6 technicznych). Do identyfikacji kolistych RNA użyty został program CIRI2. Zidentyfikowano 276 kolistych RNA. W poszczególnych próbkach znaleziono od 1 do 23 circRNA wspieranych przez 1 do 23 odczytów. Od 1 do 5 circRNA zostało zidentyfikowanych we wszystkich powtórzeniach technicznych, ale żaden z nich nie był powtarzalny we wszystkich powtórzeniach biologicznych. Niestety liczba zidentyfikowanych kolistych RNA, a także powtarzalność zidentyfikowanych kolistych RNA pomiędzy powtórzeniami biologicznymi i technicznymi jest niewielka, co może być spowodowane zbyt krótkimi odczytami (50 nt, pair end). W następnym etapie badań zamierzamy stwierdzić, czy występują circRNA, które ulegają różnicowej ekspresji pomiędzy korzeniami traktowanymi czynnikiem NOD i nietraktowanymi.

6. Opracowanie metod określania pokrewieństwa na podstawie analiz kopalnego DNA uzyskanego ze szczątków ludzkich

Kierownik zadania: mgr inż. Michał Zeńczak

Cel badań

Adaptacja i integracja istniejących metod analizy genetycznego pokrewieństwa umożliwiającą precyzyjne określenie relacji pomiędzy osobnikami na podstawie kopalnego DNA uzyskanego z ich szczątków.

Opis realizowanych prac

Analizie poddano 41 osobników. Na podstawie wstępnego sekwencjonowania wybrano 20 próbek kopalnego DNA (17 od osobników płci męskiej i 3 od osobników płci żeńskiej), które zawierały powyżej 1% ludzkiego DNA. Dla osobników płci żeńskiej uzyskano zbyt małą ilość danych z tego względu wykluczono je z dalszej analizy. Dla pozostałych osobników męskich określono haplogrupy chromosomu Y (chrY) oraz mitochondrialnego DNA (mtDNA). Z powodzeniem określono haplogrupy chrY dla 16 osobników natomiast tylko dla 5 udało się określić

haplogrupę mtDNA. Dane całogenomowe były dostępne tylko dla 7 spośród 17 osobników męskich. Analiza pokrewieństwa wykazała, że żaden z nich nie był ze sobą genetycznie spokrewniony, co również potwierdzały dane z chrY i mtDNA. Pozostała grupa osobników, dla których istnieje możliwość wystąpienia pokrewieństwa jest nadal w trakcie badań.

7. Jadłospis epoki żelaza – izotopowa charakterystyka paleodiety populacji zamieszkującej tereny dzisiejszej Wielkopolski w okresie panowania rzymskiego

Kierownik zadania: dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak

Cel badań

Rekonstrukcja diety stosowanej przez mieszkańców dzisiejszej Wielkopolski w okresie panowania rzymskiego.

Opis realizowanych prac

Dokonano selekcji materiału kostnego, z którego wyekstrahowano kolagen i poddano analizie składu izotopowego i stosunków izotopowych węgla ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) i azotu ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). Otrzymane dane znormalizowano i przyrównano do standardów. Na podstawie uzyskanych wyników podjęto próbę ustalenia prawdopodobnego składu diety populacji zamieszkujących Wielkopolskę w okresie wpływów rzymskich (I-IV w.). Otrzymane wartości $\delta^{13}\text{C}$ i $\delta^{15}\text{N}$ odłożono na wykresie i przyrównano do wartości dla zwierząt mięsożernych, roślinożernych i wszystkożernych, a także dla ryb słodkowodnych i anadromicznych oraz roślin typu C3 oraz C4. Analiza tychże wykresów pokazała, że ludność zamieszkująca Wielkopolskę w czasach rzymskich, stosowała dość jednolitą dietę, opartą głównie o rośliny z grupy C4 (np. zboża) oraz mięso zwierzęce, głównie zwierząt roślinożernych (np. jeleń, sarna) lub wszystkożernych (np. dzik, świnia). Mały udział w ich diecie miały białka pochodzące z ryb morskich, które okresowo pojawiały się w słodkich wodach rzek (tzw. ryby anadromiczne). Otrzymane wyniki są zgodne z danymi dostępnymi w literaturze. Stanowią one uzupełnienie charakterystyki populacji zamieszkującej Kowalewko, dla której wcześniej otrzymano szereg danych antropologicznych i genetycznych.

Projekty

1. Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle zintegrowanych badań historycznych, antropologicznych i genomicznych; (SYMFONIA) – projekt realizowany w konsorcjum pomiędzy ICHB PAN (lider projektu) i Uniwersytetem im. Adama Mickiewicza w Poznaniu (Wydział Historyczny i Wydział Biologii)

Kierownik projektu: prof. dr hab. Marek Figlerowicz

Syntetyczne omówienie wyników badań

W 2018 roku kontynuowano dotychczas prowadzone prace, tj. zbieranie próbek i sekwencjonowanie kopalnego DNA (aDNA). Pozyskano 134 nowe próbki, w tym 7 od osobników prawdopodobnie pochodzących z rodu piastowskiego. W związku z tym, stan bazy próbek aDNA zwiększył się do 579 próbek: z 3 stanowisk neolitycznych (21 próbek), z 6 stanowisk z okresu wpływów rzymskich (155 próbek), z 25 stanowisk z okresu średniowiecza (359 próbek) oraz z 7 innych stanowisk (44 próbki). Wszystkie nowe próbki poddano sekwencjonowaniu przesiewowemu, próbki o najwyższej zawartości ludzkiego DNA poddano sekwencjonowaniu głębokiemu, a pozostałe wzbogacono zgodnie ze zoptymalizowaną procedurą. 69 próbek wzbogacono w DNA całego genomu ludzkiego, 96 próbek w sekwencje wybranych regionów chromosomu Y, a 9 próbek w sekwencje DNA mitochondrialnego. Wzbogacone próbki poddano głębokiemu sekwencjonowaniu. Dla posiadanych próbek, dokonano analizy autosomalnych SNP celem identyfikacji pochodzenia poszczególnych osobników oraz określenia stopnia homogenności badanych populacji. Ponadto wykonano analizę efektywności wzbogacania w różne fragmenty genomu. Wykazano, że nie dla wszystkich fragmentów konieczne jest wzbogacanie

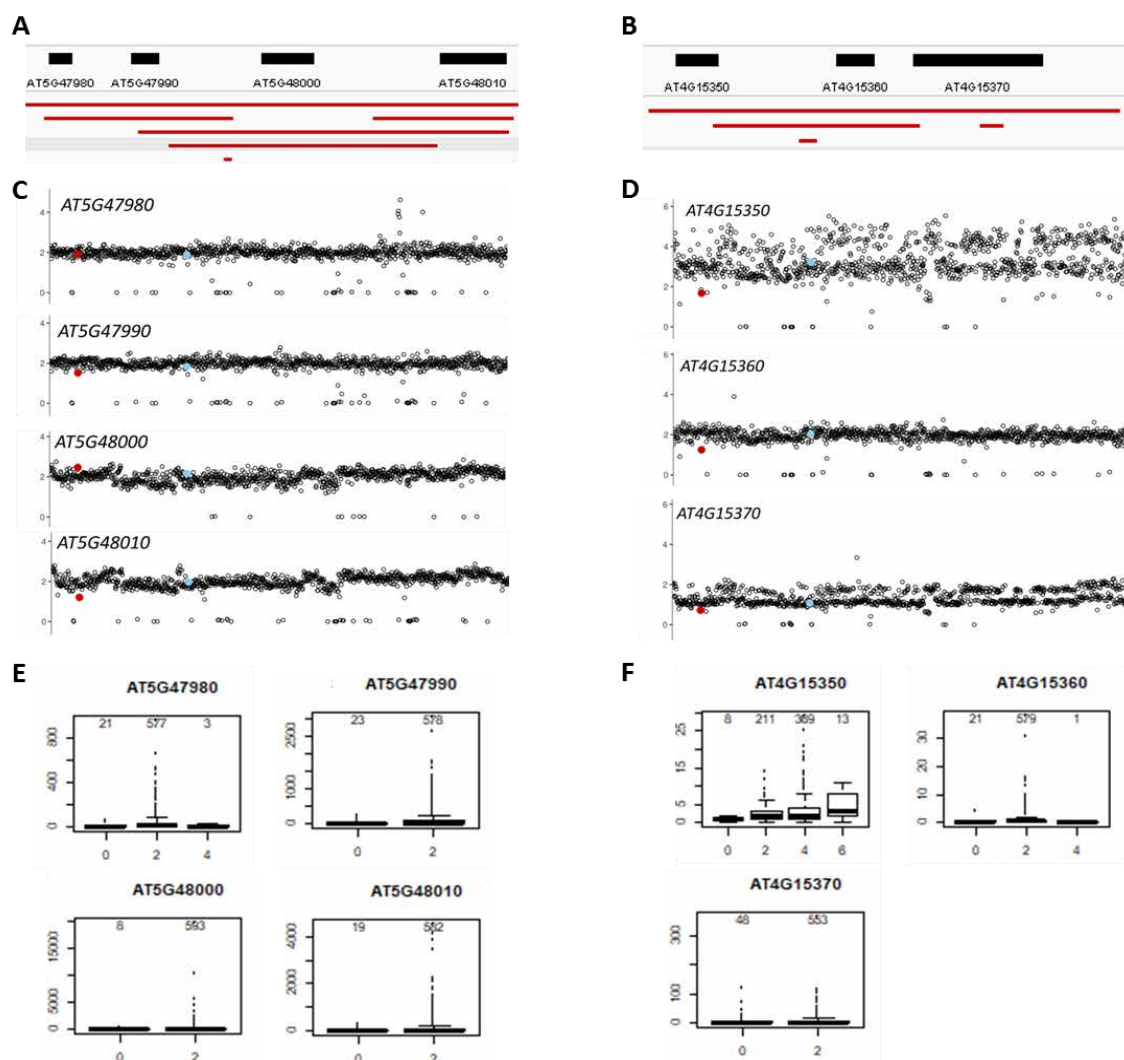
w dwóch rundach, jak sugeruje to protokół. Na podstawie wyników tej analizy został przygotowany draft manuskryptu publikacji. Wyniki analizy 27 próbek z Masłomęcza, datowanego na okres wpływów rzymskich, zostały opisane w manuskrypcie publikacji, który wysłano do czasopisma *Scientific Reports*.

2. Poszukiwanie mechanizmów indukujących polimorfizm liczby kopii dużych fragmentów genomu oraz związków tego zjawiska z tworzeniem i ewolucją metabolicznych klastrów genów; (OPUS)

Kierownik projektu: prof. dr hab. Marek Figlerowicz

Syntetyczne omówienie wyników badań

Na podstawie opracowanej wcześniej mapy regionów wykazujących zmienność liczby kopii (CNV) w genomie *A. thaliana* określono, które warianty CNV obejmują geny klastra biosyntezy talianolu. Zidentyfikowano 5 wariantów CNV, z których jeden obejmował wszystkie geny w klastrze (Rys. 1A). W podobny sposób określono, które z genów przypuszczalnego klastra PEN1/BARS1 mogą podlegać zmienności CNV.



Rys. 1. Zmienność liczby kopii oraz jej wpływ na ekspresję genów klastrów talianolu oraz BARS1 u *A. thaliana*. A, B – zidentyfikowane regiony CNV. C, D – rozkład liczby kopii genów w populacji 1060 ekotypów *A. thaliana*. E, F – poziom ekspresji genów w grupach ekotypów o danej liczbie kopii. Liczbę ekotypów w grupie podano nad poszczególnymi wykresami pudełkowymi. A, C, E – klaster talianolu, B,D,F – klaster BARS1

W przypadku pierwszego z klastrów obserwowano delecje (Rys. 1C), a dla drugiego klastra – zarówno duplikacje jak i delecje jednego lub więcej genów (Rys. 1D). Przebadano również potencjalny wpływ zmienności liczby kopii na ekspresję genów, u około 600 ekotypów (wyniki RNA-Seq). Choć ekspresja genów była ogólnie niska, obserwowano wpływ CNV na jej poziom (Rys. 1E, F). Sugeruje to efekt funkcjonalny obserwowanej zmienności. Określono, że stopień pokrycia badanych genów poprzez regiony CNV wynosi odpowiednio: *AT4G15310*: 0,86; *AT4G15320*: 0,5; *AT4G15330*: 0,00; *AT4G15340*: 0,00; *AT4G15350*: 1,00; *AT4G15360*: 1,00; *AT4G15370*: 1,00; *AT4G15380*: 0,00 oraz *AT4G15390*: 0,00. Zatem potencjalny klaster funkcjonalny podlegający zmienności mógłby zawierać gen *BARS1* (*AT4G15370*) oraz dwa przyległe do niego geny *AT4G15350* i *AT4G15360* (Rys. 1B). W dalszej kolejności określono zakres zmienności (liczbę kopii) badanych genów w populacji 1060 ekotypów *A. thaliana*. W tym celu na podstawie zdeponowanych całogenomowych danych NGS przeprowadzono analizę głębokości pokrycia wybranych sekwencji stosując program do analiz populacyjnych GenomeSTRiP.

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

Kierownik projektu: dr Anna Philips

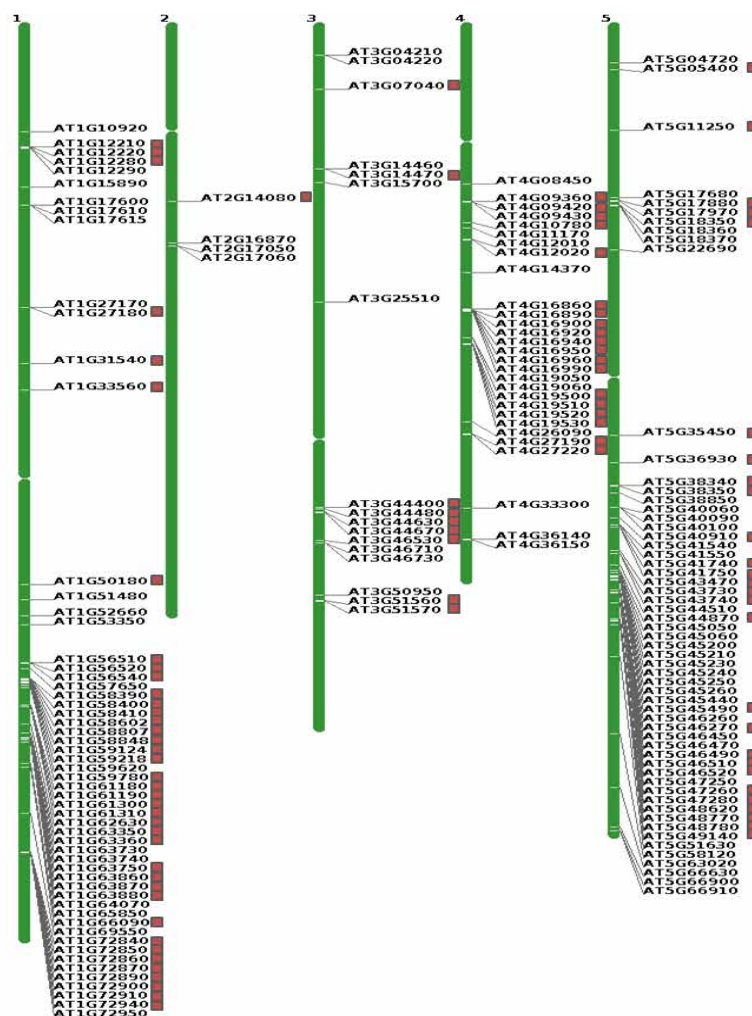
Syntetyczne omówienie wyników badań

Przeprowadzono sekwencjonowanie nowej generacji całkowitego RNA z liści 18 mutantów *Arabidopsis thaliana*, w których wyłączone zostały geny związane z różnymi etapami splicingu, oraz rośliny typu dzikiego tj. Col-0. W otrzymanych danych RNA-seq zidentyfikowano circRNA i wykonano ich szczegółową analizę bioinformatyczną, która miała na celu wykazanie różnic w produkcji circRNA przez poszczególne mutanty. Otrzymane wyniki pośrednio pozwoliły zidentyfikować geny potencjalnie zaangażowane w biogenezę circRNA, co było głównym celem projektu. W porównaniu do Col-0, w którym zidentyfikowano 141 circRNA spełniające zadane kryteria (min 7 odczytów w 2 powtórzeniach biologicznych) 5 mutantów (N66186, N663897, N686494, N683132, N660511) wykazało podwyższoną liczbę różnych circRNA, odpowiednio: 235, 145, 147, 152 i 154 circRNA. Mutant N661863 cechuje się 58 unikalnymi circRNA, nie-zidentyfikowanymi w innych analizowanych próbach. Mutanty N674393 i N686494 miały odpowiednio 1 i 8 unikalnych circRNA. Analiza 10 najliczniejszych unikalnych circRNA wykazała, że sześć z nich produkowane jest przez znane geny *Arabidopsis thaliana* tj.: *AT1G54410* (dehydryna), *AT5G04090* (ligaza t-RNA), *AT3G29390* (wiązanina RNA), *AT2G31902* (funkcja nieznana), *AT5G24165* (funkcja nieznana), *AT4G07390* (komponent membrany), natomiast 4 z nich zostały zidentyfikowane w regionach międzygenowych. Pod względem liczebności circRNA najwięcej znormalizowanych odczytów wspierających miejsce kolistego splicingu zidentyfikowano w N663897 (6240,5) oraz w N661863 (5597,1).

4. Udział polimorfizmu liczby kopii genów w naturalnym zróżnicowaniu odpowiedzi ekotypów *Arabidopsis thaliana* na stres biotyczny; (SONATA)

Kierownik projektu: dr Agnieszka Żmieńko

W ramach realizacji projektu zbierano dostępne dane dotyczące genów *A. thaliana* zaangażowanych w odpowiedź na stres biotyczny. Uzyskana lista genów zostanie wykorzystana do syntezy puli sond oligonukleotydowych służących do wzbogacenia genomowego DNA przed sekwencjonowaniem. Ponadto, korzystając z wcześniej uzyskanych wyników badań własnych, przeanalizowano zmienność liczby kopii genów odporności (R) zawierających domeny NBS-LRR w populacji *A. thaliana*. Uzyskane dotąd wyniki pokazują, że spośród 165 genów NBS-LRR (wg Zhang et al. 2015, Meyers et al. 2003), aż 95 pokrywa się ze zidentyfikowanymi przez nas wcześniej regionami CNV na $\geq 0,9$ długości (Rys. 2) Geny te wyselekcjonowano do pogłębionej charakterystyki pod kątem struktury, ekspresji oraz zakresu zmienności.



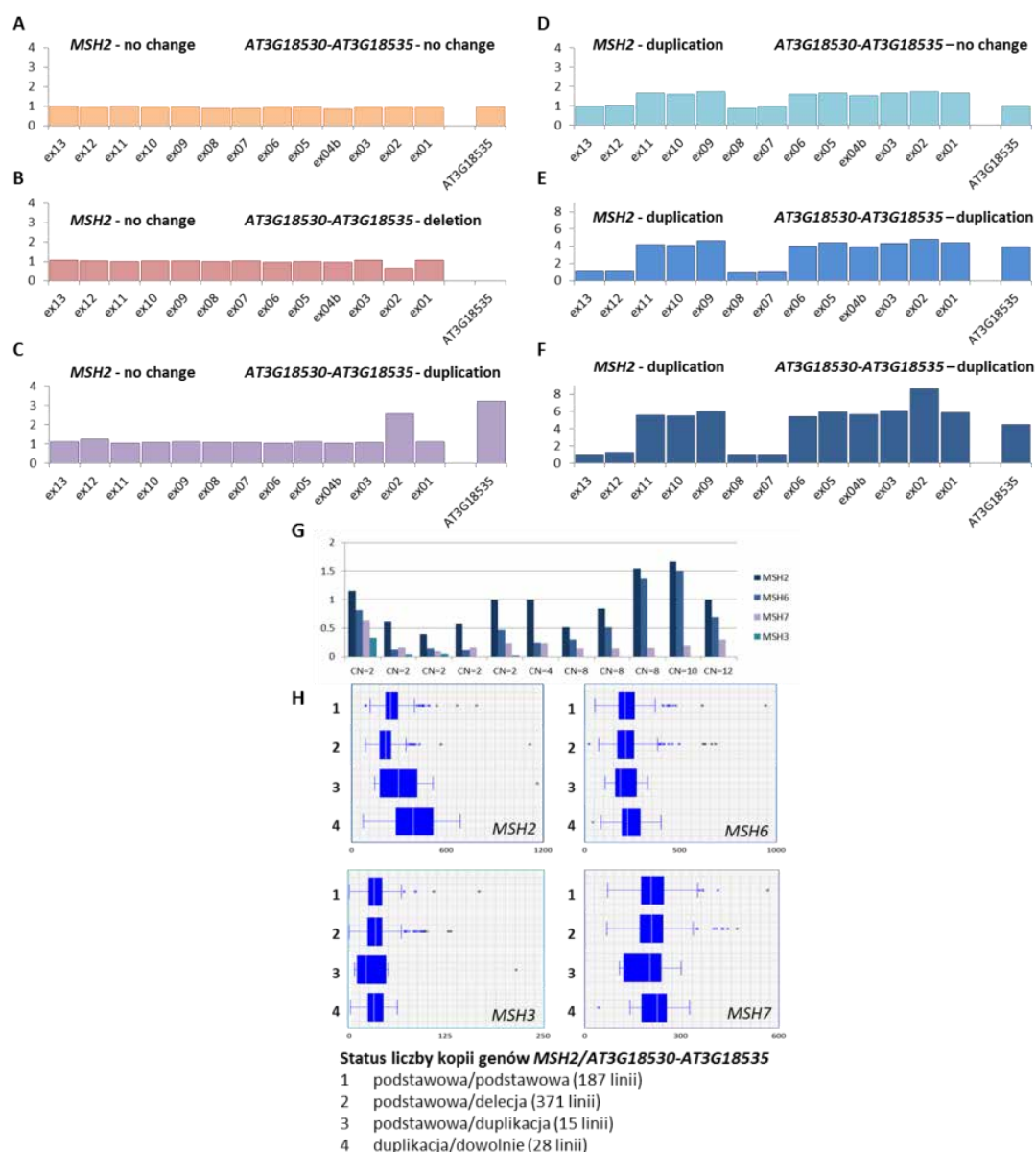
Rys. 2. Geny NBS-LRR w genomie *A. thaliana* podlegające zmienności liczby kopii. Geny pokrywające się z regionami CNV na $\geq 0,9$ długości zaznaczono czerwonymi kwadratami

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 Żmieńko

Syntetyczne omówienie wyników badań

Stosując techniki molekularne oraz bioinformatyczne przebadano ponad 1000 ekotypów *A. thaliana* i ustalono, że częstość duplikacji genu *MSH2* wynosi blisko 3,5%, przy czym nierzadko są to duplikacje wielokrotne. Jednak w żadnym ze zidentyfikowanych przypadków nie obserwowano duplikacji całego genu; eksony 7 i 8 oraz 12 i 13 nie podlegały zwielokrotnieniu (Rys. 3A-F). Częściowe sekwencjonowanie genomowego DNA badanego obszaru pokazało, że rearanżacje liczby kopii *MSH2* są powiązane ze zmiennością liczby kopii sąsiednich genów, *AT3G18530-AT3G18535*. Wykazano zależność pomiędzy liczbą kopii genów *MSH2*, *AT3G18530* i *AT3G18535* a poziomem transkryptu *MSH2* (oraz w mniejszym stopniu innych genów szlaku MMR, *MSH6* i *MSH7*) (Rys. 3G-H). Przyczyną tego może być położenie promotora *MSH2* podlegającego duplikacjom i delecjom niezależnie od duplikacji samego genu *MSH2*, w obszarze podlegającym nieallelicznej rekombinacji homologicznej.



Rys. 3. Zakres duplikacji genu *MSH2* i *AT3G18530-AT3G18535* u *A. thaliana* oraz jej związek z ekspresją genów szlaku MMR. A-F zidentyfikowane wzorce duplikacji w badanym regionie. Na osi y przedstawiono intensywność sygnału MLPA znormalizowaną względem linii Col-0 dla przykładowych linii. G – Analiza ekspresji genów metodą ddPCR dla 11 linii. Wyniki znormalizowano względem genu referencyjnego *BBM1* o ekspresji porównywalnej z *MSH2*. H – Wyniki RNA-Seq dla 601 linii pogrupowanych wg statusu liczby kopii genów *MSH2* i *AT3G18530-AT3G18535*.

6. Polimorfizm liczby kopii genów mikroRNA w populacji naturalnych linii *Arabidopsis thaliana* oraz jego wpływ na potranskrypcyjną regulację ekspresji genów docelowych; (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: dr Anna Samelak-Czajka

Syntetyczne omówienie wyników badań

Porównując informacje o regionach podlegających zmienności liczby kopii w genomie *A. thaliana* (zwanymi dalej regionami CNV), z informacjami o lokalizacji genów mikroRNA (źródło: miRBase, wersja 22), uzyskano wyjściową listę 70 genów mikroRNA potencjalnie podlegających zmienności CNV (nazywanych dalej pCNV-MIR). Analiza konserwatywności wszystkich genów pCNV-MIR wykazała przewagę genów specyficznych dla gatunku *A. thaliana* (53 geny; 76%) i rodzaju

Arabidopsis (9 genów; 13%). Zaledwie 1 gen był konserwatywny w obrębie rodziny *Brassicaceae*, 3 geny (4%) wśród roślin okrytonasiennych, a 4 geny (6%) zidentyfikowano w obrębie różnych gromad roślin zielonych. W dalszej kolejności scharakteryzowano geny pCNV-MIR pod kątem ich lokalizacji w genomie i genomowego kontekstu (obecność w pobliżu genów kodujących białka, transpozonów, sekwencji powtórzonych), występowania w klastrach z innymi genami MIR, genów docelowych dla kodowanych przez nie mikroRNA oraz znaczenia dla różnych procesów rozwojowych i odpowiedzi na stres. Na podstawie uzyskanych informacji wybrano 25 pCNV-MIR, które w pierwszej kolejności poddane zostaną eksperymentalnej weryfikacji zmienności liczby kopii i zaprojektowano dla nich 1 bądź 2 pary starterów do analizy ddPCR oraz amplifikacji PCR połączonej z analizą elektroforetyczną. Ponadto, wykorzystując dane sekwencyjne oraz analizy bioinformatyczne, wszystkie pCNV-MIR poddano genotypowaniu w 1060 ekotypach *A. thaliana*.

7. Analiza eksomów pacjentów z ostrą białaczką szpikową; (MINIATURA)

Kierownik projektu: dr Luiza Handschuh

Syntetyczne omówienie wyników badań

Na matrycy genomowego DNA 38 pacjentów z ostrą białaczką szpikową podtypu M1 i M2 wg klasyfikacji FAB, których proteomy i transkryptomy przebadano wcześniej we współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Poznaniu, przygotowano biblioteki do sekwencjonowania nowej generacji. Biblioteki DNA wzbogacono w sekwencje kodujące białka z zastosowaniem odczynników TruSeq Exome Enrichment Kit (illumina), a następnie poddano sekwencjonowaniu na aparacie HiSeq 2500 Illuminy, w trybie odczytów sparowanych 2 × 100 pz, w firmie Macrogen, Inc. w Korei. Uzyskano średnio ok. 94 mln odczytów na próbkę. Mapowanie do ludzkiego genomu referencyjnego pokazało, że ponad 90% odczytów odpowiada regionom kodującym białka, co świadczy o efektywnym wzbogaceniu wyjściowych bibliotek DNA. Aktualnie trwają analizy, których celem jest identyfikacja wariantów genetycznych (SNP, małych insercji i delecji) w poszczególnych próbkach.

8. Pochodzenie populacji zamieszkujących tereny dzisiejszej Polski w I-IV w.n.e.

– wstępna analiza izotopowa strontu; (MINIATURA)

Kierownik projektu: dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Projekt rozpoczął się w listopadzie 2018 r. Dokonano selekcji próbek do analiz oraz rozpoczęto zbieranie materiału kostnego.

9. Demetylaza histonów JMJD3 jako epigenetyczny regulator procesów senescencji oraz nowotworzenia (SONATA)

Kierownik projektu: dr Patrick Perrigue

Syntetyczne omówienie wyników badań

Starzenie indukowane przez onkogeny (ang. *oncogene-induced senescence*, OIS) to trwałe zatrzymanie proliferacji komórek w odpowiedzi na bodźce związane z ekspresją onkogenów. Z opublikowanych wcześniej raportów wynika, że głównym białkiem efektorowym w OSI jest demetylaza histonu JMJD3. Białko to usuwa grupę metylową z histonu H3 (H3K27me3) powodując nietypowe rozluźnienie chromatyny, a w dalszej konsekwencji wielkoskalowe zmiany w jej strukturze. Wyniki naszych dotychczasowych prac są zgodne z wcześniejszymi obserwacjami. Sugerują bowiem, że jednym z najistotniejszych czynników indukujących OIS jest niezależne od uszkodzeń DNA remodelowanie chromatyny. Wskazują ponadto, że JMJD3 może nie być jedynym czynnikiem odpowiedzialnym za remodelowanie chromatyny, dlatego przeprowadziliśmy nadekspresję innych białek kształtujących strukturę chromatyny (znanych jako *readers*, *writers* oraz *erasers*). Nasza strategia zakłada ektopową ekspresję wybranych genów

w linii komórkowej HEK293T, a następnie barwienie komórek markerem charakterystycznym dla OIS. Transfekcja komórek HEK293T konstruktami DNA pozwoliła nam przetestować 45 genów, w tym kodujących białka zawierających domenę Bromo, grupę PcG (polycomb-group), demetylasy zawierające Jumanji (ang. *jumonji containing, JmjC*), deacetylasy histonów, metyltransferazy DNA oraz dioksygenazy translokacji Teneleven.

10. Mapa Mikrobiomu Polski (POIR) – projekt realizowany w konsorcjum; pomiędzy ICHB PAN (lider projektu) i Ardigen Sp. z o.o.

Kierownik projektu: dr Anna Philips, zastępca kierownika: dr Luiza Handschuh

Syntetyczne omówienie wyników badań

W roku 2018 prowadzono prace przygotowawcze do rozpoczęcia badań i sekwencjonowania mikrobiomów ok. 1000 Polaków, co jest głównym celem projektu. Przygotowano specyfikację serwera do przechowywania otrzymanych danych RNA-seq, a także opracowano procedury zabezpieczenia danych spełniające wymogi ustawy o ochronie danych osobowych. Opracowano protokół poboru materiału biologicznego do badań i protokół izolacji DNA mikroorganizmów. Opracowano ankiety informacyjne zawierające szczegółowe informacje nt. stylu życia, stanu zdrowia, stosowanej diety itp. probantów. Informacje te będą zbierane równolegle z próbami mikrobiomu i posłużą później do badań nad korelacją tych danych (np. wiekiem/dietą/miejscem zamieszkania) i składem mikrobiomu. Opracowane dane zostaną następnie umieszczone w tak zwanej bazie powiązań.

Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjny Rozwój 2014-2020

11. Wkład krajowy na rzecz udziału we wspólnym międzynarodowym przedsięwzięciu pn. European Infrastructure of Open Screening Platforms for Chemical Biology European Research Infrastructure Consortium (EU-OPENSREEN ERIC) – projekt realizowany w konsorcjum „POL-OPENSREEN”; lider projektu: Instytut Biologii Medycznej PAN (kierownik projektu: prof. dr hab. Zbigniew Leśnikowski), konsorcjanci: Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ICHB PAN

Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: prof. dr hab. Marek Figlerowicz, zastępca kierownika: dr Jacek Kolanowski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Projekt realizowany w ramach konsorcjum POL-OPENSREEN, rozpoczął się w połowie 2018 roku i objął 3 Instytuty PAN: Instytut Biologii Medycznej w Łodzi, Instytut Biochemii i Biofizyki w Warszawie i Instytut Chemii Bioorganicznej w Poznaniu. Projekt znajduje się we wstępnej fazie realizacji. Zakłada on stworzenie w ICHB PAN Międzynarodowego Centrum Wysokoprzepustowych Badań Przesiewowych. W wyniku podjętych działań stworzone zostały podstawowe zręby Pracowni Analiz Wysokoprzepustowych (jedna z trzech pracowni wchodzących w skład centrum). Dwie pozostałe są nadal tworzone. Centrum zostało poddane ocenie przez międzynarodowych ekspertów w wyniku czego uzyskało status „partner site” Europejskiego konsorcjum EU-OPENSREEN.

12. ECBiG – 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

Projekt znajduje się we wstępnej fazie realizacji. W 2018 roku zaprojektowano innowacyjne produkty jakie mają zostać wytworzone w ramach jego realizacji. Zgodnie z przyjętym planem

ICHB PAN jako lider konsorcjum zaangażowany będzie w wytworzenie następujących produktów: Genomu referencyjnego mieszkańców Polski, Mapy zmienności genetycznej mieszkańców Polski, Fen-Gen – narzędzia bioinformatycznego do poszukiwania korelacji pomiędzy fenotypem a genotypem, Et-Gen – Mapy zmienności genetycznej wybranych mniejszości zamieszkujących na terenie Polski.

Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020

Publikacje

1. A. A. Mieloch, M. Krecisz, J. D. Rybka, **A. Strugała**, M. Krupinski, **A. Urbanowicz**, M. Kozak, B. Skalski, **M. Figlerowicz**, M. Giersig; The influence of ligand charge and length on the assembly of Brome mosaic virus derived virus-like particles with magnetic core; *AIP Advances* 2018, 8, 035005
2. A. E. Grzegorzewska, L. Niepolski, M. K. Świdarska, A. Mostowska, **I. Stolarek**, W. Warchol, **M. Figlerowicz**, P. P. Jagodzinski; ENHO, RXRA, and LXRA polymorphisms and dyslipidaemia, related comorbidities and survival in haemodialysis patients; *BMC Medical Genetics* 2018, 19, 194
3. A. Szczepaniak, M. Ksiazkiewicz, **J. Podkowinski**, K. B. Czyz, **M. Figlerowicz**, B. Naganowska; Legume Cytosolic and Plastid Acetyl-Coenzyme-A Carboxylase Genes Differ by Evolutionary Patterns and Selection Pressure Schemes Acting before and after Whole-Genome Duplications; *Genes* 2018, 9, 563
4. **L. Handschuh**, M. Kazmierczak, **M. C. Milewski**, **M. Goralski**, **M. Luczak**, M. Wojtaszewska, **B. Uszczynska-Ratajczak**, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **M. Figlerowicz**; Gene expression profiling of acute myeloid leukemia samples from adult patients with AML-M1 and -M2 through boutique microarrays, real-time PCR and droplet digital PCR; *International Journal of Oncology* 2018, 52, 656-678
5. **L. Handschuh**, **P. Wojciechowski**, M. Kazmierczak, **M. Marcinkowska-Swojak**, **M. Luczak**, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **J. Blazewicz**, **M. Figlerowicz**, **P. Kozlowski**; NPM1 alternative transcripts are upregulated in acute myeloid and lymphoblastic leukemia and their expression level affects patient outcome; *Journal of Translational Medicine* 2018, 16, 232
6. **M. Rakoczy**, **I. Femiak**, **M. Alejska**, **M. Figlerowicz**, **J. Podkowinski**; Sorghum CCoAOMT and CCoAOMT-like gene evolution, structure, expression and the role of conserved amino acids in protein activity; *Molecular Genetics and Genomics* 2018, 293, 1077-1089
7. **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* 2018, 55, 3351-3371
8. **I. Stolarek**, A. Juras, **L. Handschuh**, **M. Marcinkowska-Swojak**, **A. Philips**, **M. Zenczak**, A. Debski, H. Kóčka-Krenz, J. Piontek, **P. Kozlowski**, **M. Figlerowicz**; A mosaic genetic structure of the human population living in the South Baltic region during the Iron Age; *Scientific Reports* 2018, 8, 2455
9. A. Obrepalska-Stepłowska, **A. Zmienko**, B. Wrzesinska, **M. Goralski**, **M. Figlerowicz**, J. Zyprych-Walczak, I. Siatkowski, H. Pospieszny; The Defense Response of *Nicotiana benthamiana* to Peanut Stunt Virus Infection in the Presence of Symptom Exacerbating Satellite RNA; *Viruses-Basel* 2018, 10, 449
10. **M. Pisłewska-Bednarek**, R.T. Nakano, K. Hiruma, **M. Pastorczyk**, A. Sanchez-Vellet, 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* 2018, 176, 538-551

11. **J. Blazewicz, M. Kasprzak, M. Kierzynka, W. Frohmberg, A. Swiercz, P. Wojciechowski, P. Zurkowski**; Graph algorithms for DNA sequencing – origins, current models and the future; *European Journal of Operational Research* 2018, 264, 799-812
12. **A. Swiercz, W. Frohmberg, M. Kierzynka, P. Wojciechowski, P. Zurkowski, J. Badura, A. Laskowski, M. Kasprzak, J. Blazewicz**; GRASShopper-An algorithm for de novo assembly based on GPU alignments; *Plos One* 2018, 13, e0202355
13. S. Sopena-Torres, L. Jorda, C. Sanchez-Rodriguez, E. Miedes, V. Escuder, S. Swami, G. Lopez, **M. Pislewska-Bednarek, I. Lassowskat, Y. Gu, S. Haigis, D. Alexander, S. Pattathil, A. Munoz-Barrios, P. Bednarek, S. Sornerville, P. Schulze-Lefert, M.G. Hahn, D. Scheel, A. Molina**; YODA MAP3K kinase regulates plant immune responses conferring broad-spectrum disease resistance; *New Phytologist* 2018, 218, 661-680
14. **A. Strugała, P. Bierwagen, J.D. Rybacka, M. Giersig, M. Figlerowicz, A. Urbanowicz**; BMV propagation, extraction and purification using chromatographic methods; *Bio-Protocol* 2018, 8

Prace przyjęte do druku:

1. **K. Switonska, W. J. Szlachcic, L. Handschuh, P. Wojciechowski, L. Marczak, M. Stelmaszczuk, M. Figlerowicz, M. Figiel**; Identification of Altered Developmental Pathways in Human Juvenile HD iPSC With 71Q and 109Q Using Transcriptome Profiling; *Frontiers in Cellular Neuroscience*, DOI:10.3389/fncel.2018.00528
2. **P. Jackowiak, A. Lis, M. Luczak, I. Stolarek, M. Figlerowicz**; Functional characterization of RNA fragments using high-throughput interactome screening; *Journal of Proteomics*, DOI:10.1016/j.jprot.2018.10.007
3. M. Kroc, G. Koczyk, **K. Kamel, K. Czepiel, O. Fedorowicz-Stronska, P. Krajewski, J. Kosinska, J. Podkowinski, P. Wilczura, W. Swiecicki**; Transcriptome-derived investigation of biosynthesis of quinolizidine alkaloids in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius L.*) highlights candidate genes linked to iucundus locus; *Scientific Reports*

Wynalazki

Patenty międzynarodowe

A composition showing activation-induced cytidine deaminase (AID) activity, a method of preparation of such composition in a bacterial system and use of the composition in the analyses of DNA/RNA amination/deamination and/or methylation/demethylation

patent: EP 2870241 B1 z 14.03.2018 r.

zgłoszenie: EP 14703938.2 z 9.10.2014 r.

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

Patenty krajowe

Zastosowanie molekularnych biomarkerów do oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłonna naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią wywołaną podwyższonym poziomem tiolaktonu homocysteiny we krwi

patent: PL 227930 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 289 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, Luiza Handschuh, Marek Figlerowicz, Tomasz Twardowski, Joanna Suszyńska-Zajczyk**

Sposób określania zmian ekspresji cząsteczek miRNA in vitro w celu oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłonna naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią

patent: PL 227931 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 291 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda**, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, **Luiza Handschuh**, **Marek Figlerowicz**, **Tomasz Twardowski**, Joanna Suszyńska-Zajczyk

Postępowania walidacyjne

patent EP 2870241 został walidowany w 5 krajach (Francja, Dania, Niemcy, Szwajcaria, Wielka Brytania)

Tytuł: *A composition showing activation-induced cytidine deaminase (AID) activity, a method of preparation of such composition in a bacterial system and use of the composition in the analyses of DNA/RNA amination/deamination and/or methylation/demethylation*

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

Zakład Bioinformatyki

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jacek Błazewicz (STATUT)¹⁷

Skład osobowy¹⁸

Pracownicy naukowcy:

- prof. dr hab. Marta Kasprzak (0,5 STATUT)
- prof. dr hab. Piotr Formanowicz (0,5 STATUT)
- dr Agnieszka Rybarczyk (0,5 STATUT)
- dr Karol Kamel (STATUT)
- dr inż. Szymon Wąsik (0,5 STATUT)
- dr Maciej Antczak (0,5 STATUT)
- dr Natalia Szóstak (STATUT)

Pracownicy techniczni:

- dr Piotr Łukasiak (0,5 STATUT)

Działalność statutowa

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

1. Sekwencjonowanie DNA w małej i dużej skali (prof. dr hab. Marta Kasprzak)

Cel badań

Opracowanie nowego algorytmu asemblacji łańcuchów DNA *de novo* o możliwie wysokiej jakości generowanych rozwiązań.

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. Problem ten modelowany jest w środowisku obliczeniowym za pomocą grafów, wśród których wyróżnić można dwa najczęściej stosowane modele: graf dekompozycji oraz graf nałożenia. Pierwszy z modeli jest powszechniejszy i wymaga mniej czasu i pamięci do wykonania obliczeń, natomiast drugi jest uznawany za dokładniejszy. Do realizacji celu wybrany został drugi model

¹⁷ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

¹⁸ Stan na 31.12.2018 r.

grafowy, a czas obliczeń zredukowany został poprzez przeniesienie części algorytmu na procesory graficzne GPU. Opracowany algorytm GRASShopPER zawiera nowe sposoby realizacji poszczególnych etapów przetwarzania danych, w tym: rozbudowane podejście do wykrywania par odczytów, które potencjalnie mogą być sąsiadami w rozwiązaniu, nowy sposób rozwiązywania niejednoznacznych przejść w grafie, nową procedurę wykrywania anomalii w wygenerowanych kontigach.

Opis najważniejszych osiągnięć

Eksperyment obliczeniowy przeprowadzono na danych pochodzących z sekwencjonowania sekwenotomem Illuminy następujących organizmów: *C. elegans*, *H. sapiens* chr. 14 oraz bakterii *Candidatus Microthrix*, a nowy algorytm GRASShopPER porównano z najlepszymi algorytmami asemblacji: SGA, SOAPdenovo2, SPAdes, Velvet, Platanus, asembler Celera. GRASShopPER wygenerował najlepsze jakościowo rozwiązania w sensie powszechnie przyjętych do oceny wskaźników obliczanych narzędziem QUAST.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Nowy algorytm wykorzystywany będzie w praktyce do rozwiązywania instancji problemu asemblacji w sytuacjach, gdy większą wagę przywiązywać się będzie do dokładności wyników niż czasu obliczeń (dłuższego niż dla innych metod).

2. Modelowanie i analiza infekcji wirusowych za pomocą systemów wieloagentowych (prof. dr hab. Jacek Błazewicz)

Cel badań

Badania realizowane w ramach tego zadania miały trzy główne cele:

- (i) Analiza możliwości zastosowania crowdsourcingu w procesie modelowania infekcji wirusowych.
- (ii) Przeprowadzenie kolejnej fazy weryfikacji języka Modelang.
- (iii) Wykorzystanie opracowanych symulatorów wieloagentowych do weryfikacji hipotezy RNA World.

Opis zrealizowanych prac

- (i) W pierwszej fazie projektu przeanalizowano te projekty wykorzystujące crowdsourcing w celu modelowania systemów dynamicznych w biologii (takich jak infekcje wirusowe), które odniosły największy sukces. Są to systemy takie jak: EyeWire, FoldIt i DREAM Challenges. W drugiej fazie przeanalizowano i opisano wyniki własnych badań nad wykorzystaniem gier crowdsourcingowych w celu opracowania modeli systemów dynamicznych. Jednak najważniejszym wynikiem pracy było zdefiniowanie dziesięciu zasad, które powinny być przestrzegane przez wszystkich naukowców chcących wykorzystać crowdsourcing w projektach bioinformatycznych.
- (ii) Zakończenie implementacji rozwijanego od kilku lat języka Modelang służącego do modelowania systemów dynamicznych z wykorzystaniem kontrolowanych języków naturalnych. Do języka Modelang wprowadzono dodatkowe funkcjonalności, których brak zidentyfikowano podczas poprzedniego eksperymentu.
- (iii) Opracowanie modelu wieloagentowego tworzenia błony lipidowej w zgodzie z hipotezą Świata RNA zakładającą, że u podstaw życia na Ziemi leżą samoreplikujące się cząsteczki RNA oraz adaptacja wcześniej przygotowanego symulatora wieloagentowego przeznaczonego do symulowania systemów replikaza-pasożyt, które mogły istnieć na prebiotycznej Ziemi. Aktualnie prowadzone są prace implementacyjne oraz poszukiwane są parametry modelu mające na celu samorzutne kształtowanie się podwójnej błony lipidowej przy pomocy opracowanego modelu wieloagentowego.

Opis najważniejszych osiągnięć

- (i) Opublikowanie artykułu opisującego wyniki przeprowadzonych analiz w czasopiśmie *Foundations of Computing and Decision Sciences*.
- (ii) Ukończenie implementacji oraz weryfikacja języka Modelang.
- (iii) Opracowanie modelu wieloagentowego tworzenia błony lipidowej w zgodzie z hipotezą Świata RNA.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

- (i) Przeprowadzone analizy nakreślają najbardziej obiecujące kierunki dalszych badań.
- (ii) Język Modelang będzie narzędziem umożliwiającym współpracę w zakresie modelowania pomiędzy biologami oraz informatykami.
- (iii) Rozwinięty symulator wieloagentowy może być wykorzystywany do symulowania kolejnych etapów ewolucji biologicznej oraz innych systemów biologicznych.

Publikacje

1. J. Musiał, M. Guzek, P. Bouvry, **J. Blazewicz**; A note on the complexity of scheduling of communication-aware directed acyclic graph; *Bulletin of the Polish Academy of Sciences-Technical Sciences* 2018, 66, 187-191
2. **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* 2018, 264, 799-812
3. **A. Rybarczyk**, A. Hertz, **M. Kasprzak**, **J. Blazewicz**; Tabu search for the RNA partial degradation problem; *International Journal of Applied Mathematics and Computer Science* 2018, 27, 401-415
4. **J. Blazewicz**, B. Moseley, E. Pesch, D. Trystram, G. C. Zhang; New challenges in scheduling theory; *Journal of Scheduling* 2018, 21, 581-582
5. **L. Handschuh**, **P. Wojciechowski**, M. Kazmierczak, **M. Marcinkowska-Swojak**, **M. Luczak**, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **J. Blazewicz**, **M. Figlerowicz**, **P. Kozłowski**; NPM1 alternative transcripts are upregulated in acute myeloid and lymphoblastic leukemia and their expression level affects patient outcome; *Journal of Translational Medicine* 2018, 16, 232
6. **T. Zok**, M. Antczak, M. Zurkowski, **M. Popenda**, **J. Blazewicz**, **R.W. Adamiak**, **M. Szachniuk**; RNApdbee 2.0: multifunctional tool for RNA structure annotation; *Nucleic Acids Research* 2018, 46, W30-W35
7. **A. Swiercz**, W. Frohmberg, M. Kierzyńska, **P. Wojciechowski**, P. Zurkowski, J. Badura, A. Laskowski, **M. Kasprzak**, **J. Blazewicz**; GRASShopper – An algorithm for de novo assembly based on GPU alignments; *Plos One* 2018, 13, e0202355
8. **M. Kasprzak**; Classification of de Bruijn-based labeled digraphs; *Discrete Applied Mathematics* 2018, 234, 86-92
9. D. Formanowicz, **M. Radom**, **A. Rybarczyk**, **P. Formanowicz**; The role of Fenton reaction in ROS-induced toxicity underlying atherosclerosis – modeled and analyzed using a Petri net-based approach; *Biosystems* 2018, 165, 71-87
10. J. Olszak, **M. Radom**, **P. Formanowicz**; Some aspects of modeling and analysis of complex biological systems using time Petri nets; *Bulletin of the Polish Academy of Sciences-Technical Sciences* 2018, 66, 67-78
11. T. Glowacki, A. Kozak, **P. Formanowicz**; Dedicated heuristic for peptide assembly problem; *Current Bioinformatics* 2018, 13, 120-126
12. D. Formanowicz, **A. Rybarczyk**, **P. Formanowicz**; Factors Influencing Essential Hypertension and Cardiovascular Disease Models and Analyzed using Stochastic Petri Nets; *Fundamenta Informaticae* 2018, 160, 143-165

13. A. Kozak, D. Formanowicz, **P. Formanowicz**; Structural analysis of a Petri net model of oxidative stress in atherosclerosis; *IET Systems Biology* 2018, 12, 108-117
14. **M. Radom, P. Formanowicz**; An Algorithm for Sequencing by Hybridization Based on an Alternating DNA Chip; *Interdisciplinary Sciences-Computational Life Sciences* 2018, 10, 605-615
15. D. Formanowicz, K. Gutowska, **P. Formanowicz**; Theoretical studies on the engagement of interleukin 18 in the immuno-inflammatory processes underlying atherosclerosis; *International Journal of Molecular Sciences* 2018, 19, 3476
16. M. Ciemny M. Kurcinski, **K. Kamel**, A. Kolinski, N. Alam, O. Schueler-Furman, S. Kmiecik; Protein-peptide docking: opportunities and challenges; *Drug Discovery Today* 2018, 23, 1530-1537
17. **S. Wasik**, M. Antczak, J. Badura, A. Laskowski, T. Sternal; A survey on online judge systems and their applications; *ACM Computing Surveys* 2018, 51, 3 A
18. D. Mietchen, S. Wodak, **S. Wasik, N. Szostak**, C. Dessimoz; Submit a Topic Page to PLOS Computational Biology and Wikipedia; *Plos Computational Biology* 2018, 14, e1006137
19. **M. Antczak, T. Zok**, M. Osowiecki, **M. Popena, R.W. Adamiak, M. Szachniuk**; RNAfitme: a webserver for modeling nucleobase and nucleoside residue conformation in fixed-backbone RNA structures; *BMC Bioinformatics* 2018, 19, 304
20. **S. Wasik**; Modeling Biological Systems Using Crowdsourcing; *Foundations of Computing and Decision Sciences* 2018, 43, 219-243
21. **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. Țintoiu, A. Ursulescu, J. A. Elefteriades, M. J. Underwood, I. Droc) 2018, 85-89; Elsevier INC.
22. **P. Formanowicz**; Złożoność obliczeniowa problemu poszukiwania podzbiorów tranzycji [w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II (red. A. Świerniak, J. Krystek) 2018, 59-65; Wydawnictwo Politechniki Śląskiej
23. K. Gutowska, **P. Formanowicz**; Algorytm przeszukiwania tabu dla problemu znajdowania podzbiorów kluczowych tranzycji w modelach systemów biologicznych opartych na sieciach Petriego[w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II (red. A. Świerniak, J. Krystek) 2018, 67-74; Wydawnictwo Politechniki Śląskiej
24. **M. Radom, P. Formanowicz**; Symulacja stochastycznych sieci Petriego i jej zastosowanie w analizie systemów biologicznych[w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II (red. A. Świerniak, J. Krystek) 2018, 165-174; Wydawnictwo Politechniki Śląskiej
25. B. Szawulak, **P. Formanowicz**; Dekompozycja sieci jako podstawa do porównywania sieci Petriego[w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II, red. A. (Świerniak, J. Krystek) 2018, 215-222; Wydawnictwo Politechniki Śląskiej

Prace przyjęte do druku:

1. **M. Antczak**, M. Zablocki, T. Zok, **A. Rybarczyk, J. Blazewicz, M. Szachniuk**; RNAvista: a webserver to assess RNA secondary structures with non-canonical base pairs; *Bioinformatics*, DOI:10.1093/bioinformatics/bty609
2. X. Chen, Z. Wang, E. Pesch, M. Sterna, **J. Blazewicz**; Two-machine flow-shop scheduling to minimize total late work: revisited; *Engineering Optimization*, DOI:10.1080/0305215X.2018.1519073
3. **S. Wasik, N. Szostak**, M. Kudla, M. Wachowiak, K. Krawiec, **J. Blazewicz**; Detecting life signatures with RNA sequence similarity measures; *Journal of Theoretical Biology*, DOI:10.1016/j.jtbi.2018.12.018

4. M. Kroc, G. Koczyk, **K. Kamel**, K. Czepiel, O. Fedorowicz-Stronska, P. Krajewski, J. Kosinska, **J. Podkowinski**, P. Wilczura, W. Swiecicki; Transcriptome-derived investigation of biosynthesis of quinolizidine alkaloids in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) highlights candidate genes linked to iucundus locus; *Scientific Reports*

Zakład Biologii Integratywnej

Kierownik Zakładu: dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN (0,2 STATUT/0,3 FNP)¹⁹

Skład osobowy²⁰

Pracownicy naukowcy:

dr Takashi Miki (0,2 STATUT/0,8 FNP)
dr hab. Edyta Kościańska (0,5 STATUT)
dr Jarosław Lewandowski (NCN)
dr Agnieszka Chabowska-Kita (FNP)
dr Daria Sobańska (FNP)

Pracownicy techniczni:

dr Weronika Wendlandt-Stanek (STATUT)

Doktoranci:

mgr Aneta Bilnicka (stypendium NCN)
mgr Alicja Komur (stypendium FNP)
mgr Bogna Juskowiak (stypendium FNP)

Pracownia Analiz Struktur Subkomórkowych

Kierownik: dr hab. Eliza Wyszko, prof. ICHB PAN (0,75 STATUT/0,25 NCN)

Pracownicy naukowcy:

dr hab. Małgorzata Giel-Pietraszuk, prof. ICHB PAN (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska (0,75 STATUT/0,25 NCN)
dr Dorota Gurda (0,75 STATUT/0,25 NCN)

Doktoranci:

mgr inż. Marta Orlicka-Płocka (stypendium KNOW)
mgr Kinga Gwóźdź-Bąk (stypendium NCN)

Pracownia Modelowych Organizmów Zwierzęcych

Kierownik: dr Agata Tyczewska (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Joanna Gracz-Bernaciak (STATUT)
mgr inż. Karol Kołodziejczak (STATUT)

Działalność statutowa

VI. Regulacja posttranskrypcyjna w procesach rozwojowych modelowych organizmów zwierzęcych (dr hab. Rafał Ciosk)

Cel badań

Potraskrypcyjna regulacja informacyjnego RNA (mRNA) ma kluczowe znaczenie dla rozwoju i homeostazy. Większość przypadków tej regulacji obejmuje białka wiążące RNA (RBP). Interesuje

¹⁹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

²⁰ Stan na 31.12.2018 r.

nas wyjaśnienie, w jaki sposób konserwatywne RBP determinują los mRNA oraz w jaki sposób mechanizmy oparte na RBP kontrolują podstawowe procesy biologiczne, takie jak plastyczność rozwojowa lub metaboliczna.

Opis zrealizowanych prac

Stworzono testy do badania czynników regulujących ekspresję szczególnych mRNA w komórkach ssaków. Zbadano również czy potranskrypcyjna regulacja mRNA odgrywa znaczącą rolę w kontroli ekspresji genów podczas tworzenia tzw. brązowego tłuszczu (posiadającego zdolność termogenezy).

Opis najważniejszych osiągnięć

Odkryto, że specyficzne cechy RNA, które pośredniczą w wyciszaniu mRNA przez dwa białka wiążące RNA w *C. elegans*, REGE-1 i RLE-1, również pośredniczą w wyciszaniu przez ludzkie homologi, Regnase-1 i Roquin. Odkrycie to ilustruje konserwatywny związek funkcjonalny między REGE-1 / Regnase-1 i RLE-1 / Roquin.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki zostały częściowo opublikowane w 2018 r. Wyniki dalszych badań zostaną wykorzystane w kolejnych publikacjach pracowników zakładu, a także upowszechnione na konferencjach naukowych.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. The molecular mechanism of rege-1-mediated RNA silencing in fat control

Kierownik zadania: dr Daria Sobańska

Cel badań

Głównym celem badań prowadzonych w ramach projektu jest określenie molekularnego mechanizmu odpowiedzialnego za potranskrypcyjną regulację metabolizmu lipidów. Aby to osiągnąć sprawdzono, czy mechanizm degradacji mRNA *ets-4* jest zachowany ewolucyjnie.

Opis realizowanych prac

Przygotowano wektory reporterowe zawierające geny kodujące dwie lucyferazy, co umożliwiło określenie relatywnej ekspresji badanych konstruktów genowych przez pomiar luminescencji. Wstępne dane wykazały, że fragment RNA *ets-4*, który ulega degradacji przy udziale REGE-1 u *C. elegans* jest również regulowany w komórkach HEK293 przez jego homolog Regnase-1, a także przez białko Roquin, które jak wskazują wcześniejsze badania, współuczestniczy z Regnase-1 w degradacji mRNA. Powyższe wyniki sugerują zachowanie ewolucyjne mechanizmu wyciszania mRNA. Celem kolejnego etapu projektu będzie sprawdzenie, czy istnieją inne białkowe kofaktory niezbędne do degradacji mRNA *ets-4* u *C. elegans*.

2. Examination of adipose RNA metabolism upon temperature fluctuations

Kierownik zadania: dr Agnieszka Chabowska-Kita

Cel badań

Otyłość jest globalnym problemem zdrowotnym, z którym zmagają się ponad 650 milionów ludzi na świecie. Choroba ta rozwija się kiedy ilość energii dostarczanej z pożywienia w znacznym stopniu przewyższa ilość energii wydatkowanej. Biała tkanka tłuszczowa (WAT) odpowiedzialna jest za gromadzenie energii w postaci triacylgliceroli, podczas gdy brązowa tkanka tłuszczowa (BAT) spala energię chemiczną w postaci ciepła w procesie termogenezy bezdrzeniowej. Obniżona temperatura otoczenia zwiększa ilość energii wydatkowanej organizmu poprzez zwiększenie poziomu ekspresji oraz aktywności białka Ucp1 (ang. *Uncoupling protein 1*) w tkance tłuszczowej. Celem projektu była identyfikacja oraz określenie roli wybranych czynników na

regulację metabolizmu RNA, w tym poziom Ucp1, w komórkach tkanki tłuszczowej w warunkach zmieniającej się temperatury otoczenia.

Opis realizowanych prac

W wyniku globalnej analizy ekspresji genów dostępnych w bazie danych GEO wytypowano szereg transkryptów, których poziom zmienia się w zależności od temperatury otoczenia. W dotychczasowym przebiegu badań zoptymalizowano protokół pozyskiwania oraz hodowli pierwotnych linii komórek tłuszczowych pochodzenia mysiego. Następnie określono zmiany w poziomie mRNA wybranych czynników w białych komórkach tłuszczowych poddanych działaniu obniżonej temperatury otoczenia (10°C), norepinefryny oraz isoproterenolu *in vitro*.

3. Deferoxamine, an iron chelator as a potential drug for neuron protection during induced hypothermia

Kierownik zadania: dr Jarosław Lewandowski

Cel badań

Ocena przeżywalności komórek neuronowych w warunkach głębokiej hipotermii. Analiza przeżywalności komórek neuronowych w środowisku beztlenowym. Ocena deferoksaminy jako czynnika ochronnego dla komórek nerwowych poddanych hipotermii, w tym optymalizacja stężenia tego związku oraz przeprowadzenie testów cytotoksyczności.

Opis realizowanych prac

Nadrzędnym celem projektu jest wykazanie ochronnego wpływu chelatora żelaza – deferoksaminy – na komórki nerwowe poddane warunkom beztlenowym w czasie głębokiej hipotermii. W ramach badań opracowano warunki hodowli mysich prekursorów neuronalnych w postaci neurosfer oraz zmodyfikowano protokół ich różnicowania w kierunku neuronów noradrenergicznych w hodowli adherentnej. Uzyskane progenitory neuronalne oraz komórki nerwowe będące efektem różnicowania *in vitro* poddano walidacji pod kątem ekspresji markerów genowych i białkowych. Wybrano najbardziej odpowiedni test oddający negatywny wpływ stresu anoksji i hipotermii na komórki – barwienie jodkiem propidyny. Przeanalizowano w którym okresie 24-godzinnej ekspozycji komórek na stres (brak tlenu, temperatura 10°C, wpływ obu czynników) dochodzi do procesu zamierania neuronów. Przeprowadzono wstępną optymalizację stężenia deferoksaminy pod kątem jej cytotoksyczności w warunkach fizjologicznych (37°C, 5% O₂) i hipotermii (37°C, 5% O₂). Po wytypowaniu właściwego stężenia tego związku zostaną przeprowadzone testy cytotoksyczności w warunkach beztlenowych przy obniżonej temperaturze.

Projekty

1. Rybozyd kinetyny i jego pochodne – analiza właściwości apoptotycznych i mechanizmu działania w komórkach guzów mózgu; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Eliza Wyszko

Syntetyczne omówienie wyników badań

Wykonano dokowanie molekularne pochodnych rybozydu kinetyny (RK) do kinazy adenozyliny (ADK), pierwszego i kluczowego enzymu odpowiedzialnego za przemianę RK w komórce. Na podstawie danych z dokowania wybrano dwie pochodne, które najlepiej pasowały do centrum katalitycznego enzymu (8-aza-RK, 7-deaza-RK), a następnie sprawdzono czy mogą być one substratem dla ADK w reakcji fosforylacji *in vitro*. Wykazano, że obie pochodne są dobrym substratem dla ADK i ulegają katalizowanej przez nią fosforylacji. Przeanalizowano także aktywność biologiczną obu związków w liniach komórkowych glejaka wielopostaciowego (T98G) i nowotworu wątroby (HepG2). Dla każdej z pochodnych wyznaczono wartość IC₅₀,

a następnie przeanalizowano zdolność do indukcji apoptozy i stresu oksydacyjnego. Przeanalizowano również zdolność do hamowania proliferacji komórek w czasie rzeczywistym za pomocą komory xCELLigence.

2. Właściwości przeciwstarzeniowe 4-N-furfurylocytozyny w zróżnicowanych wiekowo komórkach eukariotycznych, drożdżach oraz mysim modelu starzenia; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Eliza Wyszko

Syntetyczne omówienie wyników badań

Analizowano właściwości przeciwstarzeniowe i antyoksydacyjne 4-N-furfurylocytozyny (FC). W tym celu stworzono model badawczy starych ludzkich prawidłowych fibroblastów, które mają ograniczoną zdolność replikacyjną, która maleje wraz z wiekiem komórek. Wpływ FC na linie komórkowe analizowano w trzech zdefiniowanych wiekowo grupach komórek: młodych (do 10 podwojeń populacji), dojrziałych (pomiędzy 11 a 40 podwojeń populacji) oraz dojrziałych (między 41 a 60 podwojeń populacji). Przeanalizowano wpływ FC na proliferację komórek, stres oksydacyjny oraz potencjał błony mitochondrialnej. Wykazano, że FC posiada właściwości proproliferacyjne, antyoksydacyjne oraz usprawnia działanie mitochondriów (podnosi potencjał błony mitochondrialnej). Ponadto wykazano, że FC bardziej indukuje proliferację komórek dojrziałych, niż młodych. Tę samą obserwację potwierdziła analiza potencjału błony mitochondrialnej. Udowodniono, że FC tylko nieznacznie podnosi potencjał błony mitochondrialnej komórek młodych (wzrost o 10%), natomiast u starych komórek zaobserwowano znaczący wzrost potencjału błony mitochondrialnej (o 40%).

3. Cytoplazmatyczne przeszkody na drodze reprogramowania przeznaczenia komórki: od indywidualnych czynników do mechanizmów molekularnych; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Rafał Ciosk

Syntetyczne omówienie wyników badań

Białka LIN41 są ważnymi regulatorami plastyczności komórkowej poprzez kontrolę stabilności lub translacji określonych mRNA. LIN-41 w *C. elegans* indukuje rozpad mRNA po związaniu z 5'UTR, natomiast gdy wiąże się z 3'UTR somatycznych mRNA powoduje inhibicję translacji (Aeschimann i wsp., 2017). W obu przypadkach w wiązaniu z RNA pośredniczy domena NHL, która w białkach LIN41 odpowiedzialna jest za rozpoznawanie struktury RNA typu spinki, natomiast kształt tej struktury determinuje swoistość wiązania RNA (Kumari i wsp., 2018). Oprócz funkcji somatycznych, LIN-41 funkcjonuje w linii zarodkowej, gdzie kontroluje kilka aspektów przejścia od oocyta do zarodka, w tym przeprogramowanie do pluripotencji (Tocchini i wsp., 2014). Niespodziewanie odkryliśmy, że w przeciwieństwie do mechanizmu zakładającego wiązanie RNA, który opisaliśmy ostatnio w komórkach somatycznych (Kumari i wsp., 2018), specyficzność LIN-41 w stosunku do mRNA linii zarodkowej zależy od innego białka wiążącego RNA związanego z LIN-41, a nie struktury RNA typu spinki. Dodatkowo, w przeciwieństwie do komórek somatycznych, stabilność wiązania docelowego mRNA i LIN-41 w linii zarodkowej wydaje się być kontrolowana poprzez ich deadenylację. Zatem LIN-41 przedstawia interesujący przykład wszechstronnego regulatora funkcji RNA, który w zależności od struktury wiążącej RNA i środowiska komórkowego, uruchamia odmienne mechanizmy represji RNA, powiększając swój regulacyjny repertuar.

4. Cell fate plasticity in animal development and tissue homeostasis; (EMBO)

Kierownik projektu: dr hab. Rafał Ciosk

Syntetyczne omówienie wyników badań

Oprócz regulacji poziomu tkanki tłuszczowej w organizmie, REGE-1 jest również ważna dla odporności na zimno (czyli przetrwania ekspozycji w temperaturach bliskich zamarzaniu).

Odkryto, że podobnie jak w kontekście regulacji tłuszczu, gdy ETS-4 ulega nadekspresji w mutantach *rege-1*, zahamowana zostaje odporność na zimno. Co ciekawe, usunięcie ETS-4 u zwierząt typu dzikiego jest wystarczające, aby zapewnić dodatkową odporność na niskie temperatury. Uważamy, że jest to związane z hamowaniem szlaku sygnałowego insuliny i obecnie dążymy do zrozumienia mechanizmów tego zjawiska.

5. Regulation of body fat: from novel mechanisms to therapeutic targets; (TEAM)

Kierownik projektu: dr hab. Rafał Ciosk, zastępca kierownika: dr Takashi Miki

Syntetyczne omówienie wyników badań

W 2018 roku zidentyfikowano konserwatywną RNazę, REGE-1 / Regnase-1, jako nowy czynnik kontrolujący magazynowanie tkanki tłuszczowej w *C. elegans*. REGE-1 kontroluje poziom tłuszczu poprzez wiązanie mRNA kodującego czynnik transkrypcyjny promujący utratę tłuszczu, ETS-4. Pierwsza linia badań ma na celu poznanie mechanizmu degradacji mRNA za pośrednictwem REGE-1. Stwierdziliśmy, że oprócz REGE-1 wyciszanie mRNA wymaga innego białka wiążącego RNA, RLE-1, homologicznego do Roquin u ssaków. Podobnie jak REGE-1 / Regnase-1, RLE-1 / Roquin jest ważnym modulatorem funkcji układu immunologicznego u ludzi. Zaobserwowaliśmy, że elementy RNA, które pośredniczą w wyciszaniu przez REGE-1 i RLE-1 u nicieni, pośredniczą również w wyciszaniu mRNA w komórkach ludzkich przez Regnase-1 i Roquin, co sugeruje zachowanie konserwatywności mechanizmu molekularnego. Obecna praca koncentruje się na zrozumieniu mechanistycznego związku między REGE-1 / Regnase-1 i RLE-1 / Roquin. Równoległe badania mają na celu przeanalizowanie mechanizmu utraty tkanki tłuszczowej za pośrednictwem ETS-4. W odpowiedzi na to, przeprowadziliśmy kompleksową analizę genetyczną w poszukiwaniu czynników hamujących spalanie tkanki tłuszczowej u mutantów *rege-1* (gdzie ETS-4 ulega nadmiernej ekspresji powodując utratę tłuszczu). Wyłoniliśmy jednego znaczącego kandydata, *mrp-1* (transporter z rodziny ABC, pokrewny do ludzkiego białka oporności wielolekowej), którego związek z REGE-1 i metabolizmem tłuszczu staramy się obecnie zrozumieć.

Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020

Publikacje

1. S. Gutnik, Y. Thomas, Y.W. Guo, J. Stoecklin, A. Neagu, L. Pintard, J. Merlet, **R. Ciosk**; PRP-19, a conserved pre-mRNA processing factor and E3 ubiquitin ligase, inhibits the nuclear accumulation of GLP-1/Notch intracellular domain; *Biology Open* 2018, 7, UNSP bio034066
2. P. Kumari, F. Aeschmann, D. Gaidatzis, J. Keusch, P. Ghosh, A. Neagu, **K. Pachulska-Wieczorek**, J. Bujnicki, H. Gut, H. Grosshans, **R. Ciosk**; Evolutionary plasticity of the NHL domain underlies distinct solutions to RNA recognition; *Nature Communications* 2018, 9, 1549
3. C. Fassnacht, C. Tocchini, P. Kumari, D. Gaidatzis, M. B. Stadler, **R. Ciosk**; The CSR-1 endogenous RNAi pathway ensures accurate transcriptional reprogramming during the oocyte-to-embryo transition in *Caenorhabditis elegans*; *Plos Genetics* 2018, 14, e107252
4. **T. Witkos, W. J. Krzyzosiak, A. Fiszer, E. Koscińska**; A potential role of extended simple sequence repeats in competing endogenous RNA crosstalk; *RNA Biology* 2018, 15, 1399-1409
5. A. Switalska, A. Dembska, **A. Fedoruk-Wyszomirska**, B. Juskowiak; Cholesterol-Bearing Fluorescent G-Quadruplex Potassium Probes for Anchoring at the Langmuir Monolayer and Cell Membrane; *Sensors* 2018, 18, 2201
6. **A. Tyczewska, E. Wozniak, J. Gracz, J. Kuczynski, T. Twardowski**; Towards Food Security: Current State and Future Prospects of Agrobiotechnology; *Trends in Biotechnology* 2018, 36, 1219-1229

Wynalazki

Patenty krajowe

Zastosowanie molekularnych biomarkerów do oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłónka naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią wywołaną podwyższonym poziomem tiolaktonu homocysteiny we krwi

patent: PL 227930 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 289 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda**, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, **Luiza Handschuh**, **Marek Figlerowicz**, **Tomasz Twardowski**, Joanna Suszyńska-Zajczyk

Sposób określania zmian ekspresji cząsteczek miRNA in vitro w celu oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłónka naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią

patent: PL 227931 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 291 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda**, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, **Luiza Handschuh**, **Marek Figlerowicz**, **Tomasz Twardowski**, Joanna Suszyńska-Zajczyk

Analog cytozyny i jego zastosowanie w leczeniu chorób związanych z zaburzeniami metylacji DNA

patent: PL 229581 z 3.09.2018 r.

zgłoszenie: P 390 769 z 19.03.2010 r.

Twórcy: **Jan Barciszewski**, **Wojciech T. Markiewicz**, Ewelina Adamska, Beata Plitta, **Małgorzata Giel-Pietraszuk**, **Eliza Wyszko**, Maria Markiewicz, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska**, **Tadeusz Kuliński**, **Marcin K. Chmielewski**

Zakład Biochemii RNA

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka (STATUT)²¹

Skład osobowy²²

Pracownicy naukowci:

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

dr Agata Świątkowska (STATUT)

dr Paulina Żydowicz-Machtel (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr hab. Mariola Dutkiewicz (STATUT)

mgr Martyna Kabacińska (STATUT)

Doktoranci:

mgr Joanna Szpotkowska (stypendium KNOW)

mgr Marta Kasprowicz (stypendium NCN)

mgr Marta Kasprzyk (stypendium NCN)

²¹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

²² Stan na 31.12.2018 r.

Działalność statutowa

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

1. Badanie oddziaływań regionu niekodującego 5'mRNA i ich roli w regulacji ekspresji genu białka p53 (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka)

Cel badań

Badania miały na celu określenie długości i struktury drugorzędowej regionów niekodujących 5' transkryptów mysiego genu *Trp53*. Wyniki miały umożliwić ocenę, w jakim stopniu mysz jest właściwym organizmem modelowym do badań ekspresji genów *p53*.

Opis zrealizowanych prac

Oznaczono miejsca inicjacji transkrypcji genu *Trp53* u myszy za pomocą metody 5'RACE. Porównano sekwencje regionów terminalnych 5' mRNA p53 u ssaków i okazało się, że miejsce inicjacji transkrypcji dla najczęściej występującego w komórce mysiej mRNA jest zasadniczo identyczne z miejscem określonym dla ludzkiego genu *TP53*, natomiast nieznacznie różniło się dla najdłuższych transkryptów mRNA u myszy i ludzi. Określono struktury drugorzędowe regionów terminalnych 5' transkryptu mRNA występującego najczęściej oraz transkryptu najdłuższego w warunkach *in vitro*, a struktura krótszego transkryptu została również zmapowana w transfekowanych komórkach mysich. Porównując modele zaproponowanych struktur drugorzędowych z konserwatywnością sekwencji nukleotydowej regionu terminalnego 5' mRNA u myszy i innych ssaków, przedyskutowano możliwą funkcję wybranych domen strukturalnych tego regionu. W celu wyjaśnienia mechanizmu inicjacji translacji, dwa badane mRNA poddano translacji *in vitro* w obecności wzrastającego stężenia analogu kapu. W przypadku najdłuższego transkryptu mRNA otrzymane wyniki sugerowały, że proces inicjacji translacji zachodzi przy udziale elementu IRES. Dodatkowo, analizowano zmiany w syntezie białka p53 w warunkach stresu genotoksycznego i stresu retikulum endoplazmatycznego w komórkach myszy.

Opis najważniejszych osiągnięć

Zaproponowano modele struktur drugorzędowych regionów niekodujących 5' wybranych transkryptów mysiego genu *Trp53*. Porównano wyniki translacji mysich mRNA p53 z wynikami otrzymanymi wcześniej dla ich odpowiedników izolowanych z komórek ludzkich.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Na tym etapie badań trudno przewidywać sposób wykorzystania uzyskanych wyników.

2. Struktura i funkcja długich niekodujących RNA w komórkach ludzkich (prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka)

Cel badań

Celem realizowanych badań była charakterystyka długich niekodujących RNA występujących w komórkach ludzkich.

Opis zrealizowanych prac

Pierwszym etapem badań, w proponowanym nowym projekcie, była konstrukcja bibliotek długich niekodujących RNA (lncRNA) we współpracy z Europejskim Centrum Bioinformatyki i Genomiki w Poznaniu. Wyizolowana pula totalnego RNA z komórek ludzkich została pozbawiona krótkich fragmentów RNA, następnie długie RNA zostały podzielone na fragmenty o długości około 150 nukleotydów i powielone za pomocą reakcji PCR. Tak skonstruowane biblioteki zostały poddane sekwencjonowaniu w firmie Macrogen (Korea Płd.), które potwierdziło ich wysoką jakość – ponad 50 mln odczytów dla każdej z użytych komórek ludzkich: macierzystych, normalnych oraz nowotworowych. Analiza bioinformatyczna wyników została przeprowadzona

podczas stażu mgr M. Kasprowicz w Earlham Institute w Norwich w grupie dr W. Haerty. Stwierdzono zróżnicowaną ekspresję długich niekodujących RNA w modelowych komórkach ludzkich. lncRNA oznaczony w bazach danych pod numerem ENST00000516869.1. został znaleziony w komórkach macierzystych oraz nowotworowych nerek. Zwiększona ekspresja tego lncRNA została także potwierdzona w przypadku innych nowotworów (Gu X. i wsp. (2017) Oncotarget 8, 69995-70005). Podobne wyniki uzyskano dla lncRNA ENST00000363046.1. Natomiast dla lncRNA ENST000006085 21.5 stwierdzono jego najwyższą ekspresję w embrionalnych oraz pochodzących z dorosłego człowieka komórkach nerek. Badania te będą kontynuowane w 2019 roku. Zamierzamy zbadać ekspresję wybranych lncRNA w innych komórkach oraz poznać ich rolę w rozwoju tych komórek.

Opis najważniejszych osiągnięć

Stwierdzono zróżnicowaną ekspresję długich niekodujących RNA w komórkach ludzkich.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Na tym etapie badań trudno przewidywać sposób wykorzystania uzyskanych wyników.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Określenie efektywności syntezy izoform białek p53 – Δ133p53 i Δ160p53 oraz mechanizmu inicjacji translacji zachodzącej z kodonów AUG3 i AUG4 w warunkach komórkowych **Kierownik zadania: dr Paulina Żydowicz-Machtel**

Cel badań

W obrębie intronu 4 ludzkiego genu *TP53* znajduje się miejsce inicjacji transkrypcji P2. Transkrypt ten koduje dwie izoformy białka p53: Δ133p53, syntetyzowanej od kodonu AUG3 oraz Δ160p53 inicjowanej od kodonu AUG4. Badania wykazały, że translacja w warunkach *in vitro* może zachodzić tylko z kodonu AUG3 dla izoformy Δ133p53, natomiast translacja z kodonu AUG4 dla Δ160p53 nie jest inicjowana lub zachodzi z bardzo niską efektywnością. Celem zadania badawczego było określenie efektywności syntezy izoform Δ133p53 oraz Δ160p53 w warunkach komórkowych, a także zbadanie przebiegu inicjacji translacji obydwu izoform. Zważywszy na postulowaną, szczególnie ważną rolę obydwu izoform w procesie nowotworzenia, istotne jest, aby dokładnie zbadać mechanizmy ich syntezy w warunkach komórkowych.

Opis realizowanych prac

Na podstawie wyników badań, prowadzonych metodą western blot z wykorzystaniem przeciwciała specyficznego dla peptydu FLAG, możliwa będzie analiza porównawcza efektywności syntezy obydwu izoform białka p53 w warunkach komórkowych. Określone zostanie, czy w warunkach komórkowych zachodzi translacja z kodonu AUG4 dla izoformy Δ160p53. Dodatkowo planowane jest zbadanie, w jaki sposób przebiega inicjacja syntezy obydwu izoform w komórce, w procesie zależnym od IRES czy też zależnym od kapu na końcu 5' mRNA. Badania są kontynuowane.

Projekty

1. Wpływ niekodujących RNA na rozwój komórek nerek oraz karcinogenezę; (OPUS) **Kierownik projektu: dr hab. Jan Wrzesiński, prof ICHB PAN**

Syntetyczne omówienie wyników badań

W roku 2018 zostały skonstruowane biblioteki niekodujących RNA (ncRNA) pochodzących z komórek macierzystych BG01V, embrionalnych HEK 262, izolowanych z dorosłego osobnika HK 2 oraz komórek nowotworowych A 498, przy czym utworzono oddzielnie biblioteki dla długich

oraz krótkich niekodujących RNA (sncRNA). Głębokie sekwencjonowanie oraz analiza bioinformatyczna, we współpracy z dr. M. Szymańskim z Zakładu Biologii Obliczeniowej Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza, przeprowadzona została dla trzech typów sncRNA: miRNA, piRNA, tRF. Wyniki analizy bioinformatycznej wykazały ich zróżnicowaną ekspresję w modelowych układach komórkowych. Uzyskane rezultaty potwierdzono stosując technikę hybrydyzacji typu Northern ze znakowaną izotopem ^{32}P sondą DNA komplementarną do sekwencji piRNA. Ponadto, stosując technikę PCR w czasie rzeczywistym stwierdzono także występowanie w komórkach nerek zasocjowanych z piRNA białek Piwi. Jest to szczególnie interesująca obserwacja, ponieważ pokazuje występowanie piRNA wraz z białkami w komórkach somatycznych, a nie tylko, jak dotychczas uważano, wyłącznie w komórkach płciowych. Obecnie trwają badania nad wyjaśnieniem roli piRNA i białek Piwi w rozwoju komórek nerek z wykorzystaniem technik interferencji RNA. Ponadto stwierdzono, że 5' fragmenty wybranych izoakceptorowych tRNA występują preferencyjnie w różnych komórkach nerek: tRFGly(GCC) w komórkach embrionalnych i nowotworowych, natomiast tRFGly(CCC) w komórkach nowotworowych oraz w komórkach normalnych.

2. 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

Kontynuowano identyfikację białek wiążących się do regionów terminalnych 5' głównych transkryptów mRNA p53 z zastosowaniem chromatografii powinowactwa do RNA i ekstraktów komórkowych. W roku 2017 wykorzystano do tego celu komórki MCF-7 hodowane w warunkach kontrolnych i warunkach stresu genotoksycznego oraz chromatografię powinowactwa do oligomerów: P0-ΔNp53 RNA i P1-ΔNp53 RNA. W 2018 roku prace te rozszerzono na komórki HT29 oraz komórki HepG2 hodowane w warunkach kontrolnych i stresu genotoksycznego, generowanego przez doksorubicynę. Otrzymane frakcje białkowe wiążące się do RNA zostały poddane analizie metodą spektrometrii mas w Środowiskowym Laboratorium Spektrometrii Mas Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie. Zidentyfikowano szereg białek wiążących się do regionów terminalnych 5' głównych transkryptów mRNA p53. W celu określenia zależności aktywności p53 od obecności jednego ze zidentyfikowanych białek, białka HRNK P, przeprowadzono serie eksperymentów z wyciszonym genem *HRNP K* w obecności wybranych czynników stresowych. Następnie monitorowano poziom białka p53 metodą western blot. Prace te są kontynuowane. Ponadto przygotowano manuskrypt publikacji, który został przyjęty do druku w czasopiśmie *RNA Biology*.

Publikacje

- 1. P. Zydowicz-Machtel, A. Swiatkowska, L. Popena, A. Gorska, J. Ciesiolka;** Variants of the 5'-terminal region of p53 mRNA influence the ribosomal scanning and translation efficiency; *Scientific Reports* 2018, 8, 1533
- 2. M. Dutkiewicz, J. Ciesiolka;** Form confers function: Case of the 3' X region of the hepatitis C virus genome; *World Journal of Gastroenterology* 2018, 24, 3374-3383
- 3. J. Ciesiolka, J. Wrzesinski;** Regulacja aktywności katalitycznej rybozymów HDV oraz deoksyrybozymów za pomocą antybiotyków i jonów metali; *Wiadomości Chemiczne* 2018, 7-8, 397-415

Prace przyjęte do druku

J. Szpotkowska, A. Swiatkowska, J. Ciesiolka; Length and secondary structure of the 5' non-coding regions of mouse p53 mRNA transcripts – mouse as a model organism for p53 gene expression studies; *RNA Biology*, DOI:10.1080/15476286.2018.1556084

Zakład Biomolekularnego NMR

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

Skład osobowy

Pracownicy naukowcy:

dr Daniel Baranowski (STATUT)

dr Dorota Gudanis (STATUT)

dr Witold Andrałojć (STATUT)

Doktoranci:

mgr Karolina Zielińska (stypendium KNOW)

Pracownia NMR

Kierownik: dr Karol Pasternak (STATUT)

Pracownicy techniczni:

mgr Anna Teubert (STATUT)

Działalność statutowa

XII. Chemiczne i strukturalne uwarunkowania funkcji biologicznych oraz właściwości terapeutycznych kwasów nukleinowych (prof. dr hab. Zofia Gdaniec, wspólnie z prof. dr. hab. Ryszardem Kierzkim)

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

Cel badań

Celem prowadzonych badań było zrozumienie zależności pomiędzy strukturą a stabilnością G-kwadrupleksów RNA. Dane literaturowe pokazują, że obecność tetrady urydynowej (U-tetrady) na 3'-końcu G-kwadrupleksów wywołuje niezwykle silną stabilizację tych układów. Dotychczasowe badania metodami spektroskopii NMR wykazały, że za ten efekt odpowiedzialna jest niezwykle konformacja 3'-końcowego fragmentu cząsteczki z nagłym zwrotem łańcucha RNA tuż przed U-tetradą, tzw. „odwrócona U-tetrada”. Przeprowadzono badania mające na celu wyjaśnienie, które cechy strukturalne „odwróconej U-tetrady” mają najistotniejszy wkład do jej efektu stabilizującego i czy motyw ten może być użyty do projektowania G-kwadrupleksów o zwiększonej stabilności.

Opis zrealizowanych prac

Zaprojektowano i zsyntetyzowano serię modyfikowanych chemicznie analogów kwadrupleksu r(UGGUGGU)₄. Wszystkie wprowadzone modyfikacje zlokalizowane były na 3'-końcowej reszcie urydyny i zostały tak dobrane by osłabiać lub całkowicie anulować jeden z typów oddziaływań mogących mieć istotny wkład do efektu stabilizującego (wiązania wodorowe pomiędzy zasadami aromatycznymi, wiązania wodorowe grup 2'OH z grupami fosforanowymi, specyficzne oddziaływanie z jonami potasu w bruzdach kwadrupleksu). Każdy z otrzymanych modyfikowanych kwadrupleksów poddano równolegle badaniom strukturalnym (NMR) i termodynamicznym (topienia UV). Pozwala to na powiązanie zmian strukturalnych wywołanych przez wprowadzone modyfikacje z ich wpływem na stabilność G-kwadrupleksu.

Opis najważniejszych osiągnięć

Zebrane dane pozwoliły na wyodrębnienie wkładu poszczególnych elementów strukturalnych do efektu stabilizującego „odwróconej U-tetrady”. Potwierdziły one, na przykład, istotny wkład wiązania wodorowego pomiędzy grupą 2'OH 3'-końcowej urydyny, a grupą fosforanową

poprzedzającej ją guanozyny. Kwadrupleks, w którym anulowano to oddziaływanie poprzez modyfikację rU do dU pozostaje izostrukuralny z układem wyjściowym, a pomimo to wykazuje o 10°C niższą temperaturę topnienia. Z drugiej strony wiązanie jonów potasu w brzdach kwadrupleksu okazało się mieć nieistotny wpływ na stabilność termiczną. Istotny dla tworzenia „odwróconej U-tetrazy” okazał się natomiast aspekt steryczny. Już modyfikacje zwiększające w niewielki sposób stłoczenie steryczne (np. rU do rT) uniemożliwiały przyjęcie konformacji „odwróconej U-tetrazy”. Tłumaczy to dlaczego podobna konformacja i efekt stabilizujący nie są obserwowane dla G-kwadrupleksów w serii DNA.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki będą podstawą publikacji, która jest obecnie w przygotowaniu.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Analiza czynników strukturalnych odpowiedzialnych za stabilizujące właściwości reszt 2'-OMe w obecności jonów Na⁺, NH₄⁺, K⁺ metodami biomolekularnego NMR (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: mgr Karolina Zielińska

Cel badań

Celem badań było ustalenie metodami spektroskopii NMR i UV wpływu kationów Na⁺, NH₄⁺, K⁺ na właściwości wybranych dupleksów zawierających modyfikację 2'-OMe.

Opis realizowanych prac

Dla dupleksów o sekwencjach ACGUCCA/UGGACGU (I) oraz 2'-OMe -CAGAUCUGAGC/2'-OMe-CGAGUCUAGAC (II), przeprowadzono badania termodynamiczne oraz zarejestrowano szereg widm NMR w obecności kationów Na⁺, NH₄⁺ oraz K⁺. Uzyskane wyniki pomiarów trwałości termodynamicznej dla dupleksu I wykazały, że jego stabilność zależy od typu kationu obecnego w roztworze oraz maleje w kolejności NH₄⁺ > K⁺ > Na⁺. W przypadku dupleksu II stabilność termodynamiczna cząsteczki nie zależy od typu kationu. Analiza zmian obserwowanych w widmach ¹H NMR sugeruje, że dupleks I specyficznie wiąże kationy amonowe. Niestety na podstawie analizy eksperymentów NMR nie udało się wskazać dokładnej lokalizacji tych kationów. Oddziaływania kationu z dupleksem zachodzą prawdopodobnie w rejonie szkieletu fosforocukrowego i nie angażują protonów pochodzących od zasad heterocyklicznych ani reszt cukrowych. Dla dupleksu II prowadzone są dalsze eksperymenty, które mają na celu wyjaśnienie, czy istnieją specyficzne miejsca wiązania kationów NH₄⁺ w dupleksach zbudowanych z reszt zawierających modyfikację 2'-OMe.

2. Zbadanie wykonalności wyznaczenia struktury trójwymiarowej DNAzemu 8-17 metodami NMR

Kierownik zadania: dr Witold Andrałojć

Cel badań

Zidentyfikowanie wariantów sekwencyjnych DNAzemu 8-17 o właściwościach pozwalających na wysokorozdzielcze badania strukturalne metodami spektroskopii NMR.

Opis realizowanych prac

Zaprojektowano serię oligomerów DNA, o możliwie niewielkich rozmiarach (co jest kluczowe z punktu widzenia zastosowania metod NMR), mieszczących się w zakresie sekwencji konsensusowej DNAzemu 8-17. Wszystkie zsyntetyzowane oligomery poddano badaniom NMR pod kątem zdolności do przyjmowania właściwej dla DNAzemu 8-17 struktury drugorzędowej.

W pierwszej serii badanych konstruktów, nici DNAzymowa i substratowa nie były połączone kowalencyjnie. Dla tych układów nie zaobserwowano hybrydyzacji pomiędzy nićmi, co oznacza, że nie są one przydatne do badań strukturalnych. Dlatego też zsyntetyzowano drugą serię oligomerów, w których obie nici połączone zostały ze sobą przy pomocy linkera o sekwencji GAA, promującego powstawanie bardzo stabilnych spinek DNA. Dla tych oligomerów hybrydyzacja pomiędzy nićmi okazała się preferowana w temperaturze pokojowej. Spośród tej serii oligomerów zidentyfikowano metodami NMR konstrukt przyjmujący tylko jedną formę strukturalną w roztworze i dający widma NMR o wąskich liniach rezonansowych. Dla tak wybranego konstruktu przeprowadzono test aktywności katalitycznej, którego wynik potwierdził że przyjmuje on w warunkach pomiaru NMR konformację aktywną katalitycznie. Konstrukt ten jest więc dobrym kandydatem do wysokorozdzielczych badań strukturalnych DNAzymu 8-17 metodami NMR.

3. Nowe układy hybrydowe RNA typu dupleks-kwadrupleks o potencjale do regulacji ekspresji genów

Kierownik zadania: mgr Karolina Zielińska

Cel badań

Celem prowadzonych badań jest ustalenie metodami spektroskopii NMR i UV czynników strukturalnych odpowiedzialnych za tworzenie się nowych struktur hybrydowych.

Opis realizowanych prac

Obiektem badań są układy hybrydowe składające się z domeny kwadrupleksowej otoczonej przez dwie domeny dupleksowe z końca 5' i 3' (H-DQD). W zaprojektowanych oligonukleotydach antysensowych domeny dupleksowe posiadają umiejętność rozpoznania docelowego RNA, zgodnie z regułami komplementarności zasad Watsona-Cricka. Po związaniu z docelowym mRNA domeny te tworzą strukturę dupleksu. Z kolei domena kwadrupleksowa zawierająca dwa bloki guanozynowe, po związaniu z docelowym mRNA, również posiadającym dwa bloki guanozynowe, tworzy strukturę kwadrupleksu. Powstawanie struktur hybrydowych (H-DQD) zostało jednoznacznie potwierdzone za pomocą analizy widm NMR oraz na podstawie analizy profilu migracji cząsteczek w natywnym żelu poliakrylamidowym. Dla wybranych układów hybrydowych wykonane zostały wstępne pomiary stabilności z wykorzystaniem metod spektroskopii UV (wyznaczenie temperatur topnienia) oraz temperaturowych widm ^1H NMR. Analiza wyników pokazała, że dla badanych modeli H-DQD zarówno stabilność, jak i struktura tych cząsteczek zależne są od typu kationu obecnego w roztworze. Układy hybrydowe H-DQD tworzą się efektywniej w obecności kationów potasu niż sodu. Wykazano, że układy H-DQD obniżają ekspresję białka EGFR na porównywalnym poziomie jak układy hybrydowe typu dupleks-kwadrupleks (H-DQ).

Projekty

1. 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

Otrzymano dwufunkcyjne oligonukleotydy antysensowe (Q-D), które po związaniu z docelową sekwencją mRNA tworzą struktury hybrydowe typu dupleks-kwadrupleks. Stosując metody fizykochemiczne pokazano, że wykorzystanie motywu kwadrupleksu oraz szeregu modyfikacji chemicznych i liganda zwiększa stabilność kompleksu Q-D/mRNA. Równolegle, we współpracy z Pracownią Struktur Subkomórkowych ICHB PAN sprawdzono, że zaprojektowane oligonukleotydy antysensowe są zdolne do wyciszenia ekspresji białka fuzyjnego GFP-EGFR-L858R (GFP – białko zielonej fluorescencji; EGFR-L858R – receptor naskórkowego czynnika wzrostu

zawierający mutację punktową L858R) w komórkach HeLa. Otrzymane wyniki pokazały, że zaproponowane modele hybryd typu dupleks-kwadrupleks działają bardzo efektywnie. Z kolei, zastosowane oligonukleotydy kontrolne, tworzące po rozpoznaniu sekwencji docelowej strukturę dupleksu (14-26 par zasad) lub kwadrupleksu, w znacznie mniejszym stopniu wpływały na wyciszenie ekspresji białka GFP-L858R. Przeanalizowano również wpływ modyfikacji chemicznych, długości domeny dupleksowej oraz jej położenia w stosunku do domeny kwadrupleksowej (D-Q, Q-D oraz D-Q-D) w oligonukleotydach antysensowych na ich aktywność biologiczną. Sprawdzone wpływ wybranych Q-D na efekt wyciszenia endogennej formy białka EGFR-L858R w linii niedrobnokomórkowego raka płuc CRL5908 zawierającej mutację L858R. Podobnie jak w komórkach HeLa, na obniżenie ekspresji EGFR(L858R) najsilniej wpływały oligonukleotydy, które zawierały w swojej sekwencji motyw kwadrupleksu i dupleksu. Wykazano, że dzięki wykorzystaniu motywu kwadrupleksu możliwe jest zwiększenie efektywności wyciszenia ekspresji genu na poziomie translacji.

2. Synteza i badania strukturalne oligonukleotydów o sekwencjach ramion antykodonów tRNA zawierających nowe modyfikowane nukleozydy: ct6A, ms2ct6A, ges2U; (OPUS)

– projekt realizowany w konsorcjum; lider projektu: Politechnika Łódzka

(kierownik projektu: prof. dr hab. inż. Elżbieta J. Sochacka)

Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: prof. dr hab. Zofia Gdaniec

Syntetyczne omówienie wyników badań

Przeprowadzone zostały badania, mające na celu znalezienie warunków roztworu zapewniających najlepszą jednorodność i stabilność próbek do badań strukturalnych metodami NMR. Z uwagi na znaczną wrażliwość modyfikacji ct6A na reakcje otwierania pierścienia hydantoinowego, prowadzące do powstania liniowej formy t6A, szczególnie istotne było zapewnienie stabilności badanej cząsteczki w warunkach pomiaru NMR przez okres dłuższy niż kilka dni. Zastosowana kombinacja łagodnej metody oczyszczania próbki po reakcji cyklizacji (ultrafiltracja na filtrach Amicon z punktem odcięcia 3 kDa) i zoptymalizowanego składu buforu NMR (pod względem pH, stężenia soli itp.) pozwoliła na utrzymanie modyfikacji ct6A w roztworze w formie nienaruszonej przez okres około tygodnia. Jest to okres wystarczający na zarejestrowanie zestawu widm NMR. W tak zoptymalizowanych warunkach zarejestrowano zestaw widm NMR w H₂O i D₂O dla oligomeru o sekwencji pętli antykodonowej zawierającego modyfikację ct⁶A w pozycji 37. Wspólna analiza zebranych widm pozwoliła na częściowe przypisanie obserwowanych częstotliwości rezonansowych (dla około 60% protonów niewymienialnych). Niestety ograniczona stabilność modyfikacji ct6A (nawet w zoptymalizowanych warunkach) sprawiła, że w czasie pomiarów w próbce pojawiło się około 20% oligomeru zawierającego otwartą formę t6A. Współobecność dwóch form oligomeru w roztworze uczyniła jednoznaczne przypisanie pozostałych sygnałów rezonansowych niemożliwym. Dla uzupełnienia przypisań konieczne będzie uzyskanie nowej porcji oligomeru.

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

Kierownik projektu: dr Dorota Gudanis

Syntetyczne omówienie wyników badań

Zaproponowana w projekcie strategia antysensowa opiera się na współdziałaniu trzech domen kwasów nukleinowych: liganda (L), kwadrupleksowej (Q) oraz dupleksowej (D). Wielofunkcyjne oligonukleotydy antysensowe (L-Q-D) zaprojektowano tak, aby rozpoznawały mutacje punktowe we fragmencie mRNA i tworzyły z nimi pożądane struktury: hybrydy typu dupleks-kwadrupleks-ligand ze zmutowanym RNA oraz dupleksu zawierającego nieustrukturyzowane końce 5' i 3'

z niezmutowanym mRNA. Tworzenie struktur hybrydowych o prostopadłym oraz równoległym ułożeniu domeny dupleksu względem kwadrupleksu zostało jednoznacznie potwierdzone za pomocą analizy widm ^1H NMR. O wiązaniu się liganda do domeny kwadrupleksowej świadczyło poszerzenie jakości sygnałów iminowych odpowiadających wyłącznie G-tetradom. Ponadto zaobserwowano wyraźny wzrost fluorescencji spowodowany dodaniem liganda do struktur hybrydowych w roztworze. Domena liganda nie tylko wiąże się, ale również stabilizuje domenę kwadrupleksową. Analiza krzywych topnienia wykonanych przy długości fali 295 nm wykazała, że struktury hybrydowe (L-Q-D/mRNA) charakteryzują się zwiększoną stabilnością w stosunku do struktur hybrydowych niezawierających domeny liganda. Dane te stanowią podstawę do opracowania nowej strategii wyciszania ekspresji genów ukierunkowanej na wykrywanie mutacji punktowych (np. receptora naskórkowego czynnika wzrostu śródbłónka, EGFR- mutacja L858R).

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

Przeprowadzono badania oddziaływania otrzymanych ligandów z kwadrupleksami DNA za pomocą spektroskopii fluorescencyjnej i CD. Do badań wybrano 19 sekwencji DNA o zmiennej długości (9-25), charakteryzujących się zróżnicowaną topologią. Na podstawie pomiarów zmian intensywności fluorescencji w zależności od stężenia oligomeru określono stałe wiązania wybranych ligandów do kwadrupleksów DNA w obecności jonów K^+ lub Na^+ w buforach o $\text{pH}=7.5$. Spośród 19 kwadrupleksów największym powinowactwem względem ligandów wykazywała się sekwencja cMYC, dla której stała wiązania wynosiła $1-3.5 \cdot 10^7$ i $2.7-3.5 \cdot 10^{10}$ w obecności odpowiednio jonów K^+ i Na^+ . Nieco słabszą stałą wiązania uzyskano dla sekwencji PU24T tj $2.5-3.5 \cdot 10^7$ w obecności K^+ oraz $1.5-2.5 \cdot 10^6$ w obecności Na^+ . Na podstawie widma CD ustalono, że obie sekwencje przyjmują topologię równoległą i są monomerami niezależnie od rodzaju kationu. Podstawnik w pozycji N9 o długości 3 lub 5 reszt węglowych nie obniżał znacząco oddziaływania z G-tetradami, jakkolwiek dalsze wydłużenie długości łańcucha alifatycznego skutkowało wyraźnym zmniejszeniem powinowactwa liganda do kwadrupleksu. W przypadku pozostałych sekwencji o topologii równoległej (Bcl-2, c-KIT, VEGF, VEGF12-13T, RET, RET20T) wartości stałych wiązania były około 10-krotnie niższe i przyjmowały wartości w zakresie $4.0 \cdot 10^5$ do $5.0 \cdot 10^6$. Kwadrupleksy TEL, HT24, 143D, dla których zaobserwowano istotny spadek stałej wiązania do zakresu wartości $1.5-6.5 \cdot 10^3$, w obecności Na^+ przyjmowały topologię antyrównoległą.

Publikacje

1. J. Zhao, M. Xue, **D. Gudanis**, H. Gracz, G. H. Findenegg, **Z. Gdaniec**, S. Franzen; Dynamics of dehaloperoxidase-hemoglobin A derived from NMR relaxation spectroscopy and molecular dynamics simulation; *Journal of Inorganic Biochemistry* 2018, 181, 65-73
2. J. Czyrko, **J. Sliwiak**, **B. Imiolczyk**, **Z. Gdaniec**, **M. Jaskolski**, K. Brzezinski; Metal-cation regulation of enzyme dynamics is a key factor influencing the activity of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from *Pseudomonas aeruginosa*; *Scientific Reports* 2018, 8, 11334
3. J. Solecka, A. Rajnisz-Mateusiak, A. Guspiel, K. Jakubiec-Krzesniak, J. Ziemska, R. Kawecki, R. Kaczorek, **D. Gudanis**, J. Jarosz, J. Wietrzyk; Cyclo(Pro-DOPA), a third identified bioactive metabolite produced by *Streptomyces* sp. 8812; *Journal of Antibiotics* 2018, 71, 757-761

4. L. Gigli, **W. Andralojc**, A. Dalaloyan, G. Parigi, E. Ravera, D. Goldfarb, C. Luchinat; Assessing protein conformational landscapes: integration of DEER data in Maximum Occurrence analysis; *Physical Chemistry Chemical Physics* 2018, 20, 27429-27438
5. T. Stefanski, R. Mikstacka, R. Kurczab, Z. Dutkiewicz, A. Kuzinska, M. Murias, M. Zielinska-Przyjemska, M. Cichocki, **A. Teubert**, M. Kaczmarek, A. Hogendorf, S. Sobiak; Design, synthesis, and biological evaluation of novel combretastatin A-4 thio derivatives as microtubule targeting agents; *European Journal of Medicinal Chemistry* 2018, 144, 797-816
6. L. Sobotta, J. Długaszewska, P. Kasprzycki, S. Lijewski, **A. Teubert**, J. Mielcarek, M. Gdaniec, T. Gosliński, P. Fita, E. Tykarska; In vitro photodynamic activity of lipid vesicles with zinc phthalocyanine derivative against *Enterococcus faecalis*; *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 2018, 183, 111-118
7. **W. Andralojc**, E. Ravera; Treating Biomacromolecular Conformational Variability, in: Paramagnetism in Experimental Biomolecular NMR [w:] New Developments in NMR (red. C. Luchinat, G. Parigi, E. Ravera) 2018, 16, 107-133; *Royal Society of Chemistry*

Prace przyjęte do druku

1. **W. Andralojc**, **M. Malgowska**, **J. Sarzynska**, **K. Pasternak**, **K. Szpotkowski**, **R. Kierzek**, **Z. Gdaniec**; Unraveling the structural basis for the exceptional stability of RNA G-quadruplexes capped by a uridine tetrad at the 3' terminus; *RNA*, DOI:10.1261/rna.068163.118
2. W. Szczolko, T. Koczorowski, B. Wicher, L. Sobotta, M. Gdaniec, **A. Teubert**, J. Mielcarek, J. Korecki, K. Burda, E. Tykarska, T. Gosliński. X-ray and NMR structural studies of the series of porphyrazines with peripheral pyrrolyl groups, *Inorganica Chimica Acta*, DOI:10.1016/j.ica.2018.09.065

Zakład Biologii Chemicznej

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz (0,2 STATUT)²³

Skład osobowy²⁴

Pracownicy naukowcy:

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

Pracownicy techniczni:

mgr Katarzyna Adrych-Rożek (STATUT)

Doktoranci:

mgr inż. Aleksandra Chełstowska (stypendium KNOW)

mgr Adam Zarecki (stypendium KNOW)

Działalność statutowa

V. Synteza komponentów i analogów kwasów nukleinowych oraz 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 acetalu katalizowanej chlorkiem cyny(IV) w chemii nukleozydów.

²³ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

²⁴ Stan na 31.12.2018 r.

Zbadano trwałość grup di-t-butoksylililenowej oraz di-t-butylosilililenowej blokującej połączenia 3',5' rybonukleozydu (urydyna) w warunkach reakcji syntezy acetalu katalizowanej chlorkiem cyny(IV). Stwierdzono wystarczającą trwałość bloku di-t-butylosilililenowego w przeciwieństwie do mniej trwałej grupy di-t-butoksylililenowej, dla wprowadzenia acetalowych grup ochronnych.

Wykazano wystarczającą trwałość bloku di-t-butylosililenowego dla wprowadzenia acetalowych grup ochronnych funkcji 2'-hydroksylowej rybonukleozydów w reakcji katalizowanej chlorkiem cyny(IV).

Uzyskane wyniki poszerzają zakres przydatności opracowanej uprzednio reakcji syntezy acetalu katalizowanej chlorkiem cyny(IV).

2. Modelowanie struktury układów molekularnych metodami mechaniki kwantowej i dynamiki molekularnej w aspekcie badania ich właściwości biologicznych (dr hab. Tadeusz Kuliński)

Obliczenia reaktywności wybranych układów molekularnych poprzez obliczenia kwantowo mechaniczne stanów przejściowych.

Przeprowadzono obliczenia kwantowo-mechaniczne, z wykorzystaniem pakietu do obliczeń *ab initio* ORCA (Max Planck Institute for CoalResearch, RFN) w wersji 4.0, dla pochodnych nukleozydowych chronionych z pomocą różnych sililowych grup ochronnych w celu określenia na drodze obliczeniowej ich podatności na transformacje chemiczne.

Stwierdzono zróżnicowanie energii stabilności termodynamicznej oraz zróżnicowanie energii stanów przejściowych dla różnych pochodnych sililowych.

Uzyskane wyniki pozwolą wyjaśnić obserwowane eksperymentalnie różnice stabilności sililowych grup ochronnych.

Projekty

Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek dla potrzeb medycyny regeneracyjnej – EPICELL (STRATEGMED) – projekt realizowany w ramach konsorcjum pomiędzy ICHB PAN (lider projektu), Uniwersytetem Medycznym im. Karola Marcinkowskiego, Szpitalem 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

Celem projektu jest opracowanie wydajnego protokołu transformacji mioblastów do komórek pluripotencjalnych, a następnie do kardiomiocytów w celu ich wykorzystania w medycynie regeneracyjnej serca. Kontynuowano optymalizację oprogramowania systemu wysokoprzepustowego oraz opracowywanie samodzielnego przygotowywania pożywek i suplementów dla wysokoprzepustowej skali doświadczeń programowanej transformacji komórek. Udoskonalono

skład medium do utrzymywania i namnażania komórek IPS, które zachowują potencjał pluripotencjalny (min. 10 pasaży) wystarczający do różnicowania w kardiomiocyty. Porównano media hodowlane dla uzyskania kardiomiocytów z iPS zawierające modulatory małocząsteczkowe, analizując dynamikę różnicowania komórek, moment pojawienia się spontanicznego kurczenia oraz wydajności transformacji. Otrzymano nowe analogi 5-azacytozyny – pochodne 6-amino-podstawione. Opracowano syntezę kolejnych pochodnych naturalnych kwasów organicznych (m.in. floretowy, kawowy, kumarowy) z naturalnymi aminami biogennym (putrescyna, spermina). Wykonano porównawczą analizę proteomiczną kardiomiocytów pozyskanych z komórek iPS na różnym etapie ich rozwoju, a otrzymany materiał przeanalizowano testem ELISA. Określono (i) cytotoksyczność modulatorów małocząsteczkowych, (ii) ich wpływ na aktywność enzymów regulujących poziom metylacji genomowego DNA oraz (iii) zawartość m⁵C w DNA komórek, które były nimi traktowane. W efekcie wytypowano szereg związków, w tym te odpowiedzialne za hiper- oraz hipometylację genomu. Następnie włączono je do protokołu utrzymywania z mioblastów pacjentów iPS-ów, a następnie kardiomiocytów. W efekcie oceniono użyteczność opracowanych w ramach projektu modulatorów epigenetycznych do otrzymywania komórek pluripotentnych oraz zróżnicowanych.

Publikacje

1. M. S. Ahmad, S. Rasheed, S. Falke, B. Khaliq, M. Perbandt, M. I. Choudhary, **W. T. Markiewicz, J. Barciszewski**, C. Betzel; Crystal Structure of Mistletoe Lectin I (ML-I) from Viscum album in Complex with 4-N-Furfurylcytosine at 2.85 angstrom Resolution; *Medicinal Chemistry* 2018, 14, 754-763
2. **J. F. Barciszewski**, M. Szymanski, **A. Malesa, D. Olszewska, W. T. Markiewicz, J. Barciszewski**; Polskie wątki w początkach rozwoju nowoczesnych nauk o życiu; *Nauka* 2018, 2, 157-174
3. **J. F. Barciszewski**, M. Szymanski, **A. Malesa, D. Olszewska, W. T. Markiewicz, J. Barciszewski**; Początki molekularnych nauk o życiu – Kontekst Polski; *Postępy Biochemii* 2018, 64, 55-66

Wynalazki

Patenty międzynarodowe

Method for protecting hydroxyl, amine or thiol functional groups with tetraisopropyldisilane and the corresponding protected compounds

patent: EP 2841401 z 4.07.2018 r.

zgłoszenie: EP 13727666.2 z 19.10.2014 r.

Twórcy: **Wojciech T. Markiewicz, Marcin K. Chmielewski**, Sylwia Musiał, Hieronim Maciejewski, Grzegorz Hreczycho

Patenty krajowe

Analog cytozyny i jego zastosowanie w leczeniu chorób związanych z zaburzeniami metylacji DNA

patent: PL 229581 z 3.09.2018 r.

zgłoszenie: P 390 769 z 19.03.2010 r.

Twórcy: **Jan Barciszewski, Wojciech T. Markiewicz**, Ewelina Adamska, Beata Plitta, **Małgorzata Giel-Pietraszuk, Eliza Wyszko**, Maria Markiewicz, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska, Tadeusz Kuliński, Marcin K. Chmielewski**

Postępowania walidacyjne

patent EP 2841401 został walidowany w 6 krajach (Niemcy, Francja Wielka Brytania, Belgia, Luksemburg, Szwajcaria)

Tytuł: *Method for protecting hydroxyl, amine or thiol functional groups with tetraisopropydisilane and the corresponding protected compounds*

Twórcy: **Wojciech T. Markiewicz, Marcin K. Chmielewski**, Sylwia Musiał, Hieronim Maciejewski, Grzegorz Hreczycho

Zakład Epigenetyki

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jan Barciszewski (0,2 STATUT)²⁵

Skład osobowy²⁶

Pracownicy techniczni:

Iwona Gawrońska (0,75 STATUT)

Działalność statutowa

XV. Wypławki jako nowy model dla badań epigenetycznych (prof. dr hab. Jan Barciszewski)

Cel badań

Badano wpływ związków niskocząsteczkowych na funkcjonowanie komórek oraz funkcje niektórych genów. Do tego celu wykorzystano modelowy organizm wypławki *Schmidtea mediterranea*, które charakteryzują się dużą ilością komórek macierzystych oraz homologią z genomem człowieka.

Opis zrealizowanych prac

Badano wpływ niskocząsteczkowych inhibitorów na aktywność syntazy tymidylanowej (TYMS). Enzym ten katalizuje przeniesienie grupy metylowej z kofaktora do dUMP tworząc dTMP. Inhibitory TYMS są powszechnie stosowane w chemioterapii nowotworów.

Opis najważniejszych osiągnięć

Wykazano, że jeden z badanych związków (C₁) testowanych w wypawkach (*Planarian Sp.*) wykazywał aktywność inhibitorową szlaku *hedgehog*. Mechanizm tego działania będzie badany.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Badane będą kolejne związki, analogi 5-fluorouracydyny. Zebrane wyniki będą wykorzystane do opracowania mechanizmu inhibicji szlaku *hedgehog*.

Projekty

1. Katalityczne kwasy nukleinowe nowej generacji w regulacji ekspresji informacji genetycznej; (OPUS)

Kierownik projektu: prof. dr hab. Jan Barciszewski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Wybrano rejon w obrębie sekwencji kodującej tenascynę C (Tn-C), mający stanowić miejsce rozpoznawania przez rybozomy anty-Tn-C. W obrębie tego rejonu wytypowano sekwencje GUC, mogące stanowić potencjalne miejsca cięcia z użyciem rybozymów typu 'hammerhead'. Spośród

²⁵ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

²⁶ Stan na 31.12.2018 r.

nich wybrano sekwencję 5'UCGGAGUC⁵²³AGCCAG. Zaprojektowano rybozym typu 'hammerhead' ATN_HHrz skierowany na ww. sekwencję ATN. 34 nt sekwencja rybozymów obejmuje 22 nt rdzeń katalityczny o sekwencji 5'- CUGAUGAGGCCGAAAGGCCGAA-3' oraz zlokalizowane po obu stronach sześcienukleotydowe ramiona o sekwencjach komplementarnych do rejonu w obrębie ww. sekwencji ATN. Rybozimy zaprojektowano tak, aby hydrolizowały wiązania na końcu 3' C w obrębie sekwencji GUC. Obecność tych sekwencji w obrębie substratu oraz komplementarność ramion rybozymów do substratu są warunkami koniecznymi do zaistnienia hydrolizy. Zsyntetyzowano rybozym ATN_HHrz oraz jego odpowiednik o tej samej sekwencji w serii beta-L-RNA, odpowiednio ATN_HHrz i L-ATN_HHrz. Rybozimy zaopatrzone w znaczniki fluorescencyjne. Zsyntetyzowano substrat dla rybozymu ATN_HHrz zawierający sekwencję GUC oraz po obu jej stronach sekwencje komplementarne do ramion ATN_HHrz, oraz jego odpowiednik w serii beta-L-RNA, odpowiednio ATN_substrat, oraz L-ATN_substrat. Substraty zaopatrzone w znaczniki fluorescencyjne. Określono wydajność hydrolizy ATN_substrat oraz L-ATN_substrat z użyciem rybozymów ATN_HHrz, oraz L-ATN_HHrz w różnych stężeniach jonów Mg²⁺ (0, 1, 10, mM). Zaprojektowane rybozimy wydajnie hydrolizują komplementarne do ich ramion RNA, zarówno w układzie homo-, jak i heterochiralnym. Wydajność hydrolizy RNA przez rybozym zależy od stężenia Mg²⁺ i jest wyższa w układzie homochiralnym.

2. Nowe, wielozadaniowe nanocząstki w skojarzonej geno- i fototerapii; (OPUS)

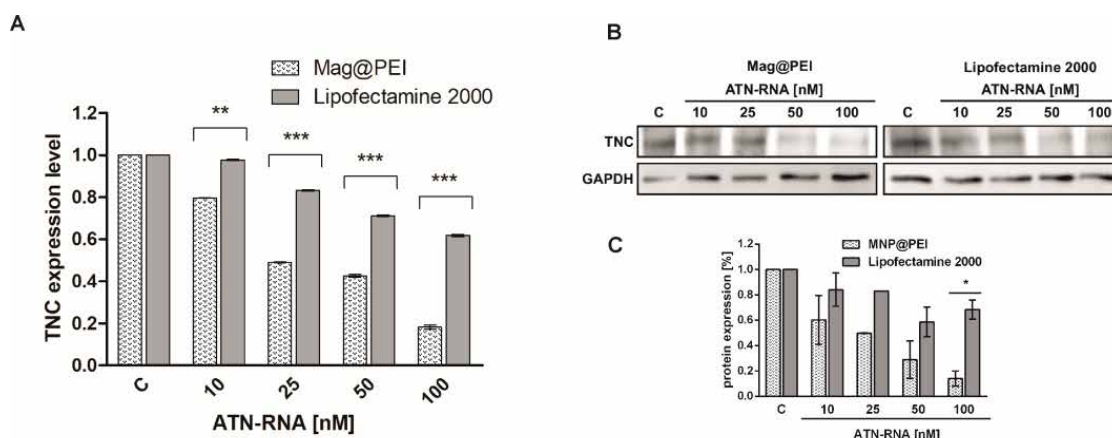
– projekt realizowany w konsorcjum; lider projektu: Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

– Centrum NanoBioMedyczne (kierownik projektu: prof. dr hab. Stefan Jurga)

Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: prof. dr hab. Jan Barciszewski

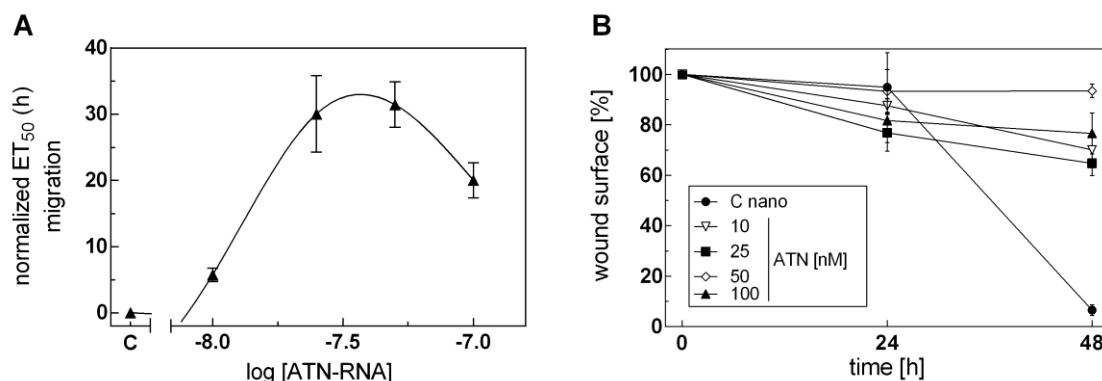
Syntetyczne omówienie wyników badań

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 geno- i fototerapii. Jako rezultat realizacji projektu otrzymano dwa nowe typy nanocząstek – oparte o magnetyt oraz o polidopaminę. Obydwa typy wydajnie wiążą dsRNA (ATN-RNA), jednak ich działanie na komórki nowotworowe glejaka wielopostaciowego jest różne. Nanocząstki oparte o magnetyt wpływają na znaczące obniżenie poziomu ekspresji tenascyny-C (ok. 80%), co w porównaniu z komercyjnie dostępnymi nośnikami do transfekcji wskazuje na zdecydowanie wyższą efektywność badanych nanocząstek. Wysoką efektywność dostarczania dsRNA do komórek obserwowano, zarówno na poziomie RNA i testu qRT-PCR (Rys. 1A), jak i na poziomie efektorowym, gdzie poziom ekspresji białka zbadano za pomocą techniki Western blot (Rys. 1B, C).



Rys. 1. Poziom ekspresji TN-C mierzony na poziomie mRNA za pomocą PCR w czasie rzeczywistym (qRT-PCR) (A) oraz białka (analiza western blot) (B, C)

Nanocząstki magnetyczne związane z dsRNA wpływają również znacząco na obniżenie tempa migracji komórek nowotworowych (Rys. 2).



Rys. 2. Efekt dostarczania ATN-RNA na nanonośniku Mag@PEI w procesie migracji mierzonym za pomocą systemu xCELLigence

Publikacje

1. **P. Sosinska-Zawierucha**, P. Zawierucha, A. Breborowicz, **J. Barciszewski**; Prediction of secondary and tertiary structures of human BC200 RNA (BCYRN1) based on experimental and bioinformatic cross-validation; *Biochemical Journal* 2018, 475, 2727-2748
2. E. Toton, A. Romaniuk, N. Konieczna, J. Hofmann, **J. Barciszewski**, M. Rybczynska; Impact of PKC ϵ downregulation on autophagy in glioblastoma cells; *BMC Cancer* 2018, 18, 185
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* 2018, 144, 682-691
4. M. S. Ahmad, S. Rasheed, S. Falke, B. Khaliq, M. Perbandt, M. I. Choudhary, **W. T. Markiewicz**, **J. Barciszewski**, C. Betzel; Crystal Structure of Mistletoe Lectin I (ML-I) from *Viscum album* in Complex with 4-N-Furfurylcytosine at 2.85 angstrom Resolution; *Medicinal Chemistry* 2018, 14, 754-763
5. B. P. Plitta-Michalak, **M. Z. Naskret-Barciszewska**, Sz. Kotlarski, D. Tomaszewski, T. Tylkowski, **J. Barciszewski**, M. 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* 2018, 38, 617-629
6. **J. F. Barciszewski**, M. Szymanski, **A. Malesa**, D. Olszewska, **W.T. Markiewicz**, **J. Barciszewski**; Polskie wątki w początkach rozwoju nowoczesnych nauk o życiu; *Nauka* 2018, 2, 157-174
7. **A. Zubek**, **J.F. Barciszewski**, **A. Belter**, **J. Barciszewski**; Teoria jestestw organicznych Jędrzeja Śniadeckiego. Rewolucja w spojrzeniu na życie; *Nauka* 2018, 4, 165-175
8. **J. F. Barciszewski**, M. Szymanski, **A. Malesa**, D. Olszewska, **W.T. Markiewicz**, **J. Barciszewski**; Początki molekularnych nauk o życiu – Kontekst Polski; *Postępy Biochemii* 2018, 64, 55-66
9. N. Rajewsky, S. Jurga, **J. Barciszewski** (red); Systems Biology (seria RNA Technologies); *Springer* 2018, 401, ISBN 978-3-319-92967-5
10. H. Koroniak, **J. Barciszewski** (red); Na pograniczu chemii i biologii. Tom XXXVII; Wydawnictwo Naukowe UAM, ISBN: 978-83-232-3287-2

Prace przyjęte do druku:

1. **L. Michalska, D. Wawrzyniak, A. Szymanska-Michalak, J. Barciszewski, J. Boryski, D. Baraniak**; Synthesis and biological assay of new 2'-deoxyuridine dimers containing a 1,2,3-triazole linker. Part I; *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, DOI:10.1080/15257770.2018.1514122
2. **J. Barciszewski**, M. A. Ciemerych, **T. Twardowski**; Novel insights and innovations in biotechnology towards improved quality of life; *New Biotechnology*, pii: S1871-6784(18)30025-6. DOI:10.1016/j.nbt.2018.09.001
3. H. Koroniak, **J. Barciszewski**; Na pograniczu chemii i biologii, Tom XXXVIII; Wydawnictwo UAM

Wynalazki

Patenty krajowe

Analog cytozyny i jego zastosowanie w leczeniu chorób związanych z zaburzeniami metylacji DNA
patent: PL 229581 z 3.09.2018r.

zgłoszenie: P 390 769 z 19.03.2010r.

Twórcy: **Jan Barciszewski, Wojciech T. Markiewicz**, Ewelina Adamska, Beata Plitta, **Małgorzata Giel-Pietraszuk, Eliza Wyszko**, Maria Markiewicz, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska, Tadeusz Kuliński, Marcin K. Chmielewski**

Zakład Struktury i Funkcji RNA

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Ryszard Adamiak (0,2 STATUT)²⁷

Skład osobowy²⁸

Pracownicy naukowci:

dr Katarzyna Purzycka (STATUT, urlop bezpłatny do 31.12.2018 r.)

Działalność statutowa

XXV. Struktura i funkcja retroelementów (prof. dr hab. Ryszard Adamiak, wspólnie z dr hab. Katarzyną Pachulską-Wieczorek i dr. Zbigniewem Warkockim) – temat przedstawiono na str. 148.

Publikacje

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* 2018, 34, 1304-1312
2. **M. Antczak, T. Zok**, M. Osowiecki, **M. Popenda, R.W. Adamiak, M. Szachniuk**; RNAfitme: a webserver for modeling nucleobase and nucleoside residue conformation in fixed-backbone RNA structures; *BMC Bioinformatics* 2018, 19, 304
3. **T. Zok**, M. Antczak, M. Zurkowski, **M. Popenda, J. Blazewicz, R.W. Adamiak, M. Szachniuk**; RNApdbee 2.0: multifunctional tool for RNA structure annotation; *Nucleic Acids Research* 2018, 46, W30-W35

²⁷ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

²⁸ Stan na 31.12.2018 r.

Zakład Biochemii Produktów Naturalnych

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Maciej Stobiecki (STATUT)²⁹

Skład osobowy³⁰

Pracownicy naukowci:

dr Marta Sikora (0,9 STATUT/0,1 NCN)

Pracownicy techniczni:

mgr Danuta Ciesiołka (STATUT)

Doktoranci:

mgr Izabela Lewandowska (stypendium KNOW)

mgr Olga Utyro (stypendium KNOW)

mgr Jacek Wróblewski (stypendium KNOW)

mgr Marta Nolka-Szaszner (stypendium KNOW)

mgr Łukasz Witucki (UP)

Pracownia Spektrometrii Mas

Kierownik: dr Łukasz Marczak (STATUT)

Pracownicy naukowci:

dr Anna Wojakowska (NCN)

Pracownia Analiz Wysokoprzepustowych

Kierownik: dr Radosław Pilarski (STATUT)

Pracownicy techniczni:

inż. Jan Sadoch (STATUT)

Działalność statutowa

I. Wykorzystanie nowych podejść metodycznych w identyfikacji produktów naturalnych pochodzenia roślinnego technikami spektrometrii mas (prof. dr hab. Maciej Stobiecki, wspólnie z dr hab. Magdaleną Łuczak)

Cel badań

Wykorzystanie dostępnych metod bioinformatycznych i biostatystycznych do interpretacji wyników analiz wykonywanych metodami spektrometrii mas (LC/ESI/MS) z wykorzystaniem rejestracji widm (CID/MS/MS) oraz spektroskopii ruchliwości jonów (IMS).

Opis zrealizowanych prac

Przeprowadzono izolację produktów naturalnych z 18 genotypów (gatunków) roślin rodzaju *Hypericum*. Dla każdego gatunku próbki przygotowano w czterech powtórzeniach biologicznych. Uzyskane ekstrakty analizowano metodami spektrometrii mas (CID/MS/MS). Próbki badano w 4 powtórzeniach biologicznych i dla każdej z nich w 2 powtórzeniach technicznych. Uzyskane dane pozwoliły na analizę statystyczną i bioinformatyczną wyników zgodnie z zasadami obowiązującymi w badaniach z zakresu metabolomiki.

Opis najważniejszych osiągnięć

Na podstawie uzyskanych wyników możliwe było zaproponowanie szlaku biosyntezy hiperycyny.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Została opublikowana praca w czasopiśmie z listy *Journal Citation Reports*.

²⁹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

³⁰ Stan na 31.12.2018 r.

1. 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). Zlecono hodowlę myszy Pon -/- oraz Pon +/- na diecie z dodatkiem 1% Met oraz kontrolnej na Uniwersytecie Rutgers, USA, łącznie 46 myszy. Myszy karmiono wodą z dodatkiem 1% Met przez okres 16 tygodni. Następnie wykonano analizy proteomiczne (przy użyciu technik spektrometrii mas), mające na celu porównanie proteomu osocza myszy Pon -/- oraz Pon +/- na diecie wysokometioninowej oraz kontrolnej. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Perseus, co pozwoliło na wyłonienie grupy białek różnicujących w osoczu między grupą myszy kontrolnych a grupą myszy z zaindukowaną dietetycznie hiperhomocysteinemią, zarówno dla genotypu Pon -/-, jak i Pon +/- . Ponadto wyłoniono grupę białek różnicujących w obu genotypach, zależnie zarówno od diety, jak i płci badanych myszy. Wykonano również analizę funkcjonalną uzyskanych wyników za pomocą programów DAVID, STRING oraz IPA.

2. Identyfikacja biocząsteczek uwalnianych przez komórki raka jelita grubego i wykrywanych w surowicy krwi lub/i egzosomach; (SONATA)

Kierownik projektu: dr inż. Anna Wojakowska

Syntetyczne omówienie wyników badań

Zabezpieczono i opisano zebrany dotychczas materiał kliniczny, stanowiący bank próbek surowicy krwi pacjentów z rakiem jelita grubego. Z powodu urlopu macierzyńskiego od maja 2018 r. projekt nie jest realizowany.

3. Ewolucyjne modelowanie fizykochemicznych warunków nadekspresji wirusowych replikonów w płynnych kulturach roślinnych; (SONATA)

Kierownik projektu: dr inż. Radosław Pilarski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Realizowany projekt miał 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, niosą duże ryzyko zakażeń końcowego produktu prionami i ludzkimi wirusami lub nie oferują właściwego wzorca glikozylacji i fałdowania białek. Do nielicznych wyjątków należą wirusowe systemy ekspresji przejściowej w komórkach roślinnych, które spełniają większość oczekiwań stawianych nowoczesnym systemom ekspresyjnym. Dla osiągnięcia przedstawionego celu wykorzystane zostały algorytmy genetyczne wspomagane sieciami neuronowymi. Metoda ta nawiązująca do koncepcji sztucznej inteligencji, opracowana przez Johna Hollanda i kontynuowana m.in. przez Davida Goldberga, oparta jest na nieliniowym i bardzo wydajnym ewolucyjnym przeszukiwaniu dużych przestrzeni rozwiązań. Pomysłowy sposób prowadzenia doświadczeń w mikroskali z użyciem automatycznej stacji pipetowania do przygotowywania pożywek oraz wykorzystanie samodzielnie zaprojektowanych niskogabarytowych fitotronów umożliwi efektywne przeszukiwanie milionów kombinacji różnych parametrów fizykochemicznych mogących mieć wpływ na ekspresję replikonów w komórkach roślinnych (40 parametrów o różnych wartościach, np. pH, temperatura, długość światła, fotoperiod, stężenie auksyn, cytokinin, sacharozy itd).

Udało się opracować efektywny protokół krioprezerwacji komórek tytoniu w ciekłym azocie, efektywny system transformacji komórek roślinnych z wykorzystaniem *Agrobacterium*, tworzenia poligenowych wektorów i efektywnej indukcji komórek oraz zoptymalizować fizykochemiczne warunki nadekspresji. Zakończono modelowanie uzyskanych wyników w celu ich opublikowania.

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

Kierownik projektu: mgr Jacek Wróblewski

Syntetyczne omówienie wyników badań

Zbadano poziom transkryptyu mRNA dla genu czynnika transkrypcyjnego *Zhx2*, który powiązany jest z regulacją ekspresji białek MUP. Mierzony za pomocą techniki western blot poziom białka *Zhx2* wykazywał zmiany korelujące z wynikami analiz Real-Time RT qPCR. Wykonano również analizę ELISA w celu zbadania poziomu testosteronu u myszy z knock-outem genu *Cbs* – wykazano istotne zmiany w poziomie tego hormonu u samic, co koreluje z otrzymanymi wcześniej wynikami analiz poziomu transkrypcji genu receptora androgenowego *Ar*. Zebrane wyniki przyczyniają się do zwiększenia stanu wiedzy na temat zaburzeń sygnalizacji seksualnej w homocystinurii wywołanej dysfunkcją genu *Cbs* oraz pozwalają na wyjaśnienie mechanizmu ich powstawania.

5. Patofizjologiczne konsekwencje N-homocysteinylacji histonów w hiperhomocysteinemii spowodowanej niedoborem CBS; (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: mgr Izabela Lewandowska

Syntetyczne omówienie wyników badań

Kontynuowano wykonywanie metodą „*label free proteomics*” analiz zmian w proteomie organów myszy *Cbs*^{-/-} (z hiperhomocysteinemią wywołaną genetycznie), myszy *Cbs*^{+/+}, a także myszy na diecie metioninowej (z hiperhomocysteinemią wywołaną dietą) oraz myszy na diecie kontrolnej. Wykonano takie analizy dla wybranych organów: serc i nerek. Wykonano analizę bioinformacyjną uzyskanych danych. W przypadku analizy serc białka o zmienionej akumulacji w wyniku hiperhomocysteinemii zaangażowane są w takie procesy jak m.in. fosforylacja oksydacyjna, metabolizm glutatationu czy funkcjonowanie proteasomu. Ponadto białka te powiązane są z chorobami neurodegeneracyjnymi np. Parkinsona czy Alzheimerera. W przypadku analizy nerek białka o zmienionej akumulacji biorą udział w takich procesach jak: aktywacja płytek krwi, proces krzepnięcia krwi, czy synteza i degradacja ciał ketonowych.

6. Struktura i funkcja białka Glod4; (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: mgr inż. Olga Utyro

Syntetyczne omówienie wyników badań

Przeprowadzono i optymalizowano proces immunoprecypitacji białka Glod4 z mózgu myszy C57BL/6J na dwóch złożach komercyjnych: *A/G agarose* oraz *AminoLink Plus Coupling Resin*. W związku z niewystarczającą ilością materiału badawczego (próbek mózgu osób z chorobą Alzheimerera i osób zdrowych) oraz trudnościami w pozyskaniu kolejnego, zdecydowano o wykorzystaniu w badaniach mysiego modelu tej choroby. Pozyskano mózgi myszy 5xFAD – u których dochodzi do akumulacji ludzkiego amyloidu beta. Dzięki temu możliwe będzie śledzenie zmian poziomu białka Glod4 również w czasie rozwoju choroby Alzheimerera.

Publikacje

1. K. Kimakova, A. Kimakova, **J. Idkowiak**, **M. Stobiecki**, **P. Rodziewicz**, **L. Marczak**, E. Cellarova; Phenotyping the genus *Hypericum* by secondary metabolite profiling: emodin vs. skyrin, two possible key intermediates in hypericin biosynthesis; *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2018, 410, 7689-7699
2. **M. Pislewska-Bednarek**, R.T. Nakano, K. Hiruma, **M. Pastorczyk**, A. Sanchez-Vellet, 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* 2018, 176, 538-551
3. K. Borowczyk, **J. Wroblewski**, J. Suliburska, N. Akahoshi, I. Ishii, H. Jakubowski; Mutations in Homocysteine Metabolism Genes Increase Keratin N-Homocysteinylolation and Damage in

Mice; *International Journal of Genomics* 2018, 7570850

4. M. Gawin, A. Wojakowska, M. Pietrowska, **L. Marczak**, M. Chekan, K. Jelonek, D. Lange, R. Jaksik, A. Gruca, P. Widlak; Proteome profiles of different types of thyroid cancers; *Molecular and Cellular Endocrinology* 2018, 472, 68-79
5. A. Abramowicz, **L. Marczak**, A. Wojakowska, S. Zapotoczny, T. L. Whiteside, P. Widlak, M. Pietrowska; Harmonization of exosome isolation from culture supernatants for optimized proteomics analysis; *Plos One* 2018, 13, e0205496
6. M. Pietrowska, S. Funk, M. Gawin, **L. Marczak**, A. Abramowicz, P. Widlak, T. Whiteside; Isolation of Exosomes for the Purpose of Protein Cargo Analysis with the Use of Mass Spectrometry [w:] *Functional Genomics. Seria: Methods in Molecular Biology* (red. M. Kaufmann, C. Klinger, A. Savelsbergh) 2018, 1654, 291-307, *Humana Press*, New York, NY (nie sprawozdawano w roku 2017)

Prace przyjęte do druku

1. **K. Switonska, W. J. Szlachcic, L. Handschuh, P. Wojciechowski, L. Marczak, M. Stelmaszczuk, M. Figlerowicz, M. Figiel**; Identification of Altered Developmental Pathways in Human Juvenile HD iPSC With 71Q and 109Q Using Transcriptome Profiling; *Frontiers in Cellular Neuroscience*, DOI:10.3389/fncel.2018.00528
2. P. Brennecke, D. Rasina, O. Aubi, K. Herzog, J. Landskron, B. Cautain, F. Vicente, J. Quintana, J. Mestres, B. Stechmann, B. Ellinger, J. Brea, **J. L. Kolanowski, R. Pilarski**, M. Orzaez, A. Pineda-Lucena, L. Laraia, F. Nami, P. Zielenkiewicz, K. Paruch, E. Hansen, J. P. von Kries, M. Neuenschwander, E. Specker, P. Bartunek, S. Simova, Z. Lesnikowski, S. Krauss, L. Lehtiö, U. Bilitewski, M. Brönstrup, K. Taskén, A. Jirgensons, H. Lickert, M. H. Clausen, J. H. Andersen, M. J. Vicent, O. Genilloud, A. Martinez, M. Nazaré, W. Fecke, P. Gribbon; EU-OPENSREEN: A Novel Collaborative Approach to Facilitate Chemical Biology; *Slas Discovery: Advancing Life Sciences R&D*, DOI:10.1177/2472555218816276

Znaki towarowe:

Zgłoszenia międzynarodowe:

Agamede

zgłoszenie: 017960626 z 24.09. 2018 r.

Twórcy: **Radosław Pilarski**

Intelligent Screening System

zgłoszenie: 017960628 z 24.09. 2018 r.

Twórcy: **Radosław Pilarski**

Zakład Biologii Medycznej

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska (0,2 STATUT)³¹

Skład osobowy³²

Pracownicy naukowci:

dr Agnieszka Belter (NCN)

³¹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

³² Stan na 31.12.2018 r.

Działalność statutowa

VII. Wykorzystanie zmodyfikowanych nukleotydów RNA i DNA w diagnostyce medycznej i biotechnologii (prof. dr hab. Mirosława Naskręt-Barciszewska, wspólnie z dr hab. Katarzyną Rolle)

Cel badań

Analiza metylacji DNA oraz oksydacyjnych uszkodzeń DNA w guzach mózgu.

Opis zrealizowanych prac

Pobrano tkanki guza mózgu od 28 pacjentów poddanych resekcji guza w Klinice Neurochirurgii i Neurotraumatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Od 8 pacjentów pobrano próbki tkanki nowotworowej oraz krwi obwodowej. Wyizolowany czysty DNA, poddano enzymatycznej hydrolizie i zawartość 5-metylocytozyny po piętnowaniu fosforem P-32, określano metodą dwukierunkowej chromatografii cienkowarstwowej. Zawartość 8-hydroksyguanozyny analizowano metodą chromatografii cieczowej z detektorem elektrochemicznym. Obliczono całkowitą zawartość m⁵C i 8-oxo-dG w badanych preparatach DNA.

Opis najważniejszych osiągnięć

Zmiany zawartości m⁵C, głównego markera epigenetycznego DNA, są dobrą sondą do diagnozy guzów mózgu, nadciśnienia i innych chorób. Istnieją dowody, które wskazują, że białka TET są odpowiedzialne za utlenianie m⁵C (hypometylacja). Z drugiej strony, 8-oksoguanozyna, produkt uszkodzenia oksydacyjnego DNA, powstaje w wyniku reakcji z rodnikiem hydroksylowym (•OH) w komórkach nowotworowych. Badano poziom hypometylacji oraz zawartość 8-okso-dG w DNA. Zauważono dwa równoległe procesy zachodzące w komórce nowotworowej: (i) obniżenie poziomu m⁵C w DNA, (ii) wzrost zawartości 8-okso-dG w DNA. Porównanie zawartości 8-okso-dG (modyfikacja G) i m⁵C w guzach mózgu o różnym stopniu złośliwości wskazuje, że oba nukleozydy są modyfikowane przez •OH. Znalezione podobieństwa w mechanizmie utleniania m⁵C i guanozyny i stwierdzono, że 8-okso-dG, może być również dobrym markerem dla guzów mózgu. Wykazano, że guzy mózgu charakteryzują się silnym stresem oksydacyjnym, który powoduje globalne uszkodzenie DNA. Dwa różne rodzaje modyfikacji DNA wykazały, że reakcja uszkodzenia rodnikiem hydroksylowym występuje głównie w guzach mózgu. Wydaje się, że enzymy TET nie są bardzo wydajne. Badania te są podstawą przygotowanego manuskryptu *Global DNA methylation changes reflect random oxidative DNA damage in gliomas*.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki pozwolą na lepszą diagnostykę nowotworów mózgu przy wykorzystaniu dwóch markerów: m⁵C i 8-oxo-dG.

Projekty

Pionierskie badania struktury i funkcji G-kwadrupleksów miRNA; (SONATINA)

Kierownik projektu: dr Agnieszka Belter

Syntetyczne omówienie wyników badań

Przeprowadzono analizę *in silico* sekwencji miRNA dostępnych w bazie miRBASE. Wskazano miRNA bogate w G oraz miRNA posiadające motywy typowe dla kwadrupleksów. Przeprowadzone analizy wskazują, że ponad 30% ludzkich dojrzałych miRNA zawiera sekwencję bogatą w G (co najmniej 8 G, z pominięciem sekwencji poliG). Wskazano 189 miRNA (6.7%) posiadających motywy G₂N₁₋₇G₂N₁₋₇G₂N₁₋₇G₂ oraz 5 miRNA z motywem G₃N₁₋₇G₃N₁₋₇G₃N₁₋₇G₃, gdzie N - A, U, C, G. Do tej pory otrzymano modele struktur dla trzech z wytypowanych miRNA, a modele poddano analizie z wykorzystaniem dynamiki molekularnej. Zsyntetyzowano wybrane miRNA, przeprowadzono ich znakowanie, a następnie tak przygotowane RNA wykorzystano do określenia ich struktury z wykorzystaniem metod biochemicznych i biofizycznych (mapowanie enzymatyczne,

mapowanie chemiczne, SAX, spektroskopia CD). Otrzymane wyniki jednoznacznie wskazują, że obecność jonów potasu faworyzuje tworzenie przez badane miRNA struktury odmiennej niż w obecności innych jonów (Na^+ , Li^+ , Mg^{2+}). Obecnie prowadzone są badania mające na celu zweryfikowanie czy badane miRNA tworzą w obecności jonów potasu struktury kwadrupeksów.

Publikacje

1. B.P. Plitta-Michalak, **M. Z. Naskręt-Barciszewska**, Sz. Kotlarski, D. Tomaszewski, T. Tylkowski, **J. Barciszewski**, M. 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 2018, 38, 617-629
2. **A. Zubek, J.F. Barciszewski, A. Belter, J. Barciszewski**; Teoria jestestw organicznych Jędrzeja Śniadeckiego. Rewolucja w spojrzeniu na życie; NAUKA 2018, 4, 165-175

Wynalazki

Patenty krajowe

Rybozomy typu „hammerhead”, kompozycja, środek terapeutyczny je obejmujące, ich zastosowania oraz sposób selektywnej hydrolizy ex-vivo miR21 i prekursorów miR21

patent: PL 228060 z 19.02.2018 r.

zgłoszenie: P 403 341 z 27.03.2013 r.

Twórcy: **Mirosława Z. Naskręt-Barciszewska, Agnieszka Belter, Katarzyna M. Rolle, Monika Piwecka, Patrycja Sosińska-Zawierucha,**

Zakład Biosyntezy Białka

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Tomasz Twardowski (STATUT)³³

Skład osobowy³⁴

Pracownicy techniczni:

mgr Ewa Woźniak (0,5 STATUT/0,5 NCBR)

Doktoranci:

mgr Jakub Kuczyński (stypendium NCN)

Działalność statutowa

X. Bioekonomia i biotechnologia – aspekty społeczne i prawne (prof. dr hab. Tomasz Twardowski)

Cel badań

Analiza stanu prawnego i rozwoju bioekonomii, a zwłaszcza biotechnologii, w Polsce na tle innych krajów.

Opis zrealizowanych prac

Cel był realizowany poprzez publikacje, wykłady i aktywny udział (wygłaszanie wykładów) w konferencjach krajowych i międzynarodowych. Wykonano ocenę stanu rozwoju i porównano ją z innymi krajami UE. W wyniku przeprowadzonej analizy ustalono, że kontrowersje, które

³³ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

³⁴ Stan na 31.12.2018 r.

narosły wokół stosowania niektórych technik hodowlanych i wykorzystania ich produktów, sprawiają, że zmiany wymagają same przepisy o GMO, włącznie z definicją, stworzoną jeszcze w latach 90. XX w. Postęp w nauce często dokonuje się w takim tempie, że prawodawcy nie są w stanie za nim nadążyć. W przypadku NBT (ang. *new breeding techniques*), jak się wydaje, doszło do nieuzasadnionych opóźnień w tym zakresie. Prace nad nimi prowadzone były już w latach 80. i 90. XX w., a na potrzebę dokonania rozstrzygnięć w zakresie statusu prawnego produktów NBT wskazywano już dawno. Już w 2007 r. Komisja Europejska powołała grupę roboczą do spraw nowych technik hodowlanych, jednak do czasu wydania wyroku w sprawie C-528/16 w roku 2018 do żadnych rozstrzygnięć nie doszło. Ostatnio na potrzebę zmiany przepisów o GMO, w szczególności w taki sposób, aby to charakter zmian, a nie technika jaką zastosowano, decydował o tym czy dany organizm podlega regulacjom, wskazała również grupa doradców naukowych Komisji podnosząc, że przepisy powinny odzwierciedlać aktualną wiedzę oraz dowody naukowe, szczególnie w odniesieniu do edycji genomu oraz ustalonych (standardowo stosowanych) technik modyfikacji genetycznej. Trudno jednak przewidzieć czy i kiedy takie zmiany zostaną wprowadzone oraz jaki będzie ich kształt.

Opis najważniejszych osiągnięć

Opublikowanie wyników pracy w czasopismach międzynarodowych i krajowych.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Przedłożenie administracji państwowej ekspertyzy dotyczącej biotechnologii i biogospodarki; publikacje międzynarodowe i krajowe w czasopismach naukowych oraz popularyzacja problemu.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Optimalizacja metody badawczej digital droplet PCR dla wykrywania mikroRNA u różnych odmian soi (*kontynuacja projektu z 2017 r.*)

Kierownik zadania: mgr inż. Jakub Kuczyński

Cel badań

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

Opis realizowanych prac

W trakcie badań dokonano niezbędnej optymalizacji warunków reakcji ddPCR (w szczególności stężenie matrycy) do wykrycia i ilościowego oznaczenia wybranych miRNA u odmian soi Augusta i Fiskeby V. Wyniki badań zostały zaprezentowane na X-tej Interdyscyplinarnej Konferencji Naukowej TYGIEL 2018.

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 poprzednim projekcie grantowym wykonane zostały sekwencjonowania degradomu i krótkich RNA badanych linii kukurydzy. Jednakże sekwencjonowania te musiały zostać przeprowadzone ponownie z powodu małej ilości uzyskanych danych. W firmie zewnętrznej wykonano zatem sekwencjonowania bibliotek krótkich RNA (po 3 powtórzenia biologiczne) dla każdej badanej linii kukurydzy (S245 i S79757), w 8h po oprysku i 7 dni po oprysku. Wykonanie sekwencjonowania dla 3 powtórzeń biologicznych pozwala na pominięcie eksperymentów weryfikacji zmian poziomów mikroRNA pod wpływem stresu herbicydowego w badanych liniach kukurydzy.

Analizy uzupełniono sekwencjonowaniem degradomu dla ww. prób badanych. Rozpoczęto także analizy bioinformatyczne otrzymanych bibliotek, polegających na:

- (i) analizie ekspresji różnicowej,
- (ii) typowaniu ścieżek molekularnych i terminów GO, w których występuje nadreprezentacja genów będących pod kontrolą zadanego zestawu mikroRNA (np. miRNA wykazujących ekspresję różnicową),
- (iii) identyfikacji sekwencji docelowych dla mikroRNA z wykorzystaniem danych Degradome-Seq.

Aby zbadać różnice genetyczne między genomami roślin naturalnie tolerancyjnych i wrażliwych na Roundup®, wykorzystaliśmy te same dwie linie kukurydzy. W celu przewyciężenia złożoności genomu kukurydzy wykorzystaliśmy dwie technologie sekwencjonowania: Illumina i Single Molecule Real-Time (SMRT) PacBio. Udało nam się między innymi zidentyfikować 11 tysięcy wariantów strukturalnych, 4 miliony polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) i około 800 tysięcznych indeli rozróżniających oba genomy.

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

W 2018 r. przeprowadzono badania mające na celu określenie poziomu ekspresji czterech wybranych cząsteczek mikroRNA oraz genów podlegających ich kontroli, potencjalnie zaangażowanych w odpowiedź na stres chłodu. Zebrany wcześniej materiał biologiczny czterech odmian soi (Augusta, Fiskeby V, Toyomusume, Glycine soja) wykorzystano w izolacji totalnego RNA, celem skompletowania bibliotek sekwencyjnych, potrzebnych do sekwencjonowania krótkich RNA oraz degradomu. RNA odmian Augusta i Fiskeby V pochodzący z materiału pobranego na trzech etapach rozwojowych (siewki, faza V1 oraz R1) zastosowano do określenia poziomu ekspresji czterech cząsteczek mikroRNA (miR169, miR319, miR397, miR398) za pomocą techniki droplet digital PCR (ddPCR). Ponadto określono poziom ekspresji genów przewidzianych metodami bioinformatycznymi, jako podlegające kontroli wspomnianych mikroRNA. Uzyskane wyniki umożliwią porównanie reakcji różnych odmian soi na stres chłodu oraz poznanie mechanizmów zaangażowanych w odpowiedź soi na stres abiotyczny.

3. Innowacyjna technologia przetwórstwa rzepaku do żywienia drobiu; (CORNET)

– projekt realizowany w konsorcjum międzynarodowym; lider konsorcjum międzynarodowego: Gemeinschaft zur Förderung von Pflanzeninnovation e. V. (kierownik projektu: Dr. J. Jacobi), lider konsorcjum krajowego, Izba Gospodarcza Handlowców Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz (kierownik projektu: Anna Zymerman), konsorcjanci: ICHB PAN, , Freie Universität Berlin, Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin (VLB) e.V., Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB

Kierownik zadania z ramienia ICHB PAN: prof. dr hab. Tomasz Twardowski

Syntetyczne omówienie wyników badań

W 2018 r. w czasie realizacji projektu przygotowano dwie publikacje dotyczące możliwości wykorzystania alternatywnych źródeł białka w przemyśle paszowym, które mogłyby zastąpić importowaną genetycznie modyfikowaną śrutę sojową (Woźniak, Twardowski, 2018), a także artykuł o bezpieczeństwie żywnościowym w kontekście obecnego stanu i perspektyw rozwoju agrobiotechnologii (Tyczewska i in., 2018). Uczestniczono w dwóch konferencjach międzynarodowych Consortium Meeting, na którym zaprezentowane zostały dotychczasowe wyniki badań grupy zadaniowej WP3. Została opracowana koncepcja i materiały na stronę internetową

projektu. Przygotowana strona internetowa jest dostępna pod adresem: www.prorapeseed.eu. Opracowano manuskrypt dotyczący nowych technik hodowlanych roślin w kontekście orzecznictwa Trybunału Sprawiedliwości Unii Europejskiej, który zostanie opublikowany w 2019 r. (Zimny, Twardowski – praca przyjęta do druku).

Publikacje

1. D. Eriksson, E. De Andrade, B. Bohanec, S. S. Chatzopolou, R. Defez, N. L. Eriksson, P. Van der Meer, B. Van der Meulen, A. Ritala, L. Sagi, J. Schiemann, **T. Twardowski**, T. Vanek; Why the European Union needs a national GMO opt-in mechanism; *Nature Biotechnology* 2018, 36, 18-19
2. E. Wozniak, **T. Twardowski**; The bioeconomy in Poland within the context of the European Union; *New Biotechnology* 2018, 40, 96-102
3. A. Aguilar, R. Wohlgemuth, **T. Twardowski**; Perspectives on bioeconomy; *New Biotechnology* 2018, 40, 181-184
4. A. Aguilar, R. Wohlgemuth, **T. Twardowski**; Preface to the special issue bioeconomy; *New Biotechnology* 2018, 40, 1-4
5. A. Malyska, T. Bolla, **T. Twardowski**; Communicating Biotech Advances: Fiction versus Reality; *Trends in Biotechnology* 2018, 36, 121-123
6. **A. Tyczewska, E. Wozniak, J. Gracz, J. Kuczynski, T. Twardowski**; Towards Food Security: Current State and Future Prospects of Agrobiotechnology; *Trends in Biotechnology* 2018, 36, 1219-1229
7. **T. Twardowski**; Czy powinniśmy uprawiać rośliny GM w UE? Niech kraje Unii same o tym zadecydują!; *Nauka* 2018, 1, 157-160
8. **E. Wozniak, T. Twardowski**; GMO – czy w Polsce jest możliwa hodowla zwierząt gospodarskich bez pasz GM?; *Nauka* 2018, 3, 153-173
9. **T. Twardowski**; Biotechnologie to klucz do przyszłości kłopot dla legislatorów, 100 LAT ochrony własności przemysłowej w Polsce [w:] Księga jubileuszowa Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej (red. A. Adamczak) 2018, 1100-1111; Wolters Kluwer
10. E. Bartnik, S. Bielecki, J. Dulak, M. Kesik-Brodacka, M. Lobočka, A. Malyska, A. Sip, W. Bi, S. Sowa, J. Surmacz-Gorska, E. Waszkowska, **T. Twardowski** (red); Biogospodarka, biotechnologia i nowe techniki inżynierii genetycznej: nowoczesna biotechnologia podstawą biogospodarki, ekspertyza Komitetu Biotechnologii PAN; Ośrodek Wydawnictw Naukowych 2018, ISBN 978-83-7712-176-4

Prace przyjęte do druku:

1. **J. Barciszewski**, M.A. Ciemerych, **T. Twardowski**; Novel insights and innovations in biotechnology towards improved quality of life; *New Biotechnology*
2. M. Mahmoud, M. Zywicki, **T. Twardowski**, W.M. Karlowski; Efficiency of PacBio long read correction by 2nd generation Illumina sequencing; *Genomics*
3. M. Dettenhofer, M. Ondrejovic, V. Vasary, P. Kaszycki, **T. Twardowski**, S. Stuchlik, J. Turna, M. Dundar, K.M.A. Gartland & S. Miertus; Current state and prospects of biotechnology in Central and Eastern European countries. Part I: Visegrad countries (CZ, H, PL, SK); *Critical Reviews in Biotechnology*
4. T. Zimny, **T. Twardowski**; Nowe techniki hodowli roślin w świetle najnowszego orzecznictwa Trybunału Sprawiedliwości Unii Europejskiej, szczególna sytuacja pasz GM w Polsce; *Nauka*
5. **T. Twardowski**; Biotechnologie to klucz do przyszłości i do biogospodarki [w:] *Zeszyty Cedzyńskie*

Wynalazki

Patenty krajowe

Zastosowanie molekularnych biomarkerów do oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłónka naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią wywołaną podwyższonym poziomem tiolaktonu homocysteiny we krwi

patent: PL 227930 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 289 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda**, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, **Luiza Handschuh**, **Marek Figlerowicz**, **Tomasz Twardowski**, Joanna Suszyńska-Zajczyk

Sposób określania zmian ekspresji cząsteczek miRNA in vitro w celu oznaczania wczesnych chorobowych zmian strukturalnych śródbłónka naczyń krwionośnych spowodowanych hiperhomocysteinemią

patent: PL 227931 z 24.01.2018 r.

zgłoszenie: P 402 291 z 28.12.2012 r.

Twórcy: **Dorota Gurda**, Hieronim Jakubowski, Anna M. Kietrys, **Luiza Handschuh**, **Marek Figlerowicz**, **Tomasz Twardowski**, Joanna Suszyńska-Zajczyk

Zakład Chemii Kwasów Nukleinowych

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Adam Kraszewski (STATUT)³⁵

Skład osobowy³⁶

Pracownicy naukowcy:

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

Działalność statutowa

XIII. Pronukleotydy dla terapii antywirusowej i antynowotworowej (prof. dr hab. Adam Kraszewski)

Cel badań

Celem badań były koncepcyjnie nowe pronukleotydy antynowotworowe pochodne 2'-deoksy-5-fluorouracydyn-5'-ylu fosforanu (FdUMP). Problemem badawczym było zbadanie w jaki sposób bilans lipofilowości vs ładunek ujemny pronukleotydu wpływa na jego internalizację do komórek i aktywność biologiczną. Celami biologicznymi badań były linie komórek glejaka wielopostaciowego.

Opis zrealizowanych prac

Związki do badań, pronukleotydy FdUMP projektowano według charakteru reszty organicznej przyłączonej w pozycję 3' 2'-deoksy-5-fluorouracydyny lub do reszty fosforanowej. Ładunek lub ładunki ujemne skupione były na, odpowiednio, reszcie H-fosfonianowej lub fosforanowej w pozycji 5' nukleozydu. Otrzymano kilka nowych analogów FdUMP z podstawnikami typu acylowego w pozycji 3' o różnej lipofilowości. Badano aktywność cytostatyczną otrzymanych pronukleotydów. Synteza związków została przeprowadzona w Pracowni Syntezy Pochodnych

³⁵ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

³⁶ Stan na 31.12.2018 r.

Kwasów Nukleinowych (kierownik: dr hab. Tomasz Ostrowski), a badania aktywności cyto-
statycznej związków przeprowadzono w Zakładzie Epigenetyki (kierownik: prof. dr hab. Jan
Barciszewski).

Opis najważniejszych osiągnięć

Pośród badanych związków H-fosfoniany pochodnych 2'-deoksy-5-fluorourydyny wykazały
wysoką (IC_{50} w zakresie nM) aktywność antyproliferacyjną na badanych liniach glejaka wielo-
postaciowego, przy znacznie niższej aktywności na referencyjnych liniach zdrowych komórek
(MRC5).

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Wyniki po uzupełnieniu zostaną opisane i zgłoszone do druku, w zamierzeniu w *European Journal
of Medicinal Chemistry*.

Publikacje

1. **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* 2018, 144, 682-691
2. **J. Golebiewska M. Rachwalak, T. Jakubowski, J. Romanowska, J. Stawinski**; Reaction of Boranephosphonate Diesters with Amines in the Presence of Iodine: The Case for the Intermediacy of H-Phosphonate Derivatives; *Journal of Organic Chemistry* 2018, 83, 5496-55054

Prace przyjęte do druku:

J. Romanowska, K. Kolodziej, M. Sobkowski, M. Rachwalak, T. Jakubowski, J. Golebiewska, A. Kraszewski, J. Boryski, A. Dabrowska, J. Stawinski; Aryl H-phosphonates. 19. New anti-HIV pronucleotide phosphoramidate diesters containing amino- and hydroxypyridine auxiliaries; *European Journal of Medicinal Chemistry*, DOI:10.1016/j.ejmech.2018.12.038

Zakład Neurobiologii Molekularnej

Kierownik Zakładu: dr hab. Maciej Figiel, prof. ICHB PAN (STATUT)³⁷

Skład osobowy³⁸

Pracownicy naukowci:

dr Magdalena Surdyka (STATUT)

dr Łukasz Przybył (NCBR)

Pracownicy techniczni:

lic. Ewelina Mikołajczyk (STATUT)

Doktoranci:

mgr Kalina Wiatr (stypendium NCN)

mgr Piotr Piasecki (stypendium NCN)

mgr inż. Karolina Świtońska (stypendium NCN)

mgr Ewelina Jesion (POWER/STATUT)

³⁷ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

³⁸ Stan na 31.12.2018 r.

Działalność statutowa

XXII. Definiowanie nowych mechanizmów chorób neurodegeneracyjnych z użyciem mysich i komórkowych (iPSC) modeli chorób poliQ (dr hab. Maciej Figiel)

Cel badań

Celem badań była identyfikacja mechanizmów (także neurorozwojowych) chorób polyQ takich jak choroba Huntingtona poprzez badanie zmienionej ekspresji cząsteczek mRNA i białka w komórkach iPSC pochodzących od pacjentów cierpiących na juvenilną formę HD.

Opis zrealizowanych prac

Przeprowadzono ultra-głębokie sekwencjonowanie RNA (RNAseq) na juvenilnych komórkach iPSC HD 109HD, 71HD oraz kontrolnych iPSC. Komórki te są modelem wczesnego rozwoju zarodkowego u juvenilnych pacjentów HD. Zidentyfikowano znaczną liczbę genów o zmienionej ekspresji względem WT iPSC: 107 (6 linii HD), 198 (3 linie HD71Q) i 217 (3 linie HD109Q). Zmienioną ekspresję posiadały geny powiązane z odpowiedzią na uszkodzenia DNA i apoptozą takie jak: CCND1, CDKN1A, TP53, BAX, TNFRSF10B, TNFRSF10C, TNFRSF10D, DDB2, PLCB1, PRKCQ, HSH2D, ZMAT3, PLK2, i RPS27L. Ekspresja większości z nich była obniżona i ich produkty białkowe były potwierdzonymi interaktorami TP53. Analiza bioinformatyczna transkryptów zmienionych w liniach HD71Q iPSC pokazała, że niektóre z nich to regulatory transkrypcyjne na wczesnych stadiach rozwoju zarodka: ZFP57, PIWIL2, HIST1H3C, i HIST1H2BB.

Opis najważniejszych osiągnięć

Pokazaliśmy, że na wczesnym etapie rozwoju u pacjentów cierpiących na młodzieńczą formę HD, globalna zmiana ekspresji genów jest związana z embriogenezą i wczesnym rozwojem neuronów. Dodatkowo analiza proteomiczna pokazała zmienione poziomy białek TP53 i ZFP30 pokazując przełożenie funkcjonalne wyników mRNA. Nasze badania wskazują na to, że zmutowana huntingtyna w młodzieńczej formie HD powoduje wadliwą neurogenezę.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Neurorozwojowe fenotypy związane ze zmutowaną huntingtiną mogą zostać wykorzystane do odpowiedzi na pytanie czy wyciszanie huntingtyny u pacjentów z formą młodzieńczą jest wskazane. Może się bowiem okazać, że to niedobór huntingtyny (lub utrata jej funkcji) jest decydującym czynnikiem sprawczym w patogenezie młodzieńczej formy HD. W takim wypadku nieselektywne wyciszanie HTT nie ma podstaw terapeutycznych.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Badanie zaburzeń transportu w aksonach neuronów otrzymanych z mysiego modelu SCA3/Ki91, jako kluczowego elementu patogenezy ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 **Kierownik zadania: mgr inż. Kalina Wiatr**

Cel badań

Pierwszym celem projektu była identyfikacja białek o zmienionym poziomie w poszczególnych segmentach aksonu w neuronach pochodzących z mózdku i kory mózgowej mysiego modelu SCA3 Ki91. Przewidywanym wynikiem realizacji tego zadania było wyłonienie organelli komórkowych, których transport prawdopodobnie jest zaburzony w neuronach. Drugim celem projektu było zbadanie transportu aksonalnego wybranych organelli w hodowli *in vitro* neuronów z mózdku i kory mózgowej myszy Ki91.

Opis realizowanych prac

Podjęto liczne działania mające na celu optymalizację warunków hodowli neuronów *in vitro* otrzymanych z kory mózgowej i mózdku myszy Ki91 oraz kontrolnych. Ustalono m.in. optymalne pokrycie płytek, skład mediów do otrzymywania i prowadzenia hodowli, gęstość komórek na

płytkę. Przeprowadzono także eksperymenty mające na celu określenie czystości hodowli (RT-PCR, markery neuronalne i innych typów komórek w mózgu) oraz sprawdzenie czy zachodzi wzrost aksonów przez pory w membranach oddzielających ciała komórek nerwowych od wypustek.

2. Analiza immunofenotypu nowych modeli mysich choroby Huntingtona

Kierownik zadania: dr Łukasz Przybył

Cel badań

Celem projektu jest ocena fenotypu układu immunologicznego nowych mysich modeli choroby Huntingtona, które to modele pozwalają na rozróżnienie toksyczności zmutowanego transkryptu huntingtyny od toksyczności białka. Badane modele poddane zostaną pełnej charakterystyce pod kątem immunologicznym z użyciem cytometrii przepływowej.

Opis realizowanych prac

Wykonano pierwszy eksperyment optymalizujący protokół immunofenotypowania komórek śluzowy myszy typu dzikiego w celu oceny specyficzności przeciwciał. Barwienia wykonano w dwóch panelach i porównano je z barwieniami z pojedynczym przeciwciałem. Panel barwienia limfocytów T zawierał przeciwciała: CD3, CD4, CD8, CD44, CD62L, CD69, TCRgd, natomiast panel monocytów/makrofagów zawierał takie przeciwciała jak: CD11b, CD11c, Gr-1, Ly6C, F4/80, B220. Uprzednio sprawdzono żywotność komórek barwieniem *Life/Dead* i blokowano receptory Fc. Wykorzystane były przeciwciała testowe, które zadziałały bardzo specyficznie i zostaną zakupione do właściwych eksperymentów. Zdefiniowano wiele populacji komórkowych, takich jak: limfocyty T cytotoksyczne oraz dziewicze, efektorowe i pamięciowe, monocyty, komórki dendrytyczne, limfocyty B oraz MDSC.

Projekty

1. Toksyczność RNA w patogenezie chorób poliglutaminowych; (MAESTRO)

Kierownik projektu: dr hab. Maciej Figiel

Syntetyczne omówienie wyników badań

Opracowano protokół analizy smFISH (ang. *single-molecule FISH*), pozwalającej na identyfikację pojedynczych cząsteczek określonego transkryptu przy użyciu mikroskopii konfokalnej. Z wykorzystaniem tej metody wizualizowano mRNA huntingtyny i ataksyny-3 w fibroblastach pochodzących od osoby zdrowej i od pacjentów z chorobą HD i SCA3. Detekcję mRNA ataksyny-3 wykonano także w stabilnych modelach komórkowych SCA3 przygotowanych w liniach HEK293, HeLa oraz SH-SY5Y. W celu identyfikacji nowych ścieżek patogenezy choroby SCA3, w tym szlaków zależnych od zmutowanego RNA, zbadano profil ekspresji całkowitego transkryptomu metodą głębokiego sekwencjonowania oraz zmiany w profilu białek metodą proteomiki różnicowej w stabilnych modelach SH-SY5Y (1: ekspresja transkryptu i białka ataksyny-3 z normalną długością powtórzeń CAG; 2: ekspresja transkryptu i białka ataksyny-3 z patogenną długością powtórzeń CAG; 3: ekspresja jedynie transkryptu z patogenną długością powtórzeń CAG). Obecnie uzyskane dane są w trakcie analiz bioinformatycznych. Firma Polygene zakończyła generowanie 2 mysich modeli HD z ekspresją powtórzeń CAG nie ulegających i ulegających translacji. Ponadto firmie PolyGene zlecono wycięcie z uzyskanych modeli HD kasety terminującej transkrypcję, otoczonej miejscami loxP, poprzez skrzyżowanie myszy transgenicznej z myszą wykazującą ekspresję rekombinazy CRE. Aktualnie firma zrealizowała umowę uzyskując po 8 osobników reprezentujących oba modele HD z wyciętą kasetą. Obecnie myszy są przygotowywane do wysyłki.

2. Definiowanie nowych mechanizmów neurodegeneracji z użyciem pierwszego modelu knock-in SCA3/MJD; (SONATA BIS)

Kierownik projektu: dr hab. Maciej Figiel

Syntetyczne omówienie wyników badań

Przeprowadzono testy behawioralne w kohorcie myszy Ki91 mut/mut i kontrolnych (n = 36), w celu określenia fazy pre-symptomatycznej i symptomatycznej. Określono początek wystąpienia objawów motorycznych w wieku 12 miesięcy oraz różnicę w przyroście masy ciała od 4. miesiąca życia.

Proteomika: Szczegółowa analiza bioinformatyczna białek o zmienionym poziomie w modelu Ki91 mut/mut w różnym wieku oraz białek fosforylowanych w 2-miesięcznych myszach pre-symptomatycznych. Określono, że w fazie pre-symptomatycznej deregulowane białka zaangażowane są głównie w translację, fosforylację białek, splicing, organizację cytoszkieletu i transport w komórce oraz metabolizm energetyczny. Zmiana poziomu niektórych białek została potwierdzona metodą western blot. Przeprowadzono również analizę proteomu na większej kohorcie myszy 2-miesięcznych (10 wt x 10 mut/mut, kora mózgowa i mózdzek). Przeprowadzono analizę transkryptomyczną kory mózgowej oraz mózdzku modelu Ki91 w wieku 10 i 14 miesięcy (faza symptomatyczna). W mózgu Ki91 został wykryty zmieniony poziom ekspresji genów charakterystycznych dla progenitorów neuronów i oligodendrocytów (Olig1 i Olig2) oraz metabolizmu aminokwasów. Wykonano również eksperymenty, w których wykazano i potwierdzono zmieniony poziom ekspresji transkryptów Olig1 i Olig2 w neuronach GABAergicznym wyprowadzonych od pacjentów chorych na SCA3. Przygotowano publikację pt. „Network of pathogenic molecular processes in the brain during pre-symptomatic phase of SCA3/MJD”.

3. Terapia genowa ataksji rdzeniowo-mózdkowych: przywracanie prawidłowego metabolizmu cholesterolu poprzez mózgową nadekspresję 24-hydroksylazy cholesterolowej (CYP46A1); (E-RARE – SCA-CYP) – projekt realizowany w konsorcjum; lider projektu: Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (kierownik projektu: Dr. Nathalie Cartier), konsorcjanci: ICHB PAN, Institut du Cerveau et de la Moelle Epiniere, Eberhard Karls Universitaet Tuebingen, Center for Neuroscience and Cell Biology of the University of Coimbra

Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: dr hab. Maciej Figiel

Syntetyczne omówienie wyników badań

Projekt ma na celu potwierdzenie patogennej roli dysfunkcji metabolizmu cholesterolu w ataksjach rdzeniowo-mózdkowych oraz udowodnienie skuteczności terapii genowej polegającej na nadekspresji CYP46A1 za pomocą wektorów AAV (AAVCYP46A1) w ww. ataksjach.

W projekcie wykorzystane zostaną dwa mysie modele tj. C57BL i Ki91. Na obecnym etapie projektu sprowadzone zostały myszy C57BL, po czym wygenerowano ich kolonie, które w projekcie stanowić będą grupę kontrolną. Mysi model Ki91 przygotowano do oczyszczania, które przeprowadzone zostało w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie. Następnie nastawiono rozrody myszy mut/mut Ki91 i rozpoczęto rozmnażanie kolonii, która stanowić będzie grupę badaną. Wykorzystując model Ki91 przeprowadzono badania pilotażowe, polegające na domózgowej iniekcji soli fizjologicznej. Ustalono dawkę i region mózgu, po czym przeprowadzono wstrzyknięcia stereotaktyczne. Po 7 dniach od wstrzyknięć stereotaktycznych, myszy uśmiercono w celu pozyskania krwi, wątroby i mózgu. Przeprowadzono dysekcję mózgu, podczas której wytypowano regiony mózgu, w których potencjalnie powinien być obserwowany najlepszy efekt terapeutyczny po iniekcjach domózgowych (kora, prążkowie, mózdzek, wzgórze, pień mózgu). Pozyskane tkanki skolekcjonowano i zamrożono w -80°C.

4. Allelo-specyficzne obniżenie poziomu białka polyQ jako strategia terapeutyczna dla choroby Huntingtona oraz ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 i 7; (E-RARE – TREAT-POLYQ) – projekt realizowany w konsorcjum; lider projektu: Eberhard Karls Universitaet Tuebingen (kierownik projektu: Dr. Huu Phuc Nguyen), konsorcjanci: ICHB PAN, University of British Columbia, Lausanne University Hospital, Commissariat À l'Énergie Atomique Et Aux Énergies Alternatives, IGBMC/CERBM Department of Translational Medicine & Neurogenetics

Kierownik zadań z ramienia ICHB PAN: dr hab. Maciej Figiel

Syntetyczne omówienie wyników badań

Projekt łączy wyzwania współczesnej medycyny molekularnej, koncentrując się na dostarczaniu do mózgu potencjalnego terapeutycznego celu w zmutowany gen lub jego transkrypt. W tym projekcie testowana będzie skuteczność trzech obiecujących strategii hamowania ekspresji genów: oligonukleotydów antysensowych (ASO), reagentów interferencji RNA (RNAi) i edycji genomu w oparciu o CRISPR/Cas9. Ponadto wykorzystane będą unikalne i odpowiednie systemy modelowe. W szczególności: 1) poprzez analizy w zakresie genetyki populacyjnej zostaną zidentyfikowane sekwencje o największym potencjale terapeutycznym w strategii celowania w regiony zawierające warianty SNP, 2) zostanie poddana ocenie skuteczność nowatorskich strategii terapeutycznych z wykorzystaniem ASO, RNAi i CRISPR/CAS9 w modelach *in vitro* i *in vivo*, 3) opracowane zostaną potencjalne testy pozwalające określić poziom białek zmutowanych w mózgu i 4) zastosowane będą nowe nieinwazyjne metody MRI/NMR służące zobrazowaniu progresji choroby i oceny skuteczności terapeutycznej, jako potencjalne biomarkery. Na obecnym etapie projektu poczyniono przygotowania do jego rozpoczęcia, sporządzono umowę konsorcjum, zdecydowano o wyborze nowych cząstek wirusowych (AAV-PHP.eB), sprawdzono skuteczność reagenta syntetycznego, zakupiono nową, większą ilość tego siRNA do kolejnych badań, odbyto dwa spotkania konsorcjum w Wiedniu i Paryżu.

Publikacje

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* 2018, 55, 3351-3371

Prace przyjęte do druku:

K. Switonska, W. J. Szlachcic, L. Handschuh, P. Wojciechowski, L. Marczak, M. Stelmaszczuk, M. Figlerowicz, M. Figiel; Identification of Altered Developmental Pathways in Human Juvenile HD iPSC With 71Q and 109Q Using Transcriptome Profiling; *Frontiers In Cellular Neuroscience*, DOI:10.3389/fncel.2018.00528

Zakład Metabolomiki Funkcjonalnej Roślin

Kierownik Zakładu: dr hab. Paweł Bednarek, prof. ICHB PAN (STATUT)³⁹

Skład osobowy⁴⁰

Pracownicy naukowcy:

dr Anna Piasecka (STATUT)

dr Marta Pastorczyk (STATUT)

³⁹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁴⁰ Stan na 31.12.2018 r.

Pracownicy techniczni:

dr hab. Karolina Krystkowiak (STATUT)

Doktoranci:

mgr inż. Nicolas Jedrzejczak-Rey (stypendium KNOW)

mgr Paweł Czerniawski (stypendium NCN)

Działalność statutowa

XXI. Ewolucja metabolitów wtórnych w rodzinie Brassicaceae (dr hab. Paweł Bednarek)

Cel badań

Poznanie ewolucji szlaków metabolizmu wtórnego (w szczególności związanych z odpowiedzią na infekcję) w rodzinie Brassicaceae na poziomie metabolitów i genów kodujących enzymy związane z ich biosyntezą.

Opis zrealizowanych prac

Przeprowadzono niecelowane analizy metabolomiczne umożliwiające porównanie odpowiedzi wybranych gatunków Brassicaceae (*Arabidopsis thaliana*, *Capsella rubella*, *Cardamine hirsuta* oraz *Thellungiella halophila*) na wzorzec molekularny związany z patogenem. Sprawdzono, w jakim stopniu odpowiedź na wzorzec molekularny na poziomie zmian w akumulacji metabolitów różnicuje badane gatunki.

Opis najważniejszych osiągnięć

Wykonane analizy wykazały, że odpowiedź badanych gatunków, pomimo ich znacznego pokrewieństwa jest bardzo zróżnicowana. Nie zaobserwowano żadnego metabolitu, którego akumulacja zmieniałaby się w odpowiedzi na wzorzec molekularny we wszystkich czterech badanych gatunkach. Co więcej, analizy PCA wykazały, że podobieństwa w profilu zmian w akumulacji metabolitów nie zależą od stopnia pokrewieństwa pomiędzy badanymi gatunkami.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

W chwili obecnej przygotowywana jest publikacja zawierająca te wyniki.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Badanie wpływu myrozynazy PYK10 i potencjalnej myrozynazy BGLU18 na efektywność hydrolizy glukozynolanów podczas odpowiedzi *Arabidopsis* na zranienie

Kierownik zadania: mgr Paweł Czerniawski

Cel badań

Określenie wpływu znanych i nowych myrozynaz (tioglukozydazy) z *Arabidopsis* na efektywność hydrolizy glukozynolanów podczas odpowiedzi na zranienie.

Opis realizowanych prac

Przeprowadzono celowane analizy metabolomiczne glukozynolanów w próbkach z linii mutantów *cyp79b2 cyp79b3 myb28 myb29* (niezdolnej do biosyntezy glukozynolanów) oraz *tgg1 tgg2 pyk10 bglu18* (charakteryzująca się brakiem badanych myrozynaz) traktowanych jasmonianem metylu, w celu stymulacji odpowiedzi na zranienie. Porównanie wyników uzyskanych podczas analiz próbek, z roślin kontrolnych i traktowanych jasmonianem metylu wskazuje, że hormon ten aktywuje dodatkowe enzymy (oprócz TGG1, TGG2, PYK10, BGLU18) zdolne hydrolizować glukozynolany.

Projekty

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

Kierownik projektu: dr hab. Paweł Bednarek

Syntetyczne omówienie wyników badań

(i) Kontynuowano analizy metodą odwrotnej ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (RT-qPCR) ekspresji genów związanych z biosyntezą glukozynolanów w *Arabidopsis thaliana*, *Capsella bursa-pastoris*, *Capsella rubella*, *Capsella grandiflora*, *Camelina sativa* i *Neslia paniculata*. Analizy te wykazały, że brak lub niski poziom akumulacji glukozynolanów indolowych koreluje w *C. bursa-pastoris*, *C. rubella*, *C. grandiflora*, *Ca. sativa* i *N. paniculata* z obniżonym poziomem (brakiem) ekspresji *CYP83B1* i *MYB34*.

(ii) Uzyskano linie transgeniczne *C. rubella* ekspresyjujące *MYB34* z *A. thaliana* pod kontrolą natywnego promotora. Zaobserwowano, że ekspresja tego genu prowadzi do zwiększonej produkcji pochodnych kwasu indolilo-3-karboksylowego, ale nie do produkcji glukozynolanów indolowych.

(iii) Przeprowadzono analizy metaboliczne podwójnych mutantów *A. thaliana myb34 cyp83B1*, *myb51 cyp83B1* oraz *myb122 cyp83B1*, które wykazały, że jedynie mutacja w genie kodującym czynnik transkrypcyjny *MYB34*, a nie *MYB51* lub *MYB122*, prowadzi do wyraźnego obniżenia zwiększonej akumulacji pochodnych tryptofanu obserwowanego w mutancie *cyp83B1*.

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

Kierownik projektu: dr hab. Paweł Bednarek

Syntetyczne omówienie wyników badań

(i) W celu poszerzenia 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*, *pen2 cyp82C2*, *myb34/51/122* oraz *myb34/51/122 cyp71a12/13* zostały poddane testom podatności na infekcję przez *Colletotrichum higginsianum* i *Alternaria brassicicola*. Wyniki wykazały udział monooksygenazy *CYP71A12* w odporności *Arabidopsis* na te patogeny. Przeprowadzono też analizy metabolitów wtórnych różnicujących wybrane linie mutantów infekowanych *A. brassicicola*.

(ii) Przeprowadzono analizy metaboliczne mutantów *cyp71b7* infekowanych mączniakiem właściwym *Blumeria graminis*, które potwierdziły defekt w produkcji glukozydu 4-hydroksy-indolilo-3-fromamidu.

(iii) Dopracowano metodykę uzyskiwania i transformacji embriogenicznych kalusów *Brachypodium distachyon*. Przeprowadzono też pierwsze próby uzyskania za pomocą techniki CRISPR/Cas9 mutacji w genach kodujących enzymy szlaku biosyntezy serotoniny, np. 5-hydroksylazę tryptaminy.

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

Kierownik projektu: dr hab. Paweł Bednarek

Syntetyczne omówienie wyników badań

(i) Rozpoczęto niecelowane analizy metabolomiczne próbek przygotowanych z korzeni roślin *Arabidopsis* hodowanych *in vitro* w warunkach niedoboru lub normalnego poziomu fosforu w obecności wybranych grzybów endofitycznych. W doświadczeniach użyto 5 gatunków grzybów, które promowały wzrost w warunkach niedoboru fosforu, 2 gatunki niemające wpływu na wzrost roślin i 1 gatunek o charakterze patogennym. Przeprowadzone analizy LC/MS wykazały

duże przeprogramowanie metaboliczne spowodowane kolonizacją roślin przez grzyby (w porównaniu do roślin kontrolnych). Co istotne, obserwowane zmiany były bardzo podobne pomiędzy użytymi grzybami i większość z nich nie zależała od wpływu grzyba na wzrost rośliny.

(ii) Przeprowadzono analizy roli białka CYP71A12 w promocji wzrostu indukowanej w warunkach niedoboru fosforu przez kolonizację grzybem endofitycznym *Colletotrichum tofieldiae*. Wstępne wyniki uzyskane podczas doświadczeń z mutantami *cyp71a12* sugerują, że białko CYP71A12 jest istotne dla poprawnej indukcji genów związanych z odpowiedzią na głód fosforowy.

4. Wstępna charakterystyka funkcji białka błonowego ERD6 w transporcie glukozynolanów w odporności *Arabidopsis* na infekcje; (MINIATURA)

Kierownik projektu: dr Marta Pastorczyk

Projekt rozpoczął się 19.12.2018 r.

5. Mutageneza szlaków biosyntezy metabolitów wtórnych modelowej trawy *Brachypodium distachyon*; (MINIATURA)

Kierownik projektu: dr hab. Karolina Krystkowiak

Projekt rozpoczął się 19.12.2018 r.

Publikacje

1. **P. Czerniawski, P. Bednarek**; Glutathione S-Transferases in the Biosynthesis of Sulfur-Containing Secondary Metabolites in Brassicaceae Plants; *Frontiers in Plant Science* 2018, 9, 1639
2. S. Sopena-Torres, L. Jorda, C. Sanchez-Rodriguez, E. Miedes, V. Escudero, S. Swami, G. Lopez, **M. Pisłewska-Bednarek**, I. Lassowskat, Y. Gu, S. Haigis, D. Alexander, S. Pattathil, A. Munoz-Barrios, **P. Bednarek**, S. Sornerville, P. Schulze-Lefert, M.G. Hahn, D. Scheel, A. Molina; YODA MAP3K kinase regulates plant immune responses conferring broad-spectrum disease resistance; *New Phytologist* 2018, 218, 661-680
3. **M. Pisłewska-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* 2018, 176, 538-551
4. A. Gryszczynska, M. Dreger, **A. Piasecka**, P. Kachlicki, N. Witaszak, A. Sawikowska, M. Ozarowski, B. Opala, Z. Lowicki, A. Pietrowiak, M. Miklas, P. L. Mikołajczak, K. Wielgus; Qualitative and quantitative analyses of bioactive compounds from ex vitro *Chamaenerion angustifolium* (L.) (*Epilobium angustifolium*) herb in different harvest Times; *Industrial Crops and Products* 2018, 123, 208-220
5. M. Ozarowski, **A. Piasecka**, A. Paszel-Jaworska, D. S. D. Chaves, A. Romaniuk, M. Rybczynska, A. Gryszczynska, A. Sawikowska, P. Kachlicki, P. L. Mikołajczak, A. Seremak-Mrozikiewicz, A. Klejewski, B. Thiem; Comparison of bioactive compounds content in leaf extracts of *Passiflora incarnata*, *P. caerulea* and *P. alata* and in vitro cytotoxic potential on leukemia cell lines; *Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal Of Pharmacognosy* 2018, 28, 179-191
6. K. Gudys, J. Wroblewska-Guzy, A. Janiak, M. A. Dziurka, A. Ostrowska, K. Hura, B. Jurczyk, K. Zmuda, D. Grzybowska, J. Srobka, W. Urban, J. Biesaga-Koscielniak, M. Filek, J. Koscielniak, K. Mikołajczak, P. Ogrodowicz, **K. Krystkowiak**, A. Kuczynska, P. Krajewski, I. Szarejko; Prioritization of Candidate Genes in QTL Regions for Physiological and Biochemical Traits Underlying Drought Response in Barley (*Hordeum vulgare* L.); *Frontiers in Plant Science* 2018, 9, 769

Zakład Genomiki Strukturalnej RNA

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Elżbieta Kierzek (STATUT)⁴¹

Skład osobowy⁴²

Pracownicy naukowcy:

dr Elżbieta Lenartowicz (NCN)

dr Paula Michalak (STATUT)

Doktoranci:

mgr Julita Kęsy (stypendium KNOW)

mgr Barbara Szutkowska (NCN)

mgr inż. Klaudia Wieczorek (POWER/STATUT)

mgr Aleksandra Jarmołowicz (POWER/STATUT)

Działalność statutowa

XVIII. Uniwersalne elementy strukturalne w RNA wirusów grypy (prof. dr hab. Elżbieta Kierzek)

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 konieczność wytwarzania corocznych nowych szczepionek umożliwiających walkę z epidemiami i pandemiemi. 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. W badaniach 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 PNA na konserwatywne domeny segmentu 8 vRNA wirusa grypy szczepu dzikiego A/California/04/2009 (H1N1). Wykorzystano właściwości PNA do tworzenia trypleksów z dwuniciowymi RNA. Potwierdzono skuteczność w inhibicji namnażania PNA naczynowanych na konserwatywne motywy znajdujące się na 3' i 5' końcu cząsteczki wirusowego RNA. Najlepsze PNA obniżały namnażanie wirusa o 60% (FFU assay), a ilość wirusowego RNA spadała o 70% (RT-qPCR). Motywy wybrane w strategii antysensowej 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 typu PNA naczynowanych na konserwatywne motywy strukturalne segmentu 8 vRNA wirusa grypy typu dzikiego A/California/04/2009 (H1N1).

⁴¹ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁴² Stan na 31.12.2018 r.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

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

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Struktura drugorzędowa piątego segmentu wirusa grypy typu A na przykładzie podtypu H1N1 (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: dr Paula Michalak

Cel badań

Celem projektu było przeprowadzenie mapowania chemicznego segmentu 5 vRNA (vRNA5) wirusa grypy typu A dla szczepu A/California/04/2009 (H1N1), porównanie profili mapowań chemicznych, motywów obecnych w strukturach vRNA5 szczepów: H5N1 i H1N1, a także zaprojektowanie i przetestowanie w liniach komórkowych oligonukleotydów typu gapmer, inhibujących namnażanie wirusa grypy i nacelowanych na vRNA5.

Opis realizowanych prac

Sygnały z mapowań DMS dla obu badanych szczepów (A/California/04/2009 (H1N1) oraz A/Vietnam1203/2004 (H5N1)) w wielu przypadkach pokrywają się. Mapowania DMS oraz NMIA są identyczne dla obu badanych szczepów w rejonie 1-130 nt. W oparciu o dane eksperymentalne stworzono model struktury drugorzędowej vRNA5 szczepu A/California/04/2009 (H1N1). Do motywów, które zidentyfikowano w obydwu strukturach drugorzędowych należą motywy spinek 976-986nt oraz 90-112nt. Nieznaczne różnice między modelami strukturalnymi zaobserwowano w rejonie 1460-1522nt. Dotyczą pojedynczych nukleotydów i wynikają głównie z różnic w sekwencji obu szczepów, co determinowało tworzenie par zasad. Wykonano także badania namnażania wirusa A/California/04/2009 w liniach komórkowych MDCK w obecności pięciu oligonukleotydów typu gapmer. Najlepszy z nich – oligonukleotyd 19GP powodował inhibicję namnażania wirusa grypy o 43%. Zaprezentowane wyniki pozwalają stwierdzić, że struktury drugorzędowe szczepów H5N1 i H1N1 mogą być podobne.

2. Struktura drugorzędowa wirusowych RNA - opracowanie nowatorskiej metody odczytu mapowań struktury drugorzędowej segmentów wirusa grypy typu A H1N1 szczepu A/California/04/2009 w komórkach ludzkich z wykorzystaniem metod głębokiego sekwencjonowania (NGS)

Kierownik zadania: mgr Barbara Szutkowska

Cel badań

Opracowanie metody umożliwiającej odczyt struktury drugorzędowej wielu segmentów wirusa grypy typu A H1N1 w warunkach komórkowych z zastosowaniem głębokiego sekwencjonowania NGS.

Opis realizowanych prac

Wykonano szereg infekcji wirusem grypy szczepu A/California/04/2009, z zastosowaniem różnych stężeń wirusa (MOI) oraz czasów inkubacji. Następnie przeprowadzono reakcje mapowania odczynnikami NAI oraz DMS w różnych stężeniach. Po izolacji całkowitego RNA i reakcji z DNazą potwierdzano obecność RNA wirusowego w próbce z zastosowaniem ilościowego PCR. Po potwierdzeniu obecności wirusowego RNA, próby przeznaczono do oczyszczania rRNA komórkowego. Następnie ponownie wykonano reakcję RT-qPCR i potwierdzono zwiększenie udziału wirusowego RNA w próbce całkowitego RNA z 0,4% do 2%. Wykonano kolejne etapy konstrukcji biblioteki takie jak: reakcja odwrotnej transkrypcji, hydroliza RNA oraz ligacja. Ostatnim etapem konstrukcji biblioteki była dwuetapowa reakcja PCR. Na drugim etapie dodane zostały startery

niezbędne do sekwencjonowania Illumina. Wszystkie reakcje były oczyszczane z zastosowaniem kulek SPRI. Stężenie bibliotek zostało zmierzone i rozdzielone na bioanalizatorze. Po wybraniu odpowiedniego stężenia NAI wykonano 3 powtórzenia eksperymentu, a uzyskane biblioteki przeznaczono do sekwencjonowania NGS.

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: prof. dr hab. Elżbieta Kierzek

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 odbiałczaniu iv) transkrybowanych RNA oraz v) wykorzystanie tej wiedzy do inhibicji namnażania wirusa grypy z użyciem antysensowych oligonukleotydów, siRNA i niskocząsteczkowych ligandów.

W 2018 roku badania skupiły się na opracowaniu metody odczytu struktury drugorzędowej 8 segmentu wirusa grypy typu A w warunkach komórkowych. W 2018 roku kontynuowane były badania dotyczące przygotowania bibliotek fragmentów z przeznaczeniem do wysokoprzepustowego sekwencjonowania nowej generacji (NGS). W pierwszym etapie przeprowadzono eksperymenty z zastosowaniem komórek MDCK. Komórki te były infekowane wirusem o stężeniu $MOI = 0.1$, po 24 godzinach od infekcji komórki traktowano chemicznym odczynnikiem mapującym – NAI lub DMS, w różnych stężeniach. Po izolacji całkowitego RNA, jego oczyszczenia i sprawdzenia poziomu vRNA w frakcji całkowitego RNA, próby przeznaczono do przygotowania biblioteki NGS. Zastosowano 5 specyficznych dla 8 segmentu starterów do odwrotnej transkrypcji. Następnie przeprowadzono ligację znanej sekwencji na 3' końcu oraz dwuetapowy PCR. Wszystkie reakcje były oczyszczane za pomocą kulek typu SPRI. Po rozdziale przy użyciu bioanalizatora, wybrano odpowiednie stężenia odczynników mapujących. Eksperyment powtórzono 3 razy, a uzyskane biblioteki zostały poddane sekwencjonowaniu platformą Illumina. Uzyskano zadowalającą ilość odczytów, a dane są obecnie na etapie analizy bioinformatycznej.

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

Pierwszym etapem badań było otrzymanie mutantu segmentu 8 zawierającego sekwencję spinki PP7. Podjęto próbę uzyskania dwóch rodzajów mutantów. W obu przypadkach miejscem docelowym wbudowania spinki PP7 był rejon vRNA8 kodujący łącznik pomiędzy domenami białka NS. Łącznik ten w różnych szczepach wirusa grypy posiada różną długość. Stąd postanowiono w jednym podejściu wyciąć cały łącznik i wbudować sekwencję spinki PP7, w drugim wycięte zostało 15nt, które znajdują się w sekwencji szczepu A/California/04/2009, a które nie są obecne w szczepie A/Vietnam/1203/2004. W pierwszej kolejności usunięto odpowiednią ilość nukleotydów za pomocą mutagenazy ukierunkowanej, a następnie tą samą metodą wbudowano sekwencję spinki PP7. Sekwencję uzyskanych mutantów potwierdzono metodą sekwencjonowania. Plazmidy zawierające określone sekwencje namnożono w bakteriach *E.coli*, a następnie oczyszczono. Uzyskane plazmidy służą do odzyskania wirusa za pomocą systemu 8 plazmidów. Obecnie trwają prace nad optymalizacją warunków odzyskania wirusa metodą wykorzystującą plazmidy. Równolegle podjęto próbę analizy vRNA wirusa grypy pod względem modyfikacji poprzez enzymy z rodziny ADAR. W tym celu komórki MDCK infekowano wirusem grypy A/California/04/2009, po 24h od infekcji z komórek izolowano totalne RNA, następnie RNA poddawano

modyfikacji akrylonitrylem, przeprowadzano reakcję odwrotnej transkrypcji i reakcję PCR. Otrzymane próby poddawano sekwencjonowaniu metodą Sangera. Obecnie trwają badania nad optymalizacją warunków reakcji.

3. Modyfikowane siRNA, rybozomy i system CRISPR/Cas jako strategię 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

Przeprowadzono eksperymenty mające na celu zwiększenie potencjału przeciwwirusowego rybozymów typu hammerhead. Jako sekwencje docelowe dla katalitycznych kwasów nukleinowych wybrano rejony mRNA segmentu 5 wirusa grypy typu A (mRNA5), w których największą aktywność inhibitorową uzyskały siRNA. Dodatkowo, zmodyfikowano koniec 3' rybozymów poprzez wprowadzenie nukleotydu LNA w celu zwiększenia enzymatycznej stabilności RNA. Przeprowadzone badania nad stabilnością w surowicy nie wykazały znaczących różnic pomiędzy wariantami RNA zawierającymi i nie zawierającymi modyfikacji. Rybozomy poddano próbom zdolności cięcia w warunkach *in vitro* modelowych lub pochodzących z transkrypcji *in vitro* cząsteczek RNA. W badaniach *in vitro* wykazano, że rybozym w obecności jonów magnezu przecina krótki, modelowy fragment RNA natychmiast po dodaniu do mieszaniny reakcyjnej. Następnie katalityczne RNA poddano testom na linii komórkowej MDCK infekowanej wirusem grypy. Do komórek wprowadzano rybozomy na drodze transfekcji stosując różne stężenia. Wyniki eksperymentów *in cellulo* pokazują, że najbardziej aktywny rybozym nakierowany na rejon 615 mRNA5 hamuje namnażanie wirusa grypy typu A o około 50%. Efekt inhibitorowy został osiągnięty w stężeniu 200 nM, które stanowiło najwyższe z testowanych stężeń. Rezultat ten wskazuje, że potencjał rybozymów w warunkach komórkowych jest ograniczony. Obserwacja ta może wynikać z faktu, że w warunkach *in vitro* stężenie jonów magnezu niezbędnych do katalitycznego cięcia jest stałe, a rejon docelowego działania nie jest uwikłany w oddziaływania ograniczające jego dostępność.

Publikacje

M. Szabat, E. Kierzek, R. Kierzek; Modified RNA triplexes: Thermodynamics, structure and biological potential; *Scientific Reports* 2018, 8, 13023

Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin

Kierownik Zakładu: dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB PAN (0,67 STATUT/0,33 NCN)⁴⁴

Skład osobowy⁴⁵

Pracownicy naukowcy:

dr Joanna Banasiak (STATUT)

dr Wanda Biała (NCN)

Doktoranci:

mgr Aleksandra Paweła (stypendium KNOW)

mgr inż. Tomasz Jamruszka (stypendium NCN)

mgr Konrad Pakuła (POWER/STATUT)

⁴⁴ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁴⁵ Stan na 31.12.2018 r.

Działalność statutowa

XVI. Badania mechanizmów selektywnego transportu molekuł sygnałowych decydujących o cechach użytkowych roślin uprawnych (dr hab. Michał Jasiński)

Cel badań

Poznanie mechanizmów selektywnego transportu związków o charakterze sygnałowym, w którym pośredniczą białka ABC.

Opis zrealizowanych prac

Z wykorzystaniem autorskiego programu komputerowego wyselekcjonowano pełne transportery ABCG z roślin należących do różnych grup systematycznych. Uzyskane sekwencje posłużyły do skonstruowania drzew filogenetycznych (MEGA6) oraz zbadania presji selekcyjnej (codeML) dla poszczególnych pozycji w sekwencjach kodujących wybrane helisy transbłonowe białek ABCG.

Opis najważniejszych osiągnięć

Stworzenie autorskiego programu komputerowego do wyszukiwania i weryfikacji sekwencji kodujących białka należące do rodzin wielogenowych.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki zostaną wykorzystane do zaprojektowania zmian aktywności/selektywności białek ABCG.

Projekty

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

Kierownik projektu: dr hab. Michał Jasiński

Syntetyczne omówienie wyników badań

Analizy fenotypu mutantów insercyjnych genu *MtABCG4* nasunęły przypuszczenie, że badany transporter może być zaangażowany w negatywną regulację tworzenia brodawek korzeniowych oraz korzeni bocznych. Kolejnym etapem badań było przypisanie aktywności transportera do konkretnego systemu autoregulacyjnego. Miało to na celu określenie, czy analizowany transporter jest częścią systemicznie działającego mechanizmu wpływającego na morfologię korzenia, czy może reguluje on opisane procesy morfogenetyczne jedynie lokalnie, w obrębie korzenia. Narzędziem, które zostało wykorzystane na tym etapie badań były specjalnie do tego wygenerowane rośliny, posiadające dwa korzenie przybyszowe. Inokulacja jednego z korzeni bakteriami symbiotycznymi *Sinorhizobium meliloti* nie spowodowała wzrostu ekspresji genu *MtABCG4* w drugim z nich. Zaobserwowano natomiast, że ekspresja *MtABCG4* indukowana jest jedynie w korzeniu bezpośrednio traktowanym bakteriami. Sugeruje to, że badany transporter reguluje powstawanie organów korzeniowych jedynie lokalnie.

2. Molekularne determinanty selektywnego transportu będącego udziałem roślinnych transporterów ABCG; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Michał Jasiński

Syntetyczne omówienie wyników badań

Projekt rozpoczął się we wrześniu 2018 r. Uzyskano modele struktury dwóch białek ABCG, które wstępnie z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych przygotowano do dalszych analiz. Z wykorzystaniem dynamiki molekularnej dokonano symulacji modeli oraz zależnego od różnych ligandów zachowania się modelowego układu atomów w strukturach. Na podstawie tych wyników zaproponowano serię aminokwasów, które zostaną zmienione w kierunkowej muta-

genezie. Przeprowadzono klonowanie genów kodujących badane białka z organizmów modelowych (lucerna i tytoń) w wektorach ekspresyjnych. Konstrukty zostały zsekwencjonowane i na tak przygotowanych matrycach rozpoczęto mutagenezę. Uzyskano szereg modyfikacji transporterów, które będą teraz testowane w eksperymentach transportu z wykorzystaniem ligandów użytych przy modelowaniu.

3. 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 przeprowadzono analizy fenotypowe mutantu w obrębie genu *MtPDR23*, kodującego potencjalny transporter strigolaktonów (SLs) u *Medicago truncatula*. Wykorzystując zdolność SLs do stymulacji kiełkowania nasion roślin pasożytniczych, zbadano wpływ eksudatów korzeniowych roślin typu dzikiego i mutantu *mtpdr23* na poziom kiełkowania nasion *Phelipanche ramosa*. Uzyskane wyniki wykazały, że mutant w porównaniu z typem dzikim w mniejszym stopniu stymuluje kiełkowanie badanych nasion, sugerując zaburzenia w uwalnianiu SLs z korzeni roślin pozbawionych funkcjonalnego białka MtPDR23. Ponadto stworzono model wskazujący na rolę transportera SLs w promowaniu arbuskularnej mikoryzy u *M. truncatula*, będącej przykładem rośliny pozbawionej egzodermy. Dodatkowo wykazano, że *MtPDR23* ulega ekspresji w brodawkach korzeniowych (w strefie merystematycznej rozwijających i dojrzających brodawek). Wykazano również, że brak MtPDR23 nie wpływa na liczbę formowanych brodawek korzeniowych po inokulacji bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny *Sinorhizobium meliloti*.

Publikacje

W. Biala, M. Jasinski; The Phenylpropanoid Case – It Is Transport That Matters; *Frontiers in Plant Science* 2018, 9, 1610

Zakład Bioinżynierii Kwasów Nukleinowych

Kierownik Zakładu: dr hab. Anna Pasternak, prof. ICHB PAN (STATUT)⁴⁶

Skład osobowy⁴⁷

Pracownicy naukowci:

dr Weronika Kotkowiak (STATUT)

dr Jolanta Lisowiec-Wąchnicka (NCN)

Pracownicy techniczni:

dr Zofia Jahnz-Wechmann (STATUT)

Doktoranci:

mgr Carolina Pereira Roxo (stypendium NCN)

mgr Natalia Bartyś (POWER/STATUT)

⁴⁶ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁴⁷ Stan na 31.12.2018 r.

Działalność statutowa

IV. Badania właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych modyfikowanych oligonukleotydów o potencjale diagnostycznym oraz terapeutycznym (dr hab. Anna Pasternak)

Cel badań

Celem badań było wykorzystanie wybranych modyfikacji chemicznych, jako narzędzi molekularnych zmieniających właściwości fizykochemiczne oraz biologiczne oligonukleotydów.

Opis zrealizowanych prac

Badania przeprowadzono wielotorowo projektując, a następnie syntetyzując oligonukleotydy mające potencjał do tworzenia dupleksów oraz G-kwadrupleksów. Pojedyncze modyfikacje wprowadzane do oligonukleotydów dotyczyły zarówno części cukrowej (np. 2'-O-metylo-RNA, LNA, UNA, β -L-RNA), jak i części zasadowej (np. 4-tiourydyna, 4-tiocytydyna, 2-tiourydyna) reszt nukleozydowych. Po etapie oczyszczania przeprowadzono analizę zmian w trwałości termodynamicznej tworzonych struktur (dupleksy oraz G-kwadrupleksy), badania zmian w topologii fałdowania struktur za pomocą dichroizmu kołowego oraz temperaturowych widm różnicowych (G-kwadrupleksy), analizę właściwości antykoagulacyjnych (G-kwadrupleksy) oraz wydajności w procesie wyciszania genów (dupleksy).

Opis najważniejszych osiągnięć

Określono wpływ poszczególnych modyfikacji na trwałość termodynamiczną dupleksów oraz zmianę dyskryminacji stabilności par AU vs. GU, AU vs. AC. Pozwoliło to wybrać takie warianty cząsteczek, dla których różnica w stabilności termodynamicznej pomiędzy formą dziką mRNA i zmutowaną, zawierającą pojedynczą mutację, była jak największa. Wprowadzenie modyfikowanych nukleotydów spowodowało znaczne zwiększenie różnicy w energii swobodnej: dla par A-U i G-U ponad czterokrotnie, natomiast dla par AU i AC ponad sześciokrotnie. Ocena alleloselektywności zaprojektowanych cząsteczek nie dała jednak jednoznacznych wyników, co do powiązania zwiększonej dyskryminacji powyższych par w kontekście poprawy selektywności wyciszania genów. Wydaje się więc, że sama stabilność termodynamiczna dupleksu mRNA/nić antysensowa siRNA nie jest jedynym czynnikiem decydującym o pełnej alleloselektywnej degradacji mRNA. W przypadku G-kwadrupleksów wykorzystano modelowy aptamer posiadający dodatkową domenę helikalną. Stwierdzono, że korzystna dla trwałości termodynamicznej całego konstruktu jest stabilizacja części helikalnej modyfikacjami typu LNA. Zwiększenie labilności konformacyjnej jednej z pętli wewnętrznych aptameru również wpływało pozytywnie na trwałość konstruktu. Ponadto otrzymano kilka nowych modyfikowanych wariantów o poprawionych właściwościach przeciwwakrzepowych w stosunku do niemodyfikowanego modelu.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Otrzymane wyniki wskazują na użyteczność wybranych modyfikacji chemicznych do poprawy właściwości biologicznych aptamerów i identyfikują specyficzne miejsca, w których korzystne wydaje się zmodyfikowanie struktur G-kwadrupleksowych. Natomiast analiza danych termodynamicznych oraz danych otrzymanych z eksperymentów komórkowych z użyciem modyfikowanych chemicznie oligonukleotydów pozwoliła na poszerzenie wiedzy z zakresu wpływu i ewentualnego wykorzystania wybranych modyfikacji do alleloselektywnego wyciszania genów.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Nowe pochodne aptameru RE31 o potencjalnych właściwościach antykoagulacyjnych

Kierownik zadania: dr Weronika Kotkowiak

Cel badań

Celem projektu było poszukiwanie analogów aptameru RE31 o poprawionych właściwościach przeciwwakrzepowych. Realizacja powyższego zadania badawczego była możliwa dzięki

określeniu wpływu pojedynczego lub wielokrotnego podstawienia resztami kwasów nukleinowych o zwiększonej labilności pierścienia rybozy (z ang. unlocked nucleic acids, UNA): adenozyiny, cytydyny, guanozyiny i urydyny oraz resztami kwasów nukleinowych o usztywnionej konformacji pierścienia rybozy (z ang. locked nucleic acids, LNA): adenozyiny, guanozyiny i tymidyny w serii LNA na stabilność termodynamiczną, zmiany w topologii fałdowania struktury i właściwości antykoagulacyjne aptameru RE31.

Opis realizowanych prac

W pierwszym etapie realizacji projektu przeprowadzono badania stabilności termodynamicznej wariantów RE31 z zastosowaniem spektrofotometru UV/VIS przy długości fali równej 295 nm. Wyniki przeprowadzonych badań termodynamicznych wykazały znaczący wpływ rodzaju modyfikacji na stabilność termodynamiczną analizowanych wariantów RE31. Najkorzystniejsze okazało się wprowadzenie reszt nukleotydowych w serii LNA do części helikalnej aptameru oraz połączenie wspomnianej zmiany z podstawieniem pozycji T15 resztami nukleotydowymi w serii UNA. Wzrost stabilności termodynamicznej aptameru RE31 uzyskano również poprzez równoczesne wprowadzenie reszt urydyny w serii UNA w pozycje T11, T15 oraz T20 omawianej cząsteczki. Nieco mniejszy, ale nadal stabilizacyjny efekt zaobserwowano w przypadku pojedynczego podstawienia resztami nukleotydowymi w serii UNA w pozycjach T11, T15 oraz T20.

Projekty

1. Uwarunkowania strukturalne właściwości przeciwnowotworowych oligonukleotydów bogatych w guanozynę; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Anna Pasternak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Zoptymalizowano procedurę syntezy białka (nukleoliny) niezbędnego do przeprowadzenia badań planowanych w projekcie. Z sukcesem przeprowadzono nadekspresję i oczyszczanie nukleoliny na dużą skalę. Zaprojektowano, zsyntetyzowano i oczyszczono oligonukleotydy DNA tworzące ściśle zdefiniowane struktury G-kwadrupeksowe. Wykonano również syntezę chemiczną oraz oczyszczanie części z planowanych oligonukleotydów RNA. Rozpoczęto badania trwałości termodynamicznej otrzymanych G-kwadrupeksów oraz ich powinowactwa do nukleoliny. Dodatkowo, dla otrzymanych G-kwadrupeksów RNA wykonano pomiary widm dichroizmu kołowego oraz temperaturowych widm różnicowych w celu weryfikacji topologii fałdowania badanych struktur.

2. Dwufunkcyjne oligonukleotydy antysensowe – optymalizacja w regulacji alternatywnego splicingu w nowotworowych liniach komórkowych; (SONATA)

Kierownik projektu: dr inż. Joanna Lisowiec-Wąchnicka

Syntetyczne omówienie wyników badań

Dwa plazmidy do nadekspresji domen wiążących się z RNA dla białek SRSF1 i hnRNPA1 zostały otrzymane od prof. Freda Allaina (Institut of Molecular Biology and Biophysics, Zurych). Pozwoliły one na wykonanie badań przesiewowych oceny wiązania się oligonukleotydów RNA do dwóch czynników splicingowych. Zsyntetyzowano 50 cząsteczek RNA dla białka SRSF1 i 40 cząsteczek RNA dla białka hnRNPA1, które według danych literaturowych powinny oddziaływać z tymi białkami. W celu wstępnej oceny wiązania się cząsteczek RNA z białkami wykonano eksperyment EMSA na niedeneaturującym żelu poliakrylamidowym w temperaturze 4°C. Wyniki tych badań pozwoliły wyodrębnić oligonukleotydy RNA, które bardzo dobrze wiążą się do SRSF1. Następnie rozpoczęto optymalizację warunków otrzymania stałej wiązania metodą MST. Wyniki tych badań pozwolą na wybranie kilku cząsteczek RNA do dalszych badań, tj. do wprowadzenia do nich modyfikowanych nukleotydów i małych motywów strukturalnych. Druga część badań nad

tym projektem polegała na otrzymaniu fragmentu cząsteczki pre-mRNA genu PKM o długości 8886 nukleotydów. Uzyskano dwuniciową matrycę DNA z promotorem T7, dalej przeprowadzono reakcję transkrypcji *in vitro* z zestawem enzymów wyselekcjonowanych do syntezy tak długich cząsteczek RNA. Oczyszczone cząsteczki RNA zostały wykorzystane w reakcji splicingu *in vitro* z wykorzystaniem ekstraktu jądrowego z linii komórkowej HeLa. Wykonano wstępne eksperymenty w celu oceny uzyskanych produktów metodą PCR oraz qPCR.

3. Termodynamiczne podstawy projektowania optymalnych funkcjonalnie, modyfikowanych siRNA oraz ich eksperymentalna weryfikacja; (SONATA BIS)

Kierownik projektu: dr hab. Anna Pasternak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Wyznaczone w latach poprzednich dane termodynamiczne wykorzystano do zaprojektowania pełnej długości dupleksów siRNA, które posłużyły do badań selektywności wyboru nici antysensowej przez kompleks RISC w zależności od trwałości termodynamicznej 5'-końców dupleksów. Do dalszych badań wybrano modyfikowane reszty nukleotydowe o najciekawszych właściwościach termodynamicznych tj. 2-tiocytidyne, 2-tiourydyne, 4-tiourydyne oraz naturalne niesparowania. Kompleksowa analiza aktywności poszczególnych nici dupleksów siRNA jako nici antysensowych w zależności od stabilności termodynamicznej 5'-końców wskazała, że każda z nici siRNA może stać się nicią antysensową. Sytuacja ta jest wysoce niekorzystna, gdy chcemy użyć siRNA jako środka terapeutycznego. Brak swoistości działania siRNA może zwiększać odpowiedź immunologiczną i oznacza, że do uzyskania najlepszej aktywności cząsteczki siRNA potrzebne będzie wyższe stężenie siRNA. Zmiany stabilności termodynamicznej siRNA spowodowane przez wprowadzenie niesparowań powodowały, że tylko jedna nić była wybierana jako antysensowa zgodnie z teorią mniej stabilnego 5'-końca. Kiedy zmodyfikowane nukleotydy wprowadzono w celu zmiany stabilności końców, wpływ na selekcję nici antysensowej był nieprzewidywalny. Otrzymane wyniki wyraźnie pokazały, że kilka zmian może prowadzić do sytuacji, w której tylko jedna nić jest wybrana jako nić antysensowa. Dodatkowym elementem, nieplanowanym pierwotnie w projekcie, było określenie odporności wybranych, zmodyfikowanych dupleksów siRNA na działanie enzymów komórkowych. W ostatnim etapie zastosowano modyfikowane nukleotydy do badań nad allelo-selektywnym wyciszaniem zmutowanych mRNA.

4. Właściwości antykoagulacyjne i antyproliferacyjne nowych analogów aptameru wiążącego trombinę; (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: dr Weronika Kotkowiak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Jednym z głównych celów projektu było określenie wpływu pojedynczego oraz wielokrotnego podstawienia resztami izoguanozyny w serii UNA: stabilność termodynamiczną, zmiany w topologii fałdowania struktury oraz właściwości antykoagulacyjne G-kwadrupleksów opartych o sekwencję aptameru wiążącego trombinę (z ang. thrombin binding aptamer, TBA). Wprowadzenie reszt izoguanozyny w serii UNA w pozycje G1, G8 i G10 aptameru wiążącego trombinę spowodowało znaczne obniżenie stabilności termodynamicznej analizowanych G-kwadrupleksów, a uzyskany efekt był silnie zależny od pozycji, w którą wprowadzono modyfikację. Energia swobodna wszystkich badanych wariantów przyjmowała wartość dodatnią, co świadczy o tym, że cząsteczki te w temperaturze 37°C nie przyjmowały struktury G-kwadrupleksu. Widma CD i TDS analizowanych wariantów charakteryzowały się zmniejszeniem intensywności lub całkowitym zanikiem pasm charakterystycznych dla wewnątrzcząsteczkowego, antyrównoległego G-kwadrupleksu. Na tej podstawie można było wnioskować, że wprowadzenie powyższych modyfikacji wyraźnie zmniejsza ustrukturalizowanie G-kwadrupleksów lub uniemożliwia przyjęcie tej struktury. Efekt antykoagulacyjny dla wariantów TBA określono poprzez wykonanie testu trombinowego. We

wszystkich analizowanych przypadkach zaobserwowano znaczne obniżenie właściwości antykoagulacyjnych badanych wariantów. Uzyskane wyniki mogą wskazywać na istotność integralności struktury G-tetrad w zachowaniu właściwości antykoagulacyjnych TBA. Wprowadzenie modyfikacji reszt nukleotydowych powodujących jej rozluźnienie prowadzi do obniżenia zdolności inhibicji aktywności trombiny przez badane aptamery.

5. Synteza nowych pochodnych porfirynowych o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej (PDT); (MINIATURA)

Kierownik projektu: dr Zofia Jahnz-Wechmann

Syntetyczne omówienie wyników badań

W ramach projektu otrzymano komponenty potrzebne do syntezy asymetrycznych porfiryn w postaci dipirolometanu, 5-chlorometylodipirolometanu oraz 5-jodofenylodipirolometanu z bardzo dobrymi wydajnościami rzędu 60-80%. Prowadząc dalsze badania powstałe bloki syntetyczne wzbogacono dodatkowo grupami funkcyjnymi, wykorzystując reakcję z odczynnikami Vilsmeiera, a także reakcję acylowania z chlorkiem acylu wobec SnCl_4 , co pozwoliło na uzyskanie 1-formylodipirolometanu, 1-formylo-5-jodofenylodipirolometanu, 1-chloroacetylodipirolometanu oraz 1-formylo-9-chloroacetylodipirolometanu. Pochodne te powstawały z wydajnościami 25-50%. Ze względu na różną trwałość tych substratów zostały one w mniejszym lub większym stopniu wykorzystane do dalszych badań. W prowadzonych reakcjach otrzymano porfiryny, stosując jako katalizator HCl lub TFA, o różnym podstawieniu wokół pierścienia, jedno z nich obserwowano tylko na TLC, inne udało się wyizolować i zweryfikować analizą NMR. Uzyskano porfirynę o podstawieniu 5,10 podstawnikiem aromatycznym i alifatycznym z wydajnością 25%. Wykonano reakcje sprzęgania Sonogashiry w celu uzyskania porfiryny z wydłużonym łańcuchem jako substraty do dalszego funkcjonalizowania porfiryn. Przeprowadzono szereg reakcji, które pozwoliły na optymalizację warunków, dobór substratów i pomyślne zakończenie prowadzonych badań.

Publikacje

1. **W. Kotkowiak, J. Lisowiec-Wachnicka, J. Grynda, R. Kierzek, J. Wengel, A. Pasternak;** Thermodynamic, Anticoagulant, and Antiproliferative Properties of Thrombin Binding Aptamer Containing Novel UNA Derivative; *Molecular Therapy-Nucleic Acids* 2018, 10, 304-316
2. **W. Kotkowiak, T. Czapik, A. Pasternak;** Novel isoguanine derivative of unlocked nucleic acid-Investigations of thermodynamics and biological potential of modified thrombin binding aptamer; *Plos One* 2018, 13, e0197835

Prace przyjęte do druku

J. Lisowiec-Wachnicka, N. Bartys, A. Pasternak; A systematic study on the influence of thermodynamic asymmetry of 5'-ends of siRNA duplexes in relation to their silencing potency; *Scientific Reports*, DOI:10.1038/s41598-018-36620-9

Zakład Chemii Biopolimerów

Kierownik Zakładu: dr hab. Marcin K. Chmielewski, prof. ICHB PAN (STATUT)⁴⁸

Skład osobowy⁴⁹

Pracownicy naukowci:

dr Jolanta Brzezińska (STATUT)

⁴⁸ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁴⁹ Stan na 31.12.2018 r.

Pracownicy techniczni:

mgr inż. Dominika Krygier (STATUT)

Doktoranci:

mgr Agnieszka Witkowska (stypendium KNOW)

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

mgr Magdalena Paluch (POWER/STATUT)

Działalność statutowa

XI. Synteza i analityka modyfikowanych biopolimerów (dr hab. Marcin K. Chmielewski)

Cel badań

Celem badań realizowanych w Zakładzie było prowadzenie prac syntetycznych dotyczących chemicznej syntezy kwasów nukleinowych, ich modyfikacji oraz opracowywanie metod analitycznych.

Opis zrealizowanych prac

W okresie sprawozdawczym prowadzono badania nad trwałym połączeniem syntetycznych oligonukleotydów z podłożem stałym, co było przedmiotem publikacji naukowej w czasopiśmie *ACS Omega*. Chemiczna synteza wykonana była na stałym podłożu modyfikowanym za pomocą silanów. W wyniku prowadzonych prac badawczych określono, że linker ten jest stabilny w warunkach zasadowych niezbędnych do usunięcia grup ochronnych. Drugim nurtem realizowanych w Zakładzie badań była chemiczna synteza oligonukleotydów zawierających termolabilne grupy ochronne. Grupy te mają za zadanie tymczasową ochronę funkcji fosforanowej w taki sposób, aby zablokować reakcję PCR. Badania prowadzono dwutorowo, blokując tri oraz diestry fosforanowe. Główny problem badawczy skupiał się na stabilizacji termolabilnych grup ochronnych podczas zasadowych warunków koniecznych do usunięcia grup ochronnych na zasadzie heterocyklicznej.

Opis najważniejszych osiągnięć

1. Opracowano metodę immobilizacji oligonukleotydów na fazie stałej za pomocą łącznika silanowego i wykazano ich biologiczną aktywność.
2. Uzyskano oligonukleotydy z termolabilną grupą ochronną na 5'-diestrze fosforanowym i udowodniono jej termolabilność.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki są wykorzystywane w dalszej pracy badawczej Zakładu. Część wyników posłużyła do przygotowania publikacji naukowej w dwóch naukowych publikacjach wydanych w następujących czasopismach: *ACS Omega* i *PLOS ONE*.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Analiza właściwości fluorescencyjnych i termolabilnych pochodnych 1,2-bis(2-pirydylo)-etyleny (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: mgr Agnieszka Witkowska

Cel badań

Cele postawione w pracy dotyczyły wyznaczenia parametrów fotochemicznych oraz właściwości termolabilnych pochodnych 2-N-pirydynylowych wykazujących emisję fluorescencji.

Opis realizowanych prac

Wykonane eksperymenty dotyczyły pomiarów spektrofotometrycznych i spektrofluorymetrycznych badanych związków: i) wyznaczono maximum absorpcji i emisji, wraz z przesunięciami Stokes'a w metanolu ii) wyznaczono molowy współczynnik ekstynkcji ϵ [dm³·mol⁻¹·cm⁻¹] w metanolu iii) dla wybranych pochodnych zbadano pH-zależność oraz efekt solwatochromowy. Pomiary wykonywano w kuwetach kwarcowych o drodze optycznej 10 mm, a każdy z badanych związków był rozpuszczany bezpośrednio przed wykonywanym eksperymentem. Eksperymenty dotyczące kinetyki termocyklizacji wykonano na węglanie 3'-O-acetylowanej tymidyny dla wybranej pochodnej w buforze fosforanowym o pH = 7.2, w funkcji czasu i temperatury, i analizowano przy użyciu HPLC. Na podstawie uzyskanych wyników, potwierdzono odłączenie fluoroforu poprzez mechanizm wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji. Odnotowano względną stabilność danej pochodnej w zakresie temperatur od 25 do 45 °C i gwałtowne przyspieszenie termocyklizacji w wyniku podniesienia temperatury do 50 °C.

Publikacje

1. K. Kucinski, M. Jankowska-Wajda, **T. Ratajczak**, **S. Balabanska-Trybus**, A. Schulmann, H. Maciejewski, **M.K. Chmielewski**, G. Hreczycho; Silica Surface Modification and Its Application in Permanent Link with Nucleic Acids; *ACS Omega* 2018, 3, 5931-5937
2. **J. Brzezinska**, J. Kujawski, **A. Witkowska**, K. Czaja, M.K. Bernard, **M.K. Chmielewski**; Experimental and computational studies on a protonated 2-pyridinyl moiety and its switchable effect for the design of thermolytic devices; *Plos One* 2018, 13, e0203604

Wynalazki

Patenty międzynarodowe

Method for protecting hydroxyl, amine or thiol functional groups with tetraisopropyldisilane and the corresponding protected compounds

patent: EP 2841401 z 4.07.2018 r.

zgłoszenie: EP 13727666.2 z 19.10.2014 r.

Twórcy: **Wojciech T. Markiewicz**, **Marcin K. Chmielewski**, Sylwia Musiał, Hieronim Maciejewski, Grzegorz Hreczycho

Patenty krajowe

Analog cytozyny i jego zastosowanie w leczeniu chorób związanych z zaburzeniami metylacji DNA

patent: PL 229581 z 3.09.2018 r.

zgłoszenie: P 390 769 z 19.03.2010 r.

Twórcy: **Jan Barciszewski**, **Wojciech T. Markiewicz**, Ewelina Adamska, Beata Plitta, **Małgorzata Giel-Pietraszuk**, **Eliza Wyszko**, Maria Markiewicz, **Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska**, **Tadeusz Kuliński**, **Marcin K. Chmielewski**

Postępowania walidacyjne

patent EP 2841401 został walidowany w 6 krajach (Niemcy, Francja Wielka Brytania, Belgia, Luksemburg, Szwajcaria)

Tytuł: *Method for protecting hydroxyl, amine or thiol functional groups with tetraisopropyldisilane and the corresponding protected compounds*

Twórcy: **Wojciech T. Markiewicz**, **Marcin K. Chmielewski**, Sylwia Musiał, Hieronim Maciejewski, Grzegorz Hreczycho

Zakład Proteomiki Biomedycznej

Kierownik Zakładu: dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN (STATUT)⁵⁰

Skład osobowy⁵¹

Doktoranci:

mgr Joanna Tracz (stypendium NCN)

Działalność statutowa

I. Wykorzystanie nowych podejść metodycznych w identyfikacji produktów naturalnych pochodzenia roślinnego technikami spektrometrii mas (dr hab. Magdalena Łuczak, wspólnie z prof. dr. hab. Maciejem Stobieckim – zadanie przedstawiono na str. 102)

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Optymalizacja metody profilowania białek zawierających grupy karbonylowe w osoczu z wykorzystaniem technik spektrometrii mas

Kierownik zadania: mgr Joanna Tracz

Cel badań

Głównym zadaniem projektu było opracowanie oraz zoptymalizowanie metody umożliwiającej profilowanie białek zawierających grupy karbonylowe, z wykorzystaniem technik spektrometrii mas.

Opis realizowanych prac

Zadanie to było realizowane na próbkach osocza, poddanych w pierwszej kolejności derywatywacji, a następnie separacji z wykorzystaniem chromatografii powinowactwa. Określono stężenia białek i poddano proteolizie enzymatycznej, a otrzymane peptydy analizowano z wykorzystaniem techniki LC-MS/MS. Analiza label-free umożliwiła określenie zmian jakościowych oraz ilościowych zmodyfikowanych białek w próbkach osocza. Zoptymalizowany protokół posłużył do wykonania analizy porównawczej akumulacji białek karbonylowanych w osoczu pacjentów z podwyższonym poziomem stresu oksydacyjnego oraz zdrowych ochotników.

Projekty

Poszukiwanie molekularnych mechanizmów progresji miażdżycy w przewlekłej chorobie nerek; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Magdalena Łuczak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Przeprowadzono optymalizację przygotowania próbek osocza do analiz ilościowych typu MRM w układzie LC/MS/MS za pomocą aparatu Shimadzu LCMS-8060. Przeanalizowano następujące parametry: stężenie homocysteiny (Hcy), poziom zaawansowanych produktów oksydacji białek (AOPP, ang. *advanced oxidation protein product*), utlenionej formy frakcji cholesterolu LDL, glutationu oraz poziom paraoksonazy 1, winkuliny, mieloperoksydazy oraz syntazy tlenu azotu. Porównano osocza zdrowych ochotników, pacjentów z początkową i zaawansowaną chorobą nerek oraz pacjentów z początkową i zaawansowaną chorobą sercowo-naczyniową. Dane eks-

⁵⁰ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁵¹ Stan na 31.12.2018 r.

perymentalne opracowano. Wykonano analizę lipidów ekstrahowanych z osocza. Zidentyfikowano 125 lipidów różnicujących analizowane grupy eksperymentalne. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie i na tej podstawie przygotowano manuskrypt publikacji. Zdefiniowano różnice jakościowe i ilościowe w proteomie komórek leukocytów izolowanych z krwi obwodowej pomiędzy pacjentami z różnym stadiem CKD oraz CVD oraz ochotników bez CKD oraz CVD. Wyniki opracowano i przygotowano manuskrypt publikacji.

Publikacje

1. J. Zdarta, K. Anteck, A. Jedrzak, K. Synoradzki, **M. Luczak**, T. Jesionowski; Biopolymers conjugated with magnetite as support materials for trypsin immobilization and protein digestion; *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* 2018, 169, 118-125
2. K. Kucharczyk, M. Weiss, K. Jastrzebska, **M. Luczak**, A. Ptak, M. Kozak, A. Mackiewicz, H. Dams-Kozłowska; Bioengineering the spider silk sequence to modify its affinity for drugs; *International Journal of Nanomedicine* 2018, 13, 4247-4261
3. **L. Handschuh**, M. Kazmierczak, **M. C. Milewski**, **M. Goralski**, **M. Luczak**, M. Wojtaszewska, **B. Uszczynska-Ratajczak**, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **M. Figlerowicz**; Gene expression profiling of acute myeloid leukemia samples from adult patients with AML-M1 and -M2 through boutique microarrays, real-time PCR and droplet digital PCR; *International Journal of Oncology* 2018, 52, 656-678
4. **L. Handschuh**, **P. Wojciechowski**, M. Kazmierczak, **M. Marcinkowska-Swojak**, **M. Luczak**, K. Lewandowski, M. Komarnicki, **J. Blazewicz**, **M. Figlerowicz**, **P. Kozłowski**; NPM1 alternative transcripts are upregulated in acute myeloid and lymphoblastic leukemia and their expression level affects patient outcome; *Journal of Translational Medicine* 2018, 16, 232

Prace przyjęte do druku

1. **P. Jackowiak**, **A. Lis**, **M. Luczak**, **I. Stolarek**, **M. Figlerowicz**; Functional characterization of RNA fragments using high-throughput interactome screening; *Journal of Proteomics*, DOI:10.1016/j.jprot.2018.10.007
2. M. Waliczek, R. Bachor, M. Kijewska, D. Gaszczyk, K. Panek-Laszczyńska, A. Konieczny, K. Dąbrowska, W. Witkiewicz, K. Marek-Bukowiec, **J. Tracz**, **M. Luczak**, Z. Szewczuk, P. Stefanowicz; Isobaric duplex based on a combination of $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ enzymatic exchange and labeling with pyrylium salts; *Analytica Chimica Acta*, DOI:10.1016/j.aca.2018.10.012

Zakład Bioinformatyki Strukturalnej

Kierownik Zakładu: dr hab. Marta Szachniuk, prof. ICHB PAN (STATUT)⁵²

Skład osobowy⁵³

Pracownicy naukowcy:

dr Marcin Radom (0,5 STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Mariusz Popenda (STATUT)

⁵² W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁵³ Stan na 31.12.2018 r.

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 (dr hab. Marta Szachniuk)

Cel badań

- (i) Rozwój systemu RNApdbec do adnotowania i analizy II- i III-rzędowych struktur RNA.
- (ii) Opracowanie metody modelowania konformacji zasad i reszt nukleozydowych w strukturach 3D RNA.
- (iii) Opracowanie systemu do przewidywania rozszerzonej struktury II-rzędowej RNA.
- (iv) Odkrywanie motywów w strukturach premiRNA z rodzin Viridiplantae.
- (v) Modelowanie struktur 3D RNA w ramach konkursów RNA-Puzzles.

Opis zrealizowanych prac

- (i) Opracowano funkcje do adnotowania i wizualizacji pseudowęzłów oraz wiązań niekanonicznych. Zaproponowano metodę wspomagającą znalezienie kompromisowej struktury II-rzędowej na podstawie adnotowania różnymi algorytmami. Nowe funkcje i metody zaimplementowano w RNApdbec 2.0.
- (ii) Opracowano metodę RNAfitme wspomagającą edytowanie struktury 3D RNA poprzez modelowanie wybranych zasad i reszt nukleozydowych w strukturze.
- (iii) Zaprojektowano i zaimplementowano system RNAvista do przewidywania struktury II-rzędowej RNA zawierającej pary niekanoniczne.
- (iv) Przeanalizowano zbiór dostępnych danych strukturalnych premiRNA z królestwa Viridiplantae. Zidentyfikowano potencjalne motywy w sekwencji i strukturze II-rzędowej związane z biogenezą miRNA.
- (v) Wzięto udział w kolejnych edycjach konkursu RNA-Puzzles oraz opracowano metodę wstępnego przetwarzania i normalizacji danych strukturalnych zgłaszanych do konkursu.

Opis najważniejszych osiągnięć

Implementacja nowych algorytmów w RNApdbec 2.0 umożliwiających dokładną analizę relacji między II- i III-rzędową strukturą RNA. Implementacja metody modelowania wybranych zasad i reszt w strukturze 3D RNA. Implementacja systemu z interfejsem sieciowym RNAvista.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Nowe procedury wizualizacji parowań niekanonicznych w RNApdbec 2.0 pozwoliły na opracowanie nowej klasyfikacji struktur kwadrupleksów. Wyniki prac opublikowano w manuskryptach.

Publikacje

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* 2018, 34, 1304-1312
2. **M. Antczak**, **T. Zok**, M. Osowiecki, **M. Popenda**, **R.W. Adamiak**, **M. Szachniuk**; RNAfitme: a webserver for modeling nucleobase and nucleoside residue conformation in fixed-backbone RNA structures; *BMC Bioinformatics* 2018, 19, 304
3. J. Miskiewicz, **M. Szachniuk**; Discovering structural motifs in miRNA precursors from the Viridiplantae Kingdom; *MOLECULES* 2018, 23, 1367
4. **T. Zok**, M. Antczak, M. Zurkowski, **M. Popenda**, **J. Błazewicz**, **R.W. Adamiak**, **M. Szachniuk**; RNApdbec 2.0: multifunctional tool for RNA structure annotation; *Nucleic Acids Research* 2018, 46, W30-W35

5. D. Formanowicz, **M. Radom, A. Rybarczyk, P. Formanowicz**; The role of Fenton reaction in ROS-induced toxicity underlying atherosclerosis – modeled and analyzed using a Petri net-based approach; *Biosystems* 2018, 165, 71-87
6. J. Olszak, **M. Radom, P. Formanowicz**; Some aspects of modeling and analysis of complex biological systems using time Petri nets; *Bulletin of the Polish Academy of Sciences-Technical Sciences* 2018, 66, 67-78
7. **M. Radom, P. Formanowicz**; An Algorithm for Sequencing by Hybridization Based on an Alternating DNA Chip; *Interdisciplinary Sciences-Computational Life Sciences* 2018, 10, 605-615
8. **M. Radom, P. Formanowicz**; Symulacja stochastycznych sieci Petriego i jej zastosowanie w analizie systemów biologicznych[w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II (red. A. Świerniak, J. Krystek) 2018, 165-174; Wydawnictwo Politechniki Śląskiej

Prace przyjęte do druku

M. Antczak, M. Zablocki, T. Zok, A. Rybarczyk, J. Blazewicz, M. Szachniuk; RNAvista: a webserver to assess RNA secondary structures with non-canonical base pairs; *Bioinformatics*, DOI:10.1093/bioinformatics/bty609

Zakład Inżynierii Genomowej

Kierownik Zakładu: dr hab. Marta Olejniczak, prof. ICHB PAN (STATUT)⁵⁴

Skład osobowy⁵⁵

Doktoranci:

mgr Magdalena Dąbrowska (stypendium NCN)

mgr Anna Kotowska-Zimmer (stypendium NCN)

Działalność statutowa

XIX. Rozwijanie technologii edycji genomów oraz metod oceny jej efektywności i specyficzności (dr hab. Marta Olejniczak)

Cel badań

Celem badań jest rozwijanie technologii edycji genomów.

Opis zrealizowanych prac

W ramach badań opracowano nową metodę qEva-CRISPR służącą do oceny efektu działania systemu CRISPR-Cas w komórkach. Wykorzystuje ona sondy MLPA wiążące się do miejsca modyfikacji DNA przez białko Cas9 i pozwala na czułe oraz ilościowe określanie udziału mutacji typu indel w próbce.

Opis najważniejszych osiągnięć

Opracowano oryginalną metodę detekcji zmian w DNA wprowadzanych w wyniku edycji systemem CRISPR-Cas. Wykazano, że qEva-CRISPR pozwala na analizę mutacji w trudnych regionach genomu, takich jak sekwencje mikrosatelitarne w genie HTT. Wykazano możliwość multipleksowej analizy wielu sekwencji docelowych oraz regionów *off-target* w jednym eksperymencie. Potencjał metody został pokazany na wielu liniach komórkowych, transfekowanych przy pomocy kilku metod, przy wykorzystaniu wielu genów docelowych. Metoda pozwala na detekcję zmian

⁵⁴ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁵⁵ Stan na 31.12.2018 r.

powstałych w wyniku naprawy homologicznej (HDR) oraz łączenia niehomologicznych końców (NHEJ).

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Wyniki badań zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie NAR Methods, a metoda qEva-CRISPR jest wykorzystywana w eksperymentach edycji genomów.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Stworzenie nowych linii komórkowych HEK293 i iPSC przy użyciu systemu CRISPR/Cas9

Kierownik zadania: mgr Magdalena Dąbrowska

Cel badań

Otrzymanie heterozygotycznych i homozygotycznych linii komórkowych HEK293 z 40 powtórzeniami CAG i linii iPSCs z prawidłową długością ciągu powtórzeń CAG.

Opis realizowanych prac

Zaprojektowano sgRNA celujące w region okalający powtórzenia CAG w exonie 1 genu HTT, które wklonowano do plazmidów z ekspresją białka nikaza Cas9 (Cas9n) i GFP. Para plazmidów z odpowiednimi sgRNA oraz matryca donorowa zostały dostarczone do komórek HEK293 i iPSCs przy użyciu elektroporacji (Neon Transfection System, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Matrycą donorową dla komórek HEK293T był plazmid z całym exonem 1 huntingtyny z 40 powtórzeniami CAG, zaś dla komórek iPSCs syntetyczny oligonukleotyd. Po elektroporacji z każdej linii komórkowej wyprowadzono po około 80 monoclonów. Znalezione monoclony z wyciętymi powtórzeniami CAG, które zostaną użyte w innych projektach realizowanych w naszym zakładzie. Powyższa strategia okazała się być istotna w kontekście wycinania powtórzeń i idealnego połączenia dwóch końców po delecji, jednak nie znaleziono w tym podejściu pożądaných monoclonów. W kolejnych etapach zostało wykorzystane jedno sgRNA, którego przewidziane miejsce cięcia znajdowało się powyżej powtórzeń CAG i matrycy donorowej jaką był zliniowany plazmid na końcu 5' z pierwszym exonem huntingtyny i 40 powtórzeniami CAG. Po wstępnym screeningu znaleziono kilka monoclonów, które znajdowały się na wymaganej wysokości podczas rozdziału produktów PCR na żelu agarozowym.

2. Projektowanie i testowanie wektorów ekspresyjnych shRNA-miR wyciszających alleloselektywnie huntingtynę i ataksynę 3

Kierownik zadania: mgr Anna Kotowska-Zimmer

Cel badań

Celem badań jest zaprojektowanie i testowanie wektorów ekspresyjnych shRNA-miR wyciszających alleloselektywnie huntingtynę i ataksynę 3.

Opis realizowanych prac

Do skonstruowania wektorów nakierowanych na powtórzenia CAG zostały wykorzystane sd-siRNA opracowane w Zakładzie Biomedycyny Molekularnej w ramach wcześniejszych badań. SiRNA zostały wstawione w kadłuby naturalnie występujących pri-miR-451, pri-miR-136 i pri-miR-122 poprzez hybrydyzację komplementarnych oligonukleotydów i ich ligację do plazmidu pCDH-CMV-EF1. Plazmidy zostały zsekwencjonowane w celu sprawdzenia poprawności ich sekwencji, a następnie namnożone na dużą skalę i wyizolowane z wykorzystaniem zestawu do izolacji. Konstrukty zostały wprowadzone poprzez lipofekcję do zmutowanych komórek HEK293T, będących modelem choroby Huntingtona. Z komórek zostało wyizolowane białko.

Projekty

1. Wykorzystanie narzędzi genetycznych w eksperymentalnej terapii chorób poliglutaminowych; (SONATA BIS)

Kierownik projektu: dr hab. Marta Olejniczak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Celem projektu jest opracowanie skutecznych i allelo-selektywnych narzędzi terapeutycznych wyciszających ekspresję genów, zawierających zmutowane ciągi powtórzeń CAG, związane z występowaniem chorób poliglutaminowych. W ramach projektu wykorzystywane są narzędzia genetyczne technologii interferencji RNA typu shRNA i sh-miR do wyciszenia ekspresji zmutowanego genu HTT i ATXN3. Zaprojektowano i skonstruowano nowe warianty cząsteczek sh-miR w różnych „kadłubach” miRNA. Nowe warianty obejmowały cząsteczki powstałe na bazie wcześniej opublikowanych reagentów z serii A oraz G z różną liczbą i lokalizacją niesparowania z sekwencją docelową w transkrypcie (Fiszer i wsp., NAR, 2013). Konstrukty są obecnie analizowane w komórkowym modelu choroby Huntingтона (modyfikowane komórki HEK293 ze stabilną ekspresją konstruktu lucyferazowego z egzonem 1 HTT) pod kątem ich efektywności i specyficzności. Najbardziej efektywne cząsteczki zostaną użyte w badaniach na modelu mysim HD. Właściwy wniosek do Lokalnej Komisji Etycznej został przygotowany – zgoda została uzyskana w grudniu. Jednocześnie po raz pierwszy wykorzystano zmodyfikowaną wersję systemu CRISPR/Cas9, tzw. nikazy Cas9 do wycięcia zmutowanego fragmentu genu odpowiedzialnego za chorobę Huntingтона w komórkach fibroblastów pochodzących od pacjentów z HD. Takie podejście jest bezpieczniejsze od stosowania typowego białka Cas9. Wyniki badań opublikowano.

2. Obrazowanie szlaku biogenezy miRNA i komórkowej lokalizacji reagentów technologii interferencji RNA (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: dr Martyna Urbanek-Trzeciak

Syntetyczne omówienie wyników badań

Zakończono prace nad oprogramowaniem służącym wyszukiwaniu motywów sekwencyjnych znajdujących się w obrębie prekursora mikroRNA (całej cząsteczki pre-mikroRNA, sekwencji dojrzałego mikroRNA, sekwencji pętli terminalnej lub sekwencji łączącej pomiędzy mikroRNA z dwóch ramion). Uwzględniono sekwencje pre-mikroRNA pochodzące od człowieka, myszy oraz *A.thaliana* z najnowszej wersji bazy miRBase 22. Oprogramowanie pozwala również na wyszukiwanie nowych motywów spośród listy prekursorów mikroRNA pozyskanej np. dzięki badaniom głębokiego sekwencjonowania typu ChIP-seq. Oprogramowanie dostępne jest pod adresem <http://mirnamotif.ibch.poznan.pl/>. Kod źródłowy został opublikowany pod licencją otwartego oprogramowania: <https://github.com/martynaut/mirnamotif>. W ramach grantu prowadzone były dalej badania w kierunku opracowania protokołu pozwalającego na obserwację w pojedynczych komórkach zarówno prekursorów pri-mikroRNA, jak i pre-mikroRNA, równolegle z dojrzałymi cząsteczkami mikroRNA. Wykonano badania z wykorzystaniem sond bazujących na wyciszeniu fluorescencji, które mogą być wykorzystywane do obserwacji wydajności cięcia prekursorów mikroRNA na etapie endonukleazy Dicer (pre-mikroRNA) w żywych komórkach. Nie uzyskano jednak satysfakcjonującego poziomu fluorescencji pozwalającego na wykorzystanie tej techniki do badania zmian w pojedynczych komórkach.

Publikacje

1. **M. Olejniczak, A. Kotowska-Zimmer, W. Krzyzosiak;** Stress-induced changes in miRNA biogenesis and functioning; *Cellular and Molecular Life Sciences* 2018, 75, 177-191

2. **M. Dabrowska**, W. Juzwa, **W.J. Krzyzosiak**, **M. Olejniczak**; Precise Excision of the CAG Tract from the Huntingtin Gene by Cas9 Nickases; *Frontiers in Neuroscience* 2018, 12, 75
3. **M. Dabrowska**, **K. Czubak**, W. Juzwa, **W.J. Krzyzosiak**, **M. Olejniczak**, **P. Kozlowski**; qEva-CRISPR: a method for quantitative evaluation of CRISPR/Cas-mediated genome editing in target and off-target sites; *Nucleic Acids Research* 2018, 46, e101
4. **M. Olejniczak**, **A. Fiszer**; Na pograniczu chemii i biologii-sztuka wyboru według Profesora Krzyżosiaka. Wspomnienie o Profesorze Włodzimierzu Krzyżosiaku (1949–2017); *Nauka* 2018, 1, 161-166

Wynalazki

Patenty międzynarodowe

Nucleic acid molecule, expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

patent: US 9,970,004 B2 z 15.05.2018 r.

zgłoszenie: US 14/916,039 z 2.03.2016 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak**, **Marta Olejniczak**, **Paulina Gałka-Marciniak**, **Agnieszka Fiszer**

Zgłoszenia międzynarodowe

Nucleic acid molecule expression cassette, expression vector, eukaryotic host cell, induction method of RNA interference in eukaryotic host and use of nucleic acid molecule in therapy of diseases induced by expansion of trinucleotide CAG repeats

zgłoszenie: US 15/954,561 z 16.04.2018 r.

Twórcy: **Włodzimierz Krzyżosiak**, **Marta Olejniczak**, **Paulina Gałka-Marciniak**, **Agnieszka Fiszer**

Zakład Biochemii Rybonukleoprotein

Kierownik Zakładu: dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, prof. ICHB PAN (STATUT)⁵⁶

Skład osobowy⁵⁷

Pracownicy techniczni:

mgr inż. Maria Pokornowska (0,5 STATUT)

Doktoranci:

mgr inż. Marta Wojnicka (stypendium NCN)

mgr inż. Agnieszka Szczepańska (stypendium NCN)

mgr Kinga Ciechanowska (POWER/STATUT)

Działalność statutowa

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

⁵⁶ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁵⁷ Stan na 31.12.2018 r.

1. Poszukiwanie nowych układów modelowych na potrzeby biologii molekularnej i systemowej człowieka (dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, wspólnie z prof. dr. hab. Markiem Figlerowiczem) – zadanie przedstawiono na str. 64

Projekty

1. Niepoznane obszary aktywności ludzkiej rybonukleazy Dicer; (SONATA BIS)

Kierownik projektu: dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak

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 cząsteczek RNA oddziałujących z ludzką rybonukleazą Dicer (hDicer) przeanalizowano zbiory danych zawierające sekwencje cząsteczek RNA (komórkowych RNA) wiązanych przez hDicer. Dane zawarte w zbiorach pochodzą z analiz bioinformatycznych wyników zebranych podczas głębokiego sekwencjonowania pul RNA wyizolowanych z komórek HEK293 (embrionalnych komórek ludzkiej nerki) z wykorzystaniem strategii PAR-CLIP (na podstawie danych GEO: GSE55333). Ustalono, że w zbiorze RNA wiązanych przez hDicer znajduje się liczna grupa cząsteczek zawierających sekwencje bogate w ciągi guanozyn (G), przypuszczalnie przyjmujących struktury G-kwadrupleksu. Potwierdzono w badaniach *in vitro*, że cząsteczki RNA przyjmujące struktury G-kwadrupleksu mogą oddziaływać z hDicer i wpływać na jej aktywność rybonukleazową. Ponadto w ramach badań dotyczących niepoznanych obszarów aktywności hDicer scharakteryzowano uwarunkowania strukturalne aktywności hDicer wspierającej proces parowania sekwencji komplementarnych występujących w kwasach nukleinowych. Wykazano, że hDicer może wspierać hybrydyzację dwóch częściowo komplementarnych RNA przyjmujących złożone struktury drugorzędowe nawet w przypadku, gdy sekwencje komplementarne tych RNA występują w obrębie stabilnych, w pełni sparowanych trzonów struktur spinywanych obecnych w RNA.

Zakład Struktury i Funkcji Retrotranspozonów

Kierownik Zakładu: dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek (STATUT)⁵⁸

Skład osobowy⁵⁹

Doktoranci:

mgr Julita Gumna (stypendium KNOW)

mgr Małgorzata Zawadzka (stypendium NCN)

mgr Angelika Andrzejewska (stypendium NCN)

Działalność statutowa

XXV. Struktura i funkcja retroelementów (dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek, wspólnie z prof. dr. hab. Ryszardem Adamiakiem i dr. Zbigniewem Warkockim) – temat przedstawiono na str. 148

⁵⁸ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁵⁹ Stan na 31.12.2018 r.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

1. Analiza funkcji sekwencji PAL w procesie dimeryzacji genomowego RNA retrotranspozonu Ty1 (kontynuacja projektu z 2017 r.)

Kierownik zadania: mgr Julita Gumna

Cel badań

Celem badań było uzyskanie wiedzy na temat uwarunkowań strukturalnych procesu dimeryzacji i pakowania gRNA Ty1. zlokalizowanego na 5' końcu RNA. Zaplanowane określenie roli sekwencji palindromowych PAL1, PAL2 oraz PAL3 występujących w dimeryzacji mini Ty1 RNA *in vitro*.

Opis realizowanych prac

Wykorzystując metodę ukierunkowanej mutagenazy przygotowano kilka wariantów RNA mTy1 (+1-560nt gRNA). Zmiany sekwencji obejmowały substytucje pojedynczych nukleotydów (U16C, U20C oraz U25C) lub większych fragmentów sekwencji (PAL1 mutant nt +13-19, PAL2 mutant nt +24-30, PAL3 mutant nt +423-428) oraz delecje sekwencji PAL1 i PAL2 (nt +15-29). W próbkowaniu strukturalnym metodą SHAPE sprawdzono wpływ mutacji na strukturę drugorzędową mTy1 RNA. W większości przypadków rearanżacje strukturalne obserwowano jedynie w obrębie mutacji. W eksperymentach dimeryzacji *in vitro* promowanej białkiem Gag-p45 Ty1 porównano ilość otrzymywanego dimeru dla poszczególnych mutantów RNA we wzrastającym stężeniu białka Gag oraz w różnym czasie reakcji. Rozdział produktów dimeryzacji w różnych warunkach elektroforetycznych wskazał, że oddziaływania kissing-loop nie są istotne dla inicjacji dimeryzacji Ty1 RNA. Dimer mini Ty1 RNA jest utrzymywany przez tworzenie międzycząsteczkowego dupleksu złożonego z około 15 par zasad. W jego utworzenie zaangażowane są palindromowe sekwencje PAL1 i PAL2. Badania z użyciem mini Ty1 RNA nie potwierdziły międzycząsteczkowego oddziaływania PAL3/PAL3 w dimerze.

2. Wpływ dimeryzacji na stabilność RNA Ty1 w komórce i retrotranspozycję

Kierownik zadania: mgr Julita Gumna

Cel badań

Badania *in vitro* wykazały, że dimeryczna forma gRNA drożdżowego retrotranspozonu Ty1 tworzona jest przez oddziaływanie między sekwencjami palindromowymi PAL1 i PAL2. Celem projektu było zbadanie roli sekwencji PAL w replikacji retrotranspozonu Ty1, przez sprawdzenie wpływu mutacji w sekwencjach PAL na efektywność retrotranspozycji Ty1 oraz dimeryzację i stabilność RNA Ty1 *in cellulo*.

Opis realizowanych prac

W ilościowych testach retrotranspozycji *in vivo* zaplanowano wykorzystanie systemu dwuplazmidowego helper-Ty1/mini-Ty1, pozwalającego na niezależną ekspresję białek i RNA retrotranspozonu. Plazmid helper-Ty1 koduje mRNA dla białek Gag i Gag-Pol Ty1. Natomiast plazmid mini-Ty1 zawiera sekwencje niezbędne do pakowania i dimeryzacji gRNA oraz odwrotnej transkrypcji. Metodą ukierunkowanej mutagenazy do plazmidu mini-Ty1 wprowadzono substytucje w sekwencjach PAL1 i PAL2. Następnie przeprowadzono dwuetapową transformację drożdży, które w swoim genomie nie posiadają naturalnie występujących elementów Ty1. Efektywność transformacji sprawdzono w hodowli selekcyjnej z zastosowaniem dwóch czynników selekcyjnych (uracyl i tryptofan). Pracowano nad optymalizacją izolacji RNA w formie dimerycznej i metody Northern blot w warunkach natywnych, konieczną dla sprawdzenia poziomu dimeru RNA i jego stabilności w komórce dla przygotowanych mutantów.

Projekty

Struktura RNA i jego oddziaływania z białkiem Gag warunkujące funkcje RNA Ty1 na różnych etapach replikacji retrotranspozonu; (SONATA BIS)

Kierownik projektu: dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek

Syntetyczne omówienie wyników badań

Celem projektu jest ustalenie struktury gRNA Ty1 i jego oddziaływań z białkiem Gag na kolejnych etapach retrotranspozycji w różnych przedziałach komórkowych. Wykorzystując metodę SHAPE ustalono strukturę rejonu +1-3000 genomowego RNA Ty1 (5600 nt) *in vitro* oraz w szczepie drożdży, w którym zachodzi replikacja Ty1, formowane są retrosomy oraz cząstki wirusopodobne (VLPs). Ogólne profile reaktywności Ty1 RNA *in vitro* i *in vivo* są raczej podobne, jednak zaobserwowano pewne istotne różnice w rejonach regulatorowych zlokalizowanych w pobliżu końca 5'. Sugerują one, że gRNA Ty1 *in vitro* występuje w formie monomeru, podczas gdy w komórce jest on dimerem. Ponadto tylko *in vivo* tworzona jest charakterystyczna struktura pseudowęzła zawierającego dwa motywy helikalne. Reaktywność SHAPE w rejonie sekwencji PBS (wiążącej tRNAⁱMet, wykorzystywany jako starter dla odwrotnej transkrypcji) wskazuje, że przyłączenie tRNAⁱMet następuje już w cytoplazmie komórki i podobnie do retrowirusów, tRNA oddziałuje nie tylko z PBS, ale również z kilkoma ciągami nukleotydowymi od strony 3'.

Publikacje

P. Kumari, F. Aeschmann, D. Gaidatzis, J. Keusch, P. Ghosh, A. Neagu, **K. Pachulska-Wieczorek**, J. Bujnicki, H. Gut, H. Grosshans, **R. Ciosk**; Evolutionary plasticity of the NHL domain underlies distinct solutions to RNA recognition; *Nature Communications* 2018, 9, 1549

Zakład Neuroonkologii Molekularnej

Kierownik Zakładu: dr hab. Katarzyna Rolle, prof. ICHB PAN (0,8 STATUT/0,2 NCN)⁶⁰

Skład osobowy⁶¹

Pracownicy techniczni:

mgr Dariusz Wawrzyniak (0,8 STATUT/0,2 NCN)

Doktoranci:

mgr Paweł Głodowicz (stypendium KNOW)

mgr Małgorzata Grabowska (stypendium NCN)

mgr inż. Konrad Kuczyński (POWER/STATUT)

mgr Żaneta Zarębska (stypendium NCN)

mgr Bogna Kuczyńska (stypendium NCN)

Działalność statutowa

VII. Wykorzystanie zmodyfikowanych nukleotydów RNA i DNA w diagnostyce medycznej i biotechnologii (dr hab. Katarzyna Rolle, wspólnie z prof. dr hab. Mirosławą Naskręt-Barciszewską – zadanie przedstawiono na str. 106)

⁶⁰ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁶¹ Stan na 31.12.2018 r.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

5'-H-fosfoniany 5-fluoro-2'-deoksyurydyny jako nowe proleki o potencjale przeciwnowotworowym - badania w modelach *in vitro* i *in vivo*, farmakokinetycznych *in silico* oraz stabilności związków

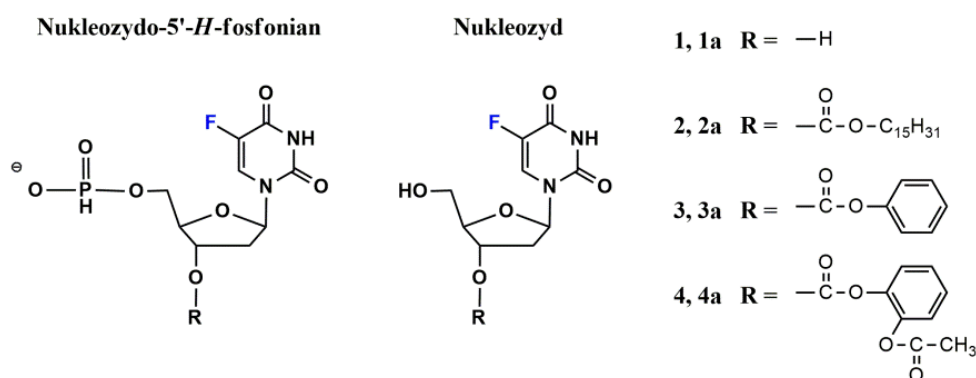
Kierownik zadania: mgr Dariusz Wawrzyniak

Cel badań

Celem badań jest kompleksowa ocena przedkliniczna obejmująca badania farmakokinetyczne, cytotoksyczne *in vitro/in vivo* oraz farmakodynamiczne 5'-H-fosfonianów 5-fluoro-2'-deoksyurydyny. W pracy skupiono się na poprawie potencjału terapeutycznego analogów nukleozydów poprzez zastosowanie proleków nukleotydowych. Nukleozydo-5'-H-fosfoniany, które zostały opracowane, mogą mimikować fosforany w komórce przy prawdopodobnie lepszej penetracji błony komórkowej z uwagi na formę jednowartościowego anionu. Głównym celem działania tych związków jest hamowanie syntazy tymidylanowej (TYMS), która jest jedynym źródłem syntezy TMP *de novo* w komórce.

Opis realizowanych prac

Pierwszy etap pracy obejmował wyznaczenie wartości IC_{50} . Badania przeprowadzono na fibroblastach (MRC5), komórkach glejaka wielopostaciowego (T98G, U-118, A-172, U-87), raka szyjki macicy (HeLa) oraz nowotworu piersi (T-47D). Wzory badanych związków przedstawiono na Rys. 1. Wyniki aktywności biologicznej 5'-H-fosfonianów 5-fluoro-2'-deoksyurydyny i odpowiadającym im nukleozydom przedstawiono w tabeli 1.

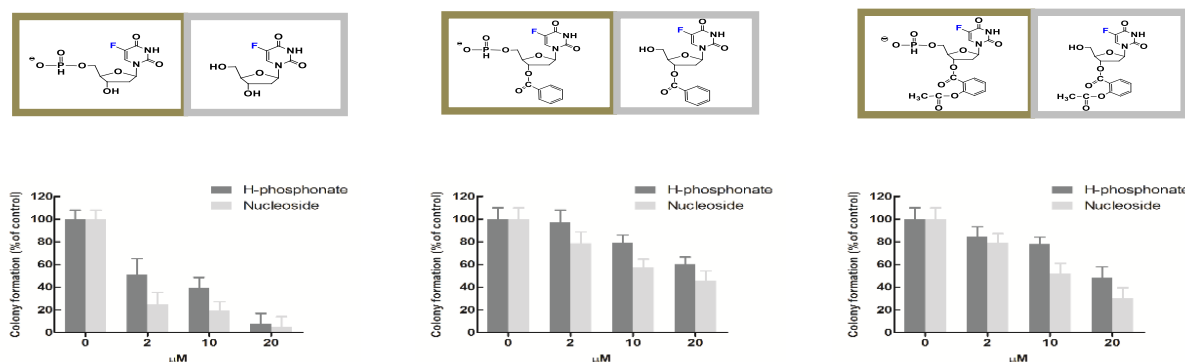


Rys. 1. Struktury chemiczne badanych związków. Seria proleków obejmuje 5'-H-fosfoniany 3'-O-estrów aromatycznych i alifatycznych 5-fluoro-2'-deoksyurydyny (1-4). Aktywność pronukleotydów zostanie porównana z odpowiadającymi im nukleozydami (związki 1a-4a)

Tabela 1. Wartości IC_{50} badanych związków wyznaczone na poszczególnych liniach komórkowych

Cytotoksyczność (IC_{50} , μM)								
	1	1a	2	2a	3	3a	4	4a
MRC5	11.43	25.53	5.94	2.64	20.83	1.48	61.72	50.24
T98G	0.97	5.57	0.15	3.91	1.33	0.44	30.40	9.69
U-118	4.61	23.40	4.12	18.89	4.48	0.26	>100	8.79
A-172	1.01	5.38	0.67	--	0.81	--	4.09	--
U-87	5.53	10.37	0.34	5.06	1.13	0.53	11.18	3.58
HeLa	0.93	5.31	0.33	2.67	3.09	0.57	55.34	2.75
T-47D	6.04	13.64	3.98	--	15.43	7.52	>100	15.04

W drugim etapie oceniono wpływ badanych związków na formowanie kolonii komórkowych przy użyciu testu klonogenego w komórkach glejaka linii T98G. Wyniki przedstawiono na Rys. 2.



Rys. 2. Wpływ analizowanych związków na proces formowania kolonii komórek T98G

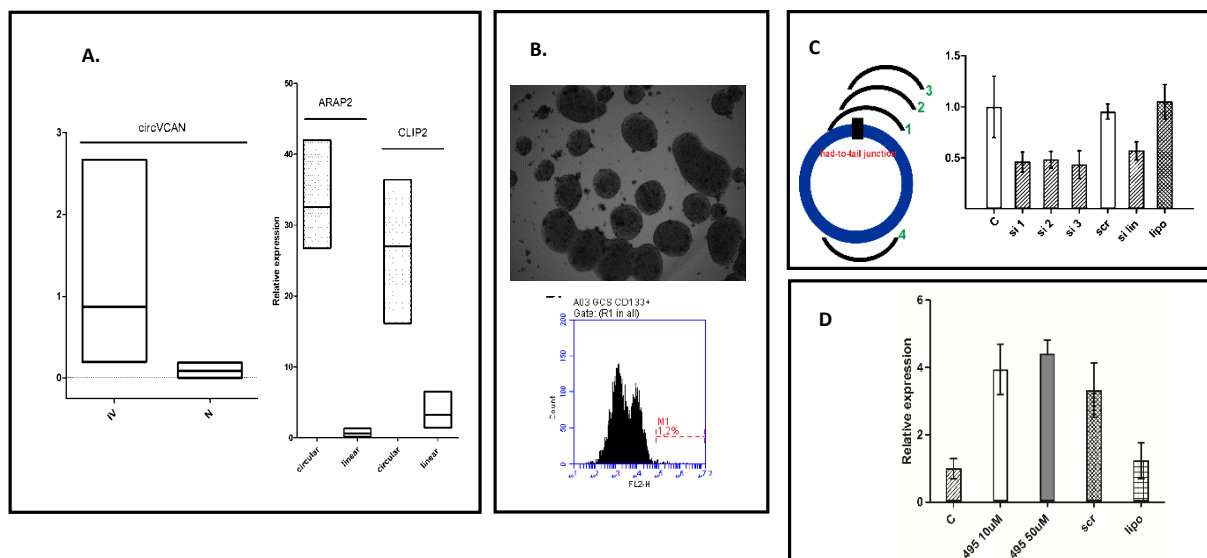
Projekty

1. Funkcjonalna interakcja pomiędzy kolistymi RNA (circRNA) a macierzą zewnątrz-komórkową (ECM) – znaczenie dla komórek macierzystych nowotworu (GSC) oraz przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) w guzach mózgu; (OPUS)

Kierownik projektu: dr hab. Katarzyna Rolle

Syntetyczne omówienie wyników badań

- (i) W wyniku analizy danych wysokoprzepustowego sekwencjonowania wyselekcjonowano 15 circRNA ("onco-circRNA") ulegających podniesionej ekspresji w stosunku do tkanki zdrowej. Lista circRNA obejmowała głównie geny związane z adhezją, migracją czy przekaznictwem sygnałowym (np. VCAN, ARAP2, CLIP2, SMO).



Rys. 3. Poziom ekspresji circRNA w tkankach GBM (A), hodowla neurosfer i określenie puli komórek macierzystych (B), poziom ekspresji VCAN circRNA po zastosowaniu specyficznych siRNA (C), poziom ekspresji VCAN circRNA po zastosowaniu syntetycznego miR-495 (mimic) (D). N- zdrowy mózg, IV-GBM-IV stopień złośliwości, circular-forma kolistą, linear- liniowa, lipo- komórki transfekowane lipofektyną, scr- komórki – niespecyficznym oligonukleotydem

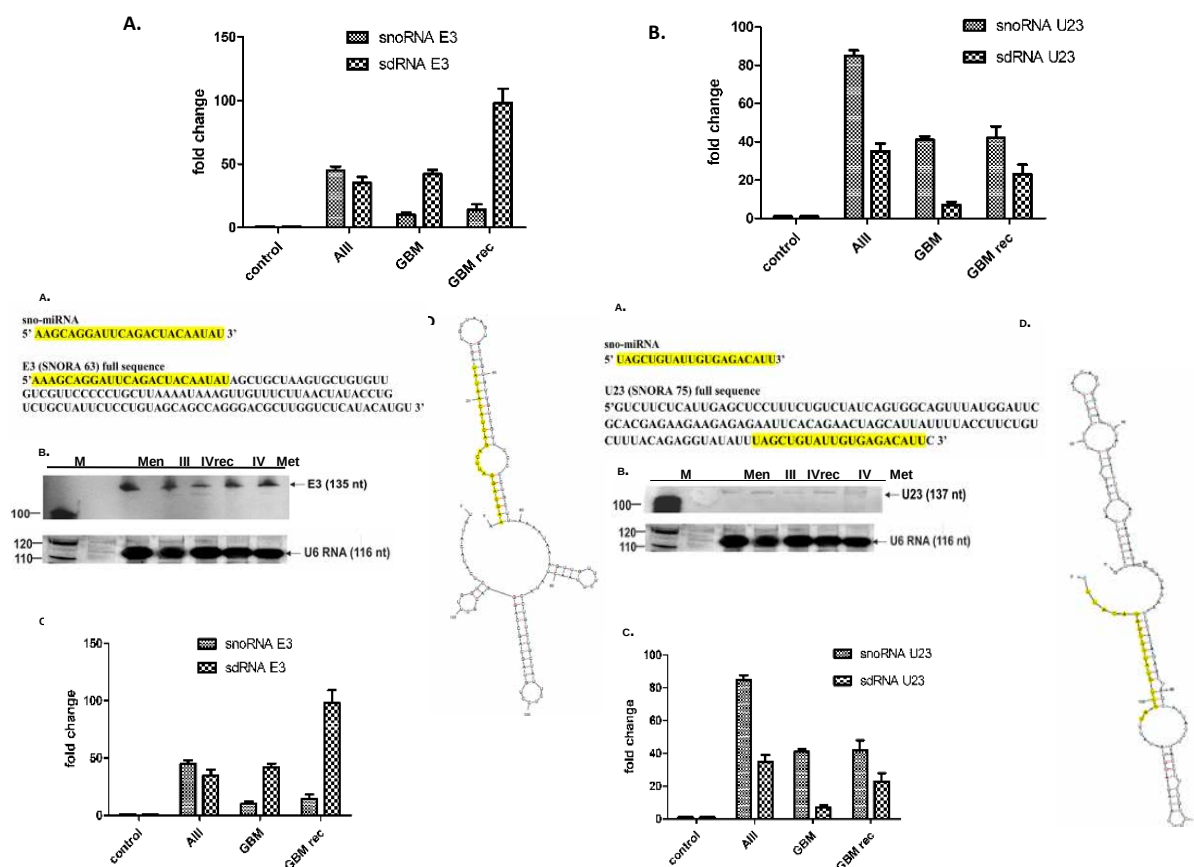
- (ii) VCAN, ARAP2 oraz CLIP2 tworzą stabilne koliste RNA (hydroliza RNAzą R). Wysoki poziom ekspresji w tkankach koreluje ze stopniem złośliwości nowotworu (Rys. 3A).
- (iii) W celu obniżenia ekspresji onco-circRNA, stworzono modelową hodowlę neurosfer w oparciu o tkanki pacjentów GBM (Rys. 3B), jak również zaprojektowano i wstępnie przetestowano działanie siRNA w komórkach nowotworowych. siRNA skutecznie obniża poziom circRNA, nie zmieniając przy tym ekspresji formy liniowej (Rys. 3C).
- (iv) Analiza bioinformatyczna udziału powyższych circRNA w procesach komórkowych wykazała, iż mogą być one zaangażowane w ścieżki typu: przebudowa ECM, przyleganie komórek czy tworzenie połączeń międzykomórkowych, a ich partnerami mogą być nowotworowe supresory miRNA, np. miR-218 oraz miR-495 (analiza CircInteractome oraz DIANA KEEG Pathways). Zmiana poziomu ekspresji miR-495 za pomocą syntetycznego miRNA (miRNA mimic) podnosi poziom VCAN circRNA, przy jednoczesnym spadku poziomu formy liniowej (Rys. 3D).

2. Identyfikacja i charakterystyka nowych klas regulatorowych RNA w glejaku wielopostaciowym (GBM). Udział sno-miRNA oraz kolistych RNA (circRNA) w rozwoju i progresji GBM oraz ich znaczenie dla komórek macierzystych nowotworu; (SONATA BIS)

Kierownik projektu: dr hab. Katarzyna Rolle

Syntetyczne omówienie wyników badań

W wyniku analizy biomarkerów miRNA w GBM otrzymano listę 25 sno-miRNA. Badania poziomu ekspresji wybranych sno-miRNA w tkankach guza mózgu o różnym stopniu złośliwości za pomocą



Rys. 4. Poziom ekspresji sno-miRNA ncRNA w guzach glejowych sno miRNA w odniesieniu do prekursora E3 snoRNA (A) oraz U23 (B). Panel prawy: poziom ekspresji sno-miRNA mierzony za pomocą analizy Northern blot. Control-zdrowy mózg, GBM- IV stopień złośliwości, AIII- astrocytoma -III stopnia złośliwości, GBM rec- IV stopień złośliwości (GBM recurrent), guz wtórny. Analiza statystyczna - GraphPad Prism ver. 5.00

analizy northern blot, jak i qPCR pozwoliły zidentyfikować cząsteczki pochodzące ze snoRNA E3, jako potencjalne onko-sno-miRNA, których ekspresja wzrasta wraz ze stopniem złośliwości, przy jednoczesnym spadku poziomu ekspresji prekursora snoRNA E3 (Rys. 4A) oraz snoRNA U23, gdzie akumulacja krótkich fragmentów spada wraz ze wzrostem złośliwości GBM, sugerując ich rolę jako supresora nowotworowego (Rys. 4B).

1. Katalityczne RNA jako narzędzie w biotechnologii mitochondriów ludzkich; (PRELUDIUM)

Kierownik projektu: mgr inż. Piotr Głodowicz

Syntetyczne omówienie wyników badań

Celem projektu jest zastosowanie strategii importu struktur podobnych do tRNA (tRNA-like) do wyciszenia określonych genów w genomie mitochondrialnym komórek ludzkich. Głównym założeniem naszych badań jest stworzenie platformy do transkrypcji, obróbki i systemowego transportu cząsteczki z cytoplazmy do mitochondriów. Strategia ta, w dalszej perspektywie może znaleźć zastosowanie w terapii chorób mitochondrialnych. W trakcie realizacji projektu wykorzystano linię komórkową z indukowaną ekspresją opracowanych przez nas poprzednio struktur podobnych do tRNA. W tym celu linia komórek ludzkich HepG2 hodowana była na płytkach 6-dołkowych w suplementowanej pożywce Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM), w temperaturze 37°C w atmosferze 5% CO₂, a następnie poddane transfekcji plazmidami pFRT/lacZeo oraz pcDNA6/TR przy użyciu Lipofectaminy 2000. W celu potwierdzenia skuteczności transfekcji komórki hodowano na pożywce zawierającej antybiotyki selekcyjne. Do uzyskanych w ten sposób komórek wprowadzony został plazmid zawierający kompletną sekwencję kodującą struktury tRNA-like. Otrzymano w ten sposób stabilną linię komórkową kodującą określone struktury tRNA-like. Wyniki uzyskane w ramach realizacji niniejszego projektu mogą być pierwszym krokiem do opracowania uniwersalnego systemu manipulacji w mitochondrialnym systemie genetycznym.

Publikacje

1. O. Wawrzyniak, **Z. Zarebska, K. Rolle**, A. Gotz-Wieckowska; Circular and long non-coding RNAs and their role in ophthalmologic diseases; *Acta Biochimica Polonica* 2018, 65, 497-508
2. **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* 2018, 144, 682-691

Prace przyjęte do druku

L. Michalska, D. Wawrzyniak, A. Szymanska-Michalak, J. Barciszewski, J. Boryski, D. Baraniak; Synthesis and biological assay of new 2'-deoxyuridine dimers containing a 1,2,3-triazole linker. Part I; *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, DOI:10.1080/15257770.2018.1514122

Wynalazki

Patenty krajowe

Rybozomy typu „hammerhead”, kompozycja, środek terapeutyczny je obejmujące, ich zastosowania oraz sposób selektywnej hydrolizy ex-vivo miR21 i prekursorów miR21

patent: PL 228060 z 19.02.2018 r.

zgłoszenie: P 403 341 z 27.03.2013 r.

Twórcy: **Mirosława Z. Naskret-Barciszewska, Agnieszka Belter, Katarzyna M. Rolle, Monika Piwecka, Patrycja Sosinska-Zawierucha**

Zakład Sond Molekularnych i Proleków

Kierownik Zakładu: dr Jacek Kolanowski (0,25 STATUT/0,75 FNP)⁶²

Skład osobowy⁶³

Pracownicy naukowci:

dr Bartosz Marciniak (STATUT)

Pracownicy techniczni:

dr Michał Gładysz (STATUT)

Doktoranci:

mgr Francesca Canyelles I Font (stypendium FNP)

mgr Reza Pashaei (stypendium NCN)

Magistranci:

Marianna Pewińska (stypendium NCN)

Anna Wychowaniec (stypendium FNP)

Działalność statutowa

XXIII. Rozwój niskocząsteczkowych narzędzi molekularnych do zastosowań w badaniach biologicznych (dr Jacek Kolanowski)

Cel badań

Wstępne badania w kierunku rozwoju trójelementowych sond fluorogennych, zmieniających swoje właściwości fluorescencyjne w wyniku oddziaływania z białkami.

Opis zrealizowanych prac

Przeprowadzono syntezę sond fluorogennych zawierających analog Dansylu jako fluorofor, połączony łącznikami niepolarnymi (alifatycznymi) i polarnymi (PEG) z kwasem indolowym, ligandem wiążącym się z modelowym białkiem albuminą. Optymalizacja procesu sprzęgania łącznika, zawierającego dwie grupy aminowe na obu końcach, z barwnikiem poprzez stabilne wiązanie sulfonamidowe, pozwoliła na zminimalizowanie powstawania dwupodstawionych produktów. Kwas indolowy został następnie przyłączony, z dużą wydajnością, do związków barwnik-linker stabilnym wiązaniem amidowym, zgodnie z nowo opublikowaną metodologią sprzęgania grupy aminowej z kwasem karboksylowym w obecności tetrametoksylanu. Zsyntezowane związki zostały oczyszczone i scharakteryzowane przy pomocy ¹H i ¹³C NMR oraz MS. Otrzymane sondy, a także ich analogi niezawierające ligandu zostały scharakteryzowane pod względem ich właściwości fluorescencyjnych w buforze, zarówno samodzielnie, jak i w obecności albuminy.

Opis najważniejszych osiągnięć

W wyniku przeprowadzonych badań spektroskopowych pokazano, że wiązanie się zsyntezowanych sond z albuminą prowadzi do wzrostu intensywności fluorescencji i zmiany maksimum emisji z około 550 nm do 490 nm, co jest niezwykle pożądane dla zapewnienia wiarygodności interpretacji wyników w bardziej złożonym środowisku biologicznym. Jednocześnie wykazano jednak, iż to oddziaływanie nie jest specyficzne, tzn. tylko w niewielkim stopniu zależy od obecności ligandu w cząsteczce, co potwierdza powinowactwo albuminy do wielu różnych cząsteczek i powoduje, iż jest ona nieodpowiednim modelem do tego typu badań.

⁶² W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁶³ Stan na 31.12.2018 r.

Jednocześnie, w procesie syntezy wyżej wymienionych sond wypracowano modularną metodologię opartą na niezależnym przygotowaniu wzajemnie kompatybilnych, reaktywnych pochodnych łączników, fluoroforów i ligandów, a następnie łączenie ich w dowolnych konfiguracjach poprzez stabilne wiązania amidowe, odporne na hydrolizę w warunkach biologicznych. Takie podejście umożliwia bardziej efektywne tworzenie całych zestawów sond molekularnych o zróżnicowanych właściwościach.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki i metodologie są wykorzystywane w dalszej pracy badawczej Zakładu, a część z nich została wykorzystana jako badania wstępne w projekcie, który otrzymał finansowanie w ramach programu OPUS 15.

Projekty

1. Maskowane substraty bioluminogenne do selektywnego obrazowania parametrów biochemicznych raka; (SONATA) – projekt realizowany w konsorcjum pomiędzy ICHB PAN (lider projektu) i Instytutem Genetyki Człowieka PAN

Kierownik projektu: dr Jacek Kolanowski

Syntetyczne omówienie wyników badań

W pierwszym etapie projektu skoncentrowano się na optymalizacji syntezy lucyferyny i aminolucyferyny, które są podstawowymi substratami najczęściej wykorzystywanej lucyferazy Fluc. Związki te posłużą następnie do przygotowania maskowanych substratów bioluminogennych, które w wyniku aktywności enzymatycznej, obecności labilnych form żelaza(II) i/lub hipoksji, ulegną transformacji do właściwych substratów bioluminescencyjnych. W wyniku tych wysiłków przygotowano także nitrolucyferynę, która sama w sobie może stanowić potencjalny substrat bioluminogeny aktywowany w hipoksji (tj. zredukowany do aminolucyferyny). Lucyferyna i jej analogi będą wykorzystane do zweryfikowania skuteczności transfekcji transgenicznych linii komórkowych raka płuc genami lucyferazy, które zostały przygotowane przez konsorcjantów z Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu. Jednocześnie rozpoczęto również syntezę furimazyny, substratu dla drugiej lucyferazy, NanoLuc, która będzie wykorzystywana w tym projekcie.

2. MultiGATE: dual-analyte responsive fluorescent probes for a real-time multi-parametric sensing in cellular models; (HOMING)

Kierownik projektu: dr Jacek Kolanowski

Syntetyczne omówienie wyników badań

W pierwszym etapie projektu, którego celem jest stworzenie zestawu sond dwuanalitowych do wykrywania labilnych form żelaza, stanu redoks, hipoksji i aktywności enzymatycznej w komórkach, skoncentrowano się na syntezie i wstępnej charakterystyce spektralnej syntonów fluorescencyjnych, zawierających odpowiednie grupy funkcyjne, pozwalające na sprzęganie ich z pozostałymi elementami sond. W szczególności zoptymalizowano syntezę i oczyszczanie analogów 7-dietylaminokumaryny, które następnie sprzęgnięto z łącznikiem alifatycznym poprzez stabilne wiązanie amidowe. Rozpoczęto także syntezę odpowiednich sfunkcjonalizowanych substratów na bazie naftalimidu, indoleniny (hemicyjaniny) i rodaminy oraz opracowano wydajną metodę przygotowania polarnych łączników zawierających dwa lub trzy monomery glikolu etylenowego.

Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020

Publikacje

1. **J.L. Kolanowski**, F. Liu, E.J. New; Fluorescent probes for the simultaneous detection of multiple analytes in biology; *Chemical Society Reviews* 2018, 47, 195-208
2. **M. Gladysz**, P. Ruszkowski, J. Milecki; Synthesis and cytotoxic activity of novel acyclic nucleoside analogues with functionality in click chemistry; *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 2018, 37, 53-66

Prace przyjęte do druku:

P. Brennecke, D. Rasina, O. Aubi, K. Herzog, J. Landskron, B. Cautain, F. Vicente, J. Quintana, J. Mestres, B. Stechmann, B. Ellinger, J. Brea, **J.L. Kolanowski**, **R. Pilarski**, M. Orzaez, A. Pineda-Lucena, L. Laraia, F. Nami, P. Zielenkiewicz, K. Paruch, E. Hansen, J.P. von Kries, M. Neuenschwander, E. Specker, P. Bartunek, S. Simova, Z. Lesnikowski, S. Krauss, L. Lehtio, U. Bilitewski, M. Bronstrup, K. Tasken, A. Jirgensons, H. Lickert, M.H. Clausen, J.H. Andersen, M. J. Vicent, O. Genilloud, A. Martinez, M. Nazare, W. Fecke, P. Gribbon; EU-OPENSREEN: A Novel Collaborative Approach to Facilitate Chemical Biology; *Slas Discovery: Advancing Life Sciences R&D*, DOI:10.1177/2472555218816276

Zakład Metabolizmu RNA

Kierownik Zakładu: dr Zbigniew Warkocki (0,85 STATUT/0,15 NCN)⁶⁴

Skład osobowy⁶⁵

Pracownicy naukowci:

dr Karolina Drązkowska (NCN)

Doktoranci:

mgr Dmytro Pandakov (stypendium NCN)

Działalność statutowa

XXV. Struktura i funkcja retroelementów (dr Zbigniew Warkocki, wspólnie z prof. dr. hab. Ryszardem Adamiakiem i dr hab. Katarzyną Pachulską-Wieczorek)

Cel badań

Badanie czynników białkowych oraz struktur RNA regulujących replikację retrowirusów i endogennych retroelementów. Cele badawcze obejmowały (i) ustalenie roli białka Tat HIV-2 w procesie odwrotnej transkrypcji (Zakład Struktury i Funkcji Retrotranspozonów), (ii) optymalizację metod eksperymentalnych oraz obliczeniowych dla badań struktur drugorzędowych i przestrzennych RNA (Zakład Struktury i Funkcji RNA), (iii) poznanie post-transkrypcyjnej regulacji retrotranspozycji LINE-1 i ZfLINE-2 u człowieka (Zakład Metabolizmu RNA).

Opis zrealizowanych prac

Przeprowadzono (i) badania mechanizmu aktywności opiekuńczej białka Tat HIV-2 względem kwasów nukleinowych, (ii) prace nad rozwojem koncepcji przewidywania struktur 3D RNA z wykorzystaniem metody RNAComposer ze szczególnym uwzględnieniem oceny jakości generowanych struktur, oraz (iii) zbadano wpływ białek TUT4, TUT7 i XRN1 na retrotranspozycję LINE-1 i ZfLINE-2 w komórkach człowieka wykorzystując system do oceny wydajności retrotranspozycji oraz metody biologii komórkowej i mikroskopię konfokalną.

⁶⁴ W nawiasach podane źródło finansowania pracowników.

⁶⁵ Stan na 31.12.2018 r.

Opis najważniejszych osiągnięć

- (i) Ustalono, że mechanizm aktywności opiekuńczej Tat HIV-2 jest inny niż białka nukleokapsydu, uznawanego za kanoniczny przykład retrowirusowego białka opiekuńczego kwasów nukleinowych. Białko HIV-2 Tat cechuje bardzo ograniczona zdolność agregacji RNA i DNA oraz słaba zdolność do destabilizacji ustrukturalizowanych rejonów cząsteczek kwasów nukleinowych.
- (ii) Opracowano metody generowania struktur drugorzędowych RNA z uwzględnieniem par kanonicznych i niekanonicznych w oparciu o analizę struktur przestrzennych RNA.
- (iii) Wykazano wpływ białek TUT4, TUT7 i XRN1 na retrotranspozycję LINE-1 i ograniczony wpływ na retrotranspozycję ZfLINE-2 (co było wynikiem spodziewanym). Wyniki pozwoliły potwierdzić zasadniczą rolę końca 3' w propagacji ludzkich elementów powtórzeniowych LINE-1.

Wykorzystanie uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki pozwalają lepiej zrozumieć funkcje wirusowych białek regulatorowych w replikacji wirusów (cel i) oraz białek gospodarza w kontroli retrotranspozycji endogennych retroelementów (cel iii). W odniesieniu do celu (ii) opracowana metoda pozwala na lepszą ocenę poprawności generowania struktur 3D RNA zawierających pseudowęzły RNA o różnej złożoności. Uzyskane wyniki zostaną wykorzystane do przygotowania publikacji naukowych.

Badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich

Badanie mechanizmu powstawania jednoniciowego DNA retrotranspozonu LINE-1 w rozwoju odpowiedzi autoimmunologicznej – badania wstępne

Kierownik zadania: mgr Michał Walczak

Cel badań

Celem badań jest wygenerowanie modelu komórkowego z wyciszoną aktywnością białka TREX1, jako podstawy do badań procesu powstawania jednoniciowego DNA LINE-1.

Opis realizowanych prac

LINE-1 to grupa ruchomych elementów genetycznych, tzw. retrotranspozonów, które posiadają zdolność do aktywnego replikowania w genomie. Retrotranspozony w celu zwiększenia liczby kopii w genomie wykorzystują proces odwrotnej transkrypcji, przy udziale kodowanego przez nie enzymu. LINE-1 w znaczący sposób przyczyniają się do zmniejszenia stabilności genomu powodując pęknięcia podwójnej helisy DNA. Ponadto LINE-1 stanowią źródło cytoplazmatycznego DNA, które aktywuje wrodzoną wewnątrzkomórkową odpowiedź immunologiczną i w konsekwencji może prowadzić do chronicznego zapalenia (obserwowanego w schorzeniach neurodegeneracyjnych i w nowotworzeniu). W warunkach fizjologicznych cytoplazmatyczne DNA są degradowane przez białko TREX1. Aktualnie realizowane badania wstępne mają na celu przygotowanie modelu komórkowego z deplecją białka TREX1, który zostanie wykorzystany do badania procesu odwrotnej transkrypcji LINE-1 w cytoplazmie, a także wpływu procesu urydlacji końca 3' LINE-1 na proces odwrotnej transkrypcji.

Uzyskane wyniki badań pozwolą zrozumieć mechanizmy powstawania jednoniciowego DNA LINE-1, które dotychczas nie zostały opisane w literaturze. Otrzymany model komórkowy zostanie wykorzystany w badaniu aktywacji wewnątrzkomórkowej odpowiedzi immunologicznej przez cytoplazmatyczne DNA LINE-1, w środowisku o ograniczonej zdolności ich degradacji, charakterystycznym dla niektórych schorzeń neurodegeneracyjnych (syndrom Aicardi-Goutieres) i nowotworzenia (anemia Fanconiego).

Projekty

2. Badanie urydlacji RNA jako mechanizmu regulacji ekspresji genów u człowieka; (SONATA)

Kierownik projektu: dr Zbigniew Warkocki

Syntetyczne omówienie wyników badań

W 2018 roku uzyskano stabilne linie komórkowe HEK293 FLP-IN T-REx do jednoczesnego wyciszenia aktywności białek TUT4, TUT7, XRN1 (osobno lub w kombinacjach) i nadekspresji zmutowanych wariantów tych białek (osobno lub w kombinacjach). Uzyskane i potwierdzone linie komórkowe zostaną wykorzystane w dalszych ukierunkowanych badaniach wg zaplanowanego w projekcie harmonogramu.

3. Ścieżki degradacji transkryptów związanych z chorobami człowieka, których podłożem jest ekspansja sekwencji mikrosatelitarnych; (FUGA)

Kierownik projektu: dr Karolina Drążkowska

Projekt opisano w Zakładzie Biomedycy Molekularnej – dr A. Fiszer jest opiekunem naukowym dr K. Drążkowskiej. Str. 60.

Publikacje

1. **Z. Warkocki**, V. Liudkovska, O. Gewartowska, S. Mroczek, A. Dziembowski; Terminal nucleotidyl transferases (TENTs) in mammalian RNA metabolism; *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 2018, 373, 20180162
2. K. Kobylecki, **K. Drążkowska**, T.M. Kulinski, A. Dziembowski, R. Tomecki; Elimination of 01/A&PRIME-A0 pre-rRNA processing by-product in human cells involves cooperative action of two nuclear exosome-associated nucleases: RRP6 and DIS3; *RNA* 2018, 24, 1677-1692

Projekty realizowane w Instytucie w 2018 roku

Lp.	Tytuł projektu, nr umowy	Kierownik projektu	Okres realizacji (rok) od-do	Przyznane środki
PROJEKTY NARODOWEGO CENTRUM NAUKI				
Projekty MAESTRO				
1.	Toksyczność RNA w patogenezie chorób poliglutaminowych; 2012/06/A/NZ1/00094	dr hab. M. Figiel prof. dr hab. W.J. Krzyżosiak	2013–2019	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	2013–2019	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	2013–2019	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	prof. dr hab. P. Kozłowski	2017–2022	3 419 300
Projekty SYMFONIA				
5.	Dynastia i społeczeństwo państwa Piastów w świetle zintegrowanych badań historycznych, antropologicznych i genomicznych; 2014/12/W/NZ2/00466 1. Selection of human genome regions (containing the most informative SNPs) for targeted aDNA enrichment; 2. NGS-based screening of DNA samples; 3. Preparation and sequencing of whole genome-capture (WGC)-libraries;	prof. dr hab. M. Figlerowicz	2014–2020	6 000 000 3 758 180 ⁶⁶

⁶⁶ Wartość zadań realizowanych przez ICHB PAN.

	4. Preparation and sequencing of selectively enriched (SE)-libraries; 5. Primary analysis of NGS data; 6. Analysis of genetic diversity within each studied group (NE, E, P and R) and between groups; 7. Analysis of the putative ethnic origin of each individual involved in this study (from groups NE, E, P and R) in comparison to the contemporary populations (placement on the map presenting genetic structure of Europe); 8. Establishment of PCA-database; 9. Reconstruction of reference genomes. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – ICHB PAN)			
6.	Trójwymiarowe Peptydowo-Organiczne Szkielety Supramolekularne; 2016/20/W/ST5/00478 Zadania ICHB PAN: 1. Badania oddziaływania supramolekularnych peptydowo-organicznych szkieletów z modelowymi białkami; 2. Kokrystalizacja i badania strukturalne supramolekularnych peptydowo-organicznych szkieletów z białkami; 3. Badania strukturalne szkieletów następnych generacji i badania ich oddziaływania z modelowymi białkami. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – Instytut Chemii Organicznej PAN)	prof. dr hab. M. Jaskólski (kierownik zadań z ramienia ICHB PAN); dr hab. A. Szumna (kierownik projektu; ICHO PAN)	2016–2021	4 109 100 1 611 700 ⁶⁷
OPUS				
7.	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
8.	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
9.	Rybozyd kinetyny i jego pochodne –analiza właściwości apoptotycznych i mechanizmu działania w komórkach guzów mózgu; 2014/13/B/NZ7/02291	dr hab. E. Wyszko	2015–2019	862 940

⁶⁷ Wartość zadań realizowanych przez ICHB PAN.

10.	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	2015–2019	1 443 476
11.	Mechanizmy selektywnego wyciszania genów chorób poliglutaminowych przez nietypowe siRNA; 2014/15/B/NZ1/01880	dr A. Fiszer prof. dr hab. W.J. Krzyżosiak	2015–2019	1 476 600
12.	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
13.	Strukturalne badania białek kluczowych dla oddziaływań pomiędzy kleszczem, ssakiem i patogenem; 2015/17/B/NZ1/00873	prof. dr hab. M. Jaskólski	2016–2020	806 000
14.	Katalityczne kwasy nukleinowe nowej generacji w regulacji ekspresji informacji genetycznej; 2015/17/B/ST5/01467	prof. dr hab. J. Barciszewski	2016–2020	874 200
15.	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
16.	Analiza roli genu BARD1, jako czynnika warunkującego genetyczną predyspozycję do raka piersi – zastosowanie unikalnej strategii, analizy asocjacji mutacji założycielskich; 2015/17/B/NZ2/01182	prof. dr hab. P. Kozłowski	2016–2019	1 373 000
17.	Identyfikacja białek wiążących się do powtórzeń CAG i badanie interakcji RNA-białko w komórkach; 2015/19/B/NZ2/02453	dr A. Ciesiołka prof. dr hab. W.J. Krzyżosiak	2016–2020	1 899 440
18.	Rola mikroRNA w regulacji metabolizmu żelaza w ataksji Friedreicha; 2015/19/B/NZ1/02804	dr hab. M. Napierała	2016–2019	1 094 800
19.	Poszukiwanie molekularnych mechanizmów progresji miażdżycy w przewlekłej chorobie nerek; 2015/19/B/NZ2/02450	dr hab. M. Łuczak	2016–2020	893 817
20.	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
21.	Struktura RNA wirusa grypy w warunkach in vivo i in vitro. Uwarunkowania strukturalne inhibicji namnażania wirusa za pomocą modyfikowanych	prof. dr hab. E. Kierzek	2016–2020	985 100

	antysensowych oligonukleotydów, siRNA oraz niskocząsteczkowych ligandów; 2015/19/B/NZ1/02803			
22.	Cytoplazmatyczne przeszkody na drodze reprogramowania przeznaczenia komórki: od indywidualnych czynników do mechanizmów molekularnych; 2015/19/B/NZ3/02412	dr hab. R. Ciosk	2016–2020	1 787 087
23.	Wpływ niekodujących RNA na rozwój komórek nerek oraz karcinogenezę; 2016/21/B/NZ2/03468	dr hab. J. Wrzesiński	2017–2020	936 700
24.	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	2017–2021	1 092 000
25.	Nowe, wielozadaniowe nanocząstki w skojarzonej geno- i fototerapii; 2016/21/B/ST8/00477 Zadania ICHB PAN: 1. Synteza dwuniciowego RNA (dsRNA) o sekwencji homologicznej do tenascyny – C (TNC); 2. Molekularna charakterystyka aktywności nanomateriałów; 3. Analiza poziomu 8 – oxo dG w DNA jako znacznika stresu oksydacyjnego; 4. Analiza globalnego poziomu metylacji DNA komórek traktowanych nanomateriałami; 5. Badania przenikalności nanocząsteczek przez błony komórkowe oraz bariery wewnątrzustrojowe w modelu komórkowym. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)	prof. dr hab. J. Barciszewski (kierownik zadań z ramienia ICHB PAN); prof. dr hab. S. Jurga (kierownik projektu, UAM w Poznaniu)	2017–2020	1 523 316 502 600 ⁶⁸
26.	Funkcjonalna interakcja pomiędzy kolistymi RNA (circRNA) a macierzą zewnątrzkomórkową (ECM)-znaczenie dla komórek macierzystych nowotworu (GSC) oraz przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) w guzach mózgu; 2017/25/B/NZ3/02173	dr hab. K. Rolle	2018–2021	1 204 800
27.	Kotranskrypcyjne fałdowanie vRNA wirusa grypy w obecności antysensowych oligonukleotydów w zainfekowanych wirusem komórkach MDCK. Nowa metoda chemicznego mapowania struktury RNA w oparciu o metodę głębokiego sekwencjonowania; 2017/25/B/NZ1/02269	prof. dr hab. R. Kierzek	2018–2021	2 068 520

⁶⁸ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

28.	Synteza i badania strukturalne oligonukleotydów o sekwencjach ramion antykodonów tRNA zawierających nowe modyfikowane nukleozydy: ct6A, ms2ct6A, ges2U; 2017/25/B/ST5/00971 Zadania ICHB PAN: 1. Pomiar i analiza widm NMR. Pozyskanie więzów strukturalnych; 2. Wyznaczenie i udokładnienie struktur modelowych 17-merów RNA o sekwencji ASL zawierających modyfikowane nukleotydy. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – Politechnika Łódzka)	prof. dr hab. Z. Gdaniec (kierownik zadań z ramienia ICHB PAN); prof. dr hab. E. Sochacka (kierownik projektu, Politechnika Łódzka)	2018–2021	1 390 200 385 000 ⁶⁹
29.	Uwarunkowania strukturalne właściwości przeciwnowotworowych oligonukleotydów bogatych w guanozynę; 2017/25/B/NZ7/00127	dr hab. A. Pasternak	2018–2021	1 290 900
30.	Właściwości przeciwstarzeniowe 4-N-furfurylocytozyny w zróżnicowanych wiekowo komórkach eukariotycznych, drożdżach oraz mysim modelu starzenia; 2017/25/B/NZ7/02162	dr hab. E. Wyszko	2018–2021	1 748 148
31.	Badanie enzymów chitynolitycznych zmierzające do skonstruowania sztucznego chitynosomu; 2017/27/B/NZ1/02201	prof. dr hab. W. Rypniewski	2018–2021	1 513 600
32.	Zmiany w składzie białek rybosomalnych i w oddziałujących z rybosomami krótkich niekodujących RNA w <i>Saccharomyces cerevisiae</i> w odpowiedzi na stres środowiskowy; 2017/27/B/NZ1/01416	dr hab. K. Bąkowska-Żywicka	2018–2021	1 144 400
33.	Molekularne determinanty selektywnego transportu będącego udziałem roślinnych transporterów ABCG; 2017/27/B/NZ1/01090	dr hab. M. Jasiński	2018–2021	953 000
Projekty SONATA				
34.	Ewolucyjne modelowanie fizykochemicznych warunków nadekspresji wirusowych replikonów w płynnych kulturach roślinnych; 2013/09/D/NZ1/03364	dr inż. R. Pilarski	2014–2018	689 700
35.	W poszukiwaniu nowych mechanizmów kontroli ekspresji genów odmiennych od RNAi – krótkie RNA powstające ze snoRNA; 2014/13/D/NZ1/00061	dr hab. K. Bąkowska-Żywicka	2015–2018	631 840
36.	Identyfikacja kolistych RNA oraz białek uczestniczących w ich biogenezie u modelowej rośliny, <i>Arabidopsis thaliana</i> ; 2014/15/D/NZ2/02305	dr A. Philips	2015–2019	892 110

⁶⁹ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

37.	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
38.	Przeżywalność i stres oksydacyjny w hiperhomocysteinemii; 2015/17/D/NZ5/03444	dr M. Sikora	2016–2020	618 200
39.	Kompleksowa analiza działania oligonukleotydów jako potencjalnych terapeutyków w chorobach poliglutaminowych; 2015/17/D/NZ5/03443	dr A. Fiszer	2016–2019	658 000
40.	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
41.	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
42.	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
43.	Demetylaza histonów JMJD3 jako epigenetyczny regulator procesów senescencji oraz nowotworzenia; 2016/21/D/NZ3/00641	dr P. Perrigue	2017–2020	632 400
44.	Badanie urydlacji RNA jako mechanizmu regulacji ekspresji genów u człowieka; 2017/26/D/NZ1/00887	dr Z. Warkocki	2018–2021	1 150 000
45.	Maskowane substraty bioluminogenne do selektywnego obrazowania parametrów biochemicznych raka; 2017/26/D/NZ1/01234 Zadania ICHB PAN: 1. Zaprojektowanie i synteza zestawu sond bioluminescencyjnych; 2. Scharakteryzowanie działania sond in vitro; 3. Walidacja sond w modelach komórkowych; 4. Profilowanie modelowych linii raka płuc pod względem ich parametrów biochemicznych. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – ICHB PAN)	dr J. Kolanowski	2018–2021	1 067 100 658 000 ⁷⁰

⁷⁰ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

46.	Identyfikacja biocząsteczek uwalnianych przez komórki raka jelita grubego i wykrywanych w surowicy krwi lub/i egzosomach; 2017/26/D/NZ2/00964	dr inż. A. Wojakowska	2018–2021	1 546 211
47.	Udział polimorfizmu liczby kopii genów w naturalnym zróżnicowaniu odpowiedzi ekotypów Arabidopsis thaliana na stres biotyczny; 2017/26/D/NZ2/01079	dr A. Żmieńko	2018–2021	812 120
Projekty SONATA BIS				
48.	Roślinne metabolity wtórne w kontroli kolonizacji roślin przez mikroorganizmy; 2012/07/E/NZ2/04098	dr hab. P. Bednarek	2013–2018	1 497 600
49.	Termodynamiczne podstawy projektowania optymalnych funkcjonalnie, modyfikowanych siRNA oraz ich eksperymentalna weryfikacja; 2013/10/E/NZ1/00741	dr hab. A. Pasternak	2014–2018	810 300
50.	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
51.	Wykorzystanie narzędzi genetycznych w eksperymentalnej terapii chorób poliglutaminowych; 2015/18/E/NZ2/00678	dr hab. M. Olejniczak	2016–2021	1 917 600
52.	Niepoznane obszary aktywności ludzkiej rybonukleazy Dicer; 2016/22/E/NZ1/00422	dr hab. A. Kurzyńska-Kokorniak	2017–2022	1 959 600
53.	Struktura RNA i jego oddziaływanie z białkiem Gag warunkujące funkcje RNA Ty1 na różnych etapach replikacji retrotranspozonu; 2016/22/E/NZ3/00426	dr hab. K. Pachulska-Wieczorek	2017–2021	1 152 060
54.	Opracowanie metodologii umożliwiającej stabilizację RNA w formie spinki do badań krystalograficznych; 2017/26/E/NZ1/00950	dr A. Kiliszek	2018–2023	2 250 340
55.	Identyfikacja i charakterystyka nowych klas regulatorowych RNA w glejaku wielopostaciowym (GBM). Udział sno-miRNA oraz kolistych RNA (circRNA) w rozwoju i progresji GBM oraz ich znaczenie dla komórek macierzystych nowotworu; 2017/26/E/NZ3/01004	dr hab. K. Rolle	2018-2022	2 318 900
Projekty SONATINA				
56.	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

57.	Pionierskie badania struktury i funkcji G-kwadrupleksów miRNA; 2018/28/C/NZ1/00497	dr A. Belter	2018-2021	937 273
Projekty HARMONIA				
58.	Funkcja roślinnych metabolitów wtórnych w promocji wzrostu indukowanej przez endofity grzybowe; 2015/18/M/NZ1/00406	dr hab. P. Bednarek	2016–2019	504 000
Projekty PRELUDIUM				
59.	Rola hiperhomocysteinemii w sygnalizacji zapachowej u myszy; 2014/15/N/NZ5/01646	mgr J. Wróblewski	2015–2019	150 000
60.	Patofizjologiczne konsekwencje N-homocysteinylacji histonów w hiperhomocysteinemii spowodowanej niedoborem CBS; 2014/15/N/NZ5/01647	mgr I. Lewandowska	2015–2019	146 760
61.	Profilowanie mikroRNA w komórkowych modelach choroby Huntingtona stworzonych z użyciem technologii iPSC; 2015/17/N/NZ2/01916	dr E. Kozłowska	2016–2020	149 200
62.	Obrazowanie szlaku biogenezy miRNA i komórkowej lokalizacji reagentów technologii interferencji RNA; 2015/17/N/NZ3/03629	dr M. Urbanek-Trzeciak	2016–2019	148 800
63.	Struktura i funkcja białka Glod4; 2015/17/N/NZ3/03626	mgr inż. O. Utyro	2016–2019	150 000
64.	Delecja genu 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
65.	Właściwości antykoagulacyjne i antyproliferacyjne nowych analogów aptameru wiążącego trombinę; 2015/19/N/NZ5/02246	dr W. Kotkowiak	2016–2018	49 960
66.	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
67.	Ekspresja kolistych RNA w dystrofii miotonicznej typu 1 – związek z patogenezą; 2016/21/N/NZ5/00508	dr K. Czubak	2017–2020	150 000
68.	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
69.	Katalityczne RNA jako narzędzia w biotechnologii mitochondriów ludzkich; 2016/21/N/NZ1/00564	mgr inż. P. Głodowicz	2017–2020	149 200

70.	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
71.	Polimorfizm liczby kopii genów mikroRNA w populacji naturalnych linii <i>Arabidopsis thaliana</i> oraz jego wpływ na potranskrypcyjną regulację ekspresji genów docelowych; 2017/25/N/NZ2/00221	dr A. Samelak-Czajka	2018–2020	120 000
Projekty FUGA				
72.	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
Projekty MINIATURA				
73.	Zmienność liczby kopii genu MSH2 u <i>Arabidopsis thaliana</i> – 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
74.	Synteza nowych pochodnych porfirynowych o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej (PDT); 2017/01/X/ST5/00680	dr Z. Jahnz-Wechmann	2017–2018	49 500
75.	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
76.	Wykorzystanie modyfikowanych chemicznie kwadrupleksów RNA w terapii antysensowej; 2017/01/X/ST5/00589	dr D. Gudanis	2017–2018	49 500
77.	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
78.	Analiza eksomów pacjentów z ostrą białaczką szpikową; 2017/01/X/NZ2/01906	dr L. Handschuh	2018–2019	49 423
79.	Pochodzenie populacji zamieszkujących tereny dzisiejszej Polski w I-IV w.n.e. – wstępna analiza izotopowa strontu; 2018/02/X/NZ8/01334	dr M. Marcinkowska-Swojak	2018–2019	46 420
80.	Pozyskanie izoform białek PR-10 z dziurawca zwyczajnego, jako potencjalnych receptorów melatoniny i mediatorów przekazu sygnału hormonalnego, oraz wstępna charakterystyka krystalograficzna ich kompleksów z naturalnymi ligandami; 2018/02/X/NZ1/01797	dr J. Śliwiak	2018–2019	49 500

81.	Mutagenesa szlaków biosyntezy metabolitów wtórnych modelowej trawy <i>Brachypodium distachyon</i> ; 2018/02/X/NZ2/02214	dr hab. K. Krystkowiak	2018–2019	47 300
82.	Wstępna charakterystyka funkcji białka błonowego ERD6 w transporcie glukozydów w odporności <i>Arabidopsis</i> na infekcje; 2018/02/X/NZ3/02233	dr M. Pastorczyk	2018–2019	49 500
PROGRAMY MINISTRA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO				
83.	Badanie roli neuronalnej ścieżki PGC-1 α -PPAR δ w patogenezie i terapii choroby Parkinsona; Mobilność Plus; 1303/MOB/IV/2015/0	dr P. Świtoński	2015–2018	585 000
84.	Wkład krajowy na rzecz udziału we wspólnym międzynarodowym przedsięwzięciu pn. European Infrastructure of Open Screening Platforms for Chemical Biology European Research Infrastructure Consortium (EU-OPENSREEN ERIC) Zadania ICHB PAN: 1. Zakup Czytnika Płytek, Systemu HCA, Systemu dozującego minimalne ilości płynów, elementów usprawniających automatyzację procesów, systemu usprawnienia hodowli komórkowej i akcesoriów wspomagających; 2. Zakup aparatury i zapewnienie sterylności systemu; 3. Zakup aparatury i stworzenie systemu inteligentnego magazynowania i zarządzania próbkami; 4. Zatrudnienie i przeszkolenie personelu, walidacja procedur pomiarowych i dostosowanie ich do standardów EU-Openscreen, wypracowanie formatu działania HTS-ICHB i stworzenie społeczności lokalnej (m.in. obecni i przyszli partnerzy w POL Openscreen i spoza) i międzynarodowej (np. poprzez EU-Openscreen) zaangażowanej w podtrzymywanie i korzystanie z platformy. – projekt realizowany w konsorcjum POL-OPENSREEN (lider – Instytut Biologii Medycznej PAN)	prof. dr hab. M. Figlerowicz (kierownik zadań z ramienia ICHB PAN); prof. dr hab. Z. Leśnikowski (kierownik projektu, IBM PAN)	2018–2023	39 273 625 12 760 000 ⁷¹
PROJEKTY NARODOWEGO CENTRUM BADAŃ I ROZWOJU				
Program LIDER				
85.	Nukleozydo difosforany – nowatorska koncepcja pro-nukleotydów anty-HIV; 711/L-4/2012	dr J. Romanowska	2014–2018	1 188 000

⁷¹ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

Program CORNET				
86.	Innowacyjna technologia przetwórstwa rzepaku do żywienia drobiu; CORNET/IZP/22/2/2017 Zadanie ICHB PAN: WP. 3 Określenie potencjału komercyjnego nowych produktów w warunkach wolnego rynku. – projekt realizowany w konsorcjum międzynarodowym (lider na poziomie krajowym – Izba Gospodarcza Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz; lider na poziomie międzynarodowym – The German Plant Breeders Association, Niemcy)	prof. dr hab. T. Twardowski (kierownik zadania z ramienia ICHB PAN); A. Zymerman (kierownik projektu, IZP)	2017–2019	1 012 807 118 954⁷²
Program STRATEGMED				
87.	Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek dla potrzeb medycyny regeneracyjnej; STRATEGMED1/233624/5/NCBR/2014 Zadania ICHB PAN: 1. Walidacja pluripotencji komórek iPS uzyskanych z mioblastów (realizowane wraz z Instytutem Genetyki Człowieka PAN); 2. Przygotowanie i utrzymanie biblioteki czynników chemicznych do wykorzystania w celu optymalizacji indukcji pluripotencji; 3. Przygotowanie i utrzymanie biblioteki czynników chemicznych do wykorzystania w celu optymalizacji procesu redyferencji w kierunku kardiomyocytów; 4. Wysokoprzepustowa optymalizacja pożywek dla indukcji pluripotencji oraz otrzymania linii kardiomiogennych z wykorzystaniem metody sztucznej inteligencji; 5. Walidacja ustalonego protokołu indukcji pluripotencji (realizowane wraz z Instytutem Genetyki Człowieka PAN); 6. Ewaluacja molekularna <i>in vitro</i> kardiomyocytów pozyskanych z komórek iPS wg protokołu wynikającego z działań Algorytmu Genetycznego. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – ICHB PAN)	prof. dr hab. W. T. Markiewicz	2015–2019	21 642 080 10 601 400⁷³

⁷² Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

⁷³ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

Program JPI AMR				
88.	Wspomagane strukturalnie projektowanie inhibitorów metalo-β-laktamaz o szerokim spektrum działania; AMR/1/2015 Zadanie ICHB PAN: 1. Charakterystyka strukturalna enzymów MBL i ich kompleksów z substratami i inhibitorami w ramach projektu – Wspomagane strukturalnie projektowanie inhibitorów metalo-β-laktamaz o szerokim spektrum działania. – projekt realizowany w konsorcjum międzynarodowym (lider – University Paris Sud, Francja)	prof. dr hab. M. Jaskólski (kierownik zadania z ramienia ICHB PAN); dr. T. Naas (kierownik projektu, UPSud)	2015–2019	1 049 014
Program E-Rare				
89.	Terapia genowa ataksji rdzeniowo-mózdkowych: przywracanie prawidłowego metabolizmu cholesterolu poprzez mózgową nadekspresję 24-hydroksylazy cholesterolowej (CYP46A1); ERA-NET-E-RARE- 3/III/SCA-CYP/09/2018 Zadania ICHB PAN: 1. Lipidomiczna charakterystyka mózgu modelu SCA3/MJD Ki91; 2. Pogorszenie łagodnego fenotypu SCA3/MJD w modelu Ki91 i indukcja fenotypu przypominającego SCA u zdrowych myszy poprzez wyciszenie ekspresji CYP46A1 w mózgu na drodze wstrzyknięcia AAVCYP46A1. – projekt realizowany w konsorcjum międzynarodowym (lider – Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale, Francja)	dr hab. M. Figiel (kierownik zadań z ramienia ICHB PAN); dr. N. Cartier (kierownik projektu, INSERM)	2018–2021	858 470,38 ⁷⁴
90.	Allelo-specyficzne obniżenie poziomu białek polyQ jako strategia terapeutyczna dla choroby Huntingtona oraz ataksji rdzeniowo-mózdkowych typu 3 i 7; ERA-NET-E-RARE- 3/III/TreatPolyQ/08/2018 Zadania ICHB PAN: 1. Testowanie wyciszających reagentów RNA w aspekcie ich toksyczności, dystrybucji w centralnym układzie nerwowym oraz ich efektywności w obniżaniu ekspresji zmutowanego genu; 2. Redukcja fenotypu patologicznego za pomocą RNAi w wybranych mysich modelach chorobowych oraz analiza długoterminowych efektów ubocznych.	dr hab. M. Figiel prof. dr hab. W.J. Krzyżosiak (kierownik zadań z ramienia ICHB PAN); Dr. H. H. P. Nguyen (kierownik projektu, EKUT)	2018–2021	900 100 ⁷⁴

⁷⁴ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

	– projekt realizowany w konsorcjum międzynarodowym (lider – Eberhard Karls Universität Tübingen, Niemcy)			
PROJEKTY ZAGRANICZNE				
91.	Cell fate plasticity in animal development and tissue homeostasis; EMBO IG 3615	dr hab. R. Ciosk	2017–2020	622 515

PROGRAM OPERACYJNY INTELIGENTNY ROZWÓJ 2014-2020

Oś priorytetowa IV Zwiększenie potencjału naukowo-badawczego				
Działanie 4.1 Badania naukowe i prace rozwojowe				
92.	Mapa Mikrobiomu Polski; POIR.04.01.02-00-0025/17-00 – projekt realizowany w konsorcjum (lider konsorcjum – ICHB PAN)	dr A. Philips	2018–2020	7 008 119,82 4 422 340,26 ⁷⁵
Działanie 4.2 Rozwój nowoczesnej infrastruktury badawczej sektora nauki POIR				
93.	ECBiG – Europejskie Centrum Bioinformatyki i Genomiki; POIR.04.01.02-30-A004/16-00 Zadania ICHB PAN: 1. Stworzenie bazy danych genomicznych; 2. Narzędzia bioinformatyczne. - projekt realizowany w konsorcjum (lider – ICHB PAN)	prof. dr hab. M. Figlerowicz	2016–2020	68 000 000 27 134 114 ⁷⁵
Działanie 4.4 Zwiększanie potencjału kadrowego sektora B+R (Programy Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej)				
94.	Regulation of body fat: from novel mechanisms to therapeutic targets; TEAM/2016-2/11; POIR.04.04.00-00-203A/16-00	dr hab. R. Ciosk	2017–2020	3 492 243
95.	MultiGATE: dual-analyte responsive fluorescent probes for a real-time multi-parametric sensing in cellular models; HOMING/2017-4/33; POIR.04.04.00-00-441F/17-00	dr J. Kolanowski	2018–2020	799 933

⁷⁵ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

PROGRAM OPERACYJNY WIEDZA EDUKACJA ROZWÓJ 2014-2020

Oś priorytetowa III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju

Działanie 3.2 Studia doktoranckie

96.	Środowiskowe interdyscyplinarne studia doktoranckie w zakresie nanotechnologii; POWR.03.02.00-00-I032/16 Zadania ICHB PAN: 1. Przygotowanie, otwarcie i realizacja nowego programu studiów doktoranckich z nanotechnologii; 2. Organizacja staży i wyjazdów konferencyjnych. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)	dr hab. M. Sobkowski (kierownik zadań z ramienia ICHB PAN); prof. dr hab. Stefan Jurga (kierownik projektu, UAM)	2018-2022	2 475 777,50 469 556,50 ⁷⁶
97.	Interdyscyplinarne studia doktoranckie NanoBioTech; POWR.03.02.00-00-I0011/16 Zadanie ICHB PAN: 1. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie NanoBioTech. – projekt realizowany w konsorcjum (lider – Politechnika Poznańska)	dr hab. M. Sobkowski (kierownik zadania z ramienia ICHB PAN); prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski (kierownik projektu, PP)	2018-2022	2 549 895,00 752 272,50 ⁷⁶

⁷⁶ Wartość realizowanych zadań przez ICHB PAN

Współpraca naukowa z partnerami krajowymi

1. **Analiza proteomiczna surowicy krwi oraz tkanek nowotworowych pod kątem poszukiwania markerów nowotworów głowy i szyi z wykorzystaniem metod spektrometrii mas**
Dr Łukasz Marczak
Prof. dr hab. Piotr Wiślak, dr hab. Monika Pietrowska, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach
2. **Analiza metabolomiczna surowicy oraz egzosomów izolowanych z surowicy krwi pacjentów chorych na nowotwory głowy i szyi**
Dr Łukasz Marczak
Dr hab. Monika Pietrowska, mgr Agata Włosowicz, Instytut Onkologii Oddział w Gliwicach
3. **Analiza związków niskocząsteczkowych oraz lipidów w świeżych oraz suszonych owocach goji**
Dr Łukasz Marczak
Dr hab. Agnieszka Zgoła-Grześkowiak, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
4. **Analiza proteomiczna oraz metabolomiczna próbek osocza krwi pacjentów po przebytych udarach różnego typu**
Dr Łukasz Marczak, dr Marta Sikora
Prof. dr hab. Radosław Kaźmierski, I Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
5. **Analiza jakościowa oraz ilościowa białek oraz fenolowych metabolitów obecnych w liściach oraz korzeniach topoli poddawanych działaniu metali ciężkich w ramach projektu „Analiza wpływu ektomikoryz na tolerancję topoli *Populus x canescens* na ołów wykonana metodami proteomicznymi i metabolomicznymi” realizowanego na podstawie umowy nr UMO-2011/03/D/NZ9/05500**
Dr Łukasz Marczak
Dr Agnieszka Szuba, Instytut Dendrologii PAN w Kórniku
6. **Analiza ilościowa estrogenów (E1, E2) tkanki nowotworowej płuc**
Dr Łukasz Marczak
Prof. dr hab. Paweł Jagodziński, mgr Bartosz Słowikowski, I Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
7. **Analiza cukrów oraz związków fenolowych łubinu i grochu pod kątem odpowiedzi roślin na infekcje grzybowe oraz na interakcje z insektami (mszyce)**
Dr Łukasz Marczak
Prof. dr hab. Iwona Morkunas, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
8. **Rybozomy HDV jako potencjalny cel terapii przeciwwirusowej oraz użyteczne biosensory**
Prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka, dr hab. Jan Wrzesiński
Prof. dr hab. Magdalena Jezowska-Bojczuk, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski
9. **Struktura i funkcja RNA wirusa VSV**
Dr hab. Mariola Dutkiewicz
Dr Beata Orzechowska, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN we Wrocławiu
10. **Badania *in vitro* koniugatów kwasów nukleinowych z barwnikami do potencjalnego zastosowania w terapii fotodynamicznej**
Dr Weronika Kotkowiak
Dr inż. Michał Kotkowiak, Wydział Fizyki Technicznej, Politechnika Poznańska

11. **Badania potencjału biologicznego nowych pochodnych rezorcyno[4]arenów**
Dr Weronika Kotkowiak
Prof. dr hab. Waldemar Iwanek, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Uniwersytet J. Kochanowskiego w Kielcach
12. **Realizacja projektu „Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek dla potrzeb medycyny regeneracyjnej” na podstawie umowy nr STRATEGMED1/233624/5/NCBR/2014, 1.01.2015-31.12.2019 r.**
Prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz, prof. dr hab. Maciej Stobiecki,
prof. dr hab. Jan Barciszewski
Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu,
Szpital Kliniczny Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
MedPolonia Sp. z o. o., Poznań
13. **Dissecting RNA-binding specificity of the TRIM-NHL protein LIN-41**
Dr hab. Rafał Ciosk, dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek
Prof. dr hab. Janusz Bujnicki, Dr. Pritha Ghosh, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie
14. **Poszukiwanie markera różnicującego poszczególne stadia NAFLD/NASH, poprzez analizę korelacji kwasów tłuszczowych i ich pochodnych, w krwi oraz w wątrobie szczurów z modelowym postępującym stłuszczeniem wątroby**
Dr hab. Eliza Wyszko, dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska
Prof. dr hab. Ewa Stachowska, Wydział Nauk o Zdrowiu, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
15. **Analiza właściwości biologicznych koniugatów klasterów boru i naftalimidów**
Dr hab. Eliza Wyszko, dr hab. Małgorzata Giel-Pietraszuk,
dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska, dr Dorota Gurda
Dr hab. Agnieszka B. Olejniczak, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi
16. **Regulacja poziomu neuroaktywnych β -karbolin w diecie w oparciu o wybrane produkty**
Dr hab. Eliza Wyszko, dr Agnieszka Fedoruk-Wyszomirska, dr Dorota Gurda
Prof. dr hab. Renata Zawirska-Wojtasiak, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
17. **Epigenetyczne konsekwencje podsuszania nasion**
Prof. dr hab. Mirosława Z. Naskręt-Barciszewska
Dr hab. Paweł Chmielarz, prof. ID, Instytut Dendrologii PAN w Kórniku
18. **Badanie interakcji związków kompleksowych Cu(I) o strukturze helikalnej z kwasami nukleinowymi w ramach projektu „Optymalizacja wielkości helikatów supramolekularnych w aspekcie interakcji z DNA i aktywności antynowotworowej” realizowanego na podstawie umowy nr UMO-2017/24/C/ST5/00181**
Dr Agnieszka Belter
Dr Marta A. Fik, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
19. **Badanie interakcji roślina-wirus-satelitarny RNA w układzie *Nicotiana benthamiana* – wirus karłowatości orzecha ziemnego (PSV) i jego satRNA**
Dr Agnieszka Żmienko, prof. dr hab. Marek Figlerowicz
Dr hab. Aleksandra Obrepalska-Stęplowska, Instytut Ochrony Roślin, Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu
20. **Mapa Mikrobiomu Polski**
Dr Anna Philips, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, dr Luiza Handschuh, mgr Marek Milewski, mgr Katarzyna Tomela

Prof. dr hab. Andrzej Mackiewicz, Wydział Lekarski II, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu
dr hab. Jacek Mackiewicz, Wydział Lekarski II, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
dr hab. Marcin Schmidt, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy
w Poznaniu

21. Repozytorium heterogenicznych danych medycznych i genetycznych umożliwiające budowę systemu wspomagania decyzji klinicznych i optymalizacji leczenia pooperacyjnego u dzieci poddanych korekcjom wrodzonych wad serca

Dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak, prof. dr hab. Marek Figlerowicz,
dr. inż. Cezary Mazurek, mgr inż. Marcin Krystek
Dr hab. n. med. Wojciech Mrówczyński, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

22. Analiza ekspresji alternatywnych transkryptów genu NPM1 u pacjentów z ostrą białaczką szpikową i limfoblastyczną

Dr Luiza Handschuh, dr Paweł Wojciechowski, prof. dr hab. Marek Figlerowicz,
dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak
Dr hab. Maciej Kaźmierczak, prof. dr hab. Krzysztof Lewandowski,
prof. dr hab. Mieczysław Komarnicki, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

23. Wykorzystanie BMV jako nośnika nanocząstek

Mgr inż. Aleksander Strugała, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, dr Anna Urbanowicz
Dr Jakub D. Rybka, mgr Adam Mieloch, prof. dr hab. Michael Giersig, Wydział Chemii,
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

24. Analiza kopalnego DNA z okresu neolitu

Dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak, dr Anna Philips, mgr Ireneusz Stolarek,
mgr inż. Michał Zeńczak, prof. dr hab. Marek Figlerowicz, dr Luiza Handschuh
Prof. dr hab. Krzysztof Szostek, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński
w Krakowie

25. Modelowanie twarzy na podstawie struktury czaszki

Prof. dr hab. Marek Figlerowicz, dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak, mgr Ireneusz Stolarek,
mgr inż. Michał Zeńczak, dr Luiza Handschuh, dr inż. Cezary Mazurek, dr inż. Maciej Stroński,
mgr inż. Mirosław Czyrnek
Prof. Dorota Lorkiewicz-Muszyńska, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Dr inż. Michał Rychlik, Wydział Inżynierii Transportu, Politechnika Poznańska

26. Wpływ wariantów SNP na wiązanie się czynników transkrypcyjnych u pacjentów objętych hemodializami

Mgr Ireneusz Stolarek, prof. dr hab. Marek Figlerowicz
Prof. dr hab. Alicja Grzegorzewska, prof. dr hab. Paweł Jagodziński, I Wydział Lekarski,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

27. Analiza ekspresji genów *C. albicans*

Dr Aleksandra Świercz
Dr hab. Maciej Małyk, Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku,
Katolicki Uniwersytet Lubelski

28. Analiza szlaków przekazywania sygnałów indukowanych przez erytropoetynę, cisplatynę i paklitaksel w komórkach raka jajnika

Dr Luiza Handschuh, dr Aleksandra Świercz
Dr Jolanta Szenajch, Klinika Onkologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

29. **Zmienność współczesnych i kopalnych genomów *Tannerella forsythia***
 Dr Anna Philips, prof. dr hab. Marek Figlerowicz
 Prof. dr hab. Jan Potempa, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii,
 Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
30. **„Badania potencjalnej roli białek NANOS w kontroli translacji funkcjonalnie powiązanych ze sobą mRNA, w ludzkich komórkach linii płciowej: poszukiwanie mechanizmu potranskrypcyjnych regulonów u ssaków”. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO-2014/15/B/NZ1/03384**
 Dr Luiza Handschuh, dr Jan Podkowiński, dr Aleksandra Świercz,
 prof. dr hab. Marek Figlerowicz
 Dr hab. Kamila Kusz-Zamelczyk, mgr inż. Maciej Śmiałek, prof. Jadwiga Jaruzelska,
 Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
31. **Archeogenomika**
 Prof. dr hab. Marek Figlerowicz, dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak, dr Anna Philips,
 mgr Ireneusz Stolarek, mgr inż. Michał Zeńczak, dr Luiza Handschuh
 Prof. Janusz Piontek, dr Anna Juras, mgr Dawid Trzcński, Wydział Biologii,
 Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
 Prof. dr hab. Hanna Kóčka-Krenz, prof. dr hab. Józef Dobosz, dr hab. Marzena Matla,
 dr Magdalena Biniaś-Szkopek, mgr Artur Dębski, mgr Jakub Wojtczak, Wydział Historyczny,
 Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
 Prof. dr hab. Tomasz Jasiński, mgr Aleksandra Losik-Sidorska, Wydział Historyczny,
 Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Biblioteka Kórnicka PAN
32. **„Kompleksowe podejście w celu zdefiniowania molekularnych podstaw odpowiedzi kukurydzy na stres herbicydowy”. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO- 2012/06/A/NZ9/00125**
 Prof. dr hab. Tomasz Twardowski, dr Agata Tyczewska, dr Joanna Gracz
 Prof. dr hab. Wojciech Karłowski, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
 w Poznaniu
 Prof. dr hab. Kazimierz Adamczewski, Instytut Ochrony Roślin
 – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu
 Prof. dr hab. Józef Adamczyk, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin
 – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu
33. **„Identyfikacja mechanizmów molekularnych zaangażowanych w odpowiedź soi na stres niskich temperatur w warunkach klimatu umiarkowanego”. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO- 2014/15/B/NZ9/02312**
 Prof. dr hab. Tomasz Twardowski, mgr inż. Jakub Kuczyński, dr Agata Tyczewska,
 dr Joanna Gracz
 Dr hab. Jerzy Nawracała, prof. dr hab. Zbigniew Broda, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii,
 Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
34. **Współpraca przy realizacji grantu „Innowacyjna technologia przetwórstwa rzepaku do żywienia drobiu”. Grant realizowany na podstawie umowy nr CORNET/22/2/2016**
 Prof. dr hab. Tomasz Twardowski, mgr Ewa Woźniak
 Mgr Michał Borowiecki, mgr Anna Zymerman, Izba Gospodarcza Handlowców,
 Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz w Warszawie
 Prof. dr hab. Danuta Boroś, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin
 – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu
 Dr hab. Krzysztof Kozłowski, Wydział Nauk o Środowisku,
 Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
35. **Badania eksperymentalne oraz obliczeniowe, z wykorzystaniem mechaniki kwantowej**
 Mgr Agnieszka Witkowska, dr Jolanta Brzezińska, dr hab. Marcin K. Chmielewski

- Dr Jacek Kujawski, dr hab. Marek Bernard, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
36. **Analiza zdolności hamowania replikacji HIV dla pochodnych nukleozydów o potencjalnej aktywności biologicznej**
Dr Dagmara Baraniak, prof. dr hab. Jerzy Boryski
Mgr Aleksandra Dąbrowska, dr hab. Izabela Sitkiewicz, prof. NIL, Narodowy Instytut Leków w Warszawie
37. **Nukleozydy acykliczne w wirusowych chorobach ryb**
Dr hab. Tomasz Ostrowski
Dr Ilgiz Ilmazarow, Zakład Ichtiobiologii i Gospodarki Rybackiej PAN w Gołyszach
38. **Badanie właściwości anytywirusowych syntetycznych analogów nukleozydów**
Dr Maurycy Szlenkier, prof. dr hab. Jerzy Boryski
Dr hab. Krzysztof Pyrć, prof. UJ, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
39. **„Nowe, wielozadaniowe nanocząsteczki w skojarzonej geno- i fototerapii”. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO-2016/21/B/ST8/00477**
Prof. dr hab. Jan Barciszewski
Prof. dr hab. Stefan Jurga, Centrum NanoBiomedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
40. **Testy fenotypowe linii mutantów *Medicago truncatula***
Dr hab. Michał Jasiński
Dr Karolina Jarzyna, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
41. **Genetyczna predyspozycja do rodzinnego raka piersi**
Prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Katarzyna Klonowska, dr Malwina Suszyńska
Prof. dr hab. n. med. Jan Lubiński, Wydział Lekarsko-Biotechnologiczny i Medycyny Laboratoryjnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
42. **Analiza zmian poziomu ekspresji kolistych RNA w dystrofii miotonicznej typu 1 i 2**
Prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Karol Czubak
Dr hab. Krzysztof Sobczak, prof. UAM, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
43. **Analiza statystyczna asocjacji genetycznej, markerów genetycznych związanych z chorobami ginekologicznymi**
Prof. dr hab. Piotr Kozłowski
Dr hab. Ewa Cieczuga-Semeniuk, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
44. **Opracowanie ilościowych metod pozwalających na precyzyjną analizę ekspresji transkryptów zaangażowanych w patomechanizm dystrofii miotonicznej typu pierwszego (DM1)**
Dr hab. Marzena Wojciechowska, prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Karol Czubak
Dr hab. Krzysztof Sobczak, prof. UAM, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
45. **Analiza zmutowanych transkryptów w dystrofii miotonicznej typu drugiego (DM2)**
Dr hab. Marzena Wojciechowska
Dr Anna Łusakowska, I Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Warszawie
46. **Analiza zmian liczby kopii genów JAK2, PDL-1 oraz PDL-2 zlokalizowanych na krótkim ramieniu chromosomu 9 wśród pacjentów cierpiących na zespoły mieloproliferacyjne**
Prof. dr hab. Piotr Kozłowski, mgr Paulina Nawrocka
Prof. dr hab. Krzysztof Lewandowski, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

47. **„Badania struktury drugorzędowej RNA in vivo z zastosowaniem metod wysokowydajnego sekwencjonowania”. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO- 2011/03/D/NZ2/03304**
 Dr hab. Kamilla Bąkowska-Żywicka
 Dr Marek Żywicki, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
48. **Kontenery molekularne**
 Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski, dr hab. Mirosław Gilski
 Prof. dr hab. Agnieszka Szumna, Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie
49. **„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
 Dr Jarosław Czubiński, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
50. **Ciałka retikulum endoplazmatycznego w metabolizmie glukozyolanów w *Arabidopsis thaliana*.**
 Dr hab. Paweł Bednarek, mgr Paweł Czerniawski
 Dr Kenji Yamada, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
51. **Flawiny jako narzędzie do monitorowania i kontroli środowiska redoks w komórce**
 Dr Jacek Kolanowski, Anna Wychowaniec
 Prof. dr hab. Marek Sikorski, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
52. **„Maskowane substraty bioluminogenne do selektywnego obrazowania parametrów biochemicznych raka”. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO-2017/26/D/NZ1/01234**
 Dr Jacek Kolanowski, dr Bartosz Marciniak, Marianna Pewińska
 Dr hab. Natalia Rozwadowska, Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
53. **Wykorzystanie sond fluorescencyjnych do pomiaru labilnych form żelaza (II) w komórkach**
 Dr Jacek Kolanowski
 Dr Katarzyna Mleczko-Sanecka, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie
54. **Związki małowcząsteczkowe zawierające klastry boru**
 Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, dr Agnieszka Kiliszek
 Dr hab. Agnieszka Olejniczak, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi
55. **Badania strukturalne peptydowych foldamerów**
 Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, dr Magdalena Bejger
 Dr hab. Łukasz Berlicki, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska
56. **Badania strukturalne aminotransferaz z grzybów patogennych**
 Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, dr Agnieszka Kiliszek
 Prof. dr hab. Sławomir Milewski, dr hab. Iwona Gabriel, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska
57. **Opis obecnych możliwości najnowszych podejść do dokowania białko peptyd, zdefiniowanie najpoważniejszych problemów do rozwiązania w tej dziedzinie oraz podsumowanie możliwości najlepszych metod stosowanych obecnie na świecie (m.in. na podstawie wyników ostatniego eksperymentu CASP Capri)**
 Dr Karol Kamel
 Mgr Maciej Ciemny, dr Mateusz Kurciński, prof. dr hab. Andrzej Koliński, dr Sebastian Kmiecik, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

58. **Zastosowanie teorii informacji do detekcji sygnatur życia**
 Prof. dr hab. Jacek Błażewicz, dr inż. Szymon Wąsik, dr Natalia Szóstak
 Prof. dr hab. inż. Krzysztof Krawiec, Wydział Informatyki, Politechnika Poznańska
59. **Modelowanie przy pomocy metod *ab initio* reakcji chemicznych prowadzących do powstania pierwszych związków organicznych**
 Prof. dr hab. Jacek Błażewicz, dr Natalia Szóstak
 Dr Juan Francisco Carrascoza Mayen, Wydział Informatyki, Politechnika Poznańska
 Prof. dr hab. Wiesław Nowak, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet im. M. Kopernika w Toruniu
60. **Modelowanie i analiza metabolizmu IL-18**
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr inż. Agnieszka Rybarczyk, dr inż. Marcin Radom
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
61. **Modelowanie i analiza metabolizmu cholesterolu w procesie rozwoju miażdżycy**
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr inż. Agnieszka Rybarczyk, dr inż. Marcin Radom
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
62. **Modelowanie i analiza roli żelaza w procesie powstawania i rozwoju miażdżycy**
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr inż. Agnieszka Rybarczyk, dr inż. Marcin Radom
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
63. **Modelowanie i analiza roli zapalenia i układu odpornościowego w powstawaniu samoistnego nadciśnienia tętniczego**
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr inż. Agnieszka Rybarczyk, dr inż. Marcin Radom
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
64. **Modelowanie i analiza roli IL-18 w procesie zapalnym towarzyszącym powstawaniu i rozwojowi miażdżycy**
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz
 Dr hab. n. med. Dorota Formanowicz, II Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
 Mgr Kaja Gutowska, Wydział Informatyki, Politechnika Poznańska
65. **Modelowanie i analiza procesu naprawy DNA**
 Prof. dr hab. Piotr Formanowicz, dr inż. Marcin Radom
 Prof. dr hab. Janusz M. Bujnicki, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie oraz Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
 Dr Magdalena A. Machnicka, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie oraz Uniwersytet Warszawski
 Dr Joanna Krwawicz, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie oraz Instytut Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie
66. **Walidacja metodyki izobarycznego znakowania próbek peptydowych z wykorzystaniem soli piryliowych**
 Dr hab. Magdalena Łuczak, mgr inż. Joanna Tracz
 Dr Mateusz Waliczek, prof. dr hab. Zbigniew Szewczuk, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski
67. **Bioinżynieria sekwencji jedwabiu pajęczego, w celu kontrolowania jego powinowactwa do leków**
 Dr hab. Magdalena Łuczak
 Dr hab. Hanna Dams-Kozłowska, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu

68. **Wykorzystanie biopolimerów skoniugowanych z magnetytem jako materiałem nośnym do immobilizacji trypsyny i trawienia białek**
 Dr hab. Magdalena Łuczak
 Dr Jakub Zdarta, prof. dr hab. Teofil Jesionowski, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
69. **Identyfikacja kolistych RNA (circRNA) i ich związek z komórkami macierzystymi nowotworu**
 Dr hab. Katarzyna Rolle, mgr Dariusz Wawrzyniak, mgr Żaneta Zarębska, mgr Konrad Kuczyński
 Dr Sławomir Smół, dr Rafał Piestrzeniewicz, dr Tomasz Blok, Oddział Neurochirurgii, Wielospecjalistyczny Szpital Miejski im. J. Strusia w Poznaniu
 Dr n. med. Anna Maria Barciszewska, I Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
70. **Identyfikacja niekodujących RNA związanych z chorobami zapalnymi oraz nowotworami narządu wzroku**
 Dr hab. Katarzyna Rolle, mgr Dariusz Wawrzyniak, mgr Żaneta Zarębska
 Dr hab. Anna Gotz-Więckowska, dr Olga Wawrzyniak, dr n. med. Iwona Rospond-Kubiak, I Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
71. **Badanie właściwości mechanicznych komórek nowotworowych**
 Dr hab. Katarzyna Rolle, mgr Małgorzata Grabowska, mgr Konrad Kuczyński
 Prof. dr hab. Małgorzata Lekka, dr Joanna Zemła, Instytut Fizyki Jądrowej PAN w Krakowie
72. **Izolacja i identyfikacja RNA oddziałujących z ludzką rybonukleazą Dicer w ludzkich komórkach 293T i liniach pochodnych z wykorzystaniem techniki irCLIP**
 Mgr inż. Agnieszka Szczepańska, dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak
 Dr Paweł Wołkow, dr Michał Seweryn, mgr inż. Agnieszka Borys, mgr inż. Paweł Konieczny, Ośrodek Genomiki Medycznej OMICRON, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
73. **Badanie aktywności rybonukleazy Dicer w kontekście infekcji herpeswirusowej**
 Dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, mgr Marek Milewski
 Prof. dr hab. Krystyna Bieńkowska-Szewczyk, mgr Weronika Hoffmann, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
74. **Sortowanie komórek ludzkich przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSAria III**
 Dr hab. Marta Olejniczak, mgr Magdalena Dąbrowska
 Dr Wojciech Juzwa, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
75. **Badania oddziaływań pochodnych akrydyny oraz niesymetrycznych pochodnych bisakrydynowych z kwasami nukleinowymi metodami spektroskopii NMR**
 Prof. dr hab. Zofia Gdaniec, dr Witold Andrałojć
 Dr inż. Tomasz M. Laskowski, Wydział Chemii, Politechnika Gdańska
76. **„Znaczenie ekologiczne i kompleksowa charakterystyka związków mykosporynopodobnych w poroście *Cladonia arbuscula*”. Grant realizowany na podstawie umowy nr UMO-2015/17/N/NZ8/01575**
 Dr Daniel Baranowski
 Dr Ewelina Chrapusta, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
77. **Badanie zależności pomiędzy sekwencją zasad a konformacją łańcucha DNA jako punkt wyjścia do projektowania G-kwadrupleksów o zdefiniowanej topologii**
 Prof. dr hab. Zofia Gdaniec, dr Dorota Gudanis
 Dr hab. Jacek Czub, Wydział Chemii, Politechnika Gdańska

78. Symulacje oddziaływań nowych G4-ligandów ze strukturami hybryd typu dupleks-kwadrupleks

Prof. dr hab. Zofia Gdaniec, dr Dorota Gudanis

Dr hab. Jacek Czub, mgr Mateusz Kogut, Wydział Chemii, Politechnika Gdańska

79. Opracowanie publikacji naukowej dotyczącej post-transkrypcyjnej regulacji metabolizmu RNA przez terminalne transferazy NTP

Dr Zbigniew Warkocki

Prof. dr hab. Andrzej Dziembowski, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie

Współpraca naukowa z partnerami zagranicznymi

1. Fenotypowa analiza roślin rodzaju *Hypericum* – emodyna i skiryna dwa możliwe, kluczowe metabolity wtórne w szlaku biosyntezy skiryny

Prof. dr hab. Maciej Stobiecki, mgr inż. Jakub Idkowiak, dr Łukasz Marczak

Prof. Eva Čellárová, Department of Genetics, Pavel Jozef Šafárik University in Košice, Koszyce, Słowacja

2. Profilowanie fenolowych metabolit wtórnych oraz charakterystyka strukturalna związków w próbkach ekstraktów z roślin rodzaju *Hypericum* metodami MS

Dr Łukasz Marczak, mgr inż. Jakub Idkowiak

Prof. Eva Čellárová, Department of Genetics, Pavel Jozef Šafárik University in Košice, Koszyce, Słowacja

3. Zbadanie struktury RNA i zaproponowanie modelu strukturalnego dla 5'UTR zawierającego kwadrupleks G

Dr hab. Mariola Dutkiewicz

Prof. Jens Kurreck, Institute of Biotechnology, Technical University of Berlin, Berlin, Niemcy

4. Wpływ niekodujących RNA na rozwój komórek nerek oraz karcinogenezę

Mgr Marta Kasprzowicz

Dr. Wilfried Haerty, Science Division, Earlham Institute, Norwich, Wielka Brytania

5. Opis obecnych możliwości najnowszych podejść do dokowania białko peptyd, zdefiniowanie najpoważniejszych problemów do rozwiązania w tej dziedzinie oraz podsumowanie możliwości najlepszych metod stosowanych obecnie na świecie (m.in. na podstawie wyników ostatniego eksperymentu CASP Capri)

Dr Karol Kamel

Nawsad Alam, MSc, Prof. Ora Schueler-Furman, Faculty of Medicine, Hebrew University of Jerusalem, Jerozolima, Izrael

6. Zastosowanie teorii informacji do detekcji sygnatur życia

Prof. dr hab. Jacek Błazewicz, dr Szymon Wąsik, dr Natalia Szóstak

Prof. Dr. Thomas Villmann, Faculty Applied Computer Sciences & Biosciences, University of Applied Sciences, Mittweida, Niemcy

7. Współpraca w zakresie wykrywania wiedzy z sieci powiązań funkcjonalnych

Prof. dr hab. Marta Kasprzak, dr inż. Aleksandra Świercz, dr Agnieszka Żmieńko

Dr. Giovanni Felici, Dr. Daniele Santoni, Institute for Systems Analysis and Computer Science "Antonio Ruberti", National Research Council of Italy, Rzym, Włochy

8. Współpraca w zakresie modelowania procesu wzrostu blaszki miażdżycowej

Prof. dr hab. Piotr Formanowicz

Dr. Jacek B. Krawczyk, College of Science and Engineering, Flinders University, Adelaide, Australia

9. Ewaluacja modeli w międzynarodowym konkursie RNA-Puzzles

Dr hab. Marta Szachniuk, dr Maciej Antczak

- Dr. Zhichao Miao, European Bioinformatics Institute, Cambridge, Wielka Brytania
 Prof. Dr. Eric Westhof, RNA Structure and Reactivity (ARN) - UPR 9002,
 University of Strasbourg, Strasbourg, Francja
10. **Badania potencjału terapeutycznego oligonukleotydów zawierających nowe pochodne nukleozydów**
 Dr inż. Jolanta Lisowiec-Wąchnicka
 Prof. Jesper Wengel, Department of Physics, Chemistry and Pharmacy, University of Southern Denmark, Odense, Dania
 11. **Określenie wpływu niesparowanych końców 3'T oraz 3'TT w dupleksach RNA**
 Dr inż. Jolanta Lisowiec-Wąchnicka
 Prof. Brent M. Znosko, Department of Chemistry, Saint Louis University, Saint Louis, Stany Zjednoczone
 12. **Mapowanie metodą SHAPE długich cząsteczek RNA z zaburzoną strukturą drugorzędową**
 Dr inż. Jolanta Lisowiec-Wąchnicka
 Prof. Gang Chen, Division of Chemistry and Biological Chemistry, Nanyang Technological University, Singapur
 13. **Analiza właściwości inhibitorowych wybranych antykoagulantów w liniach komórkowych ludzkich fibroblastów płuc**
 Dr inż. Jolanta Lisowiec-Wąchnicka, dr Weronika Kotkowiak
 Dr. Chris Scotton, College of Medicine and Health, University of Exeter, Exeter, Wielka Brytania
 14. **Dissecting RNA-binding specificity of the TRIM-NHL protein LIN-41
 Understanding the role of PRP-19 in Notch signalling**
 Dr hab. Rafał Ciosk
 Dr. Helge Großhans, Epigenetics Group, Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research, Bazylea, Szwajcaria
 Dr. Lionel Pintard, Institute Jacques Monod, University Paris Diderot, Paryż, Francja
 15. **Badania struktury i funkcji G-kwadrupleksów miRNA w ramach projektu SONATINA 2018/28/C/NZ1/00497 „Pionierskie badania struktury i funkcji G-kwadrupleksów miRNA”**
 Dr Agnieszka Belter
 Dr Grzegorz Kudła, MRC Human Genetics Unit, University of Edinburgh, Edynburg, Wielka Brytania
 16. **Badanie oddziaływań benzyłowych pochodnych aminokwasów z kwadrupleksami DNA**
 Dr Agnieszka Belter
 Dr. Giovanni Roviello, CNR-Institute of Biostructure and Bioimaging, Neapol, Włochy
 17. **Zmienność współczesnych i kopalnych genomów *Tannerella forsythia***
 Dr Anna Philips, prof. dr hab. Marek Figlerowicz
 Prof. dr hab. Jan Potempa, School of Dentistry, University of Louisville, Louisville, Stany Zjednoczone
 18. **Badania historycznych dynastii europejskich na podstawie analiz kopalnego DNA**
 Prof. dr hab. Marek Figlerowicz, dr Luiza Handschuh, dr Małgorzata Marcinkowska-Swojak, mgr Ireneusz Stolarek, mgr inż. Michał Zeńczak, dr Anna Philips
 Prof. Jan Frolík, Department of Rescue Excavations, Institute of Archaeology of the Czech Academy of Sciences, Praga, Czechy
 19. **Projektowanie i testowanie inhibitorów żabiej rybonukleazy Dicer**
 Dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, dr Natalia Koralewska, mgr Marek Milewski
 Dr. Marie-Laure Baudet, Eloina Corradi, MSc, Centre for Integrative Biology, University of Trento, Trydent, Włochy

20. **Współpraca podczas realizacji grantu OPUS 2015/19/B/NZ1/02804 „Rola mikroRNA w regulacji metabolizmu żelaza w ataksji Friedreicha”**
 Dr Julia Misiorek, mgr Anna Maria Schreiber, dr hab. Marek Napierała
 Dr. Jill Napierała, Department of Biochemistry and Molecular Genetics, The University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Stany Zjednoczone
21. **Współpraca w ramach grantu E-Rare „Allele-specific lowering of mutant polyQ proteins as treatment for Huntington disease, spinocerebellar ataxia type 3 and spinocerebellar ataxia type 7”**
 Dr hab. Maciej Figiel, dr Łukasz Przybył, dr Magdalena Surdyka
 Dr. Yvon Trotter, Department of Translational Medicine and Neurogenetics, Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology, Strasburg, Francja
 Dr. Nicole Deglon, Department of Clinical Neuroscience, Lausanne University Hospital, Lozanna, Szwajcaria
 Dr. Huu Phuc Nguyen, Institute of Medical Genetics and Applied Genomics, University of Tübingen, Tübingen, Niemcy
 Dr. Emmanuel Brouillet, Neurodegenerative Diseases Laboratory Molecular Imaging Research Center (MIRCen), François Jacob Institute of Biology, Paryż, Francja
 Dr. Michael Hayden, Department of Medical Genetics, University of British Columbia, Vancouver, Kanada
22. **Współpraca w ramach grantu E-Rare „Gene Therapy for Cerebellar Ataxias: restoring cholesterol metabolism by targeting brain cholesterol 24 hydroxylase (CYP46A1)”**
 Dr hab. Maciej Figiel, dr Łukasz Przybył, dr Magdalena Surdyka
 Dr. Nathalie Cartier, Gene Therapy, Genetics and Epigenetics in Neurology, Endocrinology, Cardiology, and Child Development (UMR1169), French National Institute of Health and Medical Research (INSERM), Paryż, Francja
 Dr. Alexandra Durr, The Brain & Spine Institute (U1127), French National Institute of Health and Medical Research (INSERM), Paryż, Francja
 Dr. Thorsten Schmidt, Faculty of Medicine, University of Tübingen, Tübingen, Niemcy
 Dr. Luis Pereira de Almeida, Center for Neuroscience and Cell Biology, University of Coimbra, Coimbra, Portugalia
23. **Współpraca w ramach projektu identyfikacji nowych mechanizmów neurodegeneracji w modelu SCA3/MJD Ki91**
 Dr hab. Maciej Figiel
 Prof. Dr. Oliver Brüstle, Faculty of Medicine, University of Bonn, Bonn, Niemcy
24. **Współpraca w ramach identyfikacji mechanizmów neurorozwojowych HD i analiz proteomicznych w komórkach macierzystych z HD**
 Dr hab. Maciej Figiel
 Prof. Dr. Dan Lindholm, dr. hab Maciej Lalowski, Faculty of Medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finlandia
25. **Współpraca przy realizacji grantu „Innowacyjna technologia przetwórstwa rzepaku do żywienia drobiu”, nr projektu: CORNET/22/2/2016 (Innovative processing technology of rapeseed products for poultry nutrition)**
 prof. dr hab. Tomasz Twardowski, mgr Ewa Woźniak
 Dr. Jan Jacobi, The German Plant Breeders' Association, Bonn, Niemcy
 Dr. Farshad Goodarzi Boroojeni, Department of Veterinary Medicine, Free University of Berlin, Berlin, Niemcy
 Dr. Martin Senz, Department Bioprocess Engineering and Applied Microbiology, Research and Teaching Institute for Brewing in Berlin, Berlin, Niemcy
26. **Regulated Assembly of Molecular Machines for DNA REPAIR: a Molecular Analysis Training Network (w ramach European Training Network – DNAREpairMan)**

- Dr hab. Marcin Chmielewski, mgr inż. Anna Stasiak
 Dr. Joyce Lebbink, Department of Genetics, The Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Holandia
 Prof. Dr. Terrence Strick, National Center for Scientific Research, Paryż, Francja
 Prof. Dr. Titia Sixma, Division of Biochemistry, Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, Holandia
 Apl. Prof. Dr. Peter Friedhoff, Faculty of Biology and Chemistry, Justus Liebig University Giessen, Giessen, Niemcy
 Prof. Nigel Savery, Prof. Mark Dillingham, Faculty of Life Sciences, University of Bristol, Bristol, Wielka Brytania
 Dr. Guilhem Casquillas, Elvessys SAS, Paryż, Francja
27. **Badanie związku dynamiki łańcucha głównego z aktywnością enzymatyczną dla białek z grupy dehaloperoksydaz**
 Prof. dr hab. Zofia Gdaniec, dr Witold Andrałojć
 Prof. Stefan Franzen, Department of Chemistry, North Carolina State University, Raleigh, Stany Zjednoczone
28. **Regulacja ekspresji genów w mitochondriach**
 Dr hab. Katarzyna Rolle
 Dr. Andre Dietrich, Institute of Plant Molecular Biology (UPR 2357), University of Strasbourg, Strasbourg, Francja
29. **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 Joanna Banasiak
 Dr. Lorenzo Borghi, Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich, Zurych, Szwajcaria
30. **Współpraca w ramach projektu „Molekularne determinanty selektywnego transportu będącego udziałem roślinnych transporterów ABCG”, OPUS 2017/27/B/NZ1/01090**
 Dr hab. Michał Jasiński, mgr Konrad Pakuła
 Prof. Dr. Markus Geisler, Department of Biology, University of Fribourg, Fribourg, Szwajcaria
31. **Współpraca w ramach projektu „Rola transporterów błonowych w kaskadzie sygnałowej cytokinin podczas symbiozy bobowatych z bakteriami brodawkowymi”, OPUS 2015/19/B/NZ9/03548**
 Dr Joanna Banasiak
 Assoc. Prof. Ondrej Novak, Laboratory of Growth Regulators, Palacký University Olomouc & Institute of Experimental Botany, Olomuniec, Czechy
32. **Analiza DNA pacjentów pod kątem obecności dużych mutacji w genie BARD1, przy wykorzystaniu testu MLPA, zaprojektowanego w Zakładzie Genetyki Molekularnej**
 Prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Malwina Suszyńska
 Dr. Britta Blümcke, Dr. Esther Pohl-Rescigno, University Hospital of Cologne, University of Cologne, Kolonia, Niemcy
33. **Udostępnienie zaprojektowanego przez Zakład Genetyki Molekularnej testu MLPA, analizującego duże mutacje genu BARD1**
 Prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Malwina Suszyńska
 Dr. Marco Marino, Laboratory of Clinical Genomics, Polyclinic of Modena, Modena, Włochy
34. **Patomechanizm dystrofii miotonicznej typu pierwszego (DM1)**
 Dr Marzena Wojciechowska, prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Karol Czubak
 Dr. John David Brook, School of Life Sciences, University of Nottingham, Nottingham, Wielka Brytania

35. **Kliniczne aspekty dystrofii DM1 i DM2**
Dr Marzena Wojciechowska, prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Karol Czubak
Dr. Saam Sedehizadeh, Nottingham University Hospital, University of Nottingham,
Nottingham, Wielka Brytania
36. **Eksperymentalne modele badawcze w stwardnieniu zanikowym bocznym (ALS) oraz aspekty terapeutyczne**
Dr Marzena Wojciechowska, prof. dr hab. Piotr Kozłowski, dr Karol Czubak
Dr. Eiges Rachel, Shaare Zedek Medical Center, Hebrew University of Jerusalem, Jerozolima,
Izrael
37. **Projektowanie i synteza małowcząsteczkowych związków chemicznych w podejściach terapeutycznych w DM1**
Dr Marzena Wojciechowska
Prof. Christopher J. Hayes, School of Chemistry, University of Nottingham, Nottingham,
Wielka Brytania
38. **Współpraca dotycząca analizy roli genu BARD1, jako czynnika warunkującego genetyczną predyspozycję do raka piersi**
Dr Malwina Suszyńska, prof. dr hab. Piotr Kozłowski
Dr. Thilo Dörk-Bousset, Department of Obstetrics and Gynecology, Hannover Medical School,
Hannover, Niemcy
39. **Wykrycie mutacji somatycznych w próbach pochodzących od pacjentów cierpiących na raka podstawonokomórkowego skóry (BCC, ang. *Basal Cell Carcinoma*)**
Mgr Paulina Nawrocka, prof. dr hab. Piotr Kozłowski
Dr. Michael Sand, Department of Dermatology, Venereology and Allergology, Ruhr-University
Bochum, Niemcy
40. **Inhibicja wirusa grypy przy pomocy oligonukleotydów antysensowych**
Prof. dr hab. Elżbieta Kierzek, dr Elżbieta Lenartowicz
Prof. Douglas H. Turner, School of Arts and Sciences, University of Rochester, Rochester,
Stany Zjednoczone
41. **Wykorzystanie niskocząsteczkowych ligandów nacelowanych na motywy strukturalne RNA**
Prof. dr hab. Elżbieta Kierzek
Prof. Matthew D. Disney, Department of Chemistry, The Scripps Research Institute, Jupiter,
Stany Zjednoczone
42. **Poszukiwanie inhibitorów wirusa grypy**
Prof. dr hab. Elżbieta Kierzek, dr Elżbieta Lenartowicz
Prof. Luis Martinez-Sobrido, Department of Microbiology & Immunology,
University of Rochester, Rochester, Stany Zjednoczone
43. **Trypleksy RNA**
Prof. dr hab. Elżbieta Kierzek, mgr Julita Kęsy
Prof. Gang Chen, Division of Chemistry and Biological Chemistry, Nanyang Technological
University, Singapur
44. **Metodologia krystalografii**
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski
Dr hab. Zbigniew Dauter, Macromolecular Crystallography Laboratory, Center for Cancer
Research-National Cancer Institute, Argonne, Stany Zjednoczone
45. **Krystalograficzne bazy danych**
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski
Prof. Wladek Minor, School of Medicine, University of Virginia, Charlottesville,
Stany Zjednoczone

46. **Epistemologia badań strukturalnych**
 Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski
 Prof. Bernhard Rupp, Division of Genetic Epidemiology, Medical University of Innsbruck, Innsbruck, Austria
47. **Metody walidacyjne w badaniach strukturalnych**
 Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski
 Dr. Alexander Wlodawer, Macromolecular Crystallography Laboratory, Center for Cancer Research-National Cancer Institute, Argonne, Stany Zjednoczone
48. **Funkcja roślinnych metabolitów wtórnych w promocji wzrostu indukowanej przez endofity grzybowe**
 Dr hab. Paweł Bednarek, dr Anna Piasecka, dr Mariola Piślewska-Bednarek
 Prof. Paul Schulze-Lefert, Dr. Stephane Hacquard, Dr. Henning Frerigmann, Department of Plant Microbe Interactions, Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Kolonia, Niemcy
49. **Funkcja pochodnych tryptofanu w odporności na patogeny z rodzaju *Colletotrichum***
 Dr hab. Paweł Bednarek, dr Marta Pastorczyk, dr Mariola Piślewska-Bednarek
 Prof. Yoshitaka Takano, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Japonia
50. **Mechanizmy odporności rośliny modelowej *A. thaliana* na infekcję przez patogeny nekrotroficzne**
 Dr hab. Paweł Bednarek, dr Marta Pastorczyk, dr Mariola Piślewska-Bednarek
 Prof. Antonio Molina, Department of Biotechnology - Plant Biology, Technical University of Madrid, Madryt, Hiszpania
51. **System immunologiczny w gatunkach pokrewnych z *Arabidopsis thaliana***
 Dr Anna Piasecka
 Dr. Kenichi Tsuda, Department of Plant Microbe Interactions, Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Kolonia, Niemcy
52. **Rozwój sond molekularnych do badania stresu oksydacyjnego i jonów metali w komórkach oraz ich wykorzystanie w tworzeniu sond dwuanalitowych (m.in. w ramach realizacji projektu Homing)**
 Dr Jacek Kolanowski, mgr Francesca Canyelles I Font
 Assoc. Prof. Elizabeth New, Faculty of Science, University of Sydney, Sydney, Australia
53. **Opracowywanie metod znakowania fluorescencyjnego egzosomów i innych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych**
 Dr Jacek Kolanowski
 Assoc. Prof. Wojciech Chrzanowski, Sydney Pharmacy School, University of Sydney, Sydney, Australia
54. **Wykorzystanie sond fluorescencyjnych do badania wpływu infekcji wirusowej na stres oksydacyjny w mitochondriach**
 Dr Jacek Kolanowski
 Prof. Marie Bogoyevitch, Biochemistry and Molecular Biology Research, University of Melbourne, Melbourne, Australia
 Prof. David Jans, Faculty of Medicine, Nursing and Health Sciences, Monash University, Melbourne, Australia
55. **Projektowanie kompleksów żelaza(II), których spin w roztworze jest kontrolowany przez obecność analitów biochemicznych**
 Dr Jacek Kolanowski
 Prof. Matthew Shores, College of Natural Sciences, Colorado State University, Fort Collins, Stany Zjednoczone

56. **Badania strukturalne syntetycznych ligandów oddziałujących z patogennymi powtórzeniami RNA o znaczeniu w patogenezie TREDs**
Dr Agnieszka Kiliszek, dr Leszek Błaszczuk, prof. dr hab. Wojciech Rypniewski
Prof. Kazuhiko Nakatani, Assoc. Prof. Chikara Dohno, Dr. Sanjukta Mukherjee,
The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, Osaka, Japonia
Prof. Dr. Ronald Micura, Department of Organic Chemistry,
University of Innsbruck, Innsbruck, Austria
57. **Struktura i funkcja enzymów z organizmów ekstremofilnych**
Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski, dr Magdalena Bejger, mgr Katarzyna Biniak-Antosiak
Prof. Constantinos Vorgias, Faculty of Biology, University of Athens, Ateny, Grecja
58. **Nowe mechanizmy kontroli liczby kopii retrotranspozonów eukariotycznych w komórce**
Dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek, mgr Julita Gumna
Prof. David Garfinkel, Department of Biochemistry and Molecular Biology,
University of Georgia, Athens, Stany Zjednoczone
59. **Badanie regulacji metabolizmu retrotranspozonów LINE-1 na poziomie po-transkrypcyjnym**
Dr Zbigniew Warkocki
Mgr Michał Walczak, Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
Dr Jose L. Garcia-Perez, Institute of Genetics and Molecular Medicine, University
of Edinburgh, Edynburg, Wielka Brytania
60. **Sekwencjonowanie tkanek guza mózgu pod kątem identyfikacji kolistych RNA (circRNA)**
Dr hab. Katarzyna Rolle
Dr Monika Piwecka, Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin Institute for Medical
Systems Biology, Berlin, Niemcy

Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe

Pełnomocnik Dyrektora ds. PCSS – prof. dr hab. Jan Węglarz

Zastępca Pełnomocnika Dyrektora ICHB PAN ds. PCSS – dr Maciej Stroiński

Zastępca ds. Technologii Pełnomocnika Dyrektora ICHB PAN ds. PCSS – dr Cezary Mazurek

Najważniejsze osiągnięcia PCSS

1. Sukcesy i wyróżnienia

1.1. Badania i projekty

- 1.1.1. Pozyskanie 18 nowych projektów, w tym: w ramach Programu Horyzont 2020 (9), w ramach umowy GÉANT (1), CHIST-ERA (1), AAL (1), Gospostrateg (1), strukturalne (5).
- 1.1.2. Wybrane, najważniejsze, nowe projekty:
EOSC-hub, INSENSION, PROVIDEDH, ASPIDE, RECIPE, VECMA, PELOSHA, 5GinFIRE, UNIGHTED, OZwRCIN, SMARTAGRIHUBS, NLPQT, HIDALGO, NUTS3 Starogardzki, NUTS3 Chojnicki, AGROBANK, EAP CONNECT, PIONIER-LAB.
- 1.1.3. Kontynuacja prac w 37 projektach naukowych.
Projekt PaletteV2, którego PCSS jest partnerem, otrzymał na AAL Forum 2018 w Bilbao Stand Award Prize. Nagrodę tę przyznaje komisja złożona z reprezentantów seniorów pochodzących z kraju organizatora Forum, po zapoznaniu się z prezentowanymi na wystawie będącej częścią wydarzenia rozwiązaniami.

1.2. Najważniejsze wydarzenia

- 1.2.1. 5 i 6 grudnia 2018 r. odbyły się uroczystości związane z obchodami 25-lecia istnienia PCSS oraz 15-lecia powołania Konsorcjum PIONIER. Podczas Konferencji Wojewoda Wielkopolski odznaczył pracowników PCSS, przyznanymi przez prezydenta Andrzeja Dudę, złotymi, srebrnymi i brązowymi medalami za wzorowe, wyjątkowo sumienne wykonywanie obowiązków wynikających z pracy zawodowej.
- 1.2.2. ICHB PAN otrzymał **Kryształową Brukselkę**, nagrodę, która w roku 2018 miała specjalne znaczenie, ponieważ obejmowała okres ostatnich dwudziestu lat uczestnictwa Polski w **Programach Ramowych Badań i Innowacji UE**. Nagroda przyznana została w kategorii **Instytuty Naukowe Polskiej Akademii Nauk**.
- 1.2.3. Podczas sesji otwarcia 29. konferencji EURO (The Association of European Operational Research Societies), odbywającej się w hiszpańskiej Walencji (8-11.07.2018 r.), **prof. Jan Węglarz odebrał EURO Distinguished Service Medal Award**. To drugie, obok EURO Gold Medal, wyróżnienie dla Prof. Węglarza tej Asocjacji.
- 1.2.4. W dniach 10-14 czerwca odbyła się konferencja TNC 2018 w Trondheim, największa i najbardziej prestiżowa konferencja sieci naukowo-akademickich w Europie. PCSS był zarówno koordynatorem technologicznym konferencji jak i jej uczestnikiem (przeprowadził sesję tematyczną, a także liczne prezentacje oraz demonstracje związane z realizowanymi przez siebie projektami).

- 1.2.5. Podczas 30. edycji **konferencji NORDunet**, (18- 20.09.2018 r.) w Elsinore w Danii, PCSS odpowiedzialny był za techniczną stronę wydarzenia, m.in. nagłośnienie, udźwiękowienie i transmisję.

2. Konferencje, spotkania i warsztaty

2.1. Konferencje, spotkania i warsztaty organizowane (współorganizowane) przez PCSS

- 2.1.1. Międzynarodowe spotkanie projektowe **PRACE-5IP** All-Hands meeting (15-17.01., Poznań, PCSS).
- 2.1.2. **Brainathon**, czyli hackathon, współorganizowany przez firmę Neuro Device Group, Warszawski Uniwersytet Medyczny, firmę g.tec oraz PCSS, którego celem było rozwinięcie technologii interfejs mózg-komputer (21-22.04., Poznań, FutureLab PCSS).
- 2.1.3. Konferencja Komputerów Dużej Mocy „**Analityka Big Data i Sztuczna Inteligencja**”. Wydarzenie skupiało się wokół tematyki zarządzania dużą ilością danych, elementów sztucznej inteligencji, złożoności wnioskowania oraz podejmowania decyzji dla niepełnych zbiorów danych wejściowych (6-7.05, Poznań, PCSS).
- 2.1.4. **Warsztaty „Podstawy Głębokiego Uczenia w Rozpoznawaniu Obrazów”** (Fundamentals of Deep Learning for Computer Vision). Wydarzenie organizowane było we współpracy z NVIDIA Deep Learning Institute (28.06., Poznań, PCSS).
- 2.1.5. **Enigma Live**, prezentacja działania Bomby Turinga metodami z czasów II wojny światowej. Było to możliwe dzięki bezpośredniemu połączeniu między PCSS a National Museum of Computing w Bletchley Park (Wielka Brytania). W wydarzeniu udział wzięł Sir Dermot Turing – bratanek kryptologa Alana Turinga. Wydarzenie odbyło się w ramach Światowego Kongresu Informatycznego (21.09., Poznań, PCSS).
- 2.1.6. **XXVII Konferencji Stowarzyszenia Nauczycieli Matematyki** (9-12.02., Poznań, PCSS) – PCSS partnerem technologicznym
- 2.1.7. **Konferencja „Bezpieczeństwo w Internecie – odpowiedzialne korzystanie z mediów społecznościowych”** – w ramach współpracy z poznańskim Zespołem Szkół Łączności (6.02., Poznań, PCSS).
- 2.1.8. **Konferencja projektu SelfFind** (23.02.) – prezentacja rezultatów trzyletniego projektu współfinansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu „Innowacje Społeczne”.
- 2.1.9. Spotkanie fizyków w ramach programu **EUROfusion Code Camp**. Badania realizowane w ramach tego programu są ściśle związane z budową eksperymentalnego reaktora termonuklearnego ITER i prowadzić mają do powstania pierwszej elektrowni wykorzystującej energię fuzji jądrowej DEMO (3-13.04., Poznań PCSS).
- 2.1.10. Konferencja Administratorów Szkolnych Sieci Komputerowych (**KASSK**, 6-8 kwietnia 2018 roku w Nowy Tomyśl). Konferencja przeznaczona była dla nauczycieli i pracowników instytucji oświatowych, zainteresowanych nowoczesną, wysokiej jakości edukacją, dla tych którzy pragną się rozwijać i poszukiwać nowych, skutecznych metod kształcenia. – PCSS partnerem strategicznym.
- 2.1.11. **Seminarium „Wyzwania dla edukacji ponadpodstawowej”** (17.04., Poznań, PCSS).
- 2.1.12. **Poznański Festiwal Nauki i Sztuki**, czyli akademickie święto popularyzujące naukę i sztukę wśród społeczności Poznania i okolic. (24.04.).
- 2.1.13. **Warsztaty „Projektowanie edukacyjne”** organizowane przez PCSS oraz Wydział Studiów Edukacyjnych Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, skierowane dla studentów wszystkich kierunków i specjalności bez względu na rok studiów (29.05. i 6.06., FutureLab PCSS).

- 2.1.14. Konferencja inaugurująca **projekt KoderJunior** – Szkoła Mistrzów Programowania Pomorskie (NUTS starogardzki i chojnicki). (20.08., Wydział Nauk Społecznych Uniwersytetu Gdańskiego) – PCSS partnerem wydarzenia.
- 2.1.15. **Spotkanie robocze projektu ComPat**. Uczestnicy wydarzenia koncentrowali się głównie na przygotowaniach do finalnego wydania opracowywanego w projekcie systemu wspierającego obliczenia wieloskalowe, (11-14.09, PCSS).
- 2.1.16. Warsztaty **„Building high-performing campus infrastructures for research”** zorganizowane wspólnie z ASTRON – Holenderskim Instytutem Radioastronomii i siecią naukową SURFnet w Holandii. Wydarzenie skierowane było do inżynierów jak i do naukowców, wykorzystujących infrastruktury sieci NREN i przesyłających duże ilości danych (24-26.09, Dwingeloo, Holandia).
- 2.1.17. Noc Naukowców (28.09., FutureLab PCSS).
- 2.1.18. **VII Sympozjum Nowości w Technice Audio i Wideo** oraz **XIV Międzynarodowa Konferencja Naukowa Mechanika w Medycynie MM2018**, (11-12.10., PCSS) – PCSS współorganizatorem.
- 2.1.19. Warsztaty edukacyjne w ramach trzeciej edycji projektu **TuEuropeana** (18.10., Poznań, FutureLab PCSS) – współorganizowane przez Filmotekę Narodową – Instytut Audiowizualny oraz PCSS.
- 2.1.20. Czwarta edycja **Europejskiej Sesji Internetowej „Chirurgia Laryngologiczna LIVE”**. Celem sesji było pokazanie najnowszych metod operacyjnych stosowanych przez chirurgów z czołowych europejskich klinik laryngologicznych (28.11., Poznań, PCSS) – wydarzenie organizowane było przy współpracy European Laryngological Society (ELS), Kliniki Otolaryngologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (UMP) oraz Poznańskiego Centrum Superkomputerowo-Sieciowego (PCSS) i Miasta Poznań.
- 2.1.21. **Rejestracja opery „Manru” Ignacego Jana Paderewskiego**, w reżyserii Marka Weissa, koprodukcja poznańskiej Opery z Teatrem Wielkim – Operą Narodową w Warszawie (15.12) – zrealizowana przez **PlatonTV**

2.2. Uczestnictwo w najważniejszych wydarzeniach

- 2.2.1. Zorganizowana przez Ministerstwo Przedsiębiorczości i Technologii, **Konferencja „Kształtowanie potencjału rynku dla Przemysłu 4.0 w Polsce”** (21.02., Warszawa) – PCSS zaprezentował przykładową platformę inżynierską zrealizowaną w ramach współpracy z Inkubatorami Liderów Przemysłu.
- 2.2.2. **Targi Pracy** na Politechnice Poznańskiej (7-8.03, Poznań) – PCSS zaprezentował swoją ofertę dla poszukujących nowej, ciekawej ścieżki kariery.
- 2.2.3. **Konferencja dotycząca działań realizowanych w ramach EFSI, Horyzont 2020, COSME** (5.04.) – prezentacja dokonań PCSS na wystawie najlepszych projektów H2020.
- 2.2.4. **Konferencja NEXT** odbywając się podczas festiwalu filmowego w Cannes (8-13.05.2018 r.). – prezentacja projektu Immersify, którego PCSS jest koordynatorem.
- 2.2.5. **SES Industry Days** (23-24.05., Luksemburg) – **transmisja sygnału telewizyjnego 8K**, część materiałów wideo 8K, z szybkością 60 klatek na sekundę i 10-bitową głębią kolorów, została nagrana za pomocą kamer 8K przez PCSS.
- 2.2.6. **XXV Wielkopolskie Targi Rolnicze**, zaliczane do ważniejszych wydarzeń gromadzących profesjonalistów z branży rolniczej (9-10.06., Sielinko) – PCSS zaprezentował wykorzystanie dronów w rolnictwie oraz pokazy aplikacji EPSU Mobilne.
- 2.2.7. **International Supercomputing Conference** (ISC18, 24-28.06.) we Frankfurcie, zaprezentowano wyniki prac w projekcie M2DC - Modular Microserver Data Centre.
- 2.2.8. **Spotkanie GÉANT Service and Technology Forum** skupiające przedstawicieli wszystkich sieci naukowo-badawczych dołączonych do GÉANT (4-5.07.)

- 2.2.9. **Forum Rozwoju Miast** (12-13.09, Poznań) – PCSS wystąpił z prezentacją dotyczącą Open Smart City – Infrastruktury Otwartych Innowacji Społecznych.
- 2.2.10. **VIII Poznański Dzień Organizacji Pozarządowych** (15.09., Poznań) – PCSS partnerem Inkubatora WINS – Wielkopolskich Innowacji Społecznych, który wziął czynny udział w wydarzeniu.
- 2.2.11. **Konferencja „Signal Processing: Algorithms, Architectures, Arrangements and Applications”** (IEEE SPA 2018, 19-21.09., Poznań), – prezentacja rozwijanego w PCSS oprogramowania do automatyzacji analizy wyników badań eyetrackingowych przeprowadzanych przy użyciu mobilnych eyetrackerów (wbudowanych w okulary).
- 2.2.12. **Konferencja Eastern Partnership E-Infrastructure** (17-18.10.2018 r., Chisinau) – służąca jako platforma do współpracy pomiędzy krajami Wschodniego Partnerstwa i krajami członkowskimi UE. W wydarzeniu udział wzięli przedstawiciele PCSS.
- 2.2.13. **Konferencja CAREN Regional Networking Conference** (23-24.10, Duszanbe) – prezentacja i demonstracja systemu wideokonferencyjnego, wykorzystującego WebRTC i wspierającego wysokie rozdzielczości (4K). System jest wynikiem prac w ramach zadania JRA4-T5 projektu GÉANT, w który zaangażowany jest PCSS.
- 2.2.14. **Konferencja Inżynierii Biomedycznej** (26-27.10, Poznań, Politechnika Poznańska), PCSS patronem honorowym.
- 2.2.15. **Konferencja Supercomputing** (11-16.11., Dallas) – PCSS wraz z Konsorcjum PIONIER zaprezentował dokonania w dziedzinie HPC i wyniki prac naukowo-badawczych w międzynarodowych projektach.
- 2.2.16. **Konferencja World Usability Day** (17.11., Poznań) – PCSS zaprezentował wyniki przeprowadzonych badań eyetrackingowych.

2.3. Pozostała aktywność

- 2.3.1. W sieci PIONIER **PCSS uruchomił usługę Data ID** pozwalającą na rejestrację trwałych identyfikatorów obiektów cyfrowych w sieci PIONIER. Usługa DOI (Digital Object Identifier) pozwala zapewniać trwałe i jednoznaczny sposób dostępu do różnorodnych obiektów cyfrowych.
- 2.3.2. 1 sierpnia 2018 r. rozpoczęła się realizacja wspólnego projektu PCSS oraz Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. W wyniku realizacji AMU Nature Collection zostanie utworzona **cyfrowa baza danych o różnorodności biologicznej** udostępniona szerokiemu gronu odbiorców.
- 2.3.3. **Węzeł Innowacji Cyfrowych (ang. Digital Innovation Hub/) HPC4Poland** wybrany został do programu „Smart Factories in new EU Member States”, którego ostatecznym celem jest przyspieszenie tworzenia nowych cyfrowych centrów innowacji w Europie Środkowej i Wschodniej.
- 2.3.4. PCSS we współpracy z Mobilną Jednostką Dowodzenia Operacjami Powietrznymi na mocy porozumienia o współpracy **uruchomiło nowy serwis poświęcony historii 305 Dywizjonu Bombowego Ziemi Wielkopolskiej im. Marszałka Józefa Piłsudskiego**.
- 2.3.5. W ramach **projektu Immersify**, którego PCSS jest partnerem, w Szklarskiej Porębie odbyły się zdjęcia 8K. Jako plan posłużyły m.in. Wodospady Szklarki i Kamieńczyk.
- 2.3.6. PCSS został partnerem **projektu KoderJunior** – Szkoła Mistrzów Programowania. Projekt „KoderJunior” realizowany jest w ramach Programu Operacyjnego Polska Cyfrowa na lata 2014–2020 w działaniu 3.2 Innowacyjne rozwiązania na rzecz aktywizacji cyfrowej. Działanie to zostało zaplanowane przez Ministerstwo Cyfryzacji oraz Ministerstwo Edukacji Narodowej. Celem projektu jest przygotowanie szkół do wdrożenia nauki programowania do podstawy programowej.

- 2.3.7. PCSS uruchomił **usługę dostępu do globalnej sieci internetu rzeczy The Things Network.**
- 2.3.8. Nastąpiła **odslona dwóch serwisów informacyjnych PCSS:** strony internetowej pakietu DInGO, służącego instytucjom kultury i nauki do udostępniania swoich zbiorów on-line oraz strony E-HUM gromadzącej informacje o naszych działaniach w obszarze cyfrowej infrastruktury badawczej dla humanistyki.
- 2.3.9. PCSS w ramach współpracy z Parkiem Narodowym Gór Stołowych oraz Wydziałem Nauk Geograficznych i Geologicznych UAM (Katedrą Turystyki i Rekreacji) realizował **kolejny etap badań eyetrackingowych na terenie Parku na szczycie Szczelińca Wielkiego, w Karłowie oraz na Radkowskich Skałach.**
- 2.3.10. PCSS wzięło udział w **Narodowej Wystawie Rolniczej** zorganizowanej na Międzynarodowych Targach Poznańskich w ramach obchodów 100-lecia odzyskania przez Polskę niepodległości. Trzydniowe wydarzenie (30.11.-02.12.2018 r.) było okazją do przeglądu współczesnych osiągnięć agrotechniki, a także pokazem tradycji i dziedzictwa polskiej wsi. Na stoisku Centrum Doradztwa Rolniczego zaprezentowano, rozwijane przez PCSS, usługi bazujące na dronach.

3. Projekty naukowo-badawcze (55)

3.1. Program HORYZONT 2020 (38)

- 3.1.1. Eurofusion H2020
- 3.1.2. ROAM
- 3.1.3. EUDAT 2020
- 3.1.4. ImmeriaTV
- 3.1.5. EVER-EST
- 3.1.6. ComPat
- 3.1.7. EoCoE
- 3.1.8. Coeggs
- 3.1.9. M2DC
- 3.1.10. ESCAPE
- 3.1.11. symbloTe
- 3.1.12. Protective
- 3.1.13. OFTEN
- 3.1.14. GEANT2020 (GN4-2)
- 3.1.15. eIRGSP5
- 3.1.16. Hub4NGI
- 3.1.17. Up2U
- 3.1.18. DataBio
- 3.1.19. Fed4Fireplus
- 3.1.20. DEW-COOL-4-CDC
- 3.1.21. CLONETS
- 3.1.22. PRACE-5IP
- 3.1.23. AARC2
- 3.1.24. MONROE
- 3.1.25. MIDIH
- 3.1.26. CATALYST
- 3.1.27. EOSCpilot
- 3.1.28. IMMERSIFY
- 3.1.29. DEEP-HybridDataCloud
- 3.1.30. EOSC-hub

- 3.1.31. INSENSATION
- 3.1.32. ASPIDE
- 3.1.33. RECIPE
- 3.1.34. VECMA
- 3.1.35. 5GinFIRE
- 3.2.36. UNIGHTED
- 3.1.37. SMARTAGRIHUBS
- 3.1.38. HIDALGO

3.2. Inne inicjatywy europejskie: EUREKA/AAL, umowa GÉANT (3):

- 3.2.1. PALETTEV2
- 3.2.2. PELOSHA
- 3.2.3. AP CONNECT

3.3. Projekty strukturalne (10)

- 3.3.1. WINS
- 3.3.2. IVA
- 3.3.3. NUTS3 Kaliski
- 3.3.4. NUTS3 Leszczyński
- 3.3.5. NUTS3 Poznański
- 3.3.6. NUTS3 Stargardzki
- 3.3.7. NUTS3 Chojnicki
- 3.3.8. PIONIER-LAB
- 3.3.9. NLPQT
- 3.3.10. OZwRCIN

3.4. Projekty rozwojowe i inne (4)

- 3.4.1. PBL
- 3.4.2. PRACE AISBL2016
- 3.4.3. PROVIDEDH
- 3.4.4. AGROBANK

Spis publikacji

1.A. Publikacje recenzowane z listy Thomson Reuters „Web of Science”

Lp.	Nazwa czasopisma	Autor/Autorzy	Tytuł, rok, tom, strony / nr artykułu	5-letni IF	Lista MNiSW
1.	ACM COMPUTING SURVEYS	S. Wasik , M. Antczak, J. Badura, A. Laskowski, T. Sternal	A survey on online judge systems and their applications; 2018, 51, 3	8,012	50
2.	ACS OMEGA	K. Kucinski, M. Jankowska-Wajda, T. Ratajczak , S. Balabanska-Trybus , A. Schulmann, H. Maciejewski, M.K. Chmielewski , G. Hreczycho	Silica Surface Modification and Its Application in Permanent Link with Nucleic Acids; 2018, 3, 5931-5937		
3.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	O. Wawrzyniak, Z. Zarebska , K. Rolle , A. Gotz-Wieckowska	Circular and long non-coding RNAs and their role in ophthalmologic diseases; 2018, 65, 497-508	1,541	15
4.	ADVANCES IN MEDICAL SCIENCES	E. Czczuga-Semeniuk, M. Galar, K. Jarzabek, P. Kozłowski , N.A. Sarosiek, S. Wolczynski	The preliminary association study of ADIPOQ, RBP4, and BCMO1 variants with polycystic ovary syndrome and with biochemical characteristics in a cohort of Polish women; 2018, 63, 242-248	1,681	15
5.	AIP ADVANCES	A. A. Mieloch, M. Krecisz, J. D. Rybka, A. Strugała , M. Krupinski, A. Urbanowicz , M. Kozak, B. Skalski, M. Figlerowicz M. Giersig,	The influence of ligand charge and length on the assembly of Brome mosaic virus derived virus-like particles with magnetic core; 2018, 8, 035005	1,657	25
6.	ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY	K. Kimakova, A. Kimakova, J. Idkowiak , M. Stobiecki , P. Rodziejewicz , L. Marczak , E. Cellarova	Phenotyping the genus Hypericum by secondary metabolite profiling: emodin vs. skyrin, two possible key intermediates in hypericin biosynthesis; 2018, 410, 7689-7699	3,222	40
7.	ASTRONOMY AND ASTROPHYSICS	P. Zucca, D.E. Morosan, A.P. Rouillard, R. Fallows, P. T. Gallagher, J. Magdalenic, K.-L. Klein, G. Mann, C. Vocks, E.P. Carley, M.M. Bisi, E.P. Kontar, H. Rothkaehl, B. Dabrowski, A. Krankowski,	Shock location and CME 3D reconstruction of a solar type II radio burst with LOFAR; 2018, 615, A89	4.902	35

		J. Anderson, A. Asgekar, M.E. Bell, M.J. Bentum, P. Best, R. Blaauw, F. Breitling, J.W. Broderick, W.N. Brouw, M. Bruggen, H.R. Butcher, B. Ciardi, E. de Geus, A. Deller, S. Duscha, J. Eisloffel, M.A. Garrett, J.M. Grießmeier, A.W. Gunst, G. Heald, M. Hoeft, J. Hörandel, M. Iacobelli, E. Juette, A. Karastergiou, J. van Leeuwen, D. McKay-Bukowski, H. Mulder, H. Munk, A. Nelles, E. Orru, H. Paas, V.N. Pandey, R. Pekal, R. Pizzo, A.G. Polatidis, W. Reich, A. Rowlinson, D.J. Schwarz, A. Shulevski, J. Sluman, O. Smirnov, C. Sobey, M. Soida, S. Thoudam, M.C. Toribio, R. Vermeulen, R.J. van Weeren, O. Wucknitz, P. Zarka			
8.	ASTRONOMY AND ASTROPHYSICS	M. Arias, J. Vink, F. de Gasperin, P. Salas, J.B.R. Oonk, R.J. van Weeren, A.S. van Amesfoort, J. Anderson, R. Beck, M.E. Bell, M.J. Bentum, P. Best, R. Blaauw, F. Breitling, J.W. Broderick, W.N. Brouw, M. Bruggen, H.R. Butcher, B. Ciardi, E. de Geus, A. Deller, P.C.G. van Dijk, S. Duscha, J. Eisloffel, M.A. Garrett, J.M. Grießmeier, A.W. Gunst, M.P. van Haarlem, G. Heald, J. Hessels, J. Horandel, H.A. Holties, A.J. van der Horst, M. Iacobelli, E. Juette, A. Krankowski, J. van Leeuwen, G. Mann, D. McKay-Bukowski, J.P. McKean, H. Mulder, A. Nelles, E. Orru, H. Paas, M. Pandey-Pommier, V.N. Pandey, R. Pekal, R. Pizzo, A.G. Polatidis, W. Reich,	Low-frequency radio absorption in Cassiopeia A; 2018, 612, A110	4.902	35

		H.J.A. Rottgering, H. Rothkaehl, D.J. Schwarz, O. Smirnov, M. Soida, M. Steinmetz, M. Tagger, S. Thoudam, M.C. Toribio, C. Vocks, M.H.D. van der Wiel, R.A.M.J. Wijers, O. Wucknitz, P. Zarka, P. Zucca			
9.	BIOCHEMICAL JOURNAL	P. Sosinska-Zawierucha , P. Zawierucha, A. Breborowicz, J. Barciszewski	Prediction of secondary and tertiary structures of human BC200 RNA (BCYRN1) based on experimental and bioinformatic cross-validation; 2018, 475, 2727-2748	3,850	35
10.	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-GENE REGULATORY MECHANISMS	A. Mleczko , P. Celichowski , K. Bakowska-Zywicka	Transfer RNA-derived fragments target and regulate ribosome-associated aminoacyl-transfer RNA synthetases; 2018, 1861, 647-656	5,547	40
11.	BIOINFORMATICS	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; 2018, 34, 1304-1312	8,561	45
12.	BIOLOGY OPEN	S. Gutnik, Y. Thomas, Y.W. Guo, J. Stoecklin, A. Neagu, L. Pintard, J. Merlet, R. Ciosk	PRP-19, a conserved pre-mRNA processing factor and E3 ubiquitin ligase, inhibits the nuclear accumulation of GLP-1/Notch intracellular domain; 2018, 7, UNSP bio034066	2,318	35
13.	BIOORGANIC CHEMISTRY	M. Drewniak, E. Weglarz-Tomczak, K. Ozga, E. Rudzińska-Szostak, K. Macegoniuk, J.M. Tomczak, M. Bejger , W. Rypniewski , L. Berlicki	Helix-loop-helix peptide foldamers and their use in the construction of hydrolase mimetics; 2018, 81, 356-361	3,390	25
14.	BIOSYSTEMS	D. Formanowicz, M. Radom , A. Rybarczyk , P. Formanowicz	The role of Fenton reaction in ROS-induced toxicity underlying atherosclerosis – modeled and analyzed using a Petri net-based approach; 2018, 165, 71-87	1,460	25
15.	BMC BIOINFORMATICS	M. Antczak , T. Zok , M. Osowiecki, M. Popenda , R.W. Adamiak , M. Szachniuk	RNAfitme: a webserver for modeling nucleobase and nucleoside residue conformation in fixed-backbone RNA structures; 2018, 19, 304	3,114	35

16.	BMC CANCER	E. Toton, A. Romaniuk, N. Konieczna, J. Hofmann, J. Barciszewski , M. Rybczynska	Impact of PKC ϵ downregulation on autophagy in glioblastoma cells; 2018, 18, 185	3,679	30
17.	BMC MEDICAL GENETICS	A. E. Grzegorzewska, L. Niepolski, M.K. Świdowska, A. Mostowska, I. Stolarek , W. Warchol, M. Figlerowicz , P.P. Jagodzinski	ENHO, RXRA, and LXRA polymorphisms and dyslipidaemia, related comorbidities and survival in haemodialysis patients; 2018, 19, 194	2,168	25
18.	BRAIN AND BEHAVIOR	J.A. Chen, S.C. Fears, A.J. Jasinska , A. Huang, N.B. Al-Sharif, K. E. Scheibel, T.D. Dyer, A.M. Fagan, J. Blangero, R. Woods, M.J. Jorgensen, J.R. Kaplan, N.B. Freimer, G. Coppola	Neurodegenerative disease biomarkers A β 1-40, A β 1-42, tau, and p-tau181 in the vervet monkey cerebrospinal fluid: Relation to normal aging, genetic influences, and cerebral amyloid angiopathy; 2018, 8, e00903	2,539	20
19.	BULLETIN OF THE POLISH ACADEMY OF SCIENCES-TECHNICAL SCIENCES	J. Musial, M. Guzek, P. Bouvry, J. Blazewicz	A note on the complexity of scheduling of communication-aware directed acyclic graph; 2018, 66, 187-191	1,323	25
20.	BULLETIN OF THE POLISH ACADEMY OF SCIENCES-TECHNICAL SCIENCES	J. Olszak, M. Radom , P. Formanowicz	Some aspects of modeling and analysis of complex biological systems using time Petri nets; 2018, 66, 67-78	1,323	25
21.	CANCERS	M. Koczkowska, N. Krawczynska, M. Stukan, A. Kuzniacka, I. Brozek, M. Sniadecki, J. Dębniak, D. Wydra, W. Biernat, P. Kozłowski , J. Limon, B. Wasag, M. Ratajska	Spectrum and Prevalence of Pathogenic Variants in Ovarian Cancer Susceptibility Genes in a Group of 333 Patients; 2018, 10, 442	5,221	40
22.	CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES	M. Olejniczak , A. Kotowska-Zimmer , W. Krzyzosiak	Stress-induced changes in miRNA biogenesis and functioning; 2018, 75, 177-191	6,134	40
23.	CHEMICAL SOCIETY REVIEWS	J. L. Kolanowski , F. Liu, E. J. New	Fluorescent probes for the simultaneous detection of multiple analytes in biology; 2018, 47, 195-208	41,27	50

24.	CHEMISTRY-A EUROPEAN JOURNAL	J. Li, M. Nakamori, J. Matsumoto, A. Murata, C. Dohno, A. Kiliszek , K. Taylor, K. Sobczak, K. Nakatani	A Dimeric 2,9-Diamino-1,10-phenanthroline Derivative Improves Alternative Splicing in Myotonic Dystrophy Type 1 Cell and Mouse Models; 2018, 24, 18115-18122	4,950	40
25.	COLLOIDS AND SURFACES B-BIO- INTERFACES	J. Zdarta, K. Anteck, A. Jedrzak, K. Synoradzki, M. Luczak , T. Jesionowski	Biopolymers conjugated with magnetite as support materials for trypsin immobilization and protein digestion; 2018, 169, 118-125	4,294	35
26.	CROATICA CHEMICA ACTA	J. Czyrko, M. Jaskolski , K. Brzezinski	Crystal structure of s-adenosyl-l-homocysteine hydrolase from cytophaga hutchinsonii, a case of combination of crystallographic and non- crystallographic symmetry; 2018, 91, 153-162	0,861	20
27.	CURRENT BIOINFORMATICS	T. Glowacki, A. Kozak, P. Formanowicz	Dedicated heuristic for peptide assembly problem; 2018, 13, 120-126	0,627	20
28.	DISCRETE APPLIED MATHEMATICS	M. Kasprzak	Classification of de Bruijn-based labeled digraphs; 2018, 234, 86-92	1,008	25
29.	DRUG DISCOVERY TODAY	M. Ciemny M. Kurcinski, K. Kamel , A. Kolinski, N. Alam, O. Schueler- Furman, S. Kmiecik	Protein-peptide docking: opportunities and challenges; 2018, 23, 1530-1537	6,536	45
30.	DRUG RESISTANCE UPDATES	J.E. Raczynska , I.G. Shabalin, W. Minor, A. Wlodawer, M. Jaskolski	A close look onto structural models and primary ligands of metallo- β -lactamases; 2018, 40, 1-12	11,381	50
31.	ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY	M. Sydow, M. Owsiniak, G. Framski , M. Woźniak-Karczewska, A. Piotrowska-Cyplik, L. Lawniczak, A. Szulc, A. Zgoia-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; 2018, 147, 157- 164	4,000	30
32.	EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY	A. Szymanska-Michalak , D. Wawrzyniak , G. Framski , J. Stawinski , J. Barciszewski , A. Kraszewski	New antglioma zwitterionic pronucleotides with an FdUMP framework; 2018, 144, 682-691	4,527	40
33.	EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY	T. Stefanski, R. Mikstacka, R. Kurczab, Z. Dutkiewicz, A. Kuzinska, M. Murias, M. Zielinska-Przyjemaska, M. Cichocki,	Design, synthesis, and biological evaluation of novel combretastatin A-4 thio derivatives as microtubule targeting agents; 2018, 144, 797-816	4,527	40

		A. Teubert , M. Kaczmarek, A. Hogendorf, S. Sobiak			
34.	EUROPEAN JOURNAL OF OPERATIONAL RESEARCH	J. Blazewicz , M. Kasprzak , M. Kierzynka, W. Frohmberg, A. Swiercz , P. Wojciechowski , P. Zurkowski	Graph algorithms for DNA sequencing – origins, current models and the future; 2018, 264, 799-812	3,960	40
35.	FEBS JOURNAL	A. Wlodawer, Z. Dauter, P. J. Porebski, W. Minor, R. Stanfield, M. Jaskolski , E. Pozharski, C.X. Weichenberger, B. Rupp	Detect, correct, retract: How to manage incorrect structural models; 2018, 285, 444-466	4,237	30
36.	FEBS JOURNAL	E. Ajewole, L. Santamaria-Kiesel, A. Pajak, M. Jaskolski , F. Marsolais	Structural basis of potassium activation in plant asparaginases; 2018, 285, 1528-1539	4,237	30
37.	FEBS JOURNAL	J. Sliwiak , M. Sikorski , M. Jaskolski	PR-10 proteins as potential mediators of melatonin- cytokinin cross-talk in plants: crystallographic studies of LIPR-10.2B isoform from yellow lupine; 2018, 285, 1907-1922	4,237	30
38.	FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN	A. Parus, A. Wojciechowska, G. Framski , D. Radzikowska, W. Koziara, P. Szulc	Effects of quaternary pyridinium ketoximes on germination and growth of maize; 2018, 27, 1669-1680	0,611	15
39.	FRONTIERS IN IMMUNOLOGY	A. Wesolowska, M. Kozak-Ljunggren, L. Jedlina, K. Basalaj, A. Legocki , H. Wedrychowicz, M. Kesik-Brodacka	A Preliminary Study of a Lettuce-Based Edible Vaccine Expressing the Cysteine Proteinase of <i>Fasciola hepatica</i> for Fasciolosis Control in Livestock; 2018, 9, 2592	6,059	35
40.	FRONTIERS IN MICROBIOLOGY	L.L. Kailing, D. Bertinetti, C.E. Paul, T. Manszewski , M. Jaskolski , F.W. Herberg, I.V. Pavlidis	S-Adenosyl-L-Homocysteine Hydrolase Inhibition by a Synthetic Nicotinamide Cofactor Biomimetic; 2018, 9, 505	4,297	35
41.	FRONTIERS IN NEUROLOGY	M. Lopez-Morato, J.D. Brook, M. Wojciechowska	Small molecules which improve pathogenesis of myotonic dystrophy type 1; 2018, 9, 349	4,297	30
42.	FRONTIERS IN NEUROSCIENCE	M. Dabrowska , W. Juzwa, W.J. Krzyzosiak , M. Olejniczak	Precise Excision of the CAG Tract from the Huntingtin Gene by Cas9 Nickases; 2018, 12, 75	4,294	30
43.	FRONTIERS IN PLANT SCIENCE	K. Gudys, J. Wroblewska-Guzy, A. Janiak, M.A. Dziurka, A. Ostrowska, K. Hura, B. Jurczyk, K. Zmuda, D. Grzybowska, J. Srobka, W. Urban, J. Biesaga-Koscielniak, M. Filek,	Prioritization of Candidate Genes in QTL Regions for Physiological and Biochemical Traits Underlying Drought Response in Barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.); 2018, 9, 769	4,353	40

		J. Koscielniak, K. Mikołajczak, P. Ogrodowicz, K. Krystkowiak , A. Kuczynska, P. Krajewski, I. Szarejko			
44.	FRONTIERS IN PLANT SCIENCE	P. Czerniawski, P. Bednarek	Glutathione S-Transferases in the Biosynthesis of Sulfur-Containing Secondary Metabolites in Brassicaceae Plants; 2018, 9, 1639	4,353	40
45.	FRONTIERS IN PLANT SCIENCE	W. Biala, M. Jasinski	The Phenylpropanoid Case - It Is Transport That Matters; 2018, 9, 1610	4,353	40
46.	FUNDAMENTA INFORMATICA	D. Formanowicz, A. Rybarczyk , P. Formanowicz	Factors Influencing Essential Hypertension and Cardiovascular Disease Models and Analyzed using Stochastic Petri Nets; 2018, 160, 143-165	0,667	20
47.	FUSION ENGINEERING AND DESIGN	C. Reux, S. Kahn, L. Zani, B. Pégourié, N. Piot, M. Owsiak , G. Aiello, J.-F. Artaud, A. Boutry, S. Dardour, L. Di Gallo, J.-L. Duchateau, D. Galassi, F. Imbeaux, J.-C. Jaboulay, P. Magaud, J. Said, B. Saoutic, P. Sardain	DEMO design using the SYCOMORE system code: Influence of technological constraints on the reactor performances; 2018, 136, 1572-1576	1.396	30
48.	FUSION ENGINEERING AND DESIGN	F. Iannone, G. Bracco, C. Cavazzoni, R. Coelho, D. Coster, O. Hoenen, A. Maslennikov, S. Migliori, M. Owsiak , A. Quintiliani, B. Palak , V. Pais, F. Robin, E. Rossi, I. Voitsekhovitch	MARCONI-FUSION: The new high performance computing facility for European nuclear fusion modeling; 2018, 129, 354-358	1.396	30
49.	FUSION SCIENCE AND TECHNOLOGY	I. Voitsekhovitch, R. Hatzky, D. Coster, F. Imbeaux, D.C. McDonald, T.B. Feher, K.S. Kang, H. Leggate, M. Martone, S. Mochalsky, X. Saez, T. Ribeiro, T.-M. Tran, A. Gutierrez-Milla, T. Aniel, D. Figat , L. Fleury, O. Hoenen, J. Hollocombe, D. Kaljun, G. Manduchi, M. Owsiak , V. Pais, B. Palak , M. Plociennik , J. Signoret, C. Voulard, D. Yadykin, F. Robin, F. Iannone, G. Bracco, J. David, A. Maslennikov, J. Noe, E. Rossi, R. Kamendje, S. Heuraux, M. Holzl, S.D. Pinches, F. Da Silva, D. Tskhakaya	Recent EUROfusion Achievements in Support of Computationally Demanding Multiscale Fusion Physics Simulations and Integrated Modeling; 2018, 74, 186-197	0.678	20

50.	GENES	A. Szczepaniak, M. Ksiazkiewicz, J. Podkowinski , K.B. Czyz, M. Figlerowicz , B. Naganowska	Legume Cytosolic and Plastid Acetyl-Coenzyme-A Carboxylase Genes Differ by Evolutionary Patterns and Selection Pressure Schemes Acting before and after Whole-Genome Duplications; 2018, 9, 563	3,286	25
51.	IEEE TRANSACTIONS ON ULTRASONICS FERROELECTRICS AND FREQUENCY CONTROL	K. Turza , P. Krehlik, L. Sliwczynski	Long Haul Time and Frequency Distribution in Different DWDM Systems; 2018, 65, 1287-1293	2,472	35
52.	IET SYSTEMS BIOLOGY	A. Kozak, D. Formanowicz, P. Formanowicz	Structural analysis of a Petri net model of oxidative stress in atherosclerosis; 2018, 12, 108-117	0,972	20
53.	INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS	A. Gryszczynska, M. Dreger, A. Piasecka , P. Kachlicki, N. Witaszak, A. Sawikowska, M. Ozarowski, B. Opala, Z. Lowicki, A. Pietrowiak, M. Miklas, P.L. Mikolajczak, K. Wielgus	Qualitative and quantitative analyses of bioactive compounds from ex vitro <i>Chamaenerion angustifolium</i> (L.) (<i>Epilobium angustifolium</i>) herb in different harvest times; 2018, 123, 208-220	4,072	40
54.	INTERDISCIPLINARY SCIENCES-COMPUTATIONAL LIFE SCIENCES	M. Radom , P. Formanowicz	An Algorithm for Sequencing by Hybridization Based on an Alternating DNA Chip; 2018, 10, 605-615	0,781	15
55.	INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED MATHEMATICS AND COMPUTER SCIENCE	A. Rybarczyk , A. Hertz, M. Kasprzak , J. Blazewicz	Tabu search for the RNA partial degradation problem; 2018, 27, 401-415	1,712	25
56.	INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES	M. Orlikowska, M. de L. Rostro-Alanis, A. Bujacz, C. Hernandez, R. Rubio, R. Parra, G. Bujacz	Structural studies of two thermostable laccases from the white-rot fungi <i>Pycnoporus sanguineus</i> ; 2018, 107, 1629-1640	3,929	35
57.	INTERNATIONAL JOURNAL OF GENOMICS	K. Borowczyk, J. Wroblewski , J. Suliburska, N. Akahoshi, I. Ishii, H. Jakubowski	Mutations in Homocysteine Metabolism Genes Increase Keratin N-Homocysteinylolation and Damage in Mice; 2018, 7570850	2,429;	25
58.	INTERNATIONAL JOURNAL OF	E. Koziel, J.J. Bujarski , K. Otulak	Molecular biology of prune dwarf virus—a lesser known member of the bromoviridae but a vital	3,878	30

	MOLECULAR SCIENCES		component in the dynamic virus–host cell interaction network; 2017, 18, 2733 (publikacja niewykazana w sprawozdaniu za 2017)		
59.	INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES	D. Formanowicz, K. Gutowska, P. Formanowicz	Theoretical studies on the engagement of interleukin 18 in the immono-inflammatory processes underlying atherosclerosis; 2018, 19, 3476	3,878	30
60.	INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES	M.O. Urbanek, E. Jaworska, W.J. Krzyzosiak	miRNAmotif — A Tool for the Prediction of Pre-miRNA–Protein Interactions; 2018, 19, 4075	3,878	30
61.	INTERNATIONAL JOURNAL OF NANOMEDICINE	K. Kucharczyk, M. Weiss, K. Jastrzebska, M. Luczak , A. Ptak, M. Kozak, A. Mackiewicz, H. Dams-Kozłowska	Bioengineering the spider silk sequence to modify its affinity for drugs; 2018, 13, 4247-4261	5,154	35
62.	INTERNATIONAL JOURNAL OF OBESITY	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 (<i>Chlorocebus aethiops sabaeus</i>); 2018, 42, 765-774	5,544	45
63.	INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY	L. Handschuh , M. Kazmierczak, M.C. Milewski, M. Goralski, M. Luczak , M. Wojtaszewska, B. Uszczynska-Ratajczak , K. Lewandowski, M. Komarnicki, M. Figlerowicz	Gene expression profiling of acute myeloid leukemia samples from adult patients with AML-M1 and -M2 through boutique microarrays, real-time PCR and droplet digital PCR; 2018, 52, 656-678	3,271	25
64.	INTERNATIONAL TRANSACTIONS IN OPERATIONAL RESEARCH	M. Zimniewicz, K. Kurowski , J. Węglarz	Scheduling aspects in keyword extraction problem; 2018, 25, 507-522	2.178	20
65.	JOURNAL OF ANTIBIOTICS	J. Solecka, A. Rajniesz-Mateusiak, A. Guspiel, K. Jakubiec-Krzesniak, J. Ziemska, R. Kawęcki, R. Kaczorek, D. Gudanis , J. Jarosz, J. Wietrzyk	Cyclo(Pro-DOPA), a third identified bioactive metabolite produced by <i>Streptomyces</i> sp. 8812; 2018, 71, 757-761	2,270	20

66.	JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE	E. Weryszko-Chmielewska, I. Kasprzyk, M. Nowak, A. Sulborska, J. Kaczmarek, A. Szymanska, W. Haratym, M. Gilski	Health hazards related to conidia of Cladosporium-biological air pollutants in Poland, central Europe; 2018, 65, 271-281	3,242	30
67.	JOURNAL OF FISH DISEASES	A. Troszok, L. Kolek, J. Szczygieł, J. Wawrzeczko, E. Borzym, M. Reichert, T. Kamińska, T. Ostrowski , P. Jurecka, M. Adamek, K. Rakus, I. Irnazarow	Acyclovir inhibits Cyprinid herpesvirus 3 multiplication in vitro; 2018, 41, 1709-1718	2,057	35
68.	JOURNAL OF GRID COMPUTING	D. Salomoni, I. Campos, L. Gaido, J. Marco de Lucas, P. Solagna, J. Gomes, L. Matyska, P. Fuhrman, M. Hardt, G. Donvito, L. Dutka, M. Plociennik , R. Barbera, I. Blanquer, A. Ceccanti, E. Cetinic, M. David, C. Duma, A. Lopez-Garcia, G. Molto, P. Orviz, Z. Sustr, M. Viljoen, F. Aguilar, L. Alves, M. Antonacci, L.A. Antonelli, S. Bagnasco, A.M.J.J. Bonvin, R. Bruno, Y. Chen, A. Costa, D. Davidovic, B. Ertl, M. Fargetta, S. Fiore, S. Gallozzi, Z. Kurkcuoglu, L. Lloret, J. Martins, A. Nuzzo, P. Nassisi, C. Palazzo, J. Pina, E. Sciacca, D. Spiga, M. Tangaro, M. Urbaniak , S. Vallerio, B. Wegh, V. Zaccolo, F. Zambelli, T. Zok	INDIGO-DataCloud: a Platform to Facilitate Seamless Access to E-Infrastructures; 2018,16, 381-408	2.727	35
69.	JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY	J. Zhao, M. Xue, D. Gudanis , H. Gracz, G.H. Findenegg, Z. Gdaniec , S. Franzen	Dynamics of dehaloperoxidase-hemoglobin A derived from NMR relaxation spectroscopy and molecular dynamics simulation; 2018, 181, 65-73	3,263	35
70.	JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY	J. Golebiewska , M. Rachwalak , T. Jakubowski , J. Romanowska , J. Stawinski	Reaction of Boranephosphonate Diesters with Amines in the Presence of Iodine: The Case for the Intermediacy of H-Phosphonate Derivatives; 2018, 83, 5496-55054	4,313	40
71.	JOURNAL OF PHOTOCHEMISTRY AND	L. Sobotta, J. Długaszewska, P. Kasprzycki, S. Lijewski, A. Teubert , J. Mielcarek,	In vitro photodynamic activity of lipid vesicles with zinc phthalocyanine derivative against Enterococcus faecalis; 2018, 183, 111-118	3,337	30

	PHOTOBIOLOGY B-BIOLOGY	M. Gdaniec, T. Gosliński, P. Fita, E. Tykarska			
72.	JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY	M. Jakubowicz, W. Nowak, L. Galganski , D. Babula-Skowrońska	Expression profiling of genes encoding ABA route components in response to dehydration or various light conditions in poplar buds and leaves; 2018, 223, 84-95	3,034	35
73.	JOURNAL OF SCHEDULING	J. Blazewicz , B. Moseley, E. Pesch, D. Trystram, G. C. Zhang	New challenges in scheduling theory; 2018, 21, 581- 582	1,402	30
74.	JOURNAL OF SOFTWARE- EVOLUTION AND PROCESS	M. Wolski , B. Walter, Sz. Kupinski , J. Chojnacki	Software quality model for a research-driven organizationAn experience report; 2018, 30, 5 (SI)	1.216	20
75.	JOURNAL OF TRANSLATIONAL MEDICINE	L. Handschuh , P. Wojciechowski , M. Kazmierczak, M. Marcinkowska- Swojak , M. Luczak , K. Lewandowski, M. Komarnicki, J. Blazewicz , M. Figlerowicz , P. Kozlowski	NPM1 alternative transcripts are upregulated in acute myeloid and lymphoblastic leukemia and their expression level affects patient outcome; 2018, 16, 232	4,402	35
76.	MEDICINAL CHEMISTRY	M.S. Ahmad, S. Rasheed, S. Falke, B. Khaliq, M. Perbandt, M. I. Choudhary, W.T. Markiewicz , J. Barciszewski , C. Betzel	Crystal Structure of Mistletoe Lectin I (ML-I) from Viscum album in Complex with 4-N-Furfurylcytosine at 2.85 angstrom Resolution; 2018, 14, 754-763	1,930	20
77.	MEDYCYN WETERYNARYJNA- VETERINARY MEDICINE –SCIENCE AND PRACTICE	J.M. Jaskowski, J. Kmiecik, A. Kierbic, M. Herudzinska, M. Wozna-Wysocka	Automatic systems of heat detection in cows as a tool for improving herd management; 2018, 74, 434-440	0,211	15
78.	METROLOGIA	K. Szymaniec, R. J. Hendricks, K. Turza , B. Nagorny, P. Dunst, J. Nawrocki, P. Krehlik, L. Sliwczynski, A. Czubla	Operation of caesium fountain frequency standards with remote hydrogen maser references; 2018, 55, 782-788	2.088	35
79.	MOLECULAR AND CELLULAR ENDOCRINOLOGY	M. Gawin, A. Wojakowska, M. Pietrowska, L. Marczak , M. Chekan, K. Jelonek, D. Lange, R. Jaksik, A. Gruca, P. Widlak	Proteome profiles of different types of thyroid cancers; 2018, 472, 68-79	3,951	35
80.	MOLECULAR GENETICS AND GENOMICS	M. Rakoczy , I. Femiak , M. Alejska , M. Figlerowicz , J. Podkowinski	Sorghum CCoAOMT and CCoAOMT-like gene evolution, structure, expression and the role of conserved amino acids in protein activity; 2018, 293, 1077-1089	2,716	25

81.	MOLECULAR NEUROBIOLOGY	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; 2018, 55, 3351-3371	5,136	40
82.	MOLECULAR THERAPY-NUCLEIC ACIDS	W. Kotkowiak, J. Lisowiec-Wachnicka, J. Grynda, R. Kierzek, J. Wengel, A. Pasternak	Thermodynamic, Anticoagulant, and Antiproliferative Properties of Thrombin Binding Aptamer Containing Novel UNA Derivative; 2018, 10, 304-316	5,882	40
83.	MOLECULES	J. Miskiewicz, M. Szachniuk	Discovering structural motifs in miRNA precursors from the Viridiplantae Kingdom; 2018, 23, 1367	3,268	30
84.	NATURE BIOTECHNOLOGY	D. Eriksson, E. De Andrade, B. Bohanec, S.S. Chatzopolou, R. Defez, N.L. Eriksson, P. Van der Meer, B. Van der Meulen, A. Ritala, L. Sagi, J. Schiemann, T. Twardowski, T. Vanek	Why the European Union needs a national GMO opt-in mechanism; 2018, 36, 18-19	43,271	50
85.	NATURE COMMUNICATIONS	P. Kumari, F. Aeschmann, D. Gaidatzis, J. Keusch, P. Ghosh, A. Neagu, K. Pachulska-Wieczorek, J. Bujnicki, H. Gut, H. Grosshans, R. Ciosk	Evolutionary plasticity of the NHL domain underlies distinct solutions to RNA recognition; 2018, 9, 1549	13,691	45
86.	NEW BIOTECHNOLOGY	E. Wozniak, T. Twardowski	The bioeconomy in Poland within the context of the European Union; 2018, 40, 96-102	3,733	30
87.	NEW BIOTECHNOLOGY	A. Aguilar, R. Wohlgemuth, T. Twardowski	Perspectives on bioeconomy; 2018, 40, 181-184	3,454	30
88.	NEW BIOTECHNOLOGY	A. Aguilar, R. Wohlgemuth, T. Twardowski	Preface to the special issue bioeconomy; 2018, 40, 1-4	3,454	30
89.	NEW PHYTOLOGIST	S. Sopena-Torres, L. Jorda, C. Sanchez-Rodriguez, E. Miedes, V. Escudero, S. Swami, G. Lopez, M. Pislewska-Bednarek, I. Lassowskat, J. Lee, Y. Gu, S. Haigis, D. Alexander, S. Pattathil, A. Munoz-Barrios, P. Bednarek, S. Somerville, P. Schulze-Lefert, M.G. Hahn, D. Scheel, A. Molina	YODA MAP3K kinase regulates plant immune responses conferring broad-spectrum disease resistance; 2018, 218, 661-680	7,833	45

90.	NUCLEIC ACIDS RESEARCH	M. Dabrowska, K. Czubak, W. Juzwa, W.J. Krzyzosiak, M. Olejniczak, P. Kozlowski	qEva-CRISPR: a method for quantitative evaluation of CRISPR/Cas-mediated genome editing in target and off-target sites; 2018, 46, e101	10,235	40
91.	NUCLEIC ACIDS RESEARCH	T. Zok, M. Antczak, M. Zurkowski, M. Popenda, J. Blazewicz, R.W. Adamiak, M. Szachniuk	RNApdbee 2.0: multifunctional tool for RNA structure annotation; 2018, 46, W30-W35	10,235	40
92.	NUCLEOSIDES NUCLEOTIDES & NUCLEIC ACIDS	M. Gladysz, P. Ruszkowski, J. Milecki	Synthesis and cytotoxic activity of novel acyclic nucleoside analogues with functionality in click chemistry; 2018, 37, 53-66	0,847	15
93.	PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY B-BIOLOGICAL SCIENCES	Z. Warkocki, V. Liudkovska, O. Gewartowska, S. Mroczek, A. Dziembowski	Terminal nucleotidyl transferases (TENTs) in mammalian RNA metabolism; 2018, 373, 20180162	7,192	45
94.	PHYSICAL CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS	L. Gigli, W. Andralojc, A. Dalaloyan, G. Parigi, E. Ravera, D. Goldfarb, C. Luchinat	Assessing protein conformational landscapes: integration of DEER data in Maximum Occurrence analysis; 2018, 20, 27429-27438	4,224	40
95.	PLANT PHYSIOLOGY	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; 2018, 176, 538-551	6,620	45
96.	PLOS COMPUTATIONAL BIOLOGY	D. Mietchen, S. Wodak, S. Wasik, N. Szostak, C. Dessimoz	Submit a Topic Page to PLOS Computational Biology and Wikipedia; 2018, 14, e1006137	4,834	45
97.	PLOS GENETICS	C. Fassnacht, C. Tocchini, P. Kumari, D. Gaidatzis, M. B. Stadler, R. Ciosk	The CSR-1 endogenous RNAi pathway ensures accurate transcriptional reprogramming during the oocyte-to-embryo transition in <i>Caenorhabditis elegans</i> .; 2018, 14, e107252	6,685	45
98.	PLOS ONE	W. Kotkowiak, T. Czapik, A. Pasternak	Novel isoguanine derivative of unlocked nucleic acid- Investigations of thermodynamics and biological potential of modified thrombin binding aptamer; 2018, 13, e0197835	3,352	40

99.	PLOS ONE	J. Brzezinska , J. Kujawski, A. Witkowska , K. Czaja, M.K. Bernard, M.K. Chmielewski	Experimental and computational studies on a protonated 2-pyridinyl moiety and its switchable effect for the design of thermolytic devices; 2018, 13, e0203604	3,352	40
100.	PLOS ONE	A. Swiercz , W. Frohmberg, M. Kierzynka, P. Wojciechowski , P. Zurkowski, J. Badura, A. Laskowski, M. Kasprzak , J. Blazewicz	GRASShopper – An algorithm for de novo assembly based on GPU alignments; 2018, 13, e0202355	3,352	40
101.	PLOS ONE	A. Abramowicz, L. Marczak , A. Wojakowska, S. Zapotoczny, T.L. Whiteside, P. Widlak, M. Pietrowska	Harmonization of exosome isolation from culture supernatants for optimized proteomics analysis; 2018, 13, e0205496	3,352	40
102.	PROTEIN SCIENCE	Z. Dauter, M. Jaskolski	On the helical arrangements of protein molecules; 2018, 27, 643-652	2,778	25
103.	REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA-BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACOGNOSY	M. Ozarowski, A. Piasecka , A. Paszel-Jaworska, D.S.D. Chaves, A. Romaniuk, M. Rybczynska, A. Gryszczynska, A. Sawikowska, P. Kachlicki, L. Mikolajczak, A. Seremak-Mrozikiewicz, A. Klejewski, B. Thiem	Comparison of bioactive compounds content in leaf extracts of <i>Passiflora incarnata</i> , <i>P. caerulea</i> and <i>P. alata</i> and <i>in vitro</i> cytotoxic potential on leukemia cell lines; 2018, 28, 179-191	1,676	15
104.	RNA	A. Spasic, S.D. Kennedy, L. Needham, M. Monoharan, R. Kierzek , D.H. Turner, D.H. Mathews	Molecular dynamics correctly models the unusual major conformation of the GAGU RNA internal loop and with NMR reveals an unusual minor conformation; 2018, 24, 656-672	4,874	35
105.	RNA	K. Kobylecki, K. Drazkowska , T.M. Kulinski, A. Dziembowski, R. Tomecki	Elimination of 01/A&PRIME-A0 pre-rRNA processing by-product in human cells involves cooperative action of two nuclear exosome-associated nucleases: RRP6 and DIS3; 2018, 24, 1677-1692	4,874	35
106.	RNA BIOLOGY	T. Witkos , W.J. Krzyzosiak , A. Fiszer , E. Koscianska	A potential role of extended simple sequence repeats in competing endogenous RNA crosstalk; 2018, 15, 1399-1409	5,269	35
107.	RNA BIOLOGY	J. Getesberger, L. Wyss, A.M. Mleczo , J. Reuther, N. Polacek	A tRNA-derived fragment competes with mRNA for ribosome binding and regulates translation during stress; 2018, 14, 1364-1373	5,269	35

108.	SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT	A. Parus, G. Framski	Impact of <i>O</i> -alkyl-pyridineamidoximes on the soil environment; 2018, 643, 1278-1284	4,984	40
109.	SCIENTIFIC REPORTS	P. Zydwicz-Machtel , A. Swiatkowska , L. Popena, A. Gorska , J. Ciesiolka	Variants of the 5'-terminal region of p53 mRNA influence the ribosomal scanning and translation efficiency; 2018, 8, 1533	4,609	40
110.	SCIENTIFIC REPORTS	I. Stolarek , A. Juras, L. Handschuh , M. Marcinkowska-Swojak , A. Philips , M. Zenczak , A. Debski, H. Kocka-Krenz, J. Piontek, P. Kozlowski , M. Figlerowicz	A mosaic genetic structure of the human population living in the South Baltic region during the Iron Age; 2018, 8, 2455	4,609	40
111.	SCIENTIFIC REPORTS	M. Wojciechowska , K. Sobczak, P. Kozlowski , S. Sedehizadeh, A. Wojtkowiak-Szlachcic, K. Czubak , R. Markus, A. Lusakowska, K. Kaminska, J.D. Brook	Quantitative Methods to Monitor RNA Biomarkers in Myotonic Dystrophy; 2018, 8, 5885	4,609	40
112.	SCIENTIFIC REPORTS	J. Czyrko, J. Sliwiak , B. Imiolczyk , Z. Gdaniec , M. Jaskolski , K. Brzezinski	Metal-cation regulation of enzyme dynamics is a key factor influencing the activity of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; 2018, 8, 11334	4,609	40
113.	SCIENTIFIC REPORTS	M. Szabat , E. Kierzek , R. Kierzek	Modified RNA triplexes: Thermodynamics, structure and biological potential; 2018, 8, 13023	4,609	40
114.	SENSORS	A. Switalska, A. Dembska, A. Fedoruk-Wyszomirska , B. Juskowiak	Cholesterol-Bearing Fluorescent G-Quadruplex Potassium Probes for Anchoring at the Langmuir Monolayer and Cell Membrane; 2018, 18, 2201	3,014	30
115.	SUSTAINABLE COMPUTING-INFORMATICS & SYSTEMS	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; 2018, 17, 27-42	1.061	20
116.	TREE PHYSIOLOGY	B.P. Plitta-Michalak, M.Z. Naskret-Barciszewska , Sz. Kotlarski, D. Tomaszewski, T. Tylkowski,	Changes in genomic 5-methylcytosine level mirror the response of orthodox (<i>Acer platanoides</i> L.) and recalcitrant (<i>Acer pseudoplatanus</i> L.) seeds to severe desiccation; 2018, 38, 617-629	3,940	50

		J. Barciszewski , M. Chmielarz, M. Michalak			
117.	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY	A. Malyska, T. Bolla, T. Twardowski	Communicating Biotech Advances: Fiction versus Reality; 2018, 36, 121-123	14,635	45
118.	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY	A. Tyczewska, E. Wozniak, J. Gracz, J. Kuczynski, T. Twardowski	Towards Food Security: Current State and Future Prospects of Agrobiotechnology; 2018, 36, 1219-1229	14,636	45
119.	TURKISH JOURNAL OF CHEMISTRY	A. Parus, G. Framski	Synthesis, characterization, and evaluation of toxicity of quaternary ammonium chlorides of glucose-based ester; 2018, 42, 1095-1104	1,342	20
120.	VIRUS RESEARCH	N. Shrestha, P.H. Weber, S.V. Burke, W.P. Wysocki, M.R. Duvall, J.J. Bujarski	Next generation sequencing reveals packaging of host RNAs by brome mosaic virus; 2018, 252, 82-90	2,485	25
121.	VIRUSES-BASEL	A. Obrepalska-Stepińska, A. Zmienko, B. Wrzesińska, M. Goralski, M. Figlerowicz , J. Zyprych-Walczak, I. Siatkowski, H. Pospieszny	The Defense Response of Nicotiana benthamiana to Peanut Stunt Virus Infection in the Presence of Symptom Exacerbating Satellite RNA; 2018, 10, 449	3,737	30
122.	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	M. Dutkiewicz, J. Ciesiolka	Form confers function: Case of the 3' X region of the hepatitis C virus genome; 2018, 24, 3374-3383	3,387	25

1.B. Publikacje recenzowane z listy B MNiSW

Lp.	Nazwa czasopisma	Autor/Autorzy	Tytuł, rok, tom, strony / nr artykułu	Punkty
1.	BIO-PROTOCOL	A. Strugała, P. Bierwagen, J.D. Rybacka, M. Giersig, M. Figlerowicz, A. Urbanowicz	BMV propagation, extraction and purification using chromatographic methods; 2018, 8	
2.	FOUNDATIONS OF COMPUTING AND DECISION SCIENCES	R. Januszewski , R. Rozycki, G. Waligora	Improving energy efficiency of supercomputer systems through software-aided liquid cooling management; 2018, 43, 2, 89-103	15
3.	FOUNDATIONS OF COMPUTING AND DECISION SCIENCES	S. Wasik	Modeling Biological Systems Using Crowdsourcing; 2018, 43, 219-243	15

4.	NAUKA	J. Barciszewski , M. Szymanski, A. Malesa , D. Olszewski , W.T. Markiewicz , J. Barciszewski	Polskie wątki w początkach rozwoju nowoczesnych nauk o życiu; 2018, 2, 157-174	10
5.	NAUKA	A. Zubek , J. F. Barciszewski , A. Belter , J. Barciszewski	Teoria jestestw organicznych Jędrzeja Śniadeckiego. Rewolucja w spojrzeniu na życie; 2018, 4, 165-175	10
6.	NAUKA	M. Olejniczak , A. Fiszer	Na pograniczu chemii i biologii-sztuka wyboru według Profesora Krzyżosiaka. Wspomnienie o Profesorze Włodzimierzu Krzyżosiaku (1949–2017); 2018, 1, 161-166	10
7.	NAUKA	T. Twardowski	Czy powinniśmy uprawiać rośliny GM w UE? Niech kraje Unii same o tym zadecydują!; 2018, 1, 157-160	10
8.	NAUKA	E. Wozniak , T. Twardowski	GMO – czy w Polsce jest możliwa hodowla zwierząt gospodarskich bez pasz GM?; 2018, 3, 153-173	10
9.	POSTĘPY BIOCHEMII	J. Barciszewski , M. Szymanski, A. Malesa , D. Olszewski , W.T. Markiewicz , J. Barciszewski	Początki molekularnych nauk o życiu – Kontekst Polski; 2018, 64, 55-66	8
10.	PRZEGLĄD POLICYJNY	M. Dobski , G. Frankowski , N. Meyer , M. Pilc , M. Twardawa	Zastosowanie metod uczenia maszynowego i zaawansowanego przetwarzania zdarzeń dla ochrony przemysłowych sieci infrastruktury krytycznej; 2018, 4	8
11.	WIADOMOŚCI CHEMICZNE	M. Szlenkier	Aktywność biologiczna modyfikowanych nukleozydów. Część I; 2018, 72, 109-126	7
12.	WIADOMOŚCI CHEMICZNE	M. Szlenkier	Aktywność biologiczna modyfikowanych nukleozydów. Część II; 2018, 72, 245-264	7
13.	WIADOMOŚCI CHEMICZNE	M. Szlenkier	Aktywność biologiczna modyfikowanych nukleozydów. Część III; 2018, 72, 767-787	7
14.	WIADOMOŚCI CHEMICZNE	J. Ciesiolka , J. Wrzesinski	Regulacja aktywności katalitycznej rybozymów HDV oraz deoksyrzybozymów za pomocą antybiotyków i jonów metali; 2018, 7-8, 397-415	7

1.C. Artykuły konferencyjne w wydaniach specjalnych czasopism naukowych

Lp.	Nazwa czasopisma	Autor/Autorzy	Tytuł, rok, tom, strony / nr artykułu	IF	Lista MNiSW
1.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	M. Dabrowska, K. Czubak, W. Juzwa, W.J. Krzyzosiak, M. Olejniczak, P. Kozlowski	Evaluation of CRISPR/Cas9-mediated genome editing efficiency; 2018, 65 (S2), 121(L21.2)	1,541	15
2.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	N. Krowczynska, A. Meler, P. Putaj, K. Kolet, M. K. Chmielewski	Low-mass RNA Ladder and its potential application in analysis of small-molecule RNAs; 2018, 65 (S2), 15 (P2.3)	1,541	15
3.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	J. Gumna, K.J. Purzycka, M. Zawadzka, D. Garfinkel, K. Pachulski-Wieczorek	Structural determinants of genomic RNA dimerization and packaging in the LTR-retrotransposon Ty1; 2018, 65 (S2), 14 (P2.1)	1,541	15
4.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	J. Gumna, K.J. Purzycka, A. Saha, M. Zawadzka, D. Garfinkel, K. Pachulski-Wieczorek	Regulation of LTR-retrotransposons life cycle; 2018, 65 (S2), 15 (P2.2)	1,541	15
5.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	J. Tracz, K. Kostka-Jeziorny, B. Perek, A. Podkowinska, D. Formanowicz, M. Luczak	LC-MS/MS analysis of the monocytes CD14 ⁺ proteome in atherosclerosis related and non-related to chronic kidney disease; 2018, 65 (S2), 126 (P22.6)	1,541	15
6.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	L. Marczak, J. Idkowiak, J. Tracz, M. Luczak, B. Perek, K. Kostka-Jeziorny, A. Podkowińska, M. Stobiecki	Analysis of serum lipid fraction of patients suffering from cardiovascular disease related to chronic kidney disease; 2018, 65 (S2), 101 (P16.8)	1,541	15
7.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	L. Handschuh, P. Wojciechowski, M. Kazmierczak, M. Marcinkowska-Swojak, M. Luczak, K. Lewandowski, M. Komarnicki, J. Blazewicz, M. Figlerowicz, P. Kozlowski	Levels of NPM1 alternative transcripts in acute myeloid and lymphoblastic leukemia; 2018, 65 (S2), 145 (O27.2)	1,541	15
8.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	A. Zmienko, M. Marszalek-Zenczak, P. Wojciechowski, A. Samelak-Czajka, M. Figlerowicz	AthCNV – a map of DNA copy number variations in <i>Arabidopsis thaliana</i> genome based on the 1001 Genomes Project data; 2018, 65 (S2), 6 (L1.3)	1,541	15
9.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	A. Strugala, K. Kamel, A. Mieloch, J.D. Rybka, M. Giersig, M. Figlerowicz, A. Urbanowicz	BMV-based VLP – faster, cheaper, easier; 2018, 65 (S2), 28 (P5.1)	1,541	15

10.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	M.C. Milewski, P. Piasecki, W. Kotkowiak, A. Pasternak, M. Figiel, M. Figlerowicz	A novel approach for the <i>in situ</i> visualization of individual gene location within the nucleus; 2018, 65 (S2), 138 (P25.1)	1,541	15
11.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	N. Koralewska, M. C. Milewski, A. Kurzynska-Kokorniak, P. Jackowiak, M. Figlerowicz	The many faces of Dicer: RNA landscape in Dicer-deficient human cells; 2018, 65 (S2), 35 (P6.4)	1,541	15
12.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	M. Stelmaszczuk, P. Jackowiak, K. Kozłowska, A. Philips, J. Podkowinski, M. Figlerowicz	Circular RNAs in <i>Arabidopsis thaliana</i> ; 2018, 65 (S2) 35 (P6.3)	1,541	15
13.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	K. Kozłowska, A. Philips, M. Stelmaszczuk, P. Jackowiak, J. Podkowinski, M. Figlerowicz	Bioinformatics analysis of circular RNAs in <i>Arabidopsis thaliana</i> ; 2018, 65 (S2), 36 (P6.5)	1,541	15
14.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	M. Marcinkowska-Swojak, I. Stolarek, M. Zenczak, L. Handschuh, A. Philips, A. Juras, P. Kozłowski, M. Figlerowicz	Half the costs keep the quality. Targeted enrichment for the Next Generation Sequencing of ancient genomes; 2018, 65 (S2), 6 (O1.1)	1,541	15
15	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	I. Stolarek, L. Handschuh, A. Juras, M. Marcinkowska-Swojak, P. Kozłowski, M. Figlerowicz	The genetic landscape of pre-state Iron Ages societies of the East Central Europe; 2018, 65 (S2), 8 (P1.1)	1,541	15
16.	ACTA BIOCHIMICA POLONICA	M. Pokornowska, M. C. Milewski, M. Figlerowicz, A. Kurzynska-Kokorniak	A possible direct involvement of Dicer ribonuclease in the post-transcriptional control of gene expression; 2018, 65 (S2), 32 (O6.2)	1,541	15
17.	FEBS OPEN BIO	P. Bierwagen, K. Szpotkowski, M. Jaskolski, A. Urbanowicz	Outer surface protein C (OspC) from <i>Borrelia</i> is capable of fibrinogen binding; 2018, 8, S1,198	2,076	20
18.	FEBS OPEN BIO	B. Imiolczyk, J. Barciszewski, K. Szpotkowski, M. Jaskolski	Structural studies of plant omega amidase (<i>M. truncatula</i>); 2018, 8, S1,439	2,076	20
19.	FEBS OPEN BIO	M. Gilski, S. Wosicki, H. Zabranska, I. Pichova, M. Jaskolski	Comparison of a retroviral protease crystallized as a monomer and a dimer; 2018, 8, S1, 446	2,076	20
20.	FEBS OPEN BIO	M. Jaskolski, T. Manszewski, J. Czyrko, K. Brzeziński	SAHase: an intricate structural machinery for simple hydrolysis?; 2018, 8, S1, 37-38	2,076	20
21.	IN VITRO CELLULAR & DEVELOPMENTS L BIOLOGY- PLANT	E. Cellarova, K. Kimakova, A. Kimakova, J. Idkowiak, M. Stobiecki, P. Rodziewicz, L. Marczak	Secondary metabolite profiling in the genus <i>Hypericum</i> reveals two possible key intermediates in hypericin biosynthesis; 2018, 54, S1, S109	1,179	20

22.	JOURNAL OF NEUROLOGY NEUROSURGERY AND PSYCHIATRY	M. Figiel, K. Switonska, W. J. Szlachcic, A. Philips, L. Handschuh, M. Stelmaszczuk, P. Wojciechowski, M. Figlerowicz	Early transcriptional changes in human hd- ips cell lines revealed by RNAseq; 2018, 89, S1, A3, A08	6,923	45
23.	JOURNAL OF NEUROLOGY, NEUROSURGERY AND PSYCHIATRY	A. Fiszer, L. Przybyl, M. Jazurek-Ciesiolka, A. Ciesiolka, P. Joachimiak, E. Kozłowska, M. Michalak, P. Switonski, M. Wozna-Wysocka, A. Luzna, W.J. Krzyzosiak	Mutant HTT mRNA as therapeutic target in allele-selective CAG repeat-directed RNAi approach and putative pathogenic agent in HD; 2018, 89, SI.1, A89	6,923	45
24.	NEPHROLOGY DIALYSIS TRANSPLANTATION	A. Grzegorzewska, B. Frycz, M. Swiderska, L. Niepolski, A. Mostowska, I. Stolarek, M. Figlerowicz, P. Jagodzinski	Calcium-sensing receptor gene (casr) single nucleotide polymorphisms (snps) and casr transcript level concerning dyslipidemia in hemodialysis (hd) patients: a cross-sectional study; 2018, 33, S1, SP017	4,306	40
25.	NEURO-ONCOLOGY	A. Belter , A.-M. Barciszewska	Temozolomide influence on global DNA methylation in glioblastoma cell lines; 2018, 20 (S3), 279	8,655	45
26.	PHYTOPATHOLOGY	A. Kosaka, M. Pastorczyk , M. Kaido, K. Mise, P. Bednarek , Y. Takano	Involvement of tryptophan-derived metabolites in the post-invasive resistance of <i>Arabidopsis thaliana</i> against multiple fungal pathogens; 2018, 108, S1.220	3,200	35
27.	UKRAINIAN BIOCHEMICAL JOURNAL	J. Banasiak , L. Borghi, N. Stec, M. Jasinski	Medicago ABCG transporter involved in signalling molecules secretion during arbuscular mycorrhiza formation; 2018, 90 SI, 18		

2.A. Autorstwo rozdziału w monografii lub podręczniku akademickim

Lp.	Wydawca monografii	Autor	Tytuł rozdziału, tytuł monografii	Rok, tom, strony
1.	ELSEVIER INC.	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. Țintoiu, A.Ursulescu, J.A. Elefteriades, M.J. Underwood, I. Droc	2018, 85-89

2.	HUMANA PRESS, NEW YORK, NY	M. Pietrowska, S. Funk, M. Gawin, L. Marczak , A. Abramowicz, P. Widlak, T. Whiteside	Isolation of Exosomes for the Purpose of Protein Cargo Analysis with the Use of Mass Spectrometry [w:] Functional Genomics, seria: Methods in Molecular Biology, vol. 1654, red. M. Kaufmann, C. Klinger, A. Savelsbergh (nie sprawozdawano w roku 2017)	2018,1654, 291-307
3.	SPRINGER	J. Llobera, I. Fraile, J. Nunez, S. Malewski , X. Artigas, S. Fernandez	Multi-device Content Based on Video. A Practical Toolset for Creation and Delivery[w:] Communications in Computer and Information Science, seria: Communications in Computer and Information Science, vol. 813, red. M. J. Abasolo, J. Abreu, P. Almeida, T. Silva	2018, 813, 93- 104
4.	SPRINGER	M. J. Dobski , G. Frankowski , N. Meyer , M. Milostan, M. Pilc	Security monitoring and analytics in the context of HPC processing model [w:] Parallel Processing and Applied Mathematics. PPAM 2017, seria: Lecture Notes in Computer Science, vol. 10777, red. R. Wyrzykowski, J. Dongarra, E. Deelman, K. Karczewski	2018, 10777, 406-416
5.	SPRINGER	C. Mazurek , M. Werla	Enterprise Information Management in Cultural Heritage Domain [w:] Research and Practical Issues of Enterprise Information Systems. CONFENIS 2018 , seria: Lecture Notes in Business Information Processing, vol. 327, red. A. Min Tjoa, M. Raffai, P. Doucek, N. Maarit Novak	2018, 327, 3-14
6.	ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY	W. Andralojc , E. Ravera	Treating Biomacromolecular Conformational Variability, in: Paramagnetism in Experimental Biomolecular NMR [w:] New Developments in NMR, red. C. Luchinat, G. Parigi, E. Ravera	2018, 16, 107- 133
7.	WOLTERS KLUWER	T. Twardowski	Biotechnologie to klucz do przyszłości kłopot dla legislatorów, 100 LAT ochrony własności przemysłowej w Polsce [w:] Księga jubileuszowa Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej, red. A. Adamczak	2018, 1100-1111
8.	WYDAWNICTWO POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ	P. Formanowicz	Złożoność obliczeniowa problemu poszukiwania podzbiorów tranzycji [w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II, red. A. Świerniak, J. Krystek	2018, 59-65
9.	WYDAWNICTWO POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ	K. Gutowska, P. Formanowicz	Algorytm przeszukiwania tabu dla problemu znajdowania podzbiorów kluczowych tranzycji w modelach systemów biologicznych opartych na sieciach Petriego[w:] Automatyzacja procesów dyskretnych.Teoria i zastosowania, Tom II, red. A. Świerniak, J. Krystek	2018, 67-74

10.	WYDAWNICTWO POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ	M. Radom, P. Formanowicz	Symulacja stochastycznych sieci Petriego i jej zastosowanie w analizie systemów biologicznych [w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II, red. A. Świerniak, J. Krystek	2018, 165-174
11.	WYDAWNICTWO POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ	B. Szawulak, P. Formanowicz	Dekompozycja sieci jako podstawa do porównywania sieci Petriego [w:] Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania, Tom II, red. A. Świerniak, J. Krystek	2018, 215-222
12.	WYDAWNICTWO SBP	M. Blaszczyńska, M. Kozak, M. Labedzki, C. Mazurek, A. Rybicki, M. Szymczak, M. Werla	Jakość danych w systemie informacji naukowej [w:] Miscellanea Informatologica Varsoviensia, Vol. IX. Nauka o informacji w okresie zmian. Innowacyjne usługi informacyjne	2018, 103-116
13.	WYDAWNICTWO SBP	M. Werla	Analityka webowa repozytoriów i systemów informacji naukowej [w:] Miscellanea Informatologica Varsoviensia, Vol. IX. Nauka o informacji w okresie zmian. Innowacyjne usługi informacyjne	2018, 89-102

2.B. Redakcja monografii lub podręcznika

Lp.	Wydawca monografii/podręcznika	Redaktorzy	Tytuł, rok, tom / strony
1.	OŚRODEK WYDAWNICTW NAUKOWYCH	E. Bartnik, S. Bielecki, J. Dulak, M. Kesik-Brodacka, M. Lobočka, A. Malyska, A. Sip, W. Bi, S. Sowa, J. Surmacz-Gorska, E. Waszkowska, T. Twardowski	Biogospodarka, biotechnologia i nowe techniki inżynierii genetycznej: nowoczesna biotechnologia podstawą biogospodarki, ekspertyza Komitetu Biotechnologii PAN; 2018, 126
2.	OŚRODEK WYDAWNICTW NAUKOWYCH	M. Sikorski, M. Jaskolski	20 Years of Heart of Europe bio-Crystallography Meetings, REMINISCENCES; 2018, 178
3.	RIVER PUBLISHERS	A. Broring, A. Zappa, O. Vermesan, K. Framling, A. Zaslavsky, R. Gonzalez-Usach, P. Szmeja, C. E. Palau, M. Jacoby, P. I. Zarko, S. Soursos, C. Schmitt, M. Plociennik , S. Krco, S. Georgoulas, I. Larizgoitia, N. Gligoric, R. Garcia-Castro, F. Serena, V. Oravec, R. Giaffreda, C. Kiraly	Advancing IoT Platforms Interoperability; 2018, 92
4.	SPRINGER	N. Rajewsky, S. Jurga, J. Barciszewski	RNA Technologies. Systems Biology; 2018, 401
5.	WYDAWNICTWO NAUKOWE UAM	H. Korniak, J. Barciszewski	Na pograniczu chemii i biologii; 2017, tom XXXVII (nie sprawozdawano w roku 2017)

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 K. Chmielewski, prof. ICHB
Prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka
Prof. dr hab. Marek Figlerowicz
Prof. dr hab. Zofia Gdaniec
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski
Prof. dr hab. Elżbieta Kierzek
Prof. dr hab. Ryszard Kierzek
Prof. dr hab. Piotr Kozłowski

Prof. dr hab. Włodzimierz Krzyżosiak

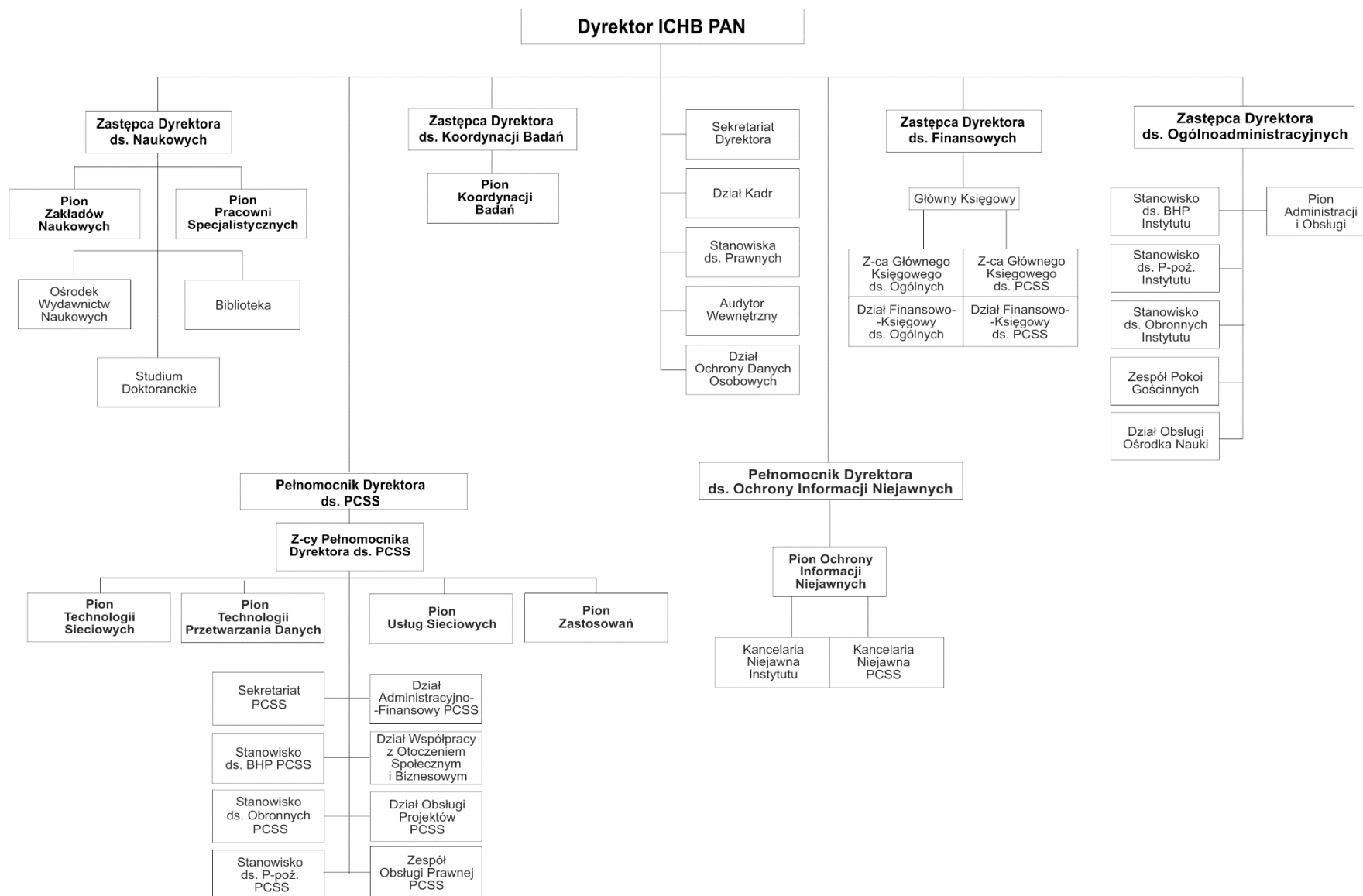
Prof. dr hab. Adam Kraszewski
Mgr Anna Mleczo
Prof. dr hab. Andrzej B. Legocki
Prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz
Prof. dr hab. Mirosława Z. Naskręt-
-Barciszewska
Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski
Dr hab. Michał Sikorski, prof. ICHB
Dr hab. Michał Sobkowski, prof. ICHB
Prof. dr hab. Jacek Stawiński
Prof. dr hab. Maciej Stobiecki
Prof. dr hab. Tomasz Twardowski
Prof. dr hab. Jan Węglarz
Dr hab. Jan Wrzesiński, 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
i Makromolekularnych PAN, 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. Wierzchowski
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa
Prof. dr hab. Piotr Zielenkiewicz
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

Załącznik 2. Schemat organizacyjny ICHB PAN (2018)



Załącznik 3. Struktura organizacyjna zakładów naukowych ICHB PAN (2018)

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	prof. dr hab. Piotr Kozłowski	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	dr Agnieszka Fiszer	ZW
Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej	prof. dr hab. Marek Figlerowicz	ZW
Zakład Bioinformatyki	prof. dr hab. Jacek Błazewicz	ZW
Zakład Biologii Integratywnej	dr hab. Rafał Ciosk, prof. ICHB PAN	ZW
Zakład Biochemii RNA	prof. dr hab. Jerzy Ciesiołka	ZW
Zakład Biomolekularnego NMR	Prof. dr hab. Zofia Gdaniec	ZW
Zakład Biologii Chemicznej	prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz	ZS
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	prof. dr hab. Elżbieta Kierzek	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 K. Chmielewski, prof. ICHB PAN	ZML
Zakład Proteomiki Biomedycznej	dr hab. Magdalena Łuczak, prof. ICHB PAN	ZML
Zakład Bioinformatyki Strukturalnej	dr hab. Marta Szachniuk, prof. ICHB PAN	ZML
Zakład Inżynierii Genomowej	dr hab. Marta Olejniczak, prof. ICHB PAN	ZML
Zakład Biochemii Rybonukleoprotein	dr hab. Anna Kurzyńska-Kokorniak, prof. ICHB PAN	ZML
Zakład Struktury i Funkcji Retrotranspozonów	dr hab. Katarzyna Pachulska-Wieczorek	ZML
Zakład Neuroonkologii Molekularnej	dr hab. Katarzyna Rolle	ZML
Zakład Sond Molekularnych i Proleków	dr Jacek Kolanowski	ZML
Zakład Metabolizmu RNA	dr Zbigniew Warkocki	ZML

ZW – zakłady wiodące; **ZS** – zakłady senioralne; **ZML** – zakłady młodych liderów

Załącznik 4. Seminaria Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN realizowane w ramach konsorcjum KNOW

Prowadzenie: prof. Jerzy Boryski

Data	Prezentujący	Temat
08.01.2018	Dr Marta Pastorczyk	Rola monooksygenazy CYP71A12 w metabolizmie tryptofanu i odporności <i>Arabidopsis thaliana</i> na infekcję
15.01.2018	Dr Jolanta Lisowiec-Wąchnicka	Asymetria termodynamiczna duplexu siRNA, a wybór nici antysensowej
22.01.2018	Dr Elżbieta Lenartowicz	Funkcjonalność struktury drugorzędowej RNA wirusa grypy typu A podczas cyklu replikacyjnego wirusa – nowe wyzwania i perspektywy
29.01.2018	Dr Joanna Banasiak	Aktywne systemy transportu jako element kontrolujący “molekularną rozmowę” między symbiontami podczas formowania mikoryzy arbuskularnej
05.02.2018	Mgr inż. Kalina Wiatr	Globalna identyfikacja zmienionej ekspresji białek w czasie rozwoju choroby SCA3/MJD w myszy Ki91
06.03.2018	M.Sc Henning Schmitz Max Planck Institute for Molecular Biomedicine, Münster, Niemcy	<i>Schmidtea mediterranea</i> – a model system for stem cell biology, organogenesis and regeneration
13.04.2018	Dr Małgorzata Kęsik-Brodacka Instytut Biotechnologii i Antybiotyków, Warszawa	Różne podejścia, jeden cel – Uniwersalna Szczepionka Przeciw Grypie
15.05.2018	Dr. Stanisław Flasiński Monsanto Company, St.Louis, Missouri, Stany Zjednoczone	Monsanto's Insect Control Solutions: Western corn rootworm control with new insecticidal proteins
17.05.2018	Prof. Dr. Volker Lipka Department of Plant Cell Biology, Albrecht-von-Haller-Institute for Plant Sciences, Georg-August-University of Goettingen, Niemcy	Live and Let Die or Live and Let Live – Interactions of <i>Arabidopsis</i> with fungal pathogens
18.05.2018	Prof. Dr. Edward H. Egelman Department of Biochemistry and Molecular Genetics, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, Stany Zjednoczone	Cryo-EM of Protein and Nucleoprotein Polymers at Near-Atomic Resolution
25.05.2018	Dr. Henning Frerigmann Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Cologne, Niemcy	Transcriptional regulation of glucosinolates elucidates that the COP1/SPA complex balances the gibberellin and jasmonate phytohormone network in <i>Arabidopsis thaliana</i> via DELLA degradation

14.06.2018	Prof. Dr. Suresh Rattan Laboratory of Cellular Ageing, Department of Molecular Biology and Genetics, Aarhus University, Dania	Healthy ageing and longevity: principles and practice
10.08.2018	Prof. Dr. Jose Luis Garcia-Perez Department of Genomic Medicine, Centre for Genomics and Oncology (Pfizer University of Granada and Andalusian Regional Government), PTS Granada, Spain; Medical Research Council Human Genetics Unit, Institute of Genetics and Molecular Medicine, University of Edinburgh, Wielka Brytania	LINE retrotransposition in zebrafish
10.08.2018	Dr. John LaCava Laboratory of Cellular and Structural Biology, The Rockefeller University, New York, Stany Zjednoczone	Affinity proteomics versus LINE-1 retrotransposons
21.09.2018	Dr Dorota Jakubczyk Laboratory of Molecular Engineering and Articular Pathophysiology (IMoPA), University of Lorraine, Nancy, Francja	Fungal natural products: Cure or poison?
01.10.2018	Dr Paulina Żydowicz-Machtel	Rola elementów strukturalnych w regionie terminalnym 5' transkryptów mRNA genu TP53 w procesie inicjacji translacji
08.10.2018	Mgr inż. Maria Pokornowska	Niepoznane obszary aktywności ludzkiej rybonukleazy Dicer: aktywność wspierająca hybrydyzację kwasów nukleinowych
15.10.2018	Dr. Juan Francisco Carrascoza Mayen Wydział Informatyki Politechniki Poznańskiej	Nanoconfinement of prebiotic soup in Montmorillonite clay: a Car-Parrinello molecular dynamics study
22.10.2018	Dr hab. Marta Szachniuk, prof. ICHB	RNApolis: metody bioinformatyczne do badania struktur RNA
29.10.2018	Dr Weronika Kotkowiak	Badania termodynamiczne i biologiczne nowych pochodnych aptameru RE31 o dwóch domenach strukturalnych
05.11.2018	Mgr Aneta Bilnicka	Uncovering novel mechanisms regulating body fat
19.11.2018	Dr Paulina Jackowiak	Fragmenty RNA – identyfikacja i potencjał funkcjonalny
26.11.2018	Dr Agnieszka Fiszer	„Dialekt” sekwencji powtórzonych w „języku” konkurujących RNA



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)

5 lipca 2018, godz. 19 ⁰⁰	prof. dr hab. Piotr Mucha Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Gdańsk <i>Wielki Wybuch i początki życia na Ziemi</i>
12 lipca 2018, godz. 19 ⁰⁰	dr n. med. Anna Maria Barciszewska Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, Szpital Kliniczny im. H. Święcickiego, Poznań <i>Jak usunąć guz mózgu, żeby mózg o tym nie wiedział?</i>
19 lipca 2018, godz. 19 ⁰⁰	prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn Uniwersytet Gdański, Katedra Biologii Molekularnej, Gdańsk <i>Genetyczne pomyłki</i>
26 lipca 2018, godz. 19 ⁰⁰	prof. dr hab. Jolanta Jura Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków <i>Stan zapalny na przykładzie wybranych chorób skóry</i>
2 sierpnia 2018, godz. 19 ⁰⁰	prof. dr hab. n. med. Włodzimierz Baranowski Wojtkowy Instytut Medyczny, Warszawa; Centrum Onkologii, Lublin <i>Dlaczego chorujemy na raka macicy?</i>
9 sierpnia 2018, godz. 19 ⁰⁰	dr inż. Cezary Mazurek Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe, Poznań <i>Inteligentne Miasta i Żywe Laboratoria - Jak powstają ekosystemy dla „Citizen Science”</i>
16 sierpnia 2018, godz. 19 ⁰⁰	prof. dr hab. Adam Łukaszewicz Uniwersytet Warszawski, Instytut Archeologii, Warszawa <i>Tajemnice grobu faraona</i>
23 sierpnia 2018, godz. 19 ⁰⁰	prof. zw. dr hab. Józef M. Fiszer Instytut Studiów Politycznych PAN, Warszawa <i>Polska w Unii Europejskiej - sukcesy, porażki i perspektywy</i>



ODDZIAŁ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
W POZNANIU



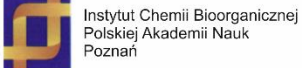
KNOW
RNA
Research Centre
in Poznań



Krajowy Naukowy
Ośrodek Wiodący



UNIWERSYTET
IM. ADAMA MICKIEWICZA
W POZNANIU
WYDZIAŁ BIOLOGII



Instytut Chemii Bioorganicznej
Polskiej Akademii Nauk
Poznań



ASTRA



eppendorf



Selvita



polpharma



Strauss



CENTRUM NANOBIOMEDYCZNE
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu



Międzynarodowe
Targi
Poznańskie



NOVOL



BIOFARM[®]
POLSKI PRODUCENT LEKÓW



Wstęp wolny!

Załącznik 6. Program konferencji Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego RNA-RNA: WIN

24.09.2018

Z. Szweykowska-Kulińska *Sprawozdanie z działalności KNOW*

Y. Watanabe *From Viral RNA to Small RNA in Plant Research*

25.09.2018

Niekodujące RNA: biogeneza i funkcja

H. Pietrykowska *Small wins:sex-specific miRNAs in Marchantia polymorpha*

S. Bhat *Arabidopsis thaliana mRNA adenosine methylase (MTA): a novel player in miRNA biogenesis regulatory pathway*

Ł. Szewc *The crosstalk between splicing and polyadenylation machinery in plants*

M. Sekrecki *Does a site matter? The impact of an alternative polyadenylation on microRNA-21 biogenesis*

P. Cywoniuk *Short RNA derivatives as modulators of MBNLs' splicing activity*

M. Pokornowska *The putative involvement of human Dicer in the post-transcriptional control of gene expression*

M. Kasprówicz *The role of non-coding RNAs in human renal cells development and carcinogenesis*

T. Czapik *Chemical modifications of hammerhead ribozyme*

J. Kuczyński *Differentially expressed microRNAs and their potential target genes in soybean under chilling stress*

Życie mRNA: od syntezy do rozpadu

A. Gadgil *U7 snRNA activity and histone gene expression is affected by ALS-linked FUS mutations*

E. Stein *Single molecule imaging of RNA chaperones Hfq and ProQ in living Escherichia coli*

A. Sobusiak *The specificity of RNA binding by the Escherichia coli ProQ protein*

A. Wyrzykowska *Three MYB transcription factors as key players in understanding drought resistance in plants*

Z. Warkocki *Molecular mechanisms of LINE-1 retrotransposon restriction*

D. Sobańska *Partners in crime: RNA destruction mediated by Regnase and Roquin*

M. Zeńczak *Y chromosome analysis in ancient DNA samples - challenges and solutions*

M. Marcinkowska-Swojak *Time and cost optimization of targeted enrichment for the next generation sequencing of ancient genomes*

RNA i choroby: patomechanizmy i strategie terapeutyczne

M. Borowiak *Building blueprints of pancreatic cells for better beta cell derivation*

K. Taylor *MBNL-derivative molecule as a potential therapeutic for Myotonic Dystrophy*

M. Derbis *Antisense oligonucleotides as potential therapeutics in the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS)*

H. Bluysen *STATs in Inflammation: Transcriptional control and Therapeutic targets*

A. Kajdasz *Structural and topological characterization of ccRCC deregulated TMEMs*

26.09.2018

RNA i choroby: patomechanizmy i strategie terapeutyczne cd.

J. Misiorek *The impact of miRNA expression on Friedreich's ataxia pathogenesis*

M. Jazurek-Ciesiołka *Short sequence context of the ATXN3 facilitates RAN translation*

M. Dąbrowska, K. Czubak *qEva-CRISPR: a method for quantitative evaluation of CRISPR/Cas-mediated genome editing in target and off-target sites*

L. Handschuh *Upregulation of NPM1 alternative transcripts in acute myeloid and lymphoblastic leukemia*

P. Bierwagen *Binding studies of proteins involved in Borrelia – host interactions using MicroScale Thermophoresis*

Bioinformatyka RNA

I. Makałowska *Retrogenes in cancer*

B. Surpeta *Design of penicillin G acylase toward degradation of N-acyl-homoserine lactones for effective quorum quenching*

A. Rasińska *Organization of tRNA genes in Bacteria*

B. Wróbel *Artificial evolution of complex networks encoded by genomes inspired by "RNA world"*

J. Wiedemann *LCS-TA locates RNA 3D fragments with similar folds*

K. Kozłowska *Bioinformatics analysis of circular RNAs in Arabidopsis thaliana*

I. Stolarek *The genetic landscape of pre-state Iron Age societies of the Central East Europe*

Wirusy RNA

P. Michalak *From secondary structure to antisense oligonucleotides. The case of segment 5 vRNA of influenza A virus*

J. Kęsy *Chemically modified siRNAs targeting the RNA structure of influenza A virus*

J. Gumna *RNA dimerization in Ty1 LTR-retrotransposon*

Załącznik 7. Program spotkań w ramach Poznańskiego Klubu RNA

10 stycznia 2018	Dr Radosław Pilarski <i>Instytut Chemii Bioorganicznej PAN</i> Automatyczny system do badań przesiewowych, optymalizacji bioprocessów i spersonalizowanych terapii
7 lutego 2018	Dr Magdalena Hrychorowicz <i>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu</i> CRISPR/Cas9. Blaski i cienie
7 marca 2018	Prof. dr hab. Barbara Nawrot <i>Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi</i> Nowe trendy w naukach biologicznych. Modyfikacje kwasów nukleinowych (Beyond Four Letters)
11 kwietnia 2018	Prof. dr hab. Jacek Jemielity <i>Uniwersytet Warszawski, Centrum Nowych Technologii</i> Chemicznie modyfikowane mRNA do zastosowań w biologii i medycynie
16 maja 2018	Lek. med. Tomasz Kuliński <i>Instytut Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie</i> Wpływ enzymu degradującego RNA-DIS3 na stan chromatyny i podział komórki
13 czerwca 2018	Prof. dr hab. Jolanta Jura <i>Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii w Krakowie</i> MCPIP 1, RNaza selektywnie regulująca czas półtrwania cząstek RNA
17 października 2018	Prof. dr hab. Dariusz Kowalczyk <i>Wielkopolskie Centrum Onkologii, Poznań</i> Immunoterapia nowotworów - Nagroda Nobla 2018 z fizjologii lub medycyny
27 listopada 2018	Prof. dr hab. Daniel Krowarsch <i>Wielkopolskie Centrum Onkologii, Poznań</i> Otrzymywanie białek o nowych właściwościach metodami ukierunkowanej ewolucji (Nagroda Nobla 2018 z chemii)
12 grudnia 2018	Dr Barbara Uszczyńska-Ratajczak <i>Centrum Zaawansowanych Technologii, Uniwersytet Warszawski</i> Ciemna strona genomu: wyprawa w poszukiwaniu długich niekodujących RNA
12 grudnia 2018	Prof. dr hab. Jan Barciszewski <i>Instytut Chemii Bioorganicznej PAN</i> Początki nauk molekularnych o życiu. Kontekst Polski

Załącznik 8. Program konferencji „International Conference on Biotechnology and Bioengineering”

Conference Schedule & Oral Presentation List

Venue: Aquamarine Room, Robin Wellness & Conference Hotel

Day 1: October 24, 2018 Wednesday

16:00-18:00 Arrival and Registration

Lobby of Robin Wellness & Conference Hotel

Day 2: October 25, 2018 Thursday

8:00-9:00 On-site Registration

Lobby of Robin Wellness & Conference Hotel

9:10-9:30 Welcome Ceremony

Aquamarine Room, Robin Wellness & Conference Hotel

9:30-12:00 Keynote & Invited Session

Session Chairs: Prof. Dr. Anna Kurzynska-Kokorniak; Dr. Abrankó László

9:30-10:10 O-1 Bela Pukanszky Halloysite Support for an Enzyme and its use for the Controlled Enzymatic Degradation of PCL

10:10-10:15 Group Photo

10:15-10:40 Coffee break & Poster Session SP1

10:40-11:20 O-2 Nongyue He Selection of Specific DNA Aptamers for Molecular Classification of Breast Cancer Subtypes

11:20-12:00 O-3 Gábor Kocsy Involvement of the Ascorbate-Glutathione Cycle in the Control of miRNAs and Their Targets in Wheat

12:00-14:00 Buffet Lunch

14:00-15:50 Oral Session 1

Session Chair: Prof. Shin-ichiro Suye

14:00-14:40 O-4 Anna Kurzynska-Kokorniak Unknown Areas of Activity of Human Ribonuclease Dicer: the Annealing Activity

14:40-15:15 O-5 Vincent Thery New Thiamine Diphosphate Activation Model and Therefore New Paradigm on ThDP Structural Function

15:15-15:50 O-6 Asma Karim Use of CO1 gene sequences for computing genetic diversity between *Cirrhinus mrigala* from two different habitats (Farm and River)

15:50-16:20 Coffee Break & Poster Session SP1

16:20-17:50 Oral Session 2

Session Chairs: Prof. Dr. Nongyue He; Dr. Bela Pukanszky

16:20-16:50 O-7 Hiroaki Sakamoto Electrochemical DNA biosensing for *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* using nanoparticle modified probe

16:50-17:20 O-8 Hea Ja Shin A novel SPR biosensor for rapid label-free detection of *E. coli*

17:20-17:50 O-9 Abrankó László Method for monitoring Zn incorporation in fortified yeast products

17:50-18:20 Coffee Break & Poster Session SP1

Interdisciplinary Approaches to Complex Biological Systems

November 12–14, 2018, Poznań, Poland

**Międzynarodowa Konferencja
zorganizowana**



**w 100-lecie urodzin
Profesora
Macieja Wiewiórowskiego
oraz
w 30-lecie powołania
Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN**



INSTYTUT CHEMII BIOORGANICZNEJ
Polskiej Akademii Nauk

PROGRAM

Monday, November 12

- 10:00–10:15 Powitanie gości – MAREK FIGLEROWICZ
- Chairman JERZY BORYSKI**
- 10:15–11:45 MAREK FIGLEROWICZ
Maciej Wiewiórowski
WOJCIECH T. MARKIEWICZ I JAN BARCISZEWSKI
Profesor Maciej Wiewiórowski jako uczony w oczach uczniów i współpracowników
ANDRZEJ B. LEGOCKI
Profesora Wiewiórowskiego kręgi przyjaciół zagranicznych
- 11:45–12:30 Część oficjalna
- 12:30–13:00 Koncert Chóru Kameralnego Polskiej Akademii Nauk
- 13:00–14:30 Lunch
- Chairman MACIEJ STOBIECKI**
- 14:30–16:15 RYSZARD W. ADAMIAK
„Jesteśmy w oku cyklonu”. Wspomnienia o Profesorze
JERZY CIESIOŁKA
Droga od aldehydu chlorooctowego do RNA
MARIUSZ JASKÓLSKI
Maciej Wiewiórowski – wizjoner w wielu wymiarach
ADAM KRASZEWSKI
Komponent kluczowy – czego się nauczyłem
HANNA SIERZPUTOWSKA-GRACZ
1974 – z Warszawy do Poznania „za chlebem”
JACEK STAWIŃSKI
„Stary”, antresola i klucz, czyli początki chemii kwasów nukleinowych w Poznaniu
KRZYSZTOF SZYFTER
Od makroanalizy tRNA do mikroanalizy podłoża genetycznego procesu nowotworzenia
- 18:30 Informal diner for invited speakers

Tuesday, November 13

Chairman: WOJCIECH T. MARKIEWICZ

- 9:00–9:35 PIET HERDEWIJN, Leuven, Belgium
Synthetic nucleic acids and xenobiology
- 9:35–10:00 AGNIESZKA FISZER, Poznań, Poland
Mechanisms involved in repressing polyQ disease genes by miRNA-like siRNAs
- 10:00–10:35 ARTUR JARMOŁOWSKI, Poznań, Poland
Post-transcriptional regulation of microRNA biogenesis in plants
- 10:35–11:10 BARBARA NAWROT, Łódź, Poland
Interplay between sulfur- and selenium-containing modifications in bacterial tRNA
- 11:10–11:30 Coffee break

Chairman: JACEK STAWIŃSKI

- 11:30–12:05 JEAN-LOUIS MERGNY, Bordeaux, France
Unusual nucleic acid structures: beyond the DNA double-helix
- 12:05–12:30 ANNA KURZYŃSKA-KOKORNIĄK, Poznań, Poland
Unknown areas of activity of human ribonuclease Dicer
- 12:30–12:55 MICHAŁ JASIŃSKI, Poznań, Poland
Molecular basis of the selective transport fulfilled by plant ABCG proteins
- 12:55–13:30 JANEZ PLAVEC, Ljubljana, Slovenia
G-rich DNA repeats and their amazing NMR structures
- 13:30–15:00 Lunch

Chairman: JAN BARCISZEWSKI

- 15:00–15:35 ANDRZEJ DZIEMBOWSKI, Warsaw, Poland
Regulation of gene expression by non-canonical poly(A) and poly(U) polymerases
- 15:35–16:00 ZBIGNIEW WARKOCKI, Poznań, Poland
Post-transcriptional regulatory mechanisms of LINE-1 retrotransposition in human
- 16:00–16:35 ANDREAS JÄSCHKE, Heidelberg, Germany
New roles for an old coenzyme – NAD-capped RNAs in bacteria
- 16:35–17:00 Coffee break

Chairman: ADAM KRASZEWSKI

- 17:00–17:35 MARIUSZ JASKÓLSKI, MIROSŁAW GILSKI, Poznań, Poland
Crystallographic studies of unusual nucleic acids
- 17:35–18:10 MAGDALENA ŁUCZAK, Poznań, Poland
The molecular mechanism of sensitivity and drug resistance in multiple myeloma on the example of proteasome inhibitors
- 18:10–18:45 ANDREJ SHEVCHENKO, Dresden, Germany
Shotgun Lipidomics by Ultra-high Resolution Mass Spectrometry
- 19:00 Conference diner

Wednesday, November 14

Chairman: RYSZARD W. ADAMIAK

- 9:00–9:35 JANUSZ BUJNICKI, Warsaw, Poland
New computational tools for comparative analyses of RNA structures
- 9:35–10:00 MARTA SZACHNIUK, Poznań, Poland
RNA structure modeling as bioinformatics challenge
- 10:00–10:25 ELŻBIETA KIERZEK, Poznań, Poland
Influenza virus RNA – from secondary structure to new therapeutic targets
- 10:25–10:50 ANNA PASTERNAK, Poznań, Poland
Unlocking of non-canonical nucleic acid structures
- 10:50–11:25 MARCIN NOWOTNY, Warsaw, Poland
Coordination of enzymatic activities in enzymes processing nucleic acids
- 11:25–11:50 Coffee break

Chairman: TOMASZ TWARDOWSKI

- 11:50–12:25 CHRIS MEIER, Hamburg, Germany
Development of nucleoside triphosphate prodrugs as antivirals – the TriPPPro-approach and what is next?
- 12:25–12:50 PAWEŁ BEDNAREK, Poznań, Poland
Biosynthesis and function of plant alkaloids. From lupin quinolizidines to Brassicaceae indolic phytoalexins
- 12:50–13:15 KATARZYNA ROLLE, Poznań, Poland
Goodbye flat biology. The new challenges and opportunities in cancer research
- 13:15–13:50 SZYMON ŚWIEŻEWSKI, Warsaw, Poland
Making sense of antisense
- 13:50–14:00 Closing of conference
- 14:00–15:00 Lunch



INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY
Polish Academy of Sciences

<http://www.ibch.poznan.pl> e-mail: ibch@ibch.poznan.pl
ul. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań

