



Konferencja „Studenckie Minigranty Badawcze” POB BiOS

Rok akademicki 2020/21

Kraków, 25.06.2021 r.

Studencka Konferencja BioS stanowi podsumowanie konkursu „Studenckie Minigranty Badawcze” zorganizowanego przez POB BioS. Jego celem jest opracowanie i wdrożenie mechanizmów pozyskiwania i rozwoju utalentowanych studentów poprzez wsparcie prowadzenia przez nich własnych minigrantów naukowych.

Konferencja odbyła się 25 czerwca 2021 roku, w trybie zdalnym, za pośrednictwem platformy Teams. Każda grupa miała szansę przedstawić wyniki i podsumować projekt, nad którym pracowała w ciągu roku akademickiego. Wiele z uzyskanych wyników może stanowić podstawę do głębszych, dalszych analiz.

PERCEPCJA PLASTIKU JEDNOKROTNEGO UŻYTKU PRZEZ BARISTÓW ORAZ KLIENTÓW KAWIARNI SEGMENTU SPECIALITY W DOBIE PANDEMII COVID-19.

Zuzanna Dedyk¹, Joanna Matuszyk², Augustyn Mikos³

Opiekun: Prof. dr hab. Małgorzata Grodzińska-Jurczak³

¹*Wydział Chemii, Ochrona Środowiska I rok II stopnia,*

²*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Biotechnologia molekularna I rok II stopnia,*

³*Wydział Biologii, Instytut Nauk o Środowisku, Environmental Protection and Management*

Ciągły wzrost produkcji tworzyw sztucznych na świecie eskaluje debatę publiczną na temat panującego kryzysu środowiskowego, w którym produkty jednorazowego użytku z tworzyw sztucznych (Single-Use-Plastic; SUP) zostały uznane za jeden z materiałów przyczyniających się do degradacji środowiska przyrodniczego i klimatu. Celem niniejszego projektu jest określenie toksyczności plastików jednorazowego użytku dla środowiska przyrodniczego, klimatu i zdrowia człowieka oraz zbadanie postaw konsumenckich klientów i pracowników kawiarni segmentu speciality w warunkach pandemii COVID-19.

Wybrano metodologię mieszaną nauk społecznych, łączącą metody ilościowe (ankiety) i jakościowe (desk study oraz wywiady). Projekt składa się z części eksperymentalnej oraz popularyzatorskiej. W badaniu wzięło udział 299 klientów kawiarni segmentu speciality. Ponadto zebrano 10 szczegółowych wywiadów z baristami i właścicielami kawiarni. Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły ocenić zachowania klientów kawiarni podczas pandemii. Najważniejsza obserwacja wskazuje, że w obecnej sytuacji troska o zdrowie jest ważniejsza niż troska o środowisko. Wpływa to na zachowanie wobec oraz postrzeganie SUP przez klientów kawiarni, co może przyczynić się do wzrostu popytu na artykuły jednorazowego użytku. W oparciu o wyniki przygotowano rekomendacje dla osób bezpośrednio związanych z zarządzaniem SUP w kryzysowych warunkach pandemii w gastronomii.

EWOLUCYJNY KOMPROMIS POMIĘDZY STABILNOŚCIĄ I AKTYWNOŚCIĄ DROŹDZOWEGO ENZYMU URA3

Katarzyna Potera¹, Mateusz Zięba², Joanna Matuszyk³

Opiekun: dr Katarzyna Tomala⁴

¹ Wydział Biologii, Zespół Genetyki Ewolucyjnej, Biologia, II rok II stopnia

² Wydział Biologii, Zespół Genetyki Ewolucyjnej, Biologia, I rok II stopnia

³ Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biochemii Fizycznej,
Biotechnologia Molekularna, I rok II stopnia

⁴ Wydział Biologii, Zespół Genetyki Ewolucyjnej

Białko, by pełnić swoje funkcje, musi przyjąć i utrzymać odpowiednią strukturę przestrzenną. Pojedyncza substytucja może doprowadzić do zmiany aminokwasu, a co za tym idzie, wpłynąć na funkcje białka i biofizyczne właściwości jego cząsteczki. Natywne białka są marginalnie stabilne, więc, teoretycznie, zwiększenie stabilności powinno być promowane przez dobór naturalny. Proponowanym wytłumaczeniem utrzymywania się tak niskiej stabilności, w przypadku natywnych białek enzymatycznych, jest optymalizowanie przez dobór naturalny zarówno stabilności, jak i aktywności enzymów. Wydaje się, że te dwie właściwości enzymów, mogą być trudne do pogodzenia, gdyż nadstabilne enzymy tracą elastyczność wymaganą do przeprowadzenia katalizy.

Aktywność wysoce wydajnego enzymu Ura3 u drożdży piekarniczych (*Saccharomyces cerevisiae*) jest niezbędna do syntezy uracylu a w konsekwencji RNA. Wprowadzono do Ura3 mutacje, opisane we wcześniejszych badaniach jako stabilizujące: V48A, N120S, L150I, S160A oraz kombinacje tych mutacji, tworząc 6 różnych kultur. Opracowano konstrukty, pozwalające na wysoką ekspresję pożądanych białek w drożdżach oraz wyizolowano je i oczyszczono do pomiarów biofizycznych. Dodatkowo, opierając się na strukturze natywnego białka, uzyskano modele przestrzenne analizowanych mutantów.

Bibliografia:

1. DePristo, M. A., Weinreich, D. M., Hartl, D. L. (2005). Missense meanderings in sequence space: a biophysical view of protein evolution. *Nature reviews. Genetics*, 6(9), 678–687. <https://doi.org/10.1038/nrg1672>
2. Tomala, K., Zrebiec, P., Hartl, D. L. (2019). Limits to Compensatory Mutations: Insights from Temperature-Sensitive Alleles. *Molecular biology and evolution*, 36(9), 1874–1883. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz110>

CHARAKTERYSTYKA ROLI METYLACJI M6A TRANSKRYPTU WIRUSA HIV-1 I JEJ ROLA W LATENCJI I REAKTYWACJI Z LATENCJI

Jakub Wadas¹, Łukasz Ważny²

Opiekun: dr Anna Kula-Pâcurar³

¹Małopolskie Centrum Biotechnologii, Pracownia Wirusologii Virogenetics, Biotechnologia Molekularna, I rok II stopnia, ²Wydział Biologii, Zakład Hematologii Eksperymentalnej, Biologia, II rok II stopnia, ³Małopolskie Centrum Biotechnologii, Pracownia Wirusologii Virogenetics

Metylacja m6A stanowi ważną epigenetyczną modyfikację RNA, za której realizację odpowiadają trzy kompleksy białkowe: kompleks metylotransferaz (ang. „writers”), rodzina białek rozpoznających m6A (ang. „readers”) oraz rodzina demetylaz usuwających metylację (ang. „erasers”). Występowanie m6A zidentyfikowano również w RNA wirusa HIV-1, ale wciąż brakuje dokładnych informacji na temat jej wpływu na replikację wirusa. Szczególnie istotne w kontekście potencjalnych terapii eradykacyjnych jest sprawdzenie wpływu metylacji m6A na zjawisko latencji wirusa HIV-1 czyli stanu uśpienia wirusa będącego najważniejszą przeszkodą w eliminacji wirusa z organizmu.

Celem tego projektu jest charakterystyka roli metylacji m6A transkryptu wirusa HIV w latencji i reaktywacji z zastosowaniem technik nowej generacji Immuno-RNA-FISH umożliwiających wizualizację metylowanego wirusowego RNA wraz z białkami modulującymi tę zmianę. W dotychczasowych badaniach wykonano optymalizację metody Immuno-RNA-FISH z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko białkom biorącym udział w modyfikacji: METTL3, YTHDF2 i ALKBH5, a także przeprowadzono część analiz Western-Blot w celu oznaczenia poziomu powyższych białek w komórkach modelu latencji.

W ramach dalszych prac eksperymentalnych przewiduje się wykonanie badań reaktywacji wirusa z latencji przy użyciu związków chemicznych działających epigenetycznie, a następnie sprawdzenia poziomu wybudzenia z zastosowaniem cytometrii przepływowej i techniki RT-qPCR.

Bibliografia:

1. Kennedy EM, Bogerd HP, Kornepati AV, Kang D, Ghoshal D, Marshall JB, Poling BC, Tsai K, Gokhale NS, Horner SM, Cullen BR. Posttranscriptional m(6)A Editing of HIV-1 mRNAs Enhances Viral Gene Expression. *Cell Host Microbe*. 2016 May 11;19(5): 675-85.
2. Tirumuru N, Zhao BS, Lu W, Lu Z, He C, Wu L. N(6)-methyladenosine of HIV-1 RNA regulates viral infection and HIV-1 Gag protein expression [published correction appears in *Elife*. 2017 Sep 13;6:]. *Elife*. 2016;5:e15528.
3. Riquelme-Barrios S, Pereira-Montecinos C, Valiente-Echeverría F, Soto-Rifo R. Emerging Roles of N6-Methyladenosine on HIV-1 RNA Metabolism and Viral Replication. *Front Microbiol*. 2018;9:576.

ILOŚCIOWE POMIARY STĘŻENIA TLENKU AZOTU W TKANCIE MÓZGOWEJ SZCZURA W HOMOCYSTEINOWYM MODELU EPILEPSJI

Szymon Kantor¹, Joanna Leja²

Opiekun: prof. dr hab. Krzysztof Janeczko³

¹*Wydział Biologii UJ, Pracownia Neuropatologii Doświadczalnej,
Neurobiologia, I rok II stopnia*

²*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, Zakład Biofizyki,
Bioinformatyka, II rok II stopnia*

³*Wydział Biologii UJ, Pracownia Neuropatologii Doświadczalnej*

Pełny zakres udziału tlenku azotu (NO) w patofizjologii epilepsji w znacznej mierze pozostaje nieodgadniony. Dotychczasowe badania i publikacje przedstawiają obraz nie tylko niepełny, ale przede wszystkim wewnętrznie niespójny¹. Skłania to do intensyfikacji wysiłków w celu uzyskania kompletnych danych o mechanizmie działania NO i układu nitrergicznego mózgowia w przebiegu epilepsji.

Projekt zakłada przeprowadzenie analizy reakcji układu nitrergicznego mózgowia szczura na napady epileptyczne wywołane tiolaktone homocysteiny. Ten niedawno opisany „homocysteinowy” model epilepsji² charakteryzuje się uogólnionymi napadami drgawkowymi i stanowi ciekawą alternatywę dla bardziej tradycyjnych metod, na przykład modelu pilokarpinowego³.

Ilościowe oznaczenia zmian stężenia tlenku azotu prowadzono techniką spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR)⁴. Bada ona układy biologiczne zawierające molekuly o niesparowanych elektronach, wolne rodniki czy cząsteczki obojętne o niezamkniętych powłokach elektronowych. Pomiaru poprzedzało tak zwane pułapkowanie spinowe, doprowadzające do utworzenia przez NO kompleksów paramagnetycznych z odpowiednią substancją, zaaplikowaną *in vivo*. Względnie długi czas półtrwania tych kompleksów umożliwia użycie EPR dla wysoce reaktywnego NO. Wstępne pomiary wykryły zmiany stężenia NO zachodzące po wystąpieniu symptomów napadowych i potwierdziły techniczną precyzję zastosowania planowanych technik badawczych oraz wiarygodność otrzymanych wyników.

Bibliografia:

1. Ferraro, G. & Sardo, P. Nitric Oxide and Brain Hyperexcitability. *In Vivo (Brooklyn)*. 18, (2004).
2. Stanojlović, O. *i in.* Two types of seizures in homocysteine thiolactone-treated adult rats, behavioral and electroencephalographic study. *Cell. Mol. Neurobiol.* 29, 329–339 (2009).
3. Ahmed Juvale, I. I. & Che Has, A. T. The evolution of the pilocarpine animal model of status epilepticus. *Helijon* 6, e04557 (2020).
4. Zawada, K. Zastosowanie spektroskopii EPR w farmacji i medycynie. *Farm Pol* 65, 224–228 (2009).

IZOLACJA I IDENTYFIKACJA ANTYBIOTYKOOPORNYCH BAKTERII Z RODZAJU *STAPHYLOCOCCUS* Z PIÓR DZIKO ŻYJĄCYCH PTAKÓW

Małgorzata Śliż¹, Dominika Sokołowska², Stanisław Broński³

Opiekun: dr inż. Emilia Bonar⁴

¹Wydział Biologii UJ, Zespół Ekologii Fizjologicznej, Ecology and Evolution, II rok II stopnia, ²Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, Zakład Biochemii Analitycznej, Biotechnologia molekularna, II rok II stopnia, ³Wydział Biologii UJ, Zespół Ekologii Populacyjnej, Biologia, II rok II stopnia, ⁴Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, Zakład Biochemii Analitycznej

Patogeny lekooporne pochodzenia zwierzęcego są głównym czynnikiem odpowiedzialnym za choroby infekcyjne ludzi. Jedno z poważnych zagrożeń stanowią bakterie z rodzaju *Staphylococcus*, które wykształciły m. in. zdolność syntezy czynników wirulencji i oporność na działanie antybiotyków. Dziko żyjące ptaki mogą być jednym z głównych wektorów odpowiedzialnych za przenoszenie zoonoz.

Celem projektu była izolacja i identyfikacja antybiotykoopornych szczepów z rodzaju *Staphylococcus* z piór dziko żyjących ptaków oraz określenie odsetka ptaków będących nosicielami gronkowców.

Pobrano 239 próbek środowiskowych z piór dziko żyjących ptaków wróblowych. Bakterie z rodzaju *Staphylococcus* izolowano stosując selekcyjne podłoża wzrostowe. Metodą dyfuzyjno-krażkową badano oporność izolatów na 6 antybiotyków. Wybrane szczepy testowano w kierunku właściwości hemolitycznych, proteolitycznych, antibakteryjnych wobec *E. coli* oraz *M. luteus* i aktywności DNaz. Identyfikację 27 szczepów przeprowadzono metodą spektrometrii masowej MALDI-TOF. Wyizolowano 6 antybiotykoopornych szczepów, które stanowiły 2,510% wszystkich izolatów, wśród nich zidentyfikowano szczepy z rodzaju *Bacillus* oraz drożdży *Wickerhamomyces anomalus*. Zidentyfikowano 7 szczepów należących do rodzaju *Staphylococcus*: *S. xylosus* (5), *S. equorum* (1), *S. warneri* (1), *S. aureus* (1), stanowiących 2,929% wszystkich izolatów.

Gronkowce i szczepy antybiotykooporne stanowią niewielki odsetek bakterii występujących na piórach dziko żyjących ptaków.

METABOLIZM KOMÓREK RAKA PIERSI O RÓŻNYM POTENCJALE MIGRACYJNYM

Gabriela Dziurman¹, Bartosz Michno², Iga Piasecka³

Opiekun: dr hab. Martyna Elas⁴

¹*Wydział Biochemii, Biotechnologii i Biofizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Biofizyki, Biotechnologia Molekularna, I rok II stopnia*

²*Wydział Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Biologia I rok II stopnia*

³*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Biochemii Ogólnej, Biotechnologia Molekularna I rok II stopnia*

⁴*Wydział Biochemii, Biotechnologii i Biofizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Biofizyki*

Przerzuty są jedną z głównych przyczyn zgonów wśród pacjentów z chorobą nowotworową. Na inwazyjność nowotworu wpływa wiele czynników m.in. metabolizm komórek nowotworowych czy ich interakcja ze śródbłonkiem naczyń w trakcie intrawazacji i ekstrawazacji.

Celem projektu była charakterystyka różnic w metabolizmie i adhezji do śródbłonka mikronaczyń między trzema różniącymi się potencjałem migracyjnym podliniami mysiego nowotworu piersi E0771. Użyto komórek kontrolnych, traktowanych *in vitro* TGF- β oraz wyselekcjonowanych przez dwie serie transmigracji w komorze Boydena. Wykonano pomiary parametrów metabolizmu komórkowego *in vitro*, a także analizę interakcji komórek nowotworowych z komórkami śródbłonka naczyniowego. Badane komórki implantowano ortotopowo do pakietów mlecznych samic myszy C57bl. Powstałe guzy mierzono cotygodniowo z wykorzystaniem techniki elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) oraz sondy spinowej umożliwiającej nieinwazyjne oznaczenie stężenia nieorganicznego fosforanu. Ponadto, homogenaty z guzów poddano analogicznej do badań *in vitro* analizie metabolizmu komórkowego.

Przeprowadzone eksperymenty wykazały różnice w stężeniach ATP, mleczanu i stosunku NAD⁺/NADH pomiędzy inwazyjnymi i nieinwazyjnymi podliniami mysiego nowotworu piersi E0771 zarówno *in vitro* jak i *ex vivo*. Ponadto, uzyskane techniką EPR zmiany stężenia nieorganicznego fosforanu w trakcie wzrostu badanych guzów wykazały znacznie szybszy wzrost tego parametru w guzach inwazyjnych.

OPRACOWANIE METODY INDUKCJI SULFHEMOGLOBINEMII W FUNKCJONALNYCH LUDZKICH ERYTROCYTACH I ANALIZA STRUKTURY MOLEKULARNEJ UKŁADU PORFIRYNOWEGO WEWNĄTRZ „ZIELONYCH ERYTROCYTÓW”

Tetiana Stepanenko¹, Artur Czajkowski²

Opiekun: dr Jakub Dybaś³

¹*Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Chemia medyczna, I rok II stopnia*

²*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii (BBB), Biochemia, I rok II stopnia*

³*Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET)*

Sulfhemoglobinemia to stan chorobowy, polegający na nadmiernym występowaniu we krwi sulfhemoglobiny (SHb), pochodnej hemoglobiny z dołączonym atomem siarki. Powstanie SHb wiąże się z modyfikacją pierścienia porfiryнового, oraz z utlenianiem jonu żelaza(II) do żelaza(III) lub żelaza(IV) [1]. Tak powstały addukt absorbuje światło o długości fali 623 nm, co jest przyczyną powstawania tzw. „zielonych erytrocytów”. Tworzenie się SHb jest nieodwracalne [2], co skutkuje anemią i sinicą [3].

W celu zbadania struktury SHb zastosowano spektroskopię absorpcyjną UV-Vis, elektronowy dichroizm kołowy (ECD) oraz spektroskopię ramanowską. Usykane wyniki cechują się dużą zgodnością z danymi literaturowymi dla SHb. W zależności od sposobu indukcji sulfhemoglobinemii, np. temperatury, stężenia Na₂S i H₂O₂, zmieniała się ilość i rodzaj powstających adduktów z SHb.

Stres oksydacyjny wywołany przez H₂O₂ i późniejszy dodatek Na₂S prowadził do utleniania Hb. Większe stężenia Na₂S powodowały intensywną agregację białek i tworzenie ciałek Heintza. Obecność H₂O₂ powodowała powstawanie pochodnych Hb zawierających jony żelaza(III) i żelaza(IV), co w wyraźny sposób przyśpieszało indukcję SHb, jednak zbyt wysokie stężenia H₂O₂ prowadziły do hemolizy i degradacji Hb.

Podsumowując, zebrane dane pozwoliły na identyfikację zarówno adduktów zawierających żelazo(II) i siarkę połączoną do pierścienia, jak i adduktów z siarką podłączoną bezpośrednio do żelaza(III).

Bibliografia

1. Christopher L. Bianco Anton Savitsky, Martin Feelischd, Miriam M. Cortese-Krott. Investigations on the role of hemoglobin in sulfide metabolism by intact human red blood cells. *Biochemical Pharmacology*. 149 (2018) 163-173, 2018, Tom <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.01.045>.
2. Augustin C. Mot Cristina Puscas, Sorin Aurel Dorneanu, Radu Silaghi-Dumitrescu. EPR detection of sulfanyl radical during sulfhemoglobin formation –Influence of catalase. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.04.034>.
3. Giovanni Campagna Andre Espaillat, Thomas Pfeiffer, Jacquelyn M. Powers, Meghan McClure, Lauren M. Hess. A Case of Sulfhemoglobinemia Secondary to a Urinary Tract Infection. *CLINICAL AND LABORATORY OBSERVATIONS, J Pediatr Hematol Oncol*. 2019.

OCENA WŁAŚCIWOŚCI CYTOTOKSYCZNYCH I ANTYOKSYDACYJNYCH EKSTRAKTÓW Z DZIURAWCA ZWYCZAJNEGO (*HYPERICUM PERFORATUM* L.) WZGLĘDEM KOMÓREK LUDZKIEGO CZERNIAKA Z RÓŻNYCH ETAPÓW PROGRESJI

Magdalena Dołęga¹, Aleksandra Brankiewicz², Sophie Ostrowska-Paton³

Opiekun: dr hab. Ewa Pocheć, prof. UJ⁴

¹*Wydział Biologii, Zakład Biochemii Glikokoniugatów, Biologia I rok II stopnia*

²*Wydział Biologii, Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Biologia I rok II stopnia*

³*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biotechnologii Medycznej,
Biotechnologia Molekularna I rok II stopnia*

⁴*Wydział Biologii, Zakład Biochemii Glikokoniugatów*

Czerniak (C43) to jeden z najbardziej agresywnych nowotworów. Kluczową rolę w jego progresji odgrywa stres oksydacyjny, który występuje w komórce na skutek ekspozycji na określone endo- i egzogenne czynniki sprzyjające generowaniu nadmiernej ilości reaktywnych form tlenu (ROS) [1]. Te, gromadząc się, uszkadzają makrocząsteczki i zakłócają regulację szlaków wewnątrzkomórkowych, zaburzając m.in. proces glikozylacji. Część związków pochodzenia roślinnego takie jak pochodne fenolowe a także floroglucynowe, zawarte w *H. perforatum* L. wykazuje właściwości antyoksydacyjne, stanowiąc swoiste zmiatacze ROS [2].

W ramach projektu badano cytotoksyczność ekstraktów etanolowych z dziurawca oraz ich wpływ na produkcję ROS wykorzystując testy MTT oraz NBT. Model stanowiły linie komórkowe czerniaka wyprowadzone z guzów na różnych etapach progresji nowotworu pochodzących od tego samego pacjenta: WM115 (guz pierwotny), WM266-6 (przerzut do węzłów chłonnych) oraz komórki z nadekspresją glikozylotransferaz GnT-III i -V. Wykazano pozytywną korelację między stężeniem ekstraktu a cytotoksycznością względem wszystkich linii komórkowych, niezależną od zawartości etanolu a także hamującą wpływ ekstraktu na produkcję ROS.

Celem dalszych badań jest ocena antyoksydacyjnych właściwości ekstraktów z dziurawca w komórkach C43 oraz analiza wpływu stresu oksydacyjnego na ekspresję glikozylotransferaz istotnych w progresji C43 oraz działania ekstraktów z dziurawca na zależne od ROS zmiany glikozylacji.

Podziękowania: Badania przeprowadzono w ramach Studenckiego Minigrantu Badawczego finansowanego ze środków Priorytetowego Obszaru Badawczego BioS w programie strategicznym Inicjatywa Doskonałości Uniwersytetu Jagiellońskiego (nr PSP grantu: U1U/P03/DO/13.03).

Bibliografia:

1. Zhou B et al. Tom20 senses iron-activated ROS signaling to promote melanoma cell pyroptosis. *Cell Res.* 2018, 28: 1171–1185.
2. Martinho A et al. Effects of *Hypericum perforatum* hydroalcoholic extract, hypericin, and hyperforin on cytotoxicity and CYP3A4 mRNA expression in hepatic cell lines: a comparative study. *Med Chem Res.* 2016, 25: 2999-3010

PORÓWNANIE INTERAKTOMÓW BIAŁEK Z RODZINY SAP

Małgorzata Honc^{1,2}, Marek Sobczyk²

Opiekun: dr Małgorzata Figiel

¹*Małopolskie Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Max Planck Research Group,*

²*Wydział Biochemii, Biofizyki i biotechnologii, Zakład Biochemii Fizycznej, Biotechnologia, I rok II stopnia*

Fosforylacja i defosforylacja są ważnymi reakcjami w regulacji wielu procesów zachodzących w komórkach. Enzymy odpowiedzialne za defosforylację nazywamy fosfatazami, a jednym z ich przedstawicieli jest drożdżowa fosfataza serynowo-treoninowa Sit4. Sprawuje ona wiele funkcji w komórkach m.in. reguluje cykl komórkowy i pączkowanie, odpowiada za poziom fosforylacji czynnika transkrypcyjnego eIF2 α oraz oddziałuje z kompleksem elongatora, który kontroluje modyfikacje tRNA.

Fosfataza Sit4 funkcjonuje w komórce w postaci trimerycznego kompleksu razem z białkiem nadającym jej specyficzność substratową oraz białkiem z rodziny Sap pełniącym funkcję podporową. Hipoteza naszego projektu zakłada, iż aktywność fosfatazy Sit4 w komórce zależy od specyficznego oddziaływania białek z rodziny Sap z fosforylowanymi substratami. W tym celu w ramach projektu postanowiliśmy zbadać oraz porównać interaktomy białek Sap155, Sap185, Sap190 i Sap4, informacje o białkach wchodzących z nimi w interakcję pozwolą nam na dokładniejsze zrozumienie ich funkcji w komórkach drożdży.

W ciągu trwania projektu udało nam się uzyskać dwa konstrukty genowe posiadające sekwencję białek Sap185 oraz Sap190 z odpowiednimi metkami koniecznymi do dalszych etapów oczyszczania i badania interaktomu. Z powodzeniem oczyściliśmy również białko Sap190, które w dalszej kolejności posłuży do analizy interakcji z białkami drożdżowymi. W dalszych częściach naszej pracy wykonamy pull-down białek z rodziny Sap z lizatami drożdżowymi, a powstałe w ten sposób kompleksy przeanalizujemy z wykorzystaniem spektrometrii mas.

OCENA WPLYWU DIETY KETOGENICZNEJ NA PRZEBIEG CIAŻY ORAZ SKŁAD BIOCHEMICZNY FORMACJI HIPOKAMPA U CIĘŻARNYCH SAMIC SZCZURÓW

Zuzanna Rauk¹, Piotr Szulc²

Opiekun: prof. dr hab. Zuzanna Setkowicz-Janeczko³

¹Wydział Biologii, Pracownia Neuropatologii Doświadczalnej, Neurobiologia, II rok II stopnia, ²Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Bioinformatyka, I rok II stopnia, ³Wydział Biologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Pracownia Neuropatologii Doświadczalnej

Dieta ketogeniczna (KD) jest to dieta wysokotłuszczowa i niskocukrowa, używana w terapii lekoopornej epilepsji, zarówno u dzieci jak i u dorosłych, w tym u kobiet w ciąży. Celem eksperymentu było zbadanie wpływu KD na przebieg ciąży i skład biochemiczny mózgu ciężarnych samic szczura. Zwierzęta podzielono na 2 grupy, otrzymujące karmę standardową lub ketogeniczną. W czasie ciąży monitorowano masę ciała samic, poziom glukozy i ciał ketonowych we krwi oraz spożycie pokarmu. Po porodzie określono liczbę, płęć i masę ciała noworodków. Tkankę mózgową samic analizowano metodą FTIR, w celu określenia składu biochemicznego hipokampa.

Analiza statystyczna wykazała istotnie wyższy poziom ciał ketonowych we krwi począwszy od 4 dnia ciąży oraz niższy poziom glukozy w 20 dniu ciąży w grupie na KD w porównaniu z grupą kontrolną. Masa ciała noworodków była istotnie niższa w grupie KD, pomimo iż samice na diecie ketogenicznej spożywały istotnie więcej kalorii niż grupa kontrolna. Masa ciała osesków korelowała negatywnie z poziomem ciał ketonowych we krwi matek i pozytywnie z poziomem glukozy w 20 dniu ciąży. Otrzymane wyniki wskazują na negatywny wpływ KD na masę urodzeniową i większe znaczenie składu diety niż jej kaloryczności dla rozwoju płodu. Analiza topograficzna danych z FTIR wykazała wzrost akumulacji grup karbonylowych w hipokampie, zwiększenie powierzchni istoty białej oraz wzrost akumulacji cholesterolu, tłuszczy nienasyconych i grup karbonylowych w jej obrębie.

CZY KINAZA RIPK4 REGULUJE AKTYWNOŚĆ GENU AMHR2?

Dawid Warmus¹, Liwia Kubicka²

Opiekun: dr hab. Agnieszka Wolnicka-Głubisz³, dr hab. Paweł Grzmil⁴

¹Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biofizyki, I rok II stopnia Biochemia, ²Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu, I rok II stopnia Biologia, ³Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biofizyki, ⁴Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Pracownia Genetyki i Ewolucjonizmu

RIPK4 (Receptor Interacting Serine/Threonine Kinase 4) to kinaza białkowa należąca do rodziny kinaz serynowo-treoninowych.¹ Kinaza ta zaangażowana jest w wiele szlaków i wiadomo, że jednym ze sposobów działania jest fosforylacja IRF6. Ufosforylowany IRF6 może aktywować transkrypcję innych genów.²

Dotychczasowe wyniki jednoznacznie potwierdzają, że *Ripk4* ma ekspresję w gonadzie męskiej dorosłej myszy, potwierdzając wyniki analiz *in-silico*. Okazało się jednak, że ekspresja ta choć mierzalna jest na bardzo niskim poziomie w porównaniu do innych tkanek np. wątroby, dlatego przeprowadzono analizę Western blot, aby sprawdzić czy białko RIPK4 jest wykrywalne w badanej tkance. Analiza ta wykazała obecność dwóch prążków, z których przynajmniej jeden reprezentuje analizowane białko. Co ciekawe analiza mRNA dla *Ripk4* w postnatalnym rozwoju jąder u myszy wykazała, że ekspresja tego genu podlega regulacji podczas rozwoju gonady. I tak poziom ekspresji rośnie wraz z wiekiem zwierzęcia osiągając maksimum w dniu 16, a następnie spada osiągając najniższy poziom w jądrach dorosłych osobników. Udało się także przetestować startery specyficzne dla genu *Amhr2* myszy i jak przewidywano na podstawie danych literaturowych, wykazać ekspresję tego genu w jądrze myszy. Ostatnia część projektu ma na celu ustalić, czy podczas postnatalnego rozwoju jąder u myszy zmiana poziomu ekspresji *Amhr2* koreluje ze zmianami ekspresji w poziomie *Ripk4*. Ponieważ poziom ekspresji *Amhr2* był już analizowany w gonadach gryzoni³, wykazanie podobnego wzoru zmian w poziomie ekspresji może sugerować, że *Ripk4* reguluje aktywność *Amhr2*, a tym samym dać początek większemu projektowi, który miałby na celu przeanalizowanie mechanizmu tej regulacji.

Bibliografia:

1. Huang CS, Oberbeck N, Hsiao YC, Liu P, Johnson AR, Dixit VM, Hymowitz SG. Crystal Structure of Ripk4 Reveals Dimerization-Dependent Kinase Activity. *Structure*. 2018 May 1;26(5):767-777.e5. doi: 10.1016/j.str.2018.04.002. PMID: 29706531.
2. Xu J, Wei Q, He Z. Insight Into the Function of RIPK4 in Keratinocyte Differentiation and Carcinogenesis. *Front Oncol*. 2020 Aug 14;10:1562. doi: 10.3389/fonc.2020.01562. PMID: 32923402
3. Ohyama K, Ohta M, Hosaka YZ, Tanabe Y, Ohyama T, Yamano Y. Expression of anti-Müllerian hormone and its type II receptor in germ cells of maturing rat testis. *Endocr J*. 2015;62(11):997-1006. doi: 10.1507/endocrj.EJ15-0370. PMID: 26354717.

OPTIMALIZACJA METODY PRZYGOTOWANIA PRÓBEK DO ANALIZ METODĄ TANDEMOWEJ SPEKTROMETRII MAS SPRZEŻONEJ Z CHROMATOGRAFIĄ CIECZOWĄ (LC-MS/MS) W CELU ZMNIEJSZENIA ILOŚCI MATERIAŁU POTRZEBNEGO DO IDENTYFIKACJI BIAŁEK OBECNYCH W CARGO EKTOSOMÓW

Magdalena Wilczak¹, Karolina Chudaszek (Modrzejewska)²

Opiekun: dr hab. Małgorzata Przybyło, prof. UJ³

dr hab. Sylwia Kędracka-Krok, prof. UJ⁴

¹Zakład Biochemii Glikokoniugatów, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie/ kierunek: biologia, II stopień, 2 rok; ²Zakład Biochemii Fizycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie/ kierunek: biofizyka, 4 rok; ³Zakład Biochemii Glikokoniugatów, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; ⁴Zakład Biochemii Fizycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Ektosomy to jedna z subpopulacji mikropęcherzyków błonowych (EVs, ang. *extracellular vesicles*) odgrywających istotną rolę w procesach fizjologicznych i patologicznych, w tym progresji nowotworów [1], dzięki międzykomórkowemu transportowi bioaktywnych cząstek. Możliwość ich izolacji z płynów ustrojowych czyni je ważnym źródłem potencjalnych biomarkerów. Ze względu na niewielki rozmiar, ich izolacja z próbek biologicznych i uzyskanie odpowiedniej ilości materiału do analiz proteomicznych jest sporym wyzwaniem metodologicznym. Celem niniejszych badań była optymalizacja metody przygotowania próbek EVs do późniejszej analizy ich proteomu metodą LC-MS/MS, co dzięki zmniejszeniu ilości potrzebnego białka, mogłoby ograniczyć kosztochłonność i czasochłonność badań.

W badaniach wykorzystano prawidłowe komórki tarczycy (Nthy-ori) i komórki anaplastycznego raka tarczycy (8305C), a uwalniane przez nie ektosomy zostały wyizolowane z wykorzystaniem wirowania różnicowego połączonego z filtracją próżniową. Próbki do analizy LC-MS/MS zostały przygotowane z wykorzystaniem zmodyfikowanej techniki SP3 lub techniki opartej na wykorzystaniu kolumnienek z filtrem (S-Trap). Wykorzystanie technologii SP3 do przygotowania próbek pozwoliło na identyfikację odpowiednio 410 i 558 białek w ektosomach uwalnianych przez komórki linii 8305C i Nthy-ori, natomiast technologii S-Trap pozwoliło na identyfikację odpowiednio 915 i 804 w cargo tych ektosomów. Dodatkowo przeprowadzono analizę ontologii genów.

MODEL 3D DO BADAŃ IN VITRO BIOLOGII NOWOTWORU TRZUSTKI- ANALIZA MIKROŚRODOWISKA W KONTEKŚCIE MACIERZY ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ

Aleksandra Bienia¹, Sylwia Drabik², Monika Wieliniec³

Opiekun: dr Martyna Krzykawska – Serda⁴

¹*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytet Jagielloński, Zakład Biofizyki, Biofizyka, Jednolite magisterskie, V rok studiów*

²*Wydział Biologii Uniwersytet Jagielloński, Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii, Neurobiologia, II rok II stopnia*

³*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytet Jagielloński, Zakład Biofizyki Molekularnej, Biofizyka, Jednolite magisterskie, V rok studiów*

⁴*Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytet Jagielloński, Zakład Biofizyki*

Nowotwory trzustki odróżnia bardzo specyficzne mikrośrodowisko, które prawdopodobnie jest jedną z głównych przyczyn słabej odpowiedzi na terapię [1]. Poznanie mikrośrodowiska a szczególnie komponentów macierzy zewnątrzkomórkowej pozwala lepiej zrozumieć strukturę oraz fizjologię nowotworu. Komórki nowotworowe hodowane za pomocą metody 2D tracą istotne właściwości dla rozwoju nowotworu. Model 2D w postaci monowarstwy zasadniczo nie odwzorowuje naturalnego środowiska i warunków wzrostu guzów. Utracona zostaje m.in. komunikacja pomiędzy komórkami, możliwość różnicowania i polaryzacji [2]. Proponowanym rozwiązaniem jest wykorzystanie sferoidów jako modelu 3D, który może przybliżyć strukturę guza nowotworowego i odwzorować relacje pomiędzy komórkami budującymi guz.

Celem pracy było określenie optymalnych warunków hodowli ludzkich i mysich gruczolakoraków przewodowych trzustki (PDAC) i scharakteryzowanie powstałych sferoidów. W badaniach wykorzystano 5 linii komórkowych nowotworu trzustki: PAN_02, PANC-1, AsPC-1, PANC 03.27, PANC 08.13. Sferoidy wybarwiono różnorodnymi metodami, w tym immunohistochemicznie i zobrazowano pod mikroskopem fluorescencyjnym. Wykonano wieloczynnikową analizę danych, która pozwoliła wybrać optymalne warunki hodowli oraz określić zdolności migracyjne i proliferacyjne. Zbadane interakcje między komórkami, a poszczególnymi składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej pozwoliły lepiej zrozumieć mechanizmy molekularne oraz cechy strukturalne i morfologiczne PDAC.

Bibliografia:

1. Feig C, Gopinathan A, Neesse A, Chan DS, Cook N, Tuveson DA. The pancreas cancer microenvironment. *Clin Cancer Res.* 2012;18(16):4266-4276. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-3114
2. Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, et al. 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures. *Arch Med Sci.* 2018;14(4):910-919. doi:10.5114/aoms.2016.63743

IDENTYFIKACJA KWASU INDOLILO-3-OCTOWEGO I OCENA WPLYWU WYBRANYCH CZYNNIKÓW NA JEGO PRODUKCJĘ PRZEZ OPORNY NA RTĘĆ ENDOSYMBIONT ROŚLINNY *PSEUDOMONAS PUTIDA*

Kamila Wójcik¹, Magdalena Trojańska¹, Elżbieta Pięta²

Opiekun: dr hab. Dariusz Latowski³

¹ Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin, Biotechnologia, I rok II stopnia

² Wydział Biologii, Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Biologia, I rok II stopnia

³ Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin

Kwas indolilo-3-octowy (IAA) jest ważnym fitohormonem regulującym wzrost i rozwój roślin [1]. Oprócz roślin, produkcja IAA jest również rozpowszechniona wśród bakterii ryzosferowych i endofitycznych [2]. Mikroorganizmy te zaliczane są do bakterii promujących wzrost roślin [3]. Metoda Salkowskiego jest podstawowym sposobem detekcji IAA, niemniej wykazuje niską specyficzność, nie pozwalając na odróżnienie IAA od pochodnych indolowych (IRC, *indole-related compounds*) [4]. Oporne na rtęć endosymbionty podbiału pospolitego, rosnącego na terenach zanieczyszczonych rtęcią, wykazały zdolność do produkcji IRC. Po badaniach przesiewowych, jako obiekt badań projektu wybrano izolat Hg5 *Pseudomonas putida*, u którego stwierdzono najwyższe stężenie IRC.

Celem niniejszego projektu jest identyfikacja IAA jako metabolitu izolatu Hg5, z wykorzystaniem HPLC-MS, uzupełniona o analizę transkryptomyczną, służącą identyfikacji ścieżki syntezy IAA. Przeprowadzone analizy umożliwiają określenie wpływu obecności Hg oraz dostępności tlenu na intensywność syntezy IRC.

Stężenie IRC wykryte metodą Salkowskiego dla izolatu Hg5 wyniosło 9 µg/ml w warunkach ograniczonej dostępności tlenu (w obecności i braku jonów Hg), zaś w warunkach tlenowych 24 µg/ml (brak jonów Hg) i 20 µg/ml (w obecności Hg). Analizy z wykorzystaniem HPLC-MS nie wykazały obecności IAA, bez względu na warunki hodowli. Prowadzone są pomiary mające na celu detekcję IRC i optymalizację metody rozdziału.

Bibliografia:

1. Y. Zhao, *Annu Rev Plant Biol* 61(3), 2010
2. C. Patten, *Can J Microbiol* 42(3), 2013
3. O.S. Olanrewaju et al., *World J Microbiol Biotechnol* 33(197), 2017
4. D. Goswami et al., *J Microbiol Methods* 110(2), 2015

WPLYW POLIMORFIZMU CYS23SER W OBSZARZE GENU KODUJĄCEGO RECEPTOR SEROTONINOWY 5-HT_{2C} NA HOMOMERYZACJĘ RECEPTORA ORAZ ODDZIAŁYWANIE Z LEKAMI O DZIAŁANIU ANTYPSTYCHOTYCZNYM W MODELU IN VITRO

Mateusz Majerek¹, Krzysztof Mrowiec¹, Izabela Ciurej², Anna Yakubovska³

Opiekun naukowy: dr hab. Sylwia Łukasiewicz⁴

¹ Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biochemii Fizycznej, Biochemia I rok II stopnia, ² Instytut zoologii i badań biomedycznych UJ, Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii, Neurobiologia II rok II stopnia, ³ Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biochemii Fizycznej, Biotechnologia molekularna I rok II stopnia, ⁴ Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biochemii Fizycznej

Wiele doniesień mówi o znaczeniu homomeryzacji receptorów GPCRs (ang. *G-protein coupled receptors*), do których zaliczany jest receptor serotoninowy 5-HT_{2C}. Proces ten wpływa na wiązanie ligandów, w tym leków antypsychotycznych, co ma znaczenie w farmakoterapii w leczeniu schizofrenii. Badania zwracają również uwagę na lekooporność wśród pacjentów chorych na schizofrenię, która może być związana z polimorfizmem receptora 5-HT_{2C}. Działania podejmowane w projekcie mają na celu poszerzenie wiedzy dotyczącej wpływu polimorfizmu Cys23Ser na homomeryzację receptorów 5-HT_{2C}. W ramach realizacji niniejszego projektu uzyskano konstrukty genetyczne pożądanych wariantów receptora serotoninowego 5-HT_{2C}, które zostały wykorzystane do wyprowadzenia odpowiednich linii komórek HEK 293 ze stabilną ekspresją badanych receptorów, w różnych kombinacjach. Dzięki testom qPCR i barwieniom immunofluorescencyjnym potwierdzono ekspresję i obecność receptorów na błonie komórkowej. Wykonano również eksperymenty pozwalające określić różnice we wtórnym przekazywaniu, po działaniu różnych antypsychotyków na badane receptory. W najbliższym czasie przeprowadzone zostaną doświadczenia umożliwiające śledzenie procesu homodimeryzacji różnych wariantów receptora 5-HT_{2C}, przy użyciu metody HTRF (ang. *Homogenous Time Resolved Fluorescence*), wykorzystującej zjawisko FRET (ang. *Förster Resonance Energy Transfer*) w połączeniu z rozdzielczym w czasie pomiarem fluorescencji.

WPLYW KARBAMYLACJI NA AKTYWNOŚĆ ENZYMATYCZNĄ NEPRYLIZYNY

Urszula Kałucka¹, Zuzanna Kurzejamska², Monika Katan³

Opiekun: mgr Marta Kamińska⁴, prof. dr hab. Piotr Mydel⁴

¹ *Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Mikrobiologii, Biotechnologia Molekularna, II rok II stopnia*

² *Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biochemii Komórki, Biotechnologia Molekularna, II rok II stopnia*

³ *Wydział Biologii, Biologia, I rok II stopnia*

⁴ *Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Mikrobiologii*

Neprylizyna (NEP) to enzym uczestniczący w regulacji homeostazy organizmu człowieka poprzez trawienie hormonów peptydowych. Jest ekspresjonowany jako białko błonowe, które może zostać uwolnione do krwi. NEP jest doskonałym kandydatem do karbamyłacji: modyfikacji potranslacyjnej polegającej na reakcji jonów cyjanianu z grupami α -aminowymi polipeptydów oraz ϵ -aminowymi reszt lizyny. Karbamyłacja występuje ze zwiększoną częstotliwością w stanach patologicznych: lokalnie podczas stanu zapalnego lub systemowo u osób cierpiących na niewydolność nerek. Karbamyłacja obniża ładunek cząstkowy białek, wpływając na ich strukturę i funkcję. Celem projektu było zbadanie czy NEP może ulegać tej modyfikacji i jak wpłynie ona na jej aktywność enzymatyczną.

Techniką western blot potwierdzono, iż białko NEP może ulegać karbamyłacji. Wykorzystując fluorogeny substrat syntetyczny zaobserwowano spadek aktywności enzymu w czasie jego ekspozycji na jony cyjanianu. Odnotowano również różnicę w szybkości trawienia angiotensyny 1-9 oraz substancji P przez natywną i karbamyłowaną formę enzymu. Z kolei ekspozycja ludzkich fibroblastów płucnych na jony cyjanianu spowodowała spadek ekspresji NEP.

Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że karbamyłacja wpływa na aktywność enzymatyczną neprylizyny, a obecność jonów cyjanianu ma wpływ na ekspresję neprylizyny w fibroblastach płucnych. Modyfikacja ta może zatem prowadzić do patologicznych wahań stężeń hormonów peptydowych, a w konsekwencji zaburzać homeostazę.

WPLYW CYJANOFAGÓW NA INTERAKCJĘ POMIĘDZY GATUNKAMI CYJANOBAKTERII TWORZĄCYMI ZAKWITY: *MICROCYSTIS AERUGINOSA* I *APHANIZOMENON FLOS-AQUAE*

Antonia Łobodzińska¹, Marta Bernasińska²

Opiekun: dr hab. Dariusz Dziga³

¹Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, Pracownia Metabolomiki, Biochemia, II rok II stopnia, ²Wydział Biologii UJ, Zespół Interakcji Roślin z Mikroorganizmami, Biologia, II rok II stopnia, ³Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, Pracownia Metabolomiki

Zakwity sinicowe występują na całym świecie i są powodowane eutrofizacją zbiorników wodnych. Do często dominujących rodzajów w wodach słodkich należą *Aphanizomenon* i *Microcystis*, które mogą produkować hepatotoksyczne mikrocyстыны (MC). Sukcesja tych gatunków jest uzależniona od czynników abiotycznych, zjawiska allelopatii, ale także w dużym stopniu od obecności cyjanofagów, które poprzez infekcję danego gatunku/szczepu mogą istotnie wpływać na skład i dynamikę mikrobiologicznej składowej ekosystemów wodnych. Powodując lizę komórek, bardzo istotnie wpływają na obieg substancji biogennych w układzie oraz prawdopodobnie stymulują wydzielanie allelopatycznych związków. Jednakże wpływ cyjanofagów na interakcje pomiędzy dominującymi gatunkami jest słabo poznany.

Celem niniejszego projektu jest opisanie wpływu lizy komórkowej powodowanej infekcją fagową na parametry wzrostu i produkcję toksyn w ko-kulturze obu gatunków sinic *A. flos-aquae* i *M. aeruginosa*. Wstępne wyniki pokazują, iż spontanicznie pojawiająca się oporność na fagi jest fenomenem powszechnym. Stężenie MC w hodowli *M. aeruginosa* wzrasta po infekcji fagowej, co spowodowane jest lizą komórek i uwolnieniem zgromadzonej w komórkach MC. Dotychczas uzyskane wyniki nie wykazały natomiast wpływu cyjanofagów na produkcję MC przez komórki zainfekowane/oporne. Kontynuacja badań w ramach niniejszego projektu pozwoli na uzyskanie bardziej kompletnego wglądu w interakcję między badanymi gatunkami i ich fagami.

STRUKTURALNA CHARAKTERYSTYKA ODDZIAŁYWAŃ POMIĘDZY PEX7 I JEGO KO-RECEPTOREM PEX5 ZAANGAŻOWANYMI W BIOGENEZĘ GLIKOSOMÓW *TRYPANOSOMA BRUCEI*

Artur Blat¹, Dajana Dominiak²

Opiekun: prof. dr hab. Grzegorz Dubin³

¹*Grupa badawcza Krystalografii Białek, Małopolskie Centrum Biotechnologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego, Biochemia, I rok II stopnia*

²*Zakład Biochemii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet
Jagielloński, Biochemia, I rok II stopnia*

Peroksosomy to otoczone pojedynczą błoną lipidową organella. Struktury podobne do peroksosomów zostały odkryte u wielu organizmów. Nazwane są w zależności od charakterystycznych reakcji biochemicznych, które w nich zachodzą.

U pierwotniaków *Trypanosoma* sp. występują wyspecjalizowane peroksosomy, zwane glikosomami. Zachodzi w nich glikoliza, która jest dla nich jedynym źródłem energii. Z powodu braku materiału genetycznego, enzymy glikosomalne syntezowane są na wolnych rybosomach w cytozolu, modyfikowane potranslacyjnie, a następnie transportowane do wnętrza glikosomów. Transport ten zachodzi przy wykorzystaniu białek zwanych Peroksynami (Pex).

Białka przeznaczone do transportu wewnątrz peroksosomu zawierają jeden z peptydów sygnałnych (PTS): typ 1 (PTS1) lub typ 2 (PTS2). PTS1 jest rozpoznawany przez Pex5, zaś PTS2 przez Pex7.

Pomimo, iż Pex7 funkcjonalnie przypomina Pex5, nie posiada on motywu WxxxY odpowiadającego za interakcję z kompleksem dokującym złożonym z Pex14 oraz Pex13, który znajduje się w błonie peroksosomu. Aby doszło do wiązania, zachodzić musi ono przez ko-receptor. W przypadku *Trypanosoma* sp. funkcję tego ko-receptora pełni Pex5.

W ostatnich latach pojawia się coraz więcej prac na temat biogenezy peroksosomów u *Trypanosoma* sp. Sporo wiadomo na temat Pex5 i Pex14 oraz interakcji pomiędzy nimi, jednak wciąż niewiele wiadomo na temat ścieżki sygnałowej angażującej PTS2.

Celem projektu była strukturalna charakterystyka oddziaływania Pex5-Pex7 u *Trypanosoma brucei*.