

POSTĘPY BIOCHEMII

PL ISSN
0032-5422

Advances in Biochemistry

TOM 38, NR 4, 1992

Jakub Karol Parnas,	138
Bolesław Skarżyński,	151
Włodzimierz Mozołowski	153
— Patroni nagród Polskiego Towarzystwa Biochemicznego	
Redagowanie RNA	156
Introny, wiroidy, rybozymy	164
Kwasy nukleinowe: struktura a funkcja	171
Białko C w układzie krzepnięcia i fibrynolizy	178
Pirofosfatazy transportujące protony	183
Sprawozdanie Zarządu Głównego XIII kadencji	190

oferuje:

odczynniki diagnostyczne
i biochemiczne

(ceny katalogowe)



Boehringer Mannheim GmbH

odczynniki chemiczne

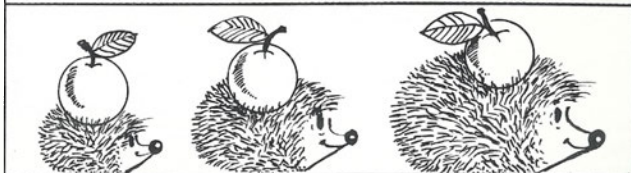
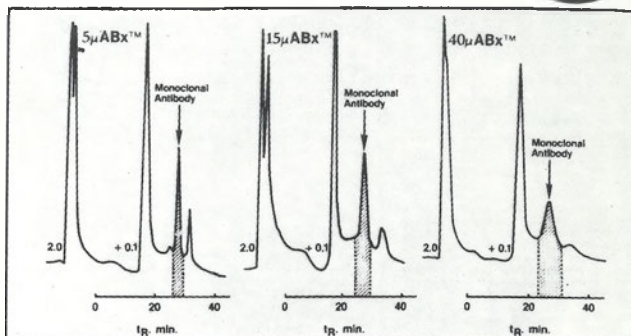
(ceny katalogowe)

Riedel-de Haën

Über 160 Jahre Erfahrung in der Chemie

Biuro Handlowe:
PL-01-113 WARSZAWA
ul. Ulrychowska 26
Tel. Fax 37-42-35
Tlx 6105756 MUL LU

**Jednakowa powierzchnia
wszystkich ziaren
BAKERBOND**

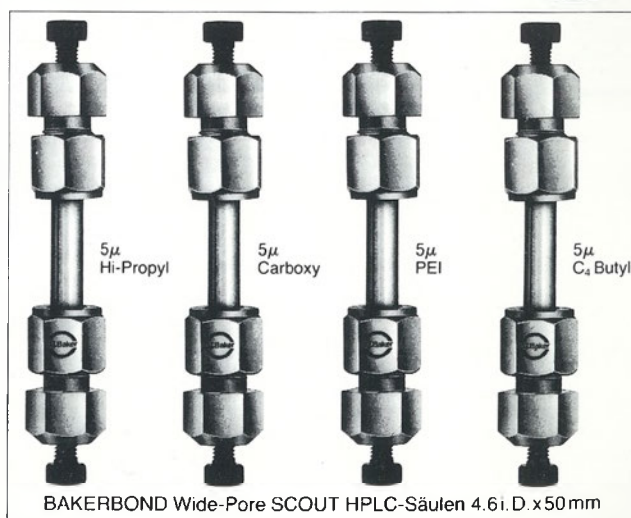


Szeroka gama zastosowań faz BAKERBOND

Chemicznie związane fazy do chromatografii cieczowej BAKERBOND niezależnie od granulacji krzemionki 5 µm, 15 µm, 40 µm, mają zawsze jednakowe chemiczne pokrycie powierzchni. Jednolitość pokrycia grupami funkcyjnymi jest gwarantowana dla wszystkich serii produkcyjnych. Umożliwia to uzyskiwanie stałych wyników oraz łatwość przejścia od procedury analitycznej, poprzez rozdział preparatywny do oczyszczania na skalę przemysłową. Informacje szczegółowe:

EUROCOLOR Chemikalia Laboratoryjne, skr. poczt. 46,
90-980 Łódź-7, tel. 81 31 40, tlx 88 53 67 zab.
fax 81 52 83 (Skład celny ul. Tylna 3)

**Szybki rozdział białek!
Cztery kolumny HPLC
BAKERBOND W-P SCOUT**



BAKERBOND Wide-Pore SCOUT HPLC-Säulen 4.6i. D. x 50mm

Wybór metody + krótka analiza HPLC

Za pomocą kolumn z wypełnieniem szerokoporowatym BAKERBOND W-P SCOUT (4.6 x 50 mm) można w krótkim czasie opracować metodę rozdziału oraz przeprowadzić analizę. Kolumna Hi-propylowa ma właściwości uniwersalne i nadaje się do rozdziału wszystkich białek. Przy pomocy kolumny karboksylowej (WCX) można rozdzielać białka o punkcie izoelektrycznym 6-12. Kolumna PEI (WAX) szczególnie dobrze rozdziela białka mające punkt izoelektryczny 7-3. Dla hormonów, stabilnych białek i niskocząsteczkowych peptydów o ilości reszt aminokwasowych < 100 poleca się kolumnę butylową C₄. Każda kolumna ma pojemność 90 mg/g w jednym rozdziale chromatograficznym.

Broszury na temat szerokoporowatych faz BAKERBOND W-P można otrzymać w:
EUROCOLOR Chemikalia Laboratoryjne, skr. poczt. 46,
90-980 Łódź-7, tel. 81 31 40, tlx 88 53 67 zab.

WYDAWCA

Editor
POLSKIE TOWARZYSTWO
BIOCHEMICZNE

Polish Biochemical Society

16 Freta Street

00-227 Warszawa

Poland

Drukarnia Naukowo-Techniczna

Mińska 65

03-828 Warszawa

REDAKCJA

Editorial Board

REDAKTOR NACZELNY

Editor in chief

ZOFIA ZIELIŃSKA

tel. 31-24-03

REDAKTORZY

Editors

GRAŻYNA PALAMARCZYK

tel. 49-04-15

ANDRZEJ JERZMANOWSKI

tel. 200-381 w. 488

JACEK KUŹNICKI

tel. 659-85-71

fax: (22) 22-53-42

JOLANTA GRZYBOWSKA

tel. 10-50-71 w 155

RECENZENCI ZESZYTU

Referees of this issue

ZENON ALEKSANDROWICZ

(Gdańsk)

JAN BARCISZEWSKI

(Poznań)

ANDRZEJ JERZMANOWSKI

(Warszawa)

MARIA KOPEĆ

(Warszawa)

EWA LENARTOWICZ

(Warszawa)

GRAŻYNA PALAMARCZYK

(Warszawa)

ANNA PRZYKORSKA

(Warszawa)

ADRES REDAKCJI

Address

REDAKCJA KWARTALNIKA

„POSTĘPY BIOCHEMII”

INSTYTUT BIOLOGII

DOŚWIADCZALNEJ

im. M. Nenckiego PAN

ul. Pasteura 3

02-093 Warszawa

tel (2) 659-85-71 w. 332

fax: (22) 22-53-42

telex: 81-48-92

SPIS TREŚCI CONTENTS

- Jakub Karol Parnas — Patron nagrody Polskiego Towarzystwa Biochemicznego za najlepszą wykonaną w kraju pracę doświadczalną z zakresu biochemii**
TADEUSZ MANN, BOGUSŁAW HALIKOWSKI, TADEUSZ KORZYBSKI, JAN OSKAR PARNAS, LESZEK TOMASZEWSKI, WŁODZIMIERZ ANTYPOROWICZ, STANISŁAW HUBL, JANI-NA KWIATKOWSKA 138
- Bolesław Skarżyński — Patron nagrody Polskiego Towarzystwa Biochemicznego za najlepszy artykuł opublikowany w kwartalniku Postępy Biochemii**
WŁODZIMIERZ S. OSTROWSKI 151
- Włodzimierz Mozółowski — Patron nagrody dla młodych biochemików za najlepsze i najlepiej przedstawione doniesienie zjazdowe**
MARIUSZ ŻYDOWO 153
- Redagowanie RNA**
RNA editing
CEZARY ŻEKANOWSKI 156
- Introny grupy I i II, satelitarny RNA wirusów roślinnych, wiroidy i struktury tRNA-podobne jako wybrane przykłady do rozważań nad ewolucyjną rolę RNA**
The introns of group I and II, the satellite RNAs of plant viruses, viroids and tRNA-like structures as chosen examples for discussion of the role of RNA in evolution of the present-day genetic systems
MAŁGORZATA JAKUBOWICZ 164
- Zależności funkcji kwasów nukleinowych od struktury**
Relations between structure and function of nucleic acids
MIROŚŁAWA BARCISZEWSKA, JAN BARCISZEWSKI 171
- Rola białka C w układzie krzepnięcia i fibrynolizy**
The role of protein C in coagulation and fibrinolytic systems
IWONA FIJAŁKOWSKA, ANNA BABIŃSKA, CZESŁAW CIERNIEWSKI 178
- Błonowe pirofosfatazy transportujące protony**
Membrane-bound proton-translocating pyrophosphatases
STANISŁAW KOWALCZYK 183
- Sprawozdanie Zarządu Głównego XIII kadencji Polskiego Towarzystwa Biochemicznego**
Report of the Executive Committee of the Polish Biochemical Society 190
- Zeszyty 3 i 4 tomu 38 (1992) Kwartalnika Postępy Biochemii zostały wydane z pomocą finansową Komitetu Badań Naukowych**

Kam: NBP V Oddział Histoł. w Warszawie Nr 1339-0-280

Minie wkrótce trzydzieści lat od ustanowienia przez III walne Zebranie Członków Polskiego Towarzystwa Biochemicznego dorocznych nagród: imienia **Jakuba Karola Parnasa** za najlepszą pracę doświadczalną wykonaną w kraju oraz imienia **Bolesława Skarżyńskiego** za najlepszy artykuł opublikowany w kwartalniku *Postępy Biochemii*, a także ustanowienia konkursu dla młodych biochemików na najlepsze i najlepiej przedstawione doniesienie zjazdowe. Nagrodę dla młodych biochemików nazwano później imieniem **Włodzimierza Mozołowskiego**. Życiorysy i przeglądy naukowych osiągnięć Patronów naszych nagród były już dawniej drukowane na naszych łamach, w encyklopediach i wydawnictwach biograficznych. W bieżącym zeszycie *Postępów Biochemii* przedstawiamy Ich sylwetki poprzez wspomnienia i refleksje uczniów i współpracowników.

JAKUB KAROL PARNAS

1884—1949

Patron nagrody Polskiego Towarzystwa Biochemicznego za najlepszą wykonaną w kraju pracę doświadczalną w dziedzinie biochemii.



Ryc. 1 Profesor Jakub Karol Parnas, fotografia z lat dwudziestych

Czcigodna Pani,

Mam zaszczyt powiadomić Panią, że na zebraniu członków Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, które odbyło się w Łodzi w dniu 6 września 1963r. zapadła uchwała następującej treści :

" III Zwyczajne Walne Zebranie Członków Polskiego Towarzystwa Biochemicznego postanawia iż doroczną nagrodą Towarzystwa za najlepszą pracę doświadczalną z zakresu biochemii wykonaną w kraju nazywać się będzie nagrodą imienia

JAKUBA KAROLA PARNASA

jednego z największych biochemików polskich i światowych, nauczyciela i wychowawcy polskich kadr biochemicznych."

Proszę przyjąć wyrazy mego
głębokiego szacunku i poważania

Prof.dr Bronisław Filipowicz
Prezes Polskiego Tow. Biochemicznego

List adresowany do pani Renaty Parnasowej wdowy po Profesorze.

W latach 1921—1941 profesor chemii lekarskiej w Uniwersytecie Jana Kazimierza we Lwowie.

Wyczerpująca biografia J.K. Parnasa i przegląd Jego osiągnięć naukowych w opracowaniu Włodzimierza S. Ostrowskiego ukazały się w 32 tomie *Postępów Biochemii* (335—352) w 1986 roku. Artykuł pt. „The Parnas School — 50 Years Ago” ogłosili Cecylia i Tadeusz Mannowie *TIBS*, 6, 1981. Noty biograficzne w redakcji Tadeusza Korzybskiego można znaleźć m.in. w następujących wydawnictwach: *Wkład Polaków do Nauki* (225—230) 1967, *Dictionary of Scientific Biography* (326—327) 10, 1974, *Słownik Biologów Polskich* (411—412) 1987, oraz w redakcji Romana K. Meissnera notę w książce pt. *Polski Wkład w Medycynę Światową* (118—120) 1989. *Postępy Biochemii* publikowały wspomnienia J. Hellera i W. Mozołowskiego w tomie 4 (5—8) w 1958 roku oraz Wandy Mejbaum w tomie 32 (261—264) w 1986 roku. Janina Opieńska-Blauth w książce pt. *Drogi i spotkania*, w rozdziale pt. *Lata wojny*, wspomina także osobowość profesora Parnasa oraz ludzi z Jego otoczenia (Wyd. Lubelskie, 1979).

Obecnie przedstawiamy wspomnienia i refleksje, jakie przygotowali: Tadeusz Mann z Cambridge, Bogusław Halikowski ze Szczecina, Leszek Tomaszewski, Włodzimierz Antyporowicz i Stanisław Hubl z Warszawy oraz Janina Kwiatkowska z Wrocławia. Publikujemy też wykład profesora Parnasa z 1941 roku, odtworzony ze stenogramu przez Tadeusza Korzybskiego, a także dwa teksty nadesłane przez Jana Oskara

Parnasa, chirurga, mieszkającego w Człuchowie. Pierwszy tekst stanowi wspomnienia syna o Ojcu nauczycielu, drugi jest rzeczową relacją o losach Ojca, profesora Jakuba Karola Parnasa.

Zofia Zielińska

Tadeusz Mann*

Słowo z Cambridge

Lata trzydzieste były zapewne najbardziej aktywnym naukowo okresem w życiu Parnasa. Każdy kto, jak ja sam, miał szczęście współpracować z Nim w tym czasie, pozostaje pełen podziwu dla jego zdolności kierowniczych, jego głębokiej wiedzy w dziedzinie chemii i fizjologii, jego wyjątkowej pomysłowości oraz umiejętności planowania doświadczeń, jego wspaniałej encyklopedycznej pamięci. Te talenty pozwoliły Parnasowi władać mistrzowsko kilku językami, pamiętać nazwiska i twarze niezliczonych uczniów, cytować długie fragmenty greckiej i łacińskiej poezji, których nauczył się jako chłopiec, a także zasypywać swych słuchaczy gradem faktów naukowych i chemicznych wzorów.

Jako nauczyciel Parnas działał w najwyższym stopniu pobudzająco. Jego podręcznik biochemii napisany

po polsku jest dziełem znakomitym**. Czasem podczas wykładu, poniesiony entuzjazmem, omawiając skomplikowane mechanizmy reakcji chemicznych (które zawsze ilustrował pomysłowymi demonstracjami), zdawał się zapominać, że tylko nieliczni studenci zdolni są podążać za jego myślą. Człowiek o wyjątkowo potężnej sylwetce, zwykł był rozweselać swych studentów z wydziału lekarskiego podkreśleniem, że żadne dostępne tabele nie zawierają danych do obliczenia metabolizmu podstawowego osoby jego wzrostu i tuszy. Jednakże, tak silna budowa nie przeszkadzała mu konstruować i obsługiwać najbardziej delikatne instrumenty i urządzenia.

* Profesor, dr med., Ph. D., D. Sc., F. R. S., liczne członkostwa honorowe, także członek zagraniczny PAN, w latach 1928—1935 uczeń i asystent profesora Parnasa. Od 1935 w Cambridge (Anglia).

** Był to pierwszy napisany po polsku podręcznik biochemii wydany w 1922 roku. Tadeusz Mann pisze w swej autobiografii: Książka Parnasa pt. „Chemja Fizjologiczna z szczególnym uwzględnieniem fizjologii zwierzęcej. Cz. I. Podstawy chemiczne fizjologii” została dla mnie zawsze wzorem podręcznika naukowego. Specjalnie dumny byłem kiedy w szereg lat później, już w czasie pobytu w Cambridge, otrzymałem od prof. Parnasa zaproszenie do napisania kilku rozdziałów do jego drugiej książki. Ukazała się ona drukiem w roku 1937-ym, pod tytułem „Chemia fizjologiczna — podręcznik dla lekarzy i studentów medycyny, biologów, chemików i farmaceutów”.



Ryc. 2 Przed zakładem Chemii Lekarskiej przy ul. Piekarskiej 52 we Lwowie, 1929.

Stoją: Józef Nuckowski, J. Jaworska, de Tesseyre, W. Chrząszczewski, W. Lewiński, P. Ostern, C. Lutwak (Mannowa), Jędrrek
Siedzą: Wł. Mozołowski, A. Klisiecki, J. K. PARNAS, J. Heller, U. Mroczkiewicz oraz J. Sieniawski, T. Mann, K. Wajda.

Nobel, którego nie było**

... gdyby wojna nie przerwała działalności Profesora Jakuba Parnasa — byłby on niewątpliwie pierwszym polskim laureatem nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny.

* Prof. dr hab. med., członek rzeczywisty PAN, pediatra, Szczecin, asystent profesora Parnasa w latach trzydziestych, pozostawał z Nim w kontakcie korespondencyjnym także w latach czterdziestych.

** Fragment wypowiedzi w dyskusji podczas sesji nt. Lwowskie Środowisko Naukowe w latach 1939—1945, PAN, Instytut Historii Nauki, Oświaty i Techniki, Warszawa, 1992, Wyd. III, str. 134.

Nobel 1992

Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny otrzymali biochemicy amerykańscy Edmond H. Fischer i Edwin G. Krebs w uznaniu ważności odkrycia i opisanie — w latach pięćdziesiątych — procesów fosforylacji i defosforylacji białek enzymatycznych, jako mechanizmu regulacji aktywności enzymów. Ich badania dotyczyły fosforylasy glikogenu i kinazy fosforylasy. E. G. Krebs był w swoim czasie uczniem Carla F. oraz Gerty T. Coriów, uhonorowanych nagrodą Nobla w 1947 roku za wykrycie przebiegu katalitycznych przemian glikogenu. Enzymatyczne fosforylacje w procesach fermentacji alkoholowej i mięśniowej glikogenolizy badano w pracowni J. K. Parnasa w latach 1934—1939 (przykładowo podane publikacje zobacz w odnośniku 3 na stronie 142). W jednym z najbliższych zeszytów Postępów Biochemii zamierzamy opublikować szersze omówienie badań i osiągnięć tegorocznych Noblistów.

Jakub Karol Parnas

Rozwój biochemii w okresie dwudziestolecia 1921—1941*

Chcę mówić o postępach biochemii: z jakiego jednak punktu wyjść, od jakiego punktu liczyć te postępy? Zdawało mi się, że dobrze będzie wziąć osiągnięcia ostatnich 20 lat. Przed 20 laty miałem tutaj odczyt o witaminach. Było to wtedy, kiedy po wielkiej wojnie zaczęły dopiero nadchodzić wiadomości o postępach w nauce o witaminach¹ dokonanych w czasie między 1914 i 1920, bo gdy wielka wojna się zaczynała, wiedzieliśmy tylko o tym co nazywa się witaminem B; rysował się już witamin C, ale w roku 1920 liczba tych ciał zwiększyła się i mogłem wtedy opowiedzieć już o witaminie A. Rysowały się zarysy witaminu D. Ale gdy przeglądam artykuł, który wynikł z tego odczytu, to widzę, jak bardzo niewiele o tych witaminach

wiedzieliśmy. Po prostu nie znaleźliśmy istoty żadnego z nich. Wiedzieliśmy, gdzie one występują, jak giną, jak rozkładają się, jak można je zakonserwować. Wiedzieliśmy jakim objawem chorobowym zapobiega ich podawanie, ale nic więcej. Dziś możemy powiedzieć że istota wszystkich ciał witaminowych jest znana. Są one w drodze syntezy otrzymywane po określeniu ich konstytucji. Znamy ich mechanizm — działania fizjologicznego. Wiemy w jakich procesach przemiany materii biorą one udział. Ogólnie powiedzieć by można tak, że jeżeli porównamy postępy w rozmaitych naukach, to tylko dwie dziedziny mogą się chlubić postęпами tak rewolucyjnymi: biochemia z jednej strony i fizyka budowy atomu z drugiej. I dodamy jeszcze chemię organiczną, szczególnie w tych dziedzinach, które są związane z nową epoką nauki o budowie atomu.

Co jest podstawą postępów biochemicznych? Przede wszystkim coraz większa świadomość rozwiązywalności zagadnień. Świadomość, że substancje biologicznie czynne, na przykład, dadzą się wyosobnić, chociaż nieraz kosztem bardzo wielkich wysiłków. To co dawniej robiono w badaniach nad ciałami radioaktywnymi, to dziś robi się badając substancje biochemiczne. Pierwsze przeróbki nieraz trzeba prowadzić za pomocą takiej aparatury, jakiej dawniej używały tylko fabryki. Z drugiej strony, zaznaczył się rozwój metod analitycznych, które wymagają nieraz tylko miligramów albo zaledwie ułamków miligramu. Praca Fritza Kögla nad auksynami, który izolował dwie czynne substancje i określił ich strukturę, była przeprowadzona z użyciem 400 mg substancji: zrobiono wiele przeróbek, wytworzono wiele pochodnych, zrobiono dziesiątki analiz. Potem powstały zupełnie nowe metody badania. Roentgenografia umożliwiła badanie struktury ciał białkowych i wykrycie takich własności budowy tych ciał, których chemiczną drogą nigdy nie możnaby było odkryć.

Chcę również powiedzieć o innej nowej metodzie: o syntezie nowych sztucznych radioaktywnych substancji. Metoda ta umożliwia dziś, dawniej nigdy nieosiągalne, odkrycia. Można wytworzyć sztuczną drogą fosfor promieniotwórczy. Fosforem tym możemy naznaczyć związki fosforowe *in vivo* i w ten sposób śledzić jego drogi w organizmie. Metoda więc syntezy sztucznych radioaktywnych atomów umożliwiła nam dojście do tego rodzaju niezwykłych osiągnięć. Już zupełnie zdumiewające są wyniki, które duński badacz Hevesy (György Hevesy, pierwszy otrzymał P³², No-

* Odczyt Jakuba K. Parnasa wygłoszony w roku 1941 we Lwowie, odtworzony ze swojego stenogramu przez Tadeusza Korzybskiego, przeznaczony dla przedstawienia — po 51 latach — na posiedzeniu Polskiego Towarzystwa Historii Medycyny i Farmacji w dniu 28 kwietnia 1992 r. w Warszawie. Tekst publikujemy z jego upoważnienia. Prof. dr med. Tadeusz Korzybski współpracownik profesora Parnasa w latach 1937—1941, pozostawał z nim w kontakcie korespondencyjnym także w drugiej połowie lat czterdziestych.

bel 1943, przyp. Red.)² zdołał osiągnąć. Mógł on wykazać w jakim czasie może się wymienić fosfor zębów i to nie tylko w szybko rosnących siekaczach szczura, ale i u człowieka. Mianowicie 1% fosforu zawartego w zębie wymienia się na nowy fosfor w ciągu 250 dni. Ale nie tylko zębina, ale i szkliwo ulega ciągłej przemianie.

Wreszcie czynnikiem, który przyczynił się do rozwoju biochemii jest to, że nastąpił większy związek między kliniką i między teoretycznymi badaniami chemicznymi. Klinika daje cenne obserwacje, chemia z drugiej strony dostarcza substancji czystych i umożliwia eksperymenty dokładniej określone. Wszystko to potwierdza powiedzenie Kuhna (Richard Kuhn Biochemik badacz witamin, Nobel 1938, przyp. Red.), że pola dla badań długo jeszcze wyczerpane nie będą.

Jak wygląda sprawa pierwiastków, z których organizm się składa? O fosforze mówiłem przed chwilą. Ale w ostatnich 20 latach rozwinęła się chemia związków fosforowych biorących udział w przemianach tkankowych. W beztlenowej przemianie mięśnia między glikogenem a kwasem mlekowym znamy około 20 ciał pośrednich³. Reakcję, w której z jednej cząsteczki cukru powstają dwie cząsteczki kwasu mlekowego, jeszcze niedawno pisano jako jedną reakcję. Dziś wiemy, że jest to ciąg reakcji, w których w ostatecznym bilansie z jednej cząsteczki glikozy (t.j. glukozy — profesor Parnas propagował termin *glikoza* — przyp. Red.) powstają dwie cząsteczki kwasu mlekowego. Wszystkie ciała, które leżą między tymi dwoma biegunami są to ciała fosforowe.

W tym okresie rozwinęła się również chemia związków jodowych. Odkrycie tyroksyny zostało związane z tyrozyną. Dawniej nie wiadano, że druga jest częścią pierwszej. Chemizm związków żelaza rozwinął się bardzo. Odkryto związek żelaza, cytochrom, który bierze udział w utlenieniach przez to, że przenosi tlen na związki organiczne. Dawniej wiadano, że magnez jest częścią składową chlorofilu, dziś wiemy, że w fermentacji alkoholowej bierze również udział magnez jako konieczny aktywator. Zupełnie jako nowy pierwiastek weszła miedź, jeżeli zwierzęciu nie podaje się miedzi w pokarmach, to zwierzę dostaje anemii. Mann (Tadeusz Mann, porównaj przypis Red. na str. 139) odkrył w krwinkach związek białkowo-miedziowy, który zawiera mniej więcej tyle miedzi ile żelaza zawiera hemoglobina. Tenże Mann wykazał, że enzym oksydaza polifenolowa jest też związkiem miedziowym. Okazało się, że kobalt jest niezbędnym elementem. W Australii w pewnych dystryktach owce zapadają na chorobę, która wyrządza ciężkie szkody w hodowli. Okazało się, że w tych dystryktach w glebie brakowało kobaltu. Kiedy zaczęto glebę nawozić kobaltem, to choroba owiec została zwalczona. Stwierdzono, że i cynk jest stałym składnikiem organizmów. Jest on częścią karbonylhydrazy, enzymu, który zamienia kwas węglowy na bezwodnik węglowy. W każdym z tych przypadków trzeba było przerobić tony materia-

łu, aby uzyskać niewielką ilość substancji poszukiwanych.

Wśród związków chemicznych w organizmie białko odgrywa ważną rolę. Chemia białka poczyniła znaczne postępy. Liczba aminokwasów wchodzących w skład białka nie zwiększyła się znacznie. Odkryto treoninę i metioninę. Stwierdzono egzogenność jednych aminokwasów i endogenność innych. Bez waliny na przykład szczury popadają w taniec nieustający. Dalej odkryto glutation, który bierze udział w procesach oksydoredukcyjnych. Prace Krebsa (Sir Hans Adolf Krebs badacz metab. cukrów, oddych. tkank. Nobel 1953, przyp. Red.) wykazały genezę mocznika. Proces tworzenia się mocznika nie jest tak prosty, jak myśmy to sobie wyobrażali. Trzeba do tego aminokwasu ornityny, która daje cytrulilinę potem argininę, z której dopiero arginaza (dawno znany enzym) odszczepia mocznik. Potem na nowo z ornityny odtwarza się arginina. Tutaj właśnie odkryto rolę koenzymów. Są to substancje, które są tworzone w komórkach. Odgrywają one podobną rolę jak kwas azotowy przy fabrykacji kwasu siarkowego.

Co do białka samego, to prace Svedberga, który używa wielkich centryfug, umożliwiły oznaczenie masy cząsteczkowej ciał białkowych. Te masy cząsteczkowe poprzednio były zupełnie nieznanne. Te masy cząsteczkowe okazały się być w dość prostym porządku ułożone. Jednostką jest jednostka 16.700 razy większa od atomu wodoru. Między białkami znajdujemy takie, które mają albo taką właśnie wielkość, albo dwa razy większą, albo cztery razy, osiem, szesnaście, trzydzieści dwa. Wykazano, że dla niektórych białek ich masy cząsteczkowe dochodzą do pięciu milionów. Wirusy (także skrytalizowane) są to ciała białkowe wywołujące choroby nie tylko roślin, ale i zwierząt. Są to ciała o masie cząsteczkowej 25 000 000. Tutaj dochodzimy do dziedziny, gdzie zacierają się granice między „żywym” i „nie żywym”. Nie tylko wielkość masy cząsteczkowej, ale i postać cząsteczki poznaliśmy w dużym stopniu. Można na podstawie zjawiska podwójnego załamania światła określić postać cząsteczki białka. Cząsteczki, które mają postać kulistą nie dają tego zjawiska podwójnego załamania. Rentgenografia białka (w postaci krystalicznej) wykazała rzeczy zupełnie uchwytnie. Za pomocą tej metody można wykazać, że cząsteczka jest połałdowana lub wyprostowana. Hormon insulina jest ciałem białkowym. Wielkie postępy w przemianie białka zawdzięczamy Rudolfowi Schoenheimerowi, który potrafił śledzić przemiany podanych soli amonowych w organizmie, znakowanych za pomocą ciężkiego azotu. Jeden aminokwas wymienia azot, a inny nie. Braunsztein (Aleksander E. Braunsztein, Parnas mówi tu o procesach transaminacji, przyp. Red.) objaśnił, w jaki sposób odbywa się wymiana azotu między różnymi związkami.

W dziedzinie cukrów nastąpiło zupełnie przestawienie wyobrażenia o budowie związków prostych: Ha-

worth (Walter Norman Haworth, Nobel, 1937 przy. Red.) wykazał budowę cykliczną pięcio- i sześćo-członową. Wykryty witamin C okazał się prostą pochodną cukrowców. Po roku sporządzono go syntetycznie i wprowadzono do praktyki lekarskiej.

W dziedzinie związków purynowych (Mowa tu o nukleotydach adeninowych, przyp. Red.) odkryto związki, które różnią się tylko miejscem, w którym jest przyłączony atom fosforu, albo na trzecim, albo na piątym miejscu cukrowców. Ciała te okazały się koenzymami oksydoreduktaz. Do tych związków należą i kozymaza, (Dziś: NAD, przyp. T.K.) która przenosi wodór z jednej substancji na drugie. Substancja ta jest ważna dla procesów oksydacyjnych, jak i dla przemian beztlenowych. W skład tego związku wchodzi kwas nikotynowy, mianowicie amid kwasu nikotynowego. Substancja ta okazała się witaminem, jego brak powoduje pellagrę. Witamin B₁ skuteczny przeciw chorobie Beri-Beri, jest już dziś dokładnie pokazany i synteza jego dokonana. Jego związek z dwoma fosforami — to kokarboksylaza. Rola tego witaminu jest dość dokładnie w dwóch punktach określona: pierwszy to przemiana kwasu pirogronowego w jego aldehyd, drugi to udział w transaminacjach.

Wśród tłuszczowców grupa cerebrozydów została uporządkowana. Ciała te są zbudowane zupełnie podobnie. Tylko małe różnice odróżniają je od siebie.

Na tym kończy się zachowany stenogram.

¹ W odczycie wygłoszonym 29 grudnia 1937 roku na dyskusyjnym posiedzeniu Oddziału Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego w Warszawie „W sprawie polskiej terminologii fizjologicznej” J. K. Parnas kwestionował stworzony przez Kazimierza Funka termin „witamina”, jako chemicznie niesłuszny. Ze względu jednak na stopniowe przyjmowanie się tego terminu proponował złagodzić błędność tej nazwy „przez nadanie rodzaju męskiego „*witamin*”, a nie „*witamina*” dla tych ciał, które nie są zasadami.”

² G. Hevesy, Węgier pracujący w Instytucie Teoretycznej Fizyki w Kopenhadze. W laboratorium Parnasa w U.J.K. we Lwowie zastosowano P³² ortofosforan do badania glikogenu i glikolizy: Hevesy G., Baranowski T., Guthke J. A., Ostern P., Parnas J. K. — Untersuchungen über die Phosphorübertragungen in der Glykolyse und Glykogenolyse (1938) Acta Biol. Expr. 12, 34—39

³ Parnas nawiązuje tu ogólnikowo do odkryć dokonanych pod jego kierunkiem w Zakładzie Chemii Lekarskiej U.J.K. w latach 1934—1939. Dotyczyły one zjawiska enzymatycznych fosforylacji w procesach mięśniowej glikogenu i glikolizy oraz w procesie drożdżowej fermentacji alkoholowej: Parnas J. K., Ostern P., Mann T. — Über die Verketung der chemischen Vorgänge in Muskel. (1934) Biochem Z. 272, 64—70; Parnas J. K., Baranowski T. — Sur les phosphorylations initiales du glycogène. (1935) C. R. Soc. Biol. 120, 307—310; Parnas J. K., Ostern P. — Le mécanisme de la glycogénolyse. (1936) Bull. Soc. Chim. Biol. 18, 1471—1492; Parnas J. K. — Über die enzymatischen Phosphorylierungen in der alkoholischen Gärung und in der Muskelglykogenolyse (1938) Enzymologia 5, 166—184; Korzybski T., Parnas J. K. — Observation sur les échanges des atomes du phosphore renformés dans l'acide adénosinetriphosphorique, dans l'animal vivant, à l'aide du phosphore marqué par du radiophosphore p³². (1939) Bull. Soc. Chim. Biol. 21, 713—716

*Jan Oskar Parnas**

Syn o Ojcu — Nauczycielu

Jedną z cech mego Ojca, którą postawiłbym na pierwszym miejscu była życzliwość i opiekuńczość wobec młodzieży szkolnej, studentów oraz swoich młodych współpracowników w Zakładzie. Nie znosił „pozoractwa”, prób wyłgiwania się, wychwytywał to w mig. Dobroć i życzliwość w jakimś sensie emanowała z jego postaci. Był to mężczyzna bardzo wysoki, tęgi, o twarzy niemal zawsze pogodnej. Bardzo szybko przełamywał dystans jaki, w sposób mimowolny, jego postać narzucała rozmówcom. Był bardzo uważnym słuchaczem, nigdy, ale to nigdy nie przerywał wywodów. Może dlatego na czoło moich wspomnień o Ojcu wysuwa się Jego rola jako mego nauczyciela. Przede wszystkim uczył mnie jak żyć aby dorównywać lepszym ode mnie. Miało to być, jak mi się wydaje przygotowanie do osiągnięcia perfekcji w wykonywanym kiedyś w przyszłości zawodzie.

Nie Ojciec, lecz Matka była osobą, której zdawałem relację z tego co robiłem i czego się uczyłem w szkole. Zdawało mi się, że Ojciec, jakby nie był tym szczególnie zainteresowany. Ale owo zainteresowanie było i wzrastało w miarę jak przechodziłem z klasy do klasy. Byłem uczniem VIII-go Gimnazjum im. Kazimierza Wielkiego we Lwowie, gdzie wykładali profesorowie często ze stopniami naukowymi polskich uniwersytetów, o najwyższych kwalifikacjach pedagogicznych, o olbrzymiej — jak to wówczas bywało — wiedzy, i to nie tylko z zakresu własnej dyscypliny. Ojciec bardzo wysoko ich cenił, miewał jednak wątpliwości, czy wiedza przez nich przekazywana dociera do mnie we właściwy sposób. Stąd rozmowy o tym czego w tej czy innej dziedzinie się nauczyłem, z czego byłem pytany, skąd obniżone stopnie i.t.p.

Dwa razy w tygodniu spędzałem z Ojcem wiele godzin: w pozostałe dni było to trudne, bo Ojciec jechał do Zakładu (zawsze dorożką) na godzinę dziewiątą, a wracał około ósmej wieczorem (zawsze piechotą). Sobota i niedziela była poświęcona Matce i mnie. W sobotę po obiedzie i po krótkiej drzemce szedł ze mną do miasta na „sprawunki”. Trasa była niezmiennie ta sama: ulica Długosza obok Uniwersytetu, ulica Akademicka, plac Halicki, ulica Halicka, Rutkowskiego, Ormiańska, Legionów i Batorego. I to nie bez przyczyny. Na tej trasie bowiem były księgarnia Gubrynowicza, w pobliżu sklep z papeterią Krawiańskiego, gdzie Ojciec kupował (zawsze osobiście) papier, przybory do pisania, a nade wszystko oglądał wieczne pióra, czy aby nie pokazały się nowe modele. Nowym wiecznym piórem szczególnie Watermana, cieszył się

* W 1941 roku ewakuowany ze Lwowa wraz z Ojcem, w latach 1942—1945 żołnierz II Korpusu, V Kresowej Dywizji Piechoty, w kampanii włoskiej walczył nad Sangro, pod Monte Cassino, Ankoną i Bolonią, po wojnie studiował medycynę we Wrocławiu, chirurg, Człuchów.

jak dziecko, a dniem niemal tragicznym, był dzień gdy z przedniej kieszeni marynarki ukradziono Mu niedawno kupionego Watermana.

Gubrynowicz to była księgarnia, gdzie Ojciec odbierał zamówione książki naukowe i trochę literatury pięknej, gdzie było doskonale zaopatrzone stoisko książek dla dzieci i młodzieży. Tam pod okiem Ojca, a najczęściej za jego radą, wybierałem coś dla siebie. Była to głównie literatura podróżnicza i popularno naukowa, której całe cykle ukazywały się wówczas regularnie, wydawane przez kilka oficyn wydawniczych. Autorzy tych książek o nazwiskach znamienitych byli treścią opowiadań Ojca, już po wyjściu z księgarni. I zawsze, po powrocie do domu, właśnie Ojciec był tym, który kupione książki pierwszy czytał lub przeglądał, a robił to niesłychanie szybko, tak, że już wieczorem dawał mi je ze swoimi wskazówkami.

Na trasie „sprawunkowej” odwiedziliśmy sklep Wedla (to dla Matki), sklep rybny Kalisza ze wspaniałymi rybami, sklep p.n. „Zakopane”, odpowiednik dzisiejszych delikatesów, oglądaliśmy płyty gramofonowe u Konrada Kaima i Synów. I wreszcie — chyba najważniejsza — na ulicy Batorego wizyta w dwóch najbardziej znanych lwowskich antykwiariatach: u Igła i u Bodeka. Już przy wejściu do tych sklepów pogodną twarz Ojca rozpromieniał uśmiech. Ojciec bardzo lubił zapach starych księgarni, zawsze zresztą dość obskurnych, zakurzonych, gdzie panował nieład nie do opisanego, gdzie stali bywalcy dostrzegali najdrobniejsze zmiany w ustawieniu książek i w mig orientowali się co zostało sprzedane. I tak na przykład rozpoczynała się rozmowa: „panie Igel, nie ma już tych dwu tomów Mickiewicza, które były w ubiegłym tygodniu!” „Tak panie profesorze, przyjechał zbieracz z Wilna, który był w Amsterdamie i tam jemu powiedzieli, że dwa brakujące mu tomy są u Igła we Lwowie. To on z Amsterdamu przyjechał do Igła i teraz ma całość”. — Nie wiem czy tak było rzeczywiście, czy to anegdota, którą Ojciec często opowiadał, ale sądzę, że tak istotnie mogło być. Wizyty u Igła i u Bodeka, którzy doskonale znali upodobania swoich stałych klientów oraz dni ich odwiedzin, trwały do zamknięcia sklepów. Nie mało czasu zajmowało targowanie się o cenę, co było okazją aby poznać dzieje danego egzemplarza, kiedy był drukowany, w czyich pozostawał rękach. Sądzę, że moje zamiłowanie do książki, które towarzyszy mi przez całe życie — także w najtrudniejszych wojennych okresach — jest zasługą Ojca. W niedzielę, jeśli było pogodnie, szedłem z Ojcem na t.zw. wycieczkę. Celem tych spacerów były piękne okolice Lwowa: Czartowska Skała, Miodowa Grota, aby wymienić te najciekawsze. Właśnie wtedy rozmawialiśmy o różnych rzeczach. I o budowie atomu, o prądzie stałym i zmiennym, których przebieg na osi x i y rysował końcem swej laski, o budowie komórki, o szczegółach obrazów Matejki, co w tych obrazach było fabułą, a co prawdą historyczną. I o człowieku, jego zachowaniach, od czego są zależne. Były to rozmowy poważne, w których

byłem traktowany jak partner. Nic czego nauczyłem się w gimnazjum od moich profesorów nie było podważane. Zbyt wysoko cenił ich wiedzę. Ale sprawy, o których rozmawialiśmy w ustach Ojca nabierały często innego światła.

Ojciec był nieustępliwym purystą językowym. Mój sposób wysławiania się stale korygował, dopuszczał jednak używanie lwowskiego „bałaku”. Nie używając go byłbym przecież pośmiewiskiem wśród swoich rówieśników.

Szczególnie w mą pamięć — jeszcze jako ucznia — zapadły dni sesji egzaminacyjnych studentów medycyny oraz farmacji, gdy Ojciec z powodu choroby pozostawał w domu i leżąc w łóżku w swoim gabinecie egzaminował. Nie mogło bowiem być mowy o tym, aby choroba profesora zwolniła go od egzaminowania. Tu, już w korytarzu naszego mieszkania, studentów — zawsze zdenerwowanych — spotykała życzliwość i ciepło. Do moich obowiązków należało otwieranie drzwi, wskazanie miejsca gdzie można usiąść, a potem z rąk Matki dostawałem pudełko czekoladek Wedla lub ciasteczka specjalnie na te dni upieczone by poczęstować czekających. Matka, która zawsze w tym czasie była w domu, wychodziła do studentów, rozmawiała z nimi by uspokoić ich przed egzaminem. Po wyjściu ostatniego z egzaminowanych zaglądałem do Ojca. I już po wyrazie twarzy wiedziałem jak przebiegały egzaminy. Uśmiech oznaczał — poszło dobrze, twarz poważna z opuszczonymi kącikami ust oznaczała niezadowolenie.

Egzaminy, poza swym celem zasadniczym, spełniały też i inną rolę. Studenci zdający celująco, co nie było łatwe i wykazujący się pewną wiedzą ogólną, przede wszystkim humanistyczną oraz zdolnością precyzyjnego formułowania myśli, byli przez Ojca notowani jako ewentualni przyszli asystenci w Zakładzie. Niektórym proponowano pracę nawet już podczas lub wkrótce po egzaminie. Jeśli dobrze pamiętam, to większość młodszych asystentów Ojca rozpoczynała już pracę jako studenci. Do rozpoczęcia studiów w Zakładzie bywałem rzadko. Było nie do pomyślenia abym mógł przyjść, ot tak sobie, odwiedzić Ojca. Jedynym wyjątkiem mogło być polecenie Ojca, abym przyniósł coś z domu, czego potrzebował. Z takich nieczęstych wizyt pamiętam, że wszyscy pracowali w dużym skupieniu, ledwo zwracając na mnie uwagę. Dla nikogo nie byłem synem ich profesora.

I nadszedł dzień 1 września 1939 roku. Tego dnia wyszedłem z Ojcem do miasta, już po bombardowaniu. Na ulicy Bourlarda zobaczyliśmy pierwszy częściowo zburzony i płonący dom. Ojciec zatrzymał się objął mnie za ramię i powiedział: „**Nigdy w moim życiu nikogo nie nienawidziłem**”, po czym jakby chciał coś z siebie wyrzucić zakończył: „**Boże, jak ja i c h nienawidzę**”. I poszliśmy dalej aby zobaczyć rynek, katedrę ormiańską i doszliśmy do Zakładu. Zastaliśmy tam już kilku asystentów, którzy nie zostali zmobilizowani. O czym rozmawiano nie wiem, ale Ojciec wyszedł

jakby trochę pokrzepiony. W domu po kilku rozmowach telefonicznych, przy kolacji oznajmił Matce, że Uniwersytet pracuje normalnie i dzień pracy Ojca nie będzie się różnił od dotychczasowych. Choć słyszano się wiele o ruchu ludności cywilnej w kierunku południowym, choć w otoczeniu Ojca nikt nie miał wątpliwości co do losu jaki może czekać mieszkańców miasta po wejściu Niemców, nie padło ani jedno słowo o wyjeździe ze Lwowa.

Po szoku dnia 17 września 1939 — data nie wymagająca komentarza — dzień 19 września. Przez zatarasowane kolumnami wojsk sowieckich ulice Lwowa Ojciec dochodzi do swego Zakładu. Wraca dość spokojny i oznajmnia, że Uniwersytet pracuje i prace w Zakładzie są kontynuowane. Po kilku dniach, po rozmowie z przedstawicielem komendy miasta, uzyskuje pisemne zapewnienie, że mieszkania profesorów nie będą rekwirowane. Chyba w październiku 1939 roku rozpoczął się rok akademicki, przy czym profesorem dostali polecenie wykładania w języku ukraińskim. Prawie nikt z profesorów nie znał tego języka w stopniu wystarczającym. Tak więc na początku wykładów wtrącano pojedyncze słowa po ukraińsku, lecz dalej wykładano po polsku. Znanym był fragment wykładu Ojca, który objaśniał: ołów, po łacinie: *plumbum*, po ukraińsku: *swinec*, co zabrzmiało „świniec” wywołując gromki śmiech studentów.

W niedługim czasie po wtargnięciu armii sowieckiej do Lwowa, nasz dom stał się coraz częściej odwiedzany przez ludzi, których twarze i nazwisk nigdy dotąd nie znałem. Byli to uciekinierzy z terenów okupowanych przez wojska niemieckie, dla których nasz dom, a dokładniej osoba Ojca była zwornikiem w drodze na południe lub północ Europy. Ale większość z nich po krótkim czasie rozpoczynała pracę w Zakładzie, bądź to jako asystenci bądź to jako pracownicy gospodarczy lub administracyjni. W każdym razie personel Zakładu podwoił się, jeśli nie potroił. Powracali też z wojny asystenci Ojca, niektórzy po ciężkich ranach. Nigdy nie zapomnę wspaniałego dr Bogusława Halikowskiego, po wojnie profesora pediatrii w Krakowie i w Szczecinie, który powrócił z wojny jednoręczny, a którego sposób bycia po doznanych obrażeniach był godny podziwu. Ceniliśmy go bardzo, ale też bardzo baliśmy się jego ocen: był przerażająco dokładny i wymagający. Prowadził z nami chemię analityczną.

W październiku 1940 zostałem studentem I roku Lwowskiego Instytutu Medycznego. Wtedy dopiero mogłem odwiedzać Ojca w Zakładzie. Ale i wtedy, jeśli gabinet czy pracownia Ojca były zamknięte poznawałem, że jest zajęty. Poza bardzo nielicznymi wyjątkami, byłem traktowany przez Ojca jako jeden ze studentów, który jednak winien dokładniej niż inni wiedzieć co wolno, w czego nie wolno.

Oczywiście wydarzeniem najważniejszym były wykłady. Dla pierwszego roku Ojciec wykladał chemię nieorganiczną i chemię fizyczną, a profesor Paweł Ostern chemię organiczną. Sala wykładowa podczas

wykładów Ojca była pełna. Słuchali Ojca studenci nie tylko medycyny i farmacji, ale także studenci innych Wydziałów Uniwersytetu i Politechniki. Wszystkie miejsca siedzące, także miejsca w przejściach między ławkami i pod ścianami sali wykładowej były zajęte. Pierwsze rzędy zajmowali asystenci Zakładu. Do każdego wykładu Ojciec przygotowywał się w przeddzień bardzo starannie robiąc zapiski na luźnych kartkach. Usiłowałem niekiedy przeczytać to co zapisywał, ale pismo Ojca było tak nieczytelne, że nie mogłem notatek odcyfrować. We Lwowie był tylko jeden człowiek, który dość łatwo czytał pismo Ojca. Ilekroć Ojciec wyjeżdżał z kraju, a nie brał maszyny do pisania, po otrzymaniu listu Matka telefonowała do profesora Pawła Osterna: „Pawełku jest list od Kubusia”, co oznaczało, że należy przyjść i list przeczytać.

Wykład rozpoczynał się ze zwyczajowym kwadrantem akademickim. Ojciec wchodził na salę zawsze uśmiechnięty, witał studentów, krótko sprawdzał przygotowane do demonstracji zestawy, zamieniał kilka słów z asystentami odpowiedzialnymi za demonstracje po czym rozpoczynał wykład.

Nie należałem do tych studentów, którzy wszystko, co Ojciec mówił rozumieli. Zapewne nie dość uważnie śledziłem tok Jego rozumowania. Wydawało mi się, dość naiwnie, że mnie jako przyszłemu chirurgowi, którym chciałem zostać, chemia nie będzie tak bardzo potrzebna. Być może wykłady były zbyt trudne, szczególnie chemia fizyczna, chemia związków kompleksowych. Ale przede wszystkim dlatego, że byłem całkowicie pochłonięty obserwacją osoby Ojca, którego każdy ruch, każda zmiana wyrazu twarzy interesowały mnie bardziej, aniżeli treść wykładu. Dla większości jednak studentów, wykłady Ojca stanowiły wielkie przeżycie intelektualne. Wykłady obfitowały w liczne anegdoty o ludziach, którzy chemię, a także kulturę, tworzyli.

Zawsze z pewnym napięciem oczekiwałem na przebieg demonstracji. Jeśli coś się nie udawało, na twarzy Ojca pojawiał się grymas zniecierpliwienia i natychmiast podbiegali asystenci odpowiedzialni za przygotowanie doświadczeń demonstracyjnych. Kilka cicho wypowiedzianych słów i po chwili wszystko odbywało się jak należy.

W owym czasie nie było podręczników chemii ogólnej, nieorganicznej i organicznej w języku polskim, wykłady przeto studenci skrzętnie notowali. W domu podręczników obcojęzycznych było bez liku, uważałem więc, że notować nie muszę, co jak sądzę zostało przez Ojca zauważone.

Ćwiczenia z chemii, a także z innych dyscyplin, odbywały się po południu. Mój rok liczył ponad stu studentów podzielonych na grupy po dziesięć dwanaście osób. Sala ćwiczeń mieściła około trzydziestu osób. Odbywaliśmy ćwiczenia pod opieką jednego lub dwu asystentów. Wychodziliśmy z Zakładu około siódmej wieczorem. Właśnie na ćwiczeniach poznaliśmy atmosferę Zakładu. Atmosferę pełną życzliwości, przyjaźni-

skiego stosunku do młodzieży. Z asystentami prowadzącymi ćwiczenia i to nie tylko na chemii, ale i na anatomii prawidłowej, histologii, mogliśmy mówić o wszystkim, nikt z nich się nie oszczędzał. Jeśli ktoś z nas czegoś nie rozumiał, nie miał zahamowań aby to powiedzieć. I choćby minął już czas przeznaczony na ćwiczenia, prowadzący zostawał ze studentem, a prawie zawsze towarzyszyła im spora grupa innych, chcących słuchać i patrzeć, szczególnie wtedy kiedy do dyskusji włączał się Ojciec. Asystenci nie mieli ustalonych godzin pracy. Pozostawali w Zakładzie tak długo, jak ich praca, doświadczenia, tego wymagały.

Chcę tutaj podkreślić pewną cechę Zakładu Chemii Lekarskiej, a także Zakładu Anatomii prawidłowej i Zakładu Histologii, gdzie studiowałem w roku akademickim 1940/1941: Zakłady te w tym tragicznym okresie były za sprawą ich Kierowników i Asystentów czymś w rodzaju azylu, który w znacznym stopniu oddzielał studiującą młodzież, od nieszczęść i tragedii dnia codziennego. Rzesza studencka: to Polacy, Ukraińcy, Żydzi — nie słyszałem aby z tego powodu istniały jakieś rozdziwki. Naszym starostą był Ukrainiec. Wkrótce po wejściu Niemców został on zamordowany przez swych współziomków za przychylny stosunek do Polaków i Żydów. Choć większość ze studiujących miała wiele kłopotów i trudności dnia codziennego, sale wykładowe były pełne, sale ćwiczeń do późnych godzin wieczornych z kompletami uczących się. Zawalone kolokwium było traktowane niezwykle poważnie, zawalony egzamin jako nieszczęście.

No i nadszedł czas egzaminów i kolokwium na koniec roku akademickiego 1940/1941. Anatomię prawidłową zdałem bez kłopotów, podobnie histologię. Zacząłem uczyć się chemii zakładając, że dwa tygodnie wystarczą. Wiedziałem ponadto, że nie mogę być egzaminowany przez Ojca, a będzie to jeden z Jego asystentów, który może potraktuje mnie „ulgowo”. Chyba na dwa dni przed egzaminem późnym wieczorem, zapytał mnie Ojciec czego się uczę. Odpowiedziałem, że chemii, a pojutrze zdaje. I padły trzy pytania: z budowy atomu — z tego wyszedłem bez trudności. Z następnym pytaniem z chemii koloidów — było gorzej jeśli nie całkiem źle. I wreszcie pytanie ostatnie, które mnie dobiło: dlaczego siarczan miedzi w roztworze wodnym jest niebieski. Nie miałem pojęcia. Na co Ojciec: „Przecież ja to wam wykladałem. Nie sądzę abyś ten egzamin zdał, zresztą będą przy nim obecny”. Rzecz jasna, do egzaminu nie przystąpiłem i zacząłem się porządnie uczyć. Po trzech tygodniach zdałem egzamin komisyjny bez trudności.

*Leszek Tomaszewski**

Wspomnienia studenta

Pamiętam profesora Parnasa jako barczystego, o znakomitej aparycji, mężczyznę. Po wejściu na salę

klaniał się słuchaczom i rozpoczynał wykład sakramentalnym „moi państwo”. Byłem oczarowany demonstracjami, którymi Profesor ilustrował swoje wykłady. Były one przygotowane z niezwykłą pomysłowością i wielkim nakładem pracy.

Po ukończeniu II-go roku medycyny mój kolega Kazimierz Spett (później profesor patobiochemii w Krakowie) i ja zostaliśmy przyjęci przez Profesora do pracy jako wolontariusze, których nazywano w Zakładzie „barankami”.

Z licznego grona pracowników Zakładu wymienię Dr Bogusława Halikowskiego — obecnie profesora PAN, docenta Tadeusza Baranowskiego — późniejszego profesora we Wrocławiu, szlachetną postać profesora Pawła Osterna — utalentowanego uczonego zmarłego tragicznie w 1941, późniejszych profesorów Józefa Hellera, Janinę Blauth-Opieńską, Irenę Mochacką i Wandę Mejbaum-Katzenellenbogen oraz Stanisława Hubla, późniejszego docenta chirurgii. Demonstratorem wykładów Profesora był Dr Bogusław Pieczonka, który po wojnie znakomicie prowadził Sanatorium Górnicze dla dzieci w Rabce.

Bardzo ważną częścią Zakładu była biblioteka. Kierowała nią ze znajomością rzeczy i wdziękiem profesorowa Ajdukiewiczowa. Starszym laborantem Zakładu był Józef Nuckowski. Prowadził magazyn, wydawał odczynniki i szkło laboratoryjne. Czuwał nad sprawnością całej aparatury Zakładu, likwidował wszelkie awarie. Pouczał i moralizował studentów i „baranków”. Był niezastąpiony.

* Prof. dr hab. med., patobiochemik, Warszawa. Student i „baranek” w Zakładzie profesora Parnasa w latach 1938–1941

*Włodzimierz Antyporowicz**

Wieczór wigilijny 1939 roku w Wilnie

W połowie grudnia 1939 roku przestał istnieć Uniwersytet Stefana Batorego w Wilnie. Przekształcono go w Uniwersytet litewski. Zwolniono wszystkich polskich profesorów, studentom zaś zaproponowano kontynuowanie studiów medycznych w Kownie, oczywiście w języku litewskim. Byłem w tym czasie studentem 2-go roku medycyny. Młodzież akademicka Wilna znalazła się w bardzo trudnej sytuacji, stawiano sobie beznadziejne pytanie: co robić dalej? Niektórzy zdecydowali się jechać nawet na front zachodni.

W wigilię Bożego Narodzenia zorganizowaliśmy w domu akademickim przy Górze Bufałowej pożegnalną wieczerzę z udziałem naszych profesorów. Był to wieczór bardzo uroczysty i pełen powagi oraz smutku

* Dr med. laryngolog, studiował w Wilnie i Lwowie. Emerytowany ordynator Laryngologii Centralnego Szpitala Kolejowego w Warszawie — Międzyzlesiu.

po zamknięciu naszej Uczelni. Wśród różnych wypowiedzi najważniejszy był głos profesora Włodzimierza Mozołowskiego. Stojąc, w wysoko podniesionej ręce pokazywał kartkę otrzymaną ze Lwowa. Oświadczył, że **kartka pochodzi od jego Nauczyciela profesora Parnasa, który zaprasza młodzież akademicką Wilna do kontynuowania studiów we Lwowie**, gdzie czynny jest dawny wydział lekarski Uniwersytetu Jana Kazimierza, a wykłady odbywają się w języku polskim!

Na tej historycznej wieczery wigilijnej, pomimo klęsk i upokorzeń pojawiła się nadzieja. W Państwowym Instytucie Medycznym we Lwowie spotkali się liczni studenci z Wilna i niektórych polskich innych Uniwersytetów.

Tuż po Nowym Roku 1940-stym znalazłem się i ja z kolegą Rajmundem Bartoszewiczem we Lwowie. Byli już tam nasi koledzy z Wilna: Stefan Malawski (obecnie prof. Ortopedii w Warszawie), Henryk Gajewski (chirurg w Bydgoszczy), Jermakowicz (imienia nie pamiętam, zginął na froncie pod Włodawą w 1944 r.), Czuryłło, Podmajstrowicz, Maksymilian Kasztelański, Rubiłłowicz i inni, których nazwisk nie pamiętam.

Jan Oskar Parnas

Ewakuacja ze Lwowa, Ufa, Moskwa

22 czerwca 1941 roku wybuchła wojna niemiecko-radziecka. Nie pamiętam jaki to był dzień tygodnia (Była to niedziela, przyp. T.K.) i nie pamiętam czy dowiedzieliśmy się o tym z radia czy z wybuchu bomb niemieckich w mieście. Nazajutrz poszedłem jak zwykle na Uniwersytet na ul. Piekarską. Był to okres sesji egzaminacyjnej i należało uporządkować sprawy studenckie. Z mojego indeksu wynika, a mam jego oryginał, że w dniu 23 czerwca dziekanat pracował jeszcze normalnie, bo znajduję tutaj adnotację o zaliczeniu pierwszego roku medycyny. Indeks podpisał profesor Bolesław Jałowy — zamordowany później przez nacjonalistów ukraińskich. W dziekanacie powiedziano mi, że lwowskie szpitale przyjmują studentów medycyny jako pomocników lekarzy. Zgłosiłem się i zostałem przyjęty do kliniki chirurgicznej prof. Władysława Dobrzanieckiego — rozstrzelanego 4 lipca wraz z 20 innymi profesorami uczelni lwowskich. Pracę w klinice Ojciec zaaprobował. Przez trzy lub cztery dni nie wracałem do domu i zupełnie nie wiedziałem co się w mieście dzieje. Prawdopodobnie 26 lub 27 czerwca rano przyjechał do kliniki Ojciec. Był bardzo zdenerwowany i kazał mi natychmiast wracać z nim do domu. Przed bramą kliniki stał olbrzymi samochód osobowy z podoficerem NKWD za kierownicą. Wsiadliśmy i Ojciec opowiedział co się stało. Otóż poprzedniego dnia władze Lwowskiego Instytutu Medycyny zabrały wszystkich profesorów wykładających w tym czasie i proponowały, by wobec nieuchronnego wejścia Niemców do Lwowa, wyjechali wraz z rodzinami podstawionym przez władze sowieckie, specjalnym

pociągiem ewakuacyjnym. Nikt jednak z tej oferty nie skorzystał. Tego zaś dnia, wczesnym rankiem, zadzwonił do Ojca profesor pediatrii Franciszek Groer pytając, czy Ojciec czytał dzisiejszą prasę. Na pierwszej bowiem stronie miejscowej lwowskiej gazety „Czerwony Sztandar” ukazał się obszerny antyhitlerowski artykuł podpisany tytułem, imieniem i nazwiskiem mojego Ojca. Takiego artykułu Ojciec ani nie napisał, ani nie podpisał, zareagował więc dzwoniąc i żądając odwołania artykułu lub sprostowania nazwiska. Poradzono mu — i to w formie nakazu — natychmiastowy wyjazd wraz z rodziną. Było to oczywiste, że po takiej enuncjacji, jak tylko Niemcy wejdą do Lwowa, zabiją całą naszą rodzinę. Prawie natychmiast pod nasz dom podjechał ów osobowy samochód z NKWD. Ten właśnie, którym Ojciec przyjechał po mnie do kliniki. Równocześnie Matka pakowała niezbędne rzeczy, potrzebne do niewiadomo-jak-długiej podróży. Wyjechaliśmy żegnani przez profesorów mieszkających w tym samym budynku. Kilkanaście kilometrów za roгатką Łyczakowską samochód uległ awarii. Kierowca wkrótce zatrzymał pustą ciężarówkę, porozmawiał o czymś z kierowcą, przeładowaliśmy się i ruszyli wciąż nie wiedząc dokąd jedziemy. Dostaliśmy się w potok uciekających cywilów i wojska, których kolumnę coraz to ostrzeliwały niemieckie myśliwce. Po drodze jakiś oficer sowiecki usiłował wysadzić nas na szosie. Jednakże kierowca dość zręcznie wykręcił i wjechaliśmy do Tarnopola pod ratusz. Tu wszedł wraz z Ojcem do wnętrza i za chwilę wrócili w towarzystwie oficera NKWD w randze majora. Ten towarzyszył nam w dalszej drodze. Kilkakrotne nagabywania by oddać samochód odpierane były wystawieniem karabinu przez okno szoferki z odpowiednimi groźbami. Po przekroczeniu granicy polsko-radzieckiej na Zbruczu dowiedzieliśmy się, że jedziemy do Kijowa. Nie pamiętam jak długo trwała ta podróż, upływ czasu zrobił swoje. Pamiętam jedynie, że tam umieszczono nas w jakimś dużym budynku, w którym zgromadzono już wielu ludzi, a byli to członkowie Ukraińskiej Akademii Nauk, artyści, inteligencja. Był to punkt zborny ludzi, którzy mieli być ewakuowani dalej w głąb Związku Radzieckiego. Po załadowaniu nas do pociągu osobowego znów nie wiedzieliśmy dokąd jedziemy. W pociągu spotkaliśmy profesora Jakuba Węgierkę, internistę-diabetologa wraz z żoną okulistką, cierpiącą na astmę, ale nie pamiętam w jaki sposób dotarli do Kijowa. Po kilku, a może po kilkunastu dniach podróży, przerywanej długimi postojami, rzekomo spowodowanymi przez groźbę nalotów niemieckich myśliwców, dotarliśmy do celu. Była nim Ufa w Baszkirskiej Republice. Umieszczono nas w małym pokoiku w tamtejszym hotelu przepelnionym do granic możliwości. Dla większości uciekinierów, nie było żadnej pracy. Nie wiem z jakich środków ludzi ci żyli — my także. Zaopatrywać należało się na miejscowym bazarze, oczywiście nie przygotowanym do zaspokojenia potrzeb takiej masy ludzi.

W lipcu lub w sierpniu 1941 roku zgłosiłem się do tamtejszego Instytutu Medycznego z prośbą o przyjęcie na następny rok studiów. Ojciec próbował działać w katedrze biochemii w dziedzinie środków krwiozastępczych, ale tamtejsze nikłe możliwości badawcze skłoniły go do rezygnacji.

Chyba w sierpniu 1941 roku, już po podpisaniu traktatu Sikorski-Stalin, Ojciec został wezwany do Moskwy do Ambasady Polskiej przez ambasadora Stanisława Kota. Ambasadora interesowało wszystko co działo się we Lwowie od dnia kiedy wojska sowieckie wkroczyły do miasta aż do dnia naszego wyjazdu. Stan głębokiej depresji, w której Ojciec się dotąd znajdował ustąpił całkowicie.

Niedługo po tym pojawił się w naszym pokoju major Wojska Polskiego, w mundurze. Przedstawił się jako oficer werbunkowy szukający ochotników do Armii Polskiej tworzącej się właśnie na terenie Związku Radzieckiego. Siedział w naszym pokoju długo i rozmawiał z Rodzicami. Kiedy wstał i zaczął się żegnać Ojciec wskazując na mnie powiedział: „Panie majorze, ma pan tu pierwszego ochotnika do Armii Polskiej”. Zapamiętałem to bardzo dobrze, jak i przerażoną twarz mojej Matki. Od tego co postanowił Ojciec nie było odwołania. Wówczas, wobec toczącej się wojny decyzja Ojca oczywiście nie mogła być inna. Rozpoczęły się przygotowania do mojej długiej wojennej wędrówki. Nie były one skomplikowane: należało zdobyć gdzieś walonki, fufajkę, także spodnie, jakąś torbę, trochę alkoholu jako jedyny towar wymienny. Ale najważniejszy był mały czarny notes, w którym zapisywałem dyktowane mi przez Ojca nazwiska ludzi — rozsianych po całym świecie, na wszystkich kontynentach od Turcji, Indii, Japonii, do Stanów Zjednoczonych i Krajów Europy — do których w razie potrzeby mogłem się zwrócić o pomoc w każdej sytuacji. Ten mały czarny notes przyjechał ze mną do Polski w 1946 roku i we Wrocławiu gdzieś mi zaginął.

Spośród bardzo wielu ludzi, Polaków i Rosjan, którzy odwiedzali Ojca w naszym pokoiku w Ufie, jedna wizyta szczególnie utkwiła w mojej pamięci. Pewnego popołudnia wszedł do pokoju niewielkiego wzrostu mężczyzna ubrany w fufajkę i już przy drzwiach zawołał: „dzień dobry Panie Profesorze”. Ojciec spojrzawszy na niego po jednej, dwu sekundach wstał i odpowiedział: „dzień dobry Panie Prezydencie”. Był to dr Stanisław Ostrowski, prezydent Miasta Lwowa wywieziony przez NKWD do łagru. (W latach 1972—1979 prezydent Rzeczypospolitej Polskiej na Uchodźctwie, przyp. Red.) Trudno jest opisać to spotkanie, było w nim tyle radości i wzruszenia. Píše o tym w swoich wspomnieniach Stanisław Ostrowski w książeczce wydanej w Warszawie w 1986 roku (Wyd. Pokolenie).

Na przełomie roku 1941/1942 opuściłem Ufę udając się wraz z kilku innymi ochotnikami do Armii Polskiej formującej się w tym czasie na południu Rosji w okolicach Taszkientu. Oczywiście straciłem wówczas kon-

takt z rodzicami. Nawiązałem go dopiero w 1943 roku za pośrednictwem przyjaciółki Rodziców mieszkającej w Londynie, której adres miałem w czarnym notesie, a która wiadomości ode mnie w jakiś tylko-jej-wiadomy-sposób przekazywała rodzicom. To, co się działo z moimi Rodzicami w latach 1942—1946 znam tylko z opowiadań. Prawdopodobnie w roku 1943, kiedy zagrożenie przez ofensywę niemiecką ustąpiło, Rodzice przyjechali do Moskwy, gdzie Ojciec zaczął pracować w Wszeczwiązkowym Instytucie Biologii Doświadczalnej. Został wybrany na członka Radzieckiej Akademii Nauk i Radzieckiej Akademii Nauk Medycznych, otrzymał nagrodę państwową Związku Radzieckiego za całokształt pracy naukowej, został także doktorem *honoris causa* Francuskiej Akademii Medycyny i Sorbony. Lecz o tym wszystkim dowiedziałem się dopiero po wojnie, podczas mojej pierwszej wizyty u Rodziców w 1946 roku — po demobilizacji II Korpusu.

Rodzice mieszkali wtedy w hotelu Metropol w Moskwie. Z tego okresu pamiętam nieprzebraną liczbę ludzi, którzy Rodziców odwiedzali. Byli to naukowcy ze wszystkich stron świata, przeważnie chemicy, ale też matematycy i fizycy, akredytowani przy swoich ambasadach dziennikarze, dyplomaci, artyści. Z Polaków odwiedzających Rodziców zapamiętałem jedynie panią Ewę Bandrowską-Turską i profesora Tadeusza Lehr-Spławińskiego z Krakowa.

Ojciec mój, przez całe życie przyzwyczajony do bogatych międzynarodowych kontaktów z ludźmi nauki i kultury, nadal pisywał artykuły do zagranicznych czasopism naukowych, bywał w ambasadach, miał tam przyjaciół, a z niektórymi utrzymywał bardzo bliskie stosunki. Żył jakby w całkowitej nieświadomości, że w kraju, w którym mieszkał, wcześniej czy później kontakty takie muszą doprowadzić do nieszczęścia. Przerazało to moją Matkę, lecz jej prośby aby choć część z tych kontaktów ograniczyć nie znajdowały u Ojca zrozumienia.

W jesieni 1946 roku opuściłem Moskwę i udałem się do Wrocławia by kontynuować studia w tamtejszym Uniwersytecie. Utrzymywaliśmy regularną korespondencję. W końcu tegoż 1946 roku Rodzice moi przyjechali do Polski zaproszeni przez Uniwersytety Wrocławski i Jagielloński. Było to nie tylko zaproszenie do wygłoszenia serii wykładów, lecz także — propozycja objęcia przez Ojca katedry Chemii Fizjologicznej w Uniwersytecie Wrocławskim lub Jagiellońskim. Ojciec wybrał Uniwersytet Jagielloński. Jednakże, ponieważ zajmował on odpowiedzialne stanowiska dyrektora dwóch wielkich laboratoriów w Moskwie sprawa nie mogła być załatwiona zwykłą opcją, ale musiała być uwzględniona na poziomie rządowym. O ile wiem, lecz nie jestem tego pewien, strona polska wyraziła zgodę na objęcie przez ojca Katedry w Krakowie. Jednakże w listach Ojca z Moskwy, ku mojemu zdziwieniu, nie było już na ten temat ani słowa. Dopiero w jesieni 1947 roku podczas kolejnej wizyty

u rodziców dowiedziałem się, że po powrocie z Polski Ojciec rozmawiał z wiceprezydentem Radzieckiej Akademii Nauk. Ten wysłuchawszy Ojca powiedział: „Jakubie Oskarowiczu, błagam was abyście nigdy, nigdzie i z nikim tej sprawy nie poruszali. Macie przecież żonę i syna”. Wniosek z tej rozmowy był oczywisty: pierwsza próba starań o powrót do kraju zakończyłaby się tragedią.

Byłem wówczas u rodziców krótko, znajdując ich w dobrej formie. Nie mieszkali już w hotelu ponieważ dostali mieszkanie. W 1948 roku kontakt mój z rodzicami został na krótko przerwany, a to z powodu choroby Ojca (niedowład połowiczny), co rodzice usiłowali przede mną zataić. Odezwali się ponownie, gdy zdrowiu Ojca nic już nie zagrażało. Pojechałem do Moskwy i zastałem Ojca ze śladami niedowładu, lecz w dość dobrej formie. Był to okres szalejącego łysenkoizmu, któremu Ojciec przeciwstawiał się niemal publicznie zarzucając Łysence szarlatanerię, fałszowanie wyników badań i działanie na szkodę Nauki. Nie brak też było w tych wypowiedziach, niekiedy w obecności osób trzecich, dezaprobaty stosunku Stalina do poczynañ Łysenki. Kiedy wyjeżdżałem żegnając mnie Ojciec powiedział: „chyba cię więcej nie zobaczę”.


W drugiej połowie stycznia 1949 roku kontakt z Rodzicami urwał się nagle. Nie odpowiadali na listy, próby połączenia telefonicznego kończyły się stwierdzeniem telefonistki, albo że numer nie odpowiada, albo że takiego numeru w Moskwie nie ma. Rozpoczął się długi okres, w którym usiłowałem wszystkimi dostępnymi mi sposobami (m.in. przez Ambasadę Radziecką i Ministerstwo Spraw Zagranicznych) dowiedzieć się co się stało, ale znikąd nie było odpowiedzi. Nie pamiętam kto i kiedy powróciwszy z Moskwy powiedział mi, że na jego pytanie co się dzieje z akademikiem Parnasem usłyszał odpowiedź: „takiego akademika nie ma i nie było”.

W połowie 1949 roku atmosfera wokół mnie w środowisku uczelnianym uległa „zagęszczeniu”. Byłem wtedy studentem Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Wrocławskiego i pracowałem w klinice chirurgicznej. Dano mi wyraźnie do zrozumienia, że moja obecność w klinice jest niepożądana. Jednocześnie z relacji sąsiadów dowiedziałem się, że są wypytywani przez ludzi z Ministerstwa Bezpieczeństwa Publicznego o mnie, o moją żonę, o moje kontakty itd. itd. Ponieważ taka inwigilacja była dość powszechna nie łączyłem jej z czymś co mogło mieć związek z moim Ojcem. Skończył się rok 1949. Minęły kolejne cztery lata. Którego dnia na początku 1954 roku, gdy pracowałem i mieszkawałem w Szpitalu Miejskim w Bytomiu zawołano mnie do telefonu. W słuchawce usłyszałem głos Matki. Pytała, a było to zawsze jej pierwsze pytanie, czy jestem zdrowy i jak się czuję. Następne brzmiało: „Czy mógłbyś do mnie przyjechać”. Zrozumiałem, że Ojciec nie żyje, że prawdopodobnie doszło do tragedii, o której przez telefon mówić nie można. W stosunkowo krótkim czasie otrzymałem

paszport oraz wizę i pojechałem do Moskwy. Na lotnisku oczekiwała mnie Matka i od niej dowiedziałem się o tym co zaszło.

29 stycznia 1949 roku, krótko po północy, przyszło NKWD z nakazem aresztowania Ojca. Pozwolono Mu się ubrać, pokój jego opieczętowano. Ostatnie słowa Ojca jakie Matka usłyszała były: „miałaś rację”. W ciągu następnych dni zabrano wszystko co znajdowało się w pokoju Ojca: olbrzymią bibliotekę, wszystkie dokumenty, książeczki oszczędnościowe, pieniądze, pozostawiając Matkę bez środków do życia. Wyrzucono ją z mieszkania dając pokoiak na przedmieściach Moskwy. Pisma Matki kierowane do różnych władz pozostawały bez odpowiedzi. Co tydzień lub co dwa wędrowała do więzień na Łubiance, na Butyrkach, Lefortowie. Kończyło się to niezmiennie stwierdzeniem oficera dyżurnego: „jeszcze nic nie wiadomo”. Niemal wszyscy znajomi zerwali z Matką kontakty. Pośród nielicznych, którzy Matki nie opuścili, była — podtrzymując niemal przy życiu — Nadieżda Mandelsztam, żona poety zamordowanego w łagrze przez NKWD.

Po śmierci Stalina, był to chyba już lipiec albo sierpień 1953 roku zatelefonowano z Głównej Prokuratury Wojskowej, że generał Roman A. Rudenko, główny prokurator wojskowy Związku Radzieckiego chciałby z Matką porozmawiać. Następnego dnia, samochodem przysłanym przez prokuraturę, Matka pojechała do Rudenki. A ten oświadczył jej, z wyrazami grzeczności


РСФСР

СВИДЕТЕЛЬСТВО О СМЕРТИ

И-А № 802020

Гр. Парнас
(Ф.И.О.) Яков Оскарович
(И.И.М. ОТЧЕСТВО)

умер (в) 29.1.1949г. в здании гевантов
(улица и дом)
Альберта Моисеевича гевантовского капота гевантов
(цифрами год, месяц и число)

возраст 65 лет

Причина смерти Паралич сердца

о чём в книге записей актов гражданского состояния о смерти
19 53 года 11 июля месяца 11 числа
произведена соответствующая запись за № 467

Место смерти: город, селение _____

район _____ область, край, республика _____

М.П. Д С О С Р

М.П. Госминистерство
Заведующий бюро записей актов гражданского состояния

Дата выдачи 15 января 1953г.

Заведующий бюро записей актов гражданского состояния

Форм. 1930

ciowego ubolewania, że **Ojciec został aresztowany na podstawie „oszczerczych zarzutów” i zmarł w więzieniu jeszcze tego samego dnia.** W związku z tym winna się zwrócić do Ministerstwa Spraw Wewnętrznych o akt zgonu i złożyć podanie o zwrot utraconego mienia.

Matka nigdy nie opowiedziała mi dokładnie przebiegu tej rozmowy, ani niczego o owych „oszczerczych zarzutach”. Starania o odzyskanie zagrabionego mienia wiązałyby się z koniecznością wejścia w mury magazynów więziennych. Napisała więc jedynie podanie o wydanie aktu zgonu i zwrot skonfiskowanych pieniędzy.

Jak wynika z aktu zgonu **Ojciec zmarł 29 stycznia 1949 roku, w wieku 65 lat.** Jako przyczynę podano: „porażenie serca”. Fakt śmierci został zapisany w urzędzie stanu cywilnego 11 lipca 1953 roku pod numerem 467, jako miejsce zgonu podkreślono na druku wyraz: *gorod*, jako republikę podano skrót RSFSR. Akt zgonu wydano 15 października 1953 roku (fotokopia).

Na czym polegały owe „oszczercze zarzuty” tego nie wiemy. Należy pamiętać, że był to czas kolejnej wielkiej czystki, w której nie oszczędzano nikogo. Tej samej nocy aresztowany był ambasador Iwan M. Majski, a także jeden z najwybitniejszych rosyjskich chirurgów Siergiej S. Judin. Ale oni przeżyli.

*Od Redakcji — Niektóre pisma codzienne zamieściły wiadomość o notatce skierowanej 9 listopada 1943 roku przez Wandę Wasilewską do Józefa Stalina z proponowanym składem osobowym przyszłego rządu, określanym jako Narodowy Komitet Wolnej Polski. Na wykazie m.in. podano: Parnas Jakub — akademik, znany polski uczony. Część spośród wymienionych osób nie uzyskała akceptacji Stalina w efekcie przedstawionych mu przez NKWD charakterystyk.*¹⁾ — Jak wiemy, profesor Parnas żadnej politycznej pozycji nie zajmował.*

*¹⁾ Na podstawie publikacji w *Gazecie Wyborczej* (wyd. świąt.) nr 263 z 7–8 listopada 1992 r. i w *Polsce Zbrojnej* nr 220 (wyd. 1) z 9 listopada 1992 r. przypis przygotowała Zofia Zielińska.

Stanisław Hubl*

Najważniejszym składnikiem dobrej pracowni naukowej jest dobry kierownik — takie było *credo* profesora Parnasa

W perspektywie lat — i własnego nabywanego w czasie doświadczenia — wspomnienia o profesorze Parnasie nabierają coraz to większej wyrazistości i wylaniają wielkość Jego postaci. Wykłady z chemii lekarskiej cieszyły się wielką popularnością. Odbywały się zawsze w sali wypełnionej po brzegi. Stanowiły niezwykle interesujący, niemal sensacyjny seans. Mówił pięknym językiem ze znakomitą dykcją. Czar Jego osobowości i magia Jego wiedzy obezwładniały nas, ale i podnosiły na duchu gdyż wprowadzały w świat nauki, wyznaczały nowe, nieznane drogi ludzkiej pracy i możliwości postępu. Uzasadniały celowość bytu ludzkiego.

Pomimo zróżnicowania stanowisk, stopni naukowych, a przede wszystkim światowej sławy naukowej Mistrza i Nauczyciela nikt, nawet spośród najmłodszych pracowników, nie mógł doznawać uczucia mniejszej wartości. Przeciwnie dzięki Jego subtelnej kulturze bycia, życzliwości i wyrozumiałości, dzięki trosce o sprawy bytowe uczniów, praca w Zakładzie stabilizowała i otwierała nieograniczone możliwości awansu. Jednakowoż w czasie rozmów na różne tematy, które prowadził z nami profesor, w bezpośredniej konfrontacji z Jego osobą i Jego przytłaczającą wiedzą doznawałem nierzadko uczucia nicości.

W atmosferze pracy naukowej, badawczej i dydaktycznej, sprawiedliwego traktowania przez Profesora wszystkich pracowników nie było miejsca na żadne niechęci narodowościowe czy wyznaniowe, nieporozumienia czy zawiści.

Profesor stworzył w Zakładzie Chemii Lekarskiej Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie **doskonały świat**, w którym wielka nauka oraz moralność współpracy i współżycia nadały Jego dziełu wymiar ponadczasowy, jaki posiada kultura helleńska.

Po śmierci Profesora, Jego żona Renata Parnasowa zamieszkała w Warszawie. Byłem Jej domowym lekarzem aż do końca. Pani o niezwykłych zaletach ducha i umysłu, niecodziennej i ujmującej prezencji była niezastąpioną towarzyszką życia i współtwórczynią dzieła swego wielkiego Męża. Syn, Jan Parnas, bohater z Monte Cassino, znakomity chirurg mieszka w kraju.

W tych nabrzmiałych dumą i smutkiem wspomnieniach nie mogę pominąć profesora Pawła Osterna, człowieka wielkich talentów o niezwykłej subtelności i skromności. Był moim bezpośrednim przełożonym w Zakładzie. Zaliczam Go do ścisłego grona najwybitniejszych ówczesnych chemików fizjologicznych.

* Doc. dr hab. med. chirurg, Warszawa. W latach 1936–1941 uczeń i asystent profesora Parnasa.

W czasie okupacji niemieckiej odwiedziłem profesora Osterna w Fabryce Farmaceutycznej „Laokoon” we Lwowie, gdzie mieszkał z żoną i córką. Omówiliśmy z Państwem Osternami sprawę zagrożenia: pani Osternowa z córką przechodziły pod opiekę Sióstr Zakonnych, profesor Ostern miał zagwarantowany wyjazd w okolice Równego. Proponowałem profesorowi pobyt w okolicy Łańcuta u moich przyjaciół na wsi. Trasę mieliśmy odbyć wspólnie pociągiem towarowym korzystając z pomocy umówionych kolejarzy. Niestety nie zdołałem przekonać profesora Osterna do zmiany podjętej wcześniej decyzji.

Panu profesorowi Parnasowi, Jego żonie Renacie, wszystkim pracownikom Zakładu Chemii Lekarskiej UJK we Lwowie, którzy odeszli — szczególnie tym, którzy odeszli tragicznie — składam w największej pokorze mój najgłębszy hold.

Janina Kwiatkowska*

W latach pięćdziesiątych we Lwowie

Nigdy nie miałam sposobności spotkać Profesora Jakuba Parnasa, a jednak mam uczucie, że jestem — w jakimś sensie — Jego wychowanką. Jego imię mówiło mi bardzo wiele już w czasie studiów bezpośrednio po wojnie w Akademii Weterynaryjnej we Lwowie. Był najwyższym autorytetem. Nasi znakomici profesorowie — Stefan Grzycki, biochemik oraz Wacław Moraczewski, lekarz, chemik i fizjolog a zarazem humanista — bardzo często powoływali się na opinie i poglądy Wielkiego Parnasa. Asystenci i wolontariusze — byłem wówczas wolontariuszką w Zakładzie Biochemii — musieli dobrze znać Jego publikacje. O fosforolizie glikogenu, glikolizie i amoniogenezie mówiło się cytatami z tych prac.

W katedrze Biochemii Instytutu Medycznego przy ulicy Piekarskiej 52 we Lwowie — kierowanej przez profesora Parnasa do połowy 1941 roku — rozpoczęłam pracę jako asystent i doktorant Jego ucznia Bohdana Sobczuka (B. Sobczuk był w latach trzydziestych asystentem profesora Parnasa, przyp. Red.) dwanaście lat później. Był to okres, gdy imię Parnasa zostało wymazane z oficjalnego obiegu. Usunięto książki Profesora z Biblioteki Uniwersyteckiej i Medycznej, nie było ich też w Katedrze. Wszystkie te książki i prace były jednak pieczołowicie przechowywane przez profesora Sobczuka i udostępniane zaufanym asystentom. Po śmierci Stalina książki Parnasa uroczyście powróciły do Biblioteki Katedry.

Sądzę, że nie przesadzę, określając atmosferę panującą w Katedrze jako kult profesora Parnasa. Wszystkie doświadczenia planowano i wykonano według zasad obowiązujących w okresie Jego kierownictwa.

Odwołanie się do Jego interpretacji kończyło jednoznacznie dyskusję. Pomimo, że nie było już dawnych pracowników różne tradycje, obyczaje i przepisy zakładowe miały obowiązującą moc, pilnie ich przestrzegano pod czujnym okiem szefa.

Z bardzo podobnymi tradycjami i obyczajami zetknęłam się później w Katedrze Biochemii we Wrocławiu, którą kierował uczeń profesora Parnasa — Tadeusz Baranowski. Nie tylko zresztą obyczajowość zakładowa, ale i tematyka naukowa katedry wywodziła się bezpośrednio z prac Parnasa. Taką zresztą pozostała do dziś. Zmieniły się techniki, rozszerzyły możliwości badawcze, nauka poczyniła ogromne postępy, ale nadal nie znamy odpowiedzi na wiele pytań stawianych jeszcze przez Parnasa. Tylko najwyższej klasy uczoney obdarzony niezwykłą intuicją i wyobraźnią badawczą umie znaleźć problemy, które pozostają aktualne tak długo. Do dziś enzymy glikolityczne są główną tematyką Katedry Biochemii Akademii Medycznej we Wrocławiu, podobnie jak i w wielu wybitnych pracowniach w świecie. Z tradycji parnasowskich wywodzą się badania porównawcze nad przemianą węglowodanów w mięśniach prowadzone w Katedrze Biochemii Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Badania molekularnych mechanizmów skurczu mięśni i niemięśniowych układów kurczliwych, prowadzone m.in. w Instytucie im. M. Nenckiego w Warszawie, mają u swych podstaw zjawisko fosforolizy wykryte w latach trzydziestych przez Parnasa i Baranowskiego. Z badań nad amoniogenezą i przemianą nukleotydów, prowadzonych we Lwowie przez Jakuba Karola Parnasa i Włodzimierza Mozołowskiego wzięła także początek tematyka badawcza Zakładu Biochemii Akademii Medycznej w Gdańsku.

Informacje o Sympozjach krajowych w 1993 roku

XII Międzynarodowe Sympozjum na temat Glikokoniugatów odbędzie się w Krakowie, w dniach 15-20 sierpnia 1993 roku. Organizatorem jest prof. Jerzy Kościelak (Inst. Hematologii, ul. Chocimska 5, 00-957 Warszawa, tel. 48 95 15, tlx 82 54 63, fax (48) (22) 48 89 70). Przewiduje się obrady w 14 sesjach tematycznych. Wpisowe 380 USD (organizatorzy będą mogli stosować zniżki po podjęciu przez zainteresowanych korespondencji). Karty zgłoszeń i szersze informacje można uzyskać u Organizatora.

Satelitarne sympozjum na temat *Dolichol and related lipids* i organizuje prof. Tadeusz Chojnacki (Inst. Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa, tel. 49 04 15, tlx 81 38 45, fax (48) 39 12 16 23) w Zakopanem w dniach 11-14 sierpnia 1993.

* Prof. dr hab. Instytut Biochemii i Biofizyki A. M. we Wrocławiu

Bolesław Skarżyński

1901—1963

Patron nagrody Polskiego Towarzystwa Biochemicznego za najlepszy artykuł opublikowany w kwartalniku Postępy Biochemii



Chemia fizjologiczna w Polsce w okresie międzywojennym szczyła się znacznymi osiągnięciami w wyniku działalności naukowej i dydaktycznej kilku wybitnych biochemików: Jakuba Karola Parnasa we Lwowie, Stanisława Przyłęckiego w Warszawie i Leona Marchlewskiego w Krakowie. W ciągu szeregu lat każdy z nich wylansował własne koncepcje naukowe m.in. w dziedzinie biochemii mięśni, struktury białek oraz chemii związków pyroloowych, tworząc własne szkoły, których uczniowie odegrali zasadniczą rolę w odbudowie polskiej biochemii po drugiej wojnie światowej. Jednym z nich był Profesor Bolesław Skarżyński, jeden z najbliższych współpracowników L. Marchlewskiego. Pracę naukową Skarżyński rozpoczął w 1923 r. jeszcze jako student medycyny w Zakładzie Fizjologii UJ pod kierunkiem profesora Ernesta Maydella; w 1927 r. po ukończeniu studiów lekarskich przenosi się do Zakładu Chemii Lekarskiej kierowanego przez L. Marchlewskiego. Od razu rozpoczyna pierwsze prace eksperymentalne poświęcone właści-

wościom widmowym witamin i hormonów sterydowych. Kierując swą szczególną uwagę na związki sterydowe izoluje z materiału roślinnego estradiol w stanie krystalicznym publikując kilka prac z tego zakresu w *Z. physiol. Chem.* i w *Nature*. Wyniki tych badań były kolejnym potwierdzeniem chemicznej jedności świata roślin i zwierząt, poza osiągnięciami M. Nenckiego i L. Marchlewskiego w zakresie wspólnoty struktur hemu i chlorofilu. Tak więc w Krakowie w latach 20-tych rodziła się nowa dziedzina biochemiczna — biochemia porównawcza, prowadząca do ogólniejszego spojrzenia na otaczającą nas przyrodę żywą. Wynikało z niej, że jedność istot żywych na poziomie molekularnym jest posunięta o wiele dalej niż to podejrzewano jeszcze przed niedawnym czasem, i że cała przyroda ożywiona opiera swoją różnorodność na tym samym planie budowy.

Skarżyński podejmuje następnie badania nad wyjaśnieniem sposobu przemiany karotenu w witaminę A i analizuje widma różnych związków organicznych w tym witaminy C, flawonów i innych substancji pochodzenia roślinnego. Na podstawie tych prac habilituje się w 1938 r. na Wydziale Lekarskim UJ i następnie otrzymuje stypendium im. Fundacji Potockich na wyjazd do Szwecji. Dostaje się tam do pracowni Hansa von Eulera, laureata nagrody Nobla za badania nad koenzymami pirydynowymi; na skutek wybuchu II wojny światowej pozostaje tam do 1945 r. jako stypendysta Szwedzkiej Akademii Nauk.

Wraz z Eulerem i jego współpracownikami Skarżyński przez z górą pięć lat pracuje nad biochemią tkanki nowotworowej. Szczególne osiągnięcia uzyskuje w zakresie działania peptydaz w ekstraktach tkanek nowotworowych oraz tzw. enzymów obronnych, które zostały podsumowane wydaniem wspólnie z Eulerem obszernej monografii „*Biochemie der Tumoren*” opublikowanej w 1944 r., pierwszej tego typu pracy przyjętej w świecie z dużym uznaniem. W oparciu o powyższe wyniki badań w 1943 r. Skarżyński uzyskuje tytuł docenta Uniwersytetu w Sztokholmie. Pod koniec 1944 r. Skarżyński zostaje zaproszony przez Polski Wydział Lekarski w Edynburgu jako wykładowca chemii fizjologicznej, gdzie pozostaje do lata 1946 r. W tym roku wraca do kraju, obejmuje kierownictwo Zakładu Chemii Lekarskiej UJ i w 1948 r. zostaje mianowany Profesorem Nadzwyczajnym. Trudne lata powojenne, zdewastowany Zakład i brak wyszkolonych kadr były okresem żmudnej organizacji de novo placówki szkolącej studentów medycyny i wychowania nowej kadry pracowników nauki. Stąd twórczość badawcza Zakładu Chemii Lekarskiej w latach 1946—52 jest mało znacząca a kontraktowi pracownicy nauki i młodzi asystenci zajmowali się głównie nauczaniem studentów oraz pracami organizacyjnymi, prowadzącymi do poszerzenia bazy lokalowej i przyswojenia sobie metod ówczesnej biochemii. W 1954 r. Skarżyński zostaje mianowany Profesorem Zwyczajnym oraz Członkiem Polskiej Akademii Nauk.

Od początku lat 50-tych w Zakładzie Chemii Lekarskiej w Krakowie rozwijano dwa kierunki badań: izolowanie i charakterystyka kompleksów białkowych z witaminami oraz przemiana związków siarki w samożywnych bakteriach siarkowych.

W obu kierunkach już w krótkim czasie współpracownicy Profesora uzyskali znaczące wyniki m.in. w zakresie wyizolowania po raz pierwszy i charakterystyki transkobalaminy — białka wiążącego witaminę B-12 w surowicy krwi oraz ryboflawinowego flawoproteidu — białka wiążącego swoicie ryboflawinę. W drugim kierunku badawczym w znacznym stopniu wyjaśniono mechanizm utleniania tiosiarczanu przez szczep samożywnych bakterii *Thiobacillus thioparus*. Pod koniec swej działalności naukowej Profesor zajmował się głównie związkami azotowymi w płynach ustrojowych oraz biografią wybitnych postaci z historii nauki i medycyny. Zmarł przedwcześnie 17 marca 1963 roku.

W X-tą rocznicę śmierci Profesora w Instytucie Biochemii Lekarskiej AM w Krakowie zorganizowano Sympozjum p.t.: „Budowa i funkcje białek”, które zgromadziło kilkudziesięciu specjalistów z całego kraju. Wygłoszono referaty okolicznościowe poświęcone sylwetce Profesora a także liczne doniesienia oryginalne związane z tematyką Sympozjum. Przy tej okazji odsłonięto pamiątkową tablicę w gmachu IBL z płaskorzeźbą wykonaną przez znanego artystę krakowskiego J. Pucheta.

Profesor Skarżyński był pracownikiem nauki o szerokich, humanistycznych horyzontach. Był postacią barwną, lubianą zarówno w środowisku krakowskim, w którym przeżył dwa najtrudniejsze ale i ciekawe okresy: lata po I-jej wojnie światowej do 1938 r. i po II-jej wojnie światowej do 1963 r. Okres sztokholmski trwający pełne pięć lat przyniósł mu szczególną satysfakcję przez uzyskanie znaczących w świecie wyników badań naukowych. Zawsze starał się brać czynny udział w życiu społecznym w środowisku, w którym aktualnie tkwił. Jeszcze podczas studiów lekarskich należał do Związku Zawodowego Muzyków i jako członek zespołu kameralnego grał na wiolonczeli w krakowskich lokalach. W 1924 r. zostaje prezesem Bratniej Pomocy Medyków przyczyniając się znacznie do rozwoju tej organizacji studenckiej w Krakowie. Podczas pobytu w Szwecji pracuje czynnie w Polskim Komitecie Pomocy Uchodźcom i organizuje w Sztokholmie ośrodek kulturalny „Ognisko” wygłaszając w różnych środowiskach szwedzkich odczyty o Polsce. W 1941 r. angażuje się w prace nad utworzeniem polskiego gimnazjum, w którym do końca wojny uczył chemii i biologii. Po wyborze do PAN Skarżyński pełni w niej liczne funkcje z wyboru: dwukrotnie zostaje wybrany do Prezydium PAN, czynnie uczestniczy w pracach Komitetu Biochemicznego i w innych komisjach i komitetach PAN. Od 1958 do 1961 r. przewodniczył Komisji Izotopowej Biologiczno-Medycznej Komitetu ds. Wykorzystania Energii Jądrowej

przyczyniając się w istotnym stopniu do rozwoju metod izotopowych w badaniach biologicznych i medycznych w Polsce. Był pierwszym prezesem Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, członkiem Szwedzkiego Towarzystwa Lekarskiego, członkiem Francuskiego Towarzystwa Historii Medycyny, członkiem Towarzystwa Biochemicznego w Londynie i szeregu innych Towarzystw i Organizacji przyrodniczych, medycznych i historycznych.

Profesor Skarżyński to nie tylko znana postać w powojennej biochemii polskiej ale zamiłowany badacz dziejów medycyny, znawca literatury pięknej i uzdolniony muzyk, ale przede wszystkim ceniony popularyzator nauki. Jego wykłady cieszyły się ogromnym powodzeniem zarówno u studentów jak i w innych środowiskach i do dziś na temat Jego wykładów krążą różne i zarazem ciekawe anegdoty. Należał do grona uznanych uczonych i pedagogów działających owocnie dla odbudowy polskiej chemii w najtrudniejszych latach po II-jej wojnie światowej.

Włodzimierz S. Ostrowski*



Profesor Bolesław Skarżyński i dr Mirosława Weber

* Prof. dr hab. med., A. M. w Krakowie, uczeń i współpracownik profesora Skarżyńskiego

Włodzimierz Mozołowski

1895—1975

Patron nagrody PTBioch dla młodego biochemika za najlepszy i najlepiej przedstawiony komunikat na dorocznym Zjeździe Towarzystwa



Ryc. 1. Fotografia Jadwigi i Włodzimierza Mozołowskich z 1946 r. dedykowana dr dr Cecylii i Tadeuszowi Mannom

Prawdziwie dobrym nauczycielem jest ten, kto ma uczniów lepszych od siebie samego.

Tę mądrą myśl powtarzał często profesor Włodzimierz Mozołowski, nauczyciel z zamiłowania i z powołania (Ryc. 1). Człowiek o bogatej, niepospolitej osobowości, biochemik związany w ciągu swego nader burzliwego życia co najmniej z trzema uczelniami: Uniwersytetem Jana Kazimierza we Lwowie, Uniwersytetem Stefana Batorego w Wilnie i Akademią Medyczną w Gdańsku. Niewątpliwym wpływ na ukształtowanie jego osobowości miały zrzędzenia losu, które spowodowały wytworzenie silnych uczuciowych i profesjonalnych więzów młodego Włodzimierza z dwoma ludźmi, jakże różnymi: Józefem Piłsudskim i Jakubem Karolem Parnasem. Tę bogatą osobowość ilustruje znakomita karykatura namalowana, w gdańskim już okresie przez Wandę Reicherową, plastyczkę, żonę profesora anatomii w Wilnie i w Gdańsku (Ryc. 2).

Włodzimierz (Witold, Antoni) Mozołowski urodził się w Sanoku 8 maja 1895 roku jak syn Józefa — urzędnika sądowego i Antoniny z Fijałków. W dzieciństwie jeszcze utracił matkę a potem ojca, dorastał w gronie liczego rodzonego i przyrodniego rodzeństwa, kuzynów i przyjaciół, w atmosferze polskiego patriotyzmu i niepodległościowych dążeń odradzają-



Ryc. 2 Profesor Włodzimierz Mozołowski w karykaturze Wandy Reicherowej; reprodukcja: Grażyna Katlewicz z Pracowni Mikroskopii Elektronowej AMG

cych się w tym czasie na terenie ówczesnego zaboru austriackiego. W roku 1913 ukończył gimnazjum klasyczne w Sanoku, otrzymując świadectwo dojrzałości z wyróżnieniem i w tym samym roku wstąpił na Wydział Lekarski Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie. Kiedy wybuchła pierwsza wojna światowa w roku 1914. młody student po pierwszym roku medycyny wstępuje ochotniczo do legionów Józefa Piłsudskiego aby wziąć czynny udział w walce zbrojnej o niepodległość Polski i dzielić losy tej formacji do końca wojny. W tym czasie nie tylko walczy na kilku frontach objętej ogniem walki Europy, na które los rzucał polskie legiony, ale otrzymuje oficerskie wykszolenie wojskowe, jest ranny, a w krótkim okresie rekonwalescencji podejmuje próby kontynuowania studiów medycznych. Pod koniec wojny znalazł się w najbliższym otoczeniu Naczelnego Wodza. W roku 1918 wstępuje w związek małżeński z Jadwigą z Koehlerów, z którą w roku 1919 ma syna — Jana. Jest to jednak już czas, kiedy trwa następna wojna, zwana polsko-bolszewicką, w której Włodzimierz Mozołowski znów bierze czynny udział, walczy na froncie, a potem otrzymuje rozkaz zorganizowania Kompanii Ochrony Marszałka Piłsudskiego z obowiązkiem zamieszkania w Belwederze. W roku 1920, będąc wciąż

w otoczeniu Marszałka, wstępuje na Uniwersytet Warszawski; zachował się dokument tego faktu, w postaci aktu ślubowania przyjętego na Uniwersytet Warszawski studenta. Kiedy kończy się wojna w roku 1921. Włodzimierz Mozołowski występuje z wojska pomimo perspektywy kariery, która później stała się udziałem wielu oficerów legionowych i wraca do Lwowa. W posiadaniu autora niniejszego tekstu jest fotografia Józefa Piłsudskiego z odręczną dedykacją Marszałka dla kapitana Mozołowskiego „na wieczną pamiątkę”. Obdarowany nią został człowiek, który przez 7 lat zbrojnie i ofiarnie walczył o niepodległość Polski, odznaczony krzyżem *Virtuti Militari*, dwukrotnie Krzyżem Walecznych, Krzyżem Niepodległości i wieloma innymi odznaczeniami wojskowymi.

We Lwowie Włodzimierz Mozołowski ukończył studia rozpoczęte przed wybuchem wojny, uzyskując w roku 1922 dyplom doktora wszechnauk lekarskich. Związał się też od razu z Zakładem Chemii Lekarskiej UJK i stał się entuzjastycznym uczestnikiem badań Jakuba Karola Parnasa nad glikolizą, metabolizmem związków fosforowych mięśnia i nad amoniogenezą. Pracuje intensywnie wraz z całym młodym zespołem stworzonym wówczas przez J. K. Parnasa, bierze udział w nauczaniu studentów i kształceniu młodszych od niego pracowników skupiających się wokół coraz szerzej na świecie znanej lwowskiej szkoły biochemicznej. Wyjeżdża kilkakrotnie do Ernsta-Josefa Lessera i Gustawa Embdena w Niemczech, bierze udział w konferencjach i kongresach. Publikacje naukowe W. Mozołowskiego z tego okresu, jak i późniejsze (pełna bibliografia prac była ogłoszona w „Postęпах Biochemii” 1976, 22, 3—10) są przykładem skrupulatności i sumienności badawczej, dążności do precyzji wyrażanych sądów i do wszechstronnych kontroli. Szczególnie godne uwagi pod tym względem są prace z lat 1927—1933 nad poszukiwaniem źródeł amoniaku w wynaczynionej krwi. Należy pamiętać że były to badania prowadzone na długo przed opracowaniem takich metod jak chromatografia czy precyzyjna spektrofotometria do identyfikacji związków. W serii publikacji, ogłaszanych głównie w „Biochemisches Zeitschrift”, Mozołowski opisuje znużone doświadczenia nad warunkami powstawania amoniaku, nad izolowaniem substratów i produktów amoniogenezy, by wreszcie udowodnić że źródłem amoniaku w wynaczynionej krwi jest kwas 5-adenylowy (AMP).

W roku 1929 Włodzimierz Mozołowski habilitował się na Uniwersytecie Jana Kazimierza we Lwowie uzyskując *veniam legendi* z chemii fizjologicznej. To „upoważnienie do wykładania” zostało udzielone właściwemu człowiekowi; bowiem W. Mozołowski wykladał znakomicie, w sposób interesujący i z pełnym zaangażowaniem zarówno w treść jak i w formę przedstawianego zagadnienia. W roku 1934 został mianowany profesorem nadzwyczajnym chemii lekarskiej i patologii Akademii Medycyny Weterynaryjnej we Lwowie a w 1935 roku powołano go na Katedrę

Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu Stefana Batorego w Wilnie. Na tym stanowisku pozostawał przez 5 lat, do roku 1939, kiedy to po wybuchu II wojny światowej i utracie przez Polskę niepodległości, władze litewskie usunęły polskich profesorów z uniwersytetu. Okres okupacji przetrwał profesor Mozołowski w Wilnie pracując w laboratorium szpitala dziecięcego, biorąc również udział w tajnym nauczaniu chemii i biochemii na podziemnym Wydziale Lekarskim. Szczególnym jednak dokonaniem tego okresu życia profesora było uratowanie od zniszczenia akt archiwalnych ówczesnych studentów USB. W czasie dramatycznego przejmowania uniwersytetu przez nacjonalistyczne władze litewskie, profesor Mozołowski, wspólnie z ówczesnym dziekanem Wydziału Lekarskiego, profesorem Stanisławem Hillerem, wynieśli a częściowo w ciągu jednej nocy przepisali wykazy zdanych egzaminów przez aktualnych studentów, a także dyplomów. Te wykazy przywieźli ze sobą po zakończeniu wojny do Gdańska; było to nieocenioną pomocą dla tych wszystkich, którzy po wojennej utracie dokumentów usiłowali udowodnić przebieg przerwanych lub ukończonych studiów w Wilnie.

W roku 1945 profesor Włodzimierz Mozołowski został „repatriowany” z Wilna do Polski zakreślonej nowymi powojennymi granicami i przyjechał wraz z kilkoma innymi profesorami Wydziału Lekarskiego USB do Gdańska. Tutaj przystąpili do organizowania Zakładu Chemii Lekarskiej w Akademii Lekarskiej w Gdańsku, tworzonej na gruzach „Medizinische Akademie in Danzig”. Znowu zabrał się do nowego przedsięwzięcia z zapałem i wielką energią. W bardzo trudnych warunkach, wśród wielu przeciwności doprowadził do tego, że jeszcze w tym samym roku kiedy w Gdańsku zakończono działania wojenne i miasto zostało spalone, odbył się egzamin wstępny na pierwszy rok studiów Wydziału Lekarskiego i rozpoczęły się zajęcia, łącznie z ćwiczeniami laboratoryjnymi. Pierwsi powojenni studenci z podziwem słuchali wywodów Profesora o molekułach i chemicznych podstawach zjawiska życia; były one ilustrowane znakomicie przygotowanymi demonstracjami i urozmaicone opowieściami z historii nauki, anegdotami i dowcipnymi „powiedzonkami”. Potem zdawali u Niego egzaminy, których wynik był oceniany nadzwyczaj skrupulatnie i sprawiedliwie; krążyły o tej skrupulatnej sprawiedliwości Profesora przesadzone anegdoty i tworzyła się wokół Niego legenda. On sam, mając świadomość tego że jest jednym z nielicznych profesorów, którym udało się przeżyć okrutny wojenny czas wyniszczania i zagłady polskiej kultury, podjął wszystkimi swoimi siłami trud odbudowywania życia naukowego i wartości, które uznawał za najwyższe. Uważał, że najważniejszym Jego zadaniem jest kształcenie młodych i przygotowywanie ich do podjęcia działalności akademickiej, do dociekania i głoszenia prawdy. Usiłował zachęcić do podjęcia pracy doświadczałnej i nauczycielskiej tych swoich studentów, których uważał za sposobnych

do tego intelektualnie, ale kandydatów na najbliższych swoich współpracowników oceniał także, a może przede wszystkim pod względem ich cech charakterologicznych. Nie zawsze odnosił sukcesy w werbowaniu młodego „narybku” naukowego, z różnych przyczyn, m.in. także za sprawą „komisji przydziału pracy”, która wkrótce, jeszcze przed rokiem 1950 rozpoczęła działać w uczelniach, z zadaniem przede wszystkim — dbałości o zatrudnianie na stanowiskach nauczycielskich ludzi o poglądach zgodnych z obowiązującą ideologią materialistyczną. Jednakże energia Profesora, jego umiejętność żywego i przekonującego dyskusowania nie tylko o biochemicznych zagadnieniach, wybitna inteligencja, prawość charakteru i silna, oryginalna osobowość wywarły ogromny wpływ na wskrzeszenie i rozwój życia naukowego w Gdańsku i w Polsce po wojennych spustoszeniach. Był założycielem i pierwszym przewodniczącym Gdańskiego Towarzystwa Lekarskiego, działał czynnie w Polskim Towarzystwie Chemicznym, Polskim Towarzystwie Fizjologicznym, Gdańskim Towarzystwie Naukowym, inicjował spotkania, konferencje i dyskusje naukowe, znalazł się wśród członków — założycieli Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, które powstało w roku 1959. Był wybrany członkiem Polskiej Akademii Umiejętności, był także członkiem Warszawskiego Towarzystwa Przyjaciół Nauk. Jednakże nie wszedł do grona członków Polskiej Akademii Nauk utworzonej w 1951 roku w miejsce PAU. Powołano go jednak do Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN i powierzono redagowanie pierwszego polskiego archiwalnego czasopisma biochemicznego „Acta Biochimica Polonica”. Sprawowanie funkcji redaktora tego czasopisma przez wiele lat traktował jako część swojej misji nauczycielskiej. Prowadził obszerną korespondencję z autorami, poprawiał teksty, proponował zmiany i uzupełnienia doświadczeń opisanych w nadesłanych pracach. Wielu sędziwych dzisiaj biochemików zawdzięcza Jemu, oraz profesor Irene Mochnackiej, współredaktorowi „Acta”, niejedną swoją publikacyjny sukces. Zmarł 6 maja 1975 roku, dwa dni przed ukończeniem osiemdziesiątego roku życia.

Profesor Włodzimierz Mozołowski uczył swoich współpracowników nie tylko dociekania prawd biochemicznych i konieczności wszechstronnych kontroli w pracy badawczej; dbał o to, aby młodzi jego wychowankowie należycie przygotowywali się do publicznych wystąpień naukowych i z entuzjazmem wdrażał młodych do wystąpień i dyskusji. Ludzie, którzy go otaczali pamiętają słynne jego „powiedzonka”, za którymi kryła się głęboka częstokroć refleksja, a były one w Jego ustach także elementem nauczycielskiego wychowania. Przytoczmy kilka tylko: **Jeśli nie wiesz jak skłamać — powiedz prawdę**; albo: **Każdy dobry uczynek musi ponieść zasłużoną karę**; sentencja powtarzana często przez Profesora: **Jeżeli ci dwóch mówi że jesteś pijany to możesz im wierzyć lub nie — ale połóż się do łóżka**, jest wciąż ważna dla każdego

wdającego się w publiczne dyskusje — nie tylko naukowe.

Włodzimierz Mozołowski należał do pokolenia Polaków, którym przyszło kilkakrotnie od nowa organizować warunki życia i działania oraz restytuować uznanie dla wartości, które uważali za ważne, a którym groziła zagłada. Za każdym razem czynił to z ogromnym załapem i wiarą w to, że w następnym pokoleniu będzie lepsze. Polskie Towarzystwo Biochemiczne nadało Mu godność swojego Członka Honorowego, ustanawiając zaś Włodzimierza Mozołowskiego patronem nagrody dla młodego biochemika za najlepsze i najlepiej przedstawione doniesienie na dorocznym Zjeździe Towarzystwa, pragnęło po śmierci Profesora przed siedemnastu laty — z jednej strony uczcić Jego zasługi, z drugiej zaś strony zachować wśród młodych badaczy wiedzę o nauczycielskich walorach i niepoślednich przymiotach charakteru uczonego z tego pokolenia, które nie tak dawno odeszło. Gdański Oddział Polskiego Towarzystwa Biochemicznego od kilku lat organizuje wspólnie z Gdańskim Towarzystwem Naukowym doroczny uroczysty wykład imienia Profesora Włodzimierza Mozołowskiego, który odbywa się w sali wykładowej nazwanej Jego imieniem, w maju — miesiącu, w którym przypada rocznica urodzin i śmierci Włodzimierza Mozołowskiego.

Mariusz Żydowo*

* Profesor dr hab. med., A. M. w Gdańsku, uczeń i współpracownik profesora Mozołowskiego.

Bibliografia publikacji biograficznych o W. Mozołowskim:

1. Żydowo M. (1974) Ann. Acad. Med. Gedanensis 4, 533—636
2. Żydowo M. (1975) Acta Biochim. Polon. 22, III—IV
3. Żydowo M. M. i Żelewski L. (1976) Ann. Acad. Med. Gedanensis 6, 405—412
4. Żydowo M. M. i Żelewski L. (1976) Postępy Biochemii 22, 3—10

Doroczne wykłady poświęcone pamięci prof. W. Mozołowskiego

- 18.05.1987r Prof. dr Robert Ammon* (Homburg)
„Naturalne trucizny w żywieniu człowieka, wybrane przykłady”.
- 27.05.1988r Prof. dr Caspar Ruegg (Heidelberg)
„Calcium regulation of muscle contraction”.
- 19.06.1989r Prof. dr Ernesto Carafoli (Zurich)
„The signaling role of calcium and its regulation”.
- 23.05.1991r Prof. dr Gunnar Strom (Uppsala)
„The role of basic sciences for modern medical education”.
- 28.04.1992r Prof. dr Georges Van den Berghe (Louvain)
„The purine nucleotide cycle and its molecular defects”.

* Uczeń E.-J. Lessera w Mannheim, profesor w Berlinie, Królewcu, Homburgu; w Gdańsku w 1942-1945.

Redagowanie RNA

RNA editing

CEZARY ŻEKANOWSKI*

Spis treści:

- I. Wstęp
- II. Zmianie może podlegać pojedynczy nukleotyd pierwotnego transkryptu
- III. Redagowanie ekstensywne — mitochondria świdrowców
- IV. Redagowanie RNA u *Physarum polycephalum*
- V. Redagowanie transkryptów przywraca konserwowaną ewolucyjnie strukturę białek
- VI. Dlaczego redagowanie?

Contents:

- I. Introduction
- II. Conversion of a single nucleotide in a primary transcript
- III. Extensive editing
- IV. Insertion of citidines in a mitochondrial transcript of *Physarum*
- V. An evolutionary conserved protein structure could be restored by editing
- VI. Why editing?

Wykaz stosowanych skrótów: gRNA — guide RNA; coII(III), coxII(III) — podjednostka II(III) oksydazy cytochromowej; A6, atp6 — podjednostka 6 ATPazy; ND7 — podjednostka 7 dehydrogenazy NADH; nad1 — podjednostka 1 dehydrogenazy NADH; ndhA — podjednostka A dehydrogenazy NADH; CYb — cytochrom b; orf — otwarta ramka odczytu; rp12 — białko podjednostki małej rybosomu; rps9,14 — białka podjednostki dużej rybosomu; psbL — polipeptyd L fotosystemu II.

I. Wstęp

Do połowy lat siedemdziesiątych wydawało się oczywiste, że każda sekwencja nukleotydów w mRNA ma swój komplementarny odpowiednik w DNA. Wiadomo było, że pre-mRNA może podlegać różnym modyfikacjom w trakcie lub po transkrypcji, np.: dodaniu sekwencji cap, poli(A), jednego lub kilku

nukleotydów, czy modyfikacji zasad. Po odkryciu genów podzielonych i konieczności składania segmentów genu na poziomie DNA lub RNA, ten prosty obraz uległ komplikacji.

Dziesięć lat później okazało się, że sekwencja białka określona jest nie zawsze jednoznacznie przez sekwencję nukleotydową genu czy odpowiadającego mu pierwotnego transkryptu. Informacja genetyczna zawarta w pre-mRNA pewnych genów, niektórych strukturalnych RNA i tRNA, może być w sposób znaczący przekształcana przez potranskrypcyjne zmiany sekwencji. Zjawisko to nazwano redagowaniem RNA (ang. *RNA editing*) [1-22].

II. Zmianie może podlegać pojedynczy nukleotyd pierwotnego transkryptu

Najpełniej, jak dotąd, poznanym przykładem redagowania RNA jest tkankowo specyficzna zamiana C w U, w mRNA kodującym białkowy składnik lipoprotein (apolipoproteinę B) u ssaków [23]. mRNA apolipoproteiny B występuje w dwóch formach. W tkance jelita jest dłuższy i w pozycji 2153 posiada kodon CAA (Gln). W wątrobie kodon CAA zostaje zmieniony, w wyniku deaminacji, na kodon stop (UAA). Rozpoznawanie miejsca w którym zachodzi redagowanie wiąże się z przyjęciem przez transkrypt specyficznej struktury drugorzędowej (typu „szpilki do włosów”, z C₆₆₆ w wypętłonym obszarze jednonicowym) [24, 25]. Znaczenie informacyjne mają również sekwencje położone na 3' końcu mRNA. Reakcja przeprowadzana przez kompleks enzymatyczny nie wymaga energii, kofaktorów czy katalitycznego RNA [26-28]. Jest więc różna od znanych procesów obróbki mRNA.

mRNA apolipoproteiny powstaje w dużo mniejszych ilościach w wielu organach i tkankach (dominuje forma dłuższa). Niedawno wykazano istnienie alternatywnego miejsca deaminacji C w pozycji 6802 (Thr₂₁₉₈→Ile) [29]. Udział różnie redagowanych trans-

* mgr, asystent w Zakładzie Biosyntezy Białka Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN

kryptów w puli mRNA apolipoproteiny zmienia się znacznie w czasie rozwoju osobniczego [30].

Podobne zjawisko wykryto w mózgu ssaków. Okazało się, że redagowaniu podlegają mRNA kodujące zależne od glutaminianu białka błonowe transportujące jony (uczestniczą one w szybkim przekazywaniu sygnałów przez synapsy) [19, 31]. W wyniku redagowania kodon CAG w pre-mRNA zostaje przekształcony w kodon CGG, zmieniając zasadniczo własności białka.

III. Redagowanie ekstensywne — mitochondria świdrowców

W połowie lat osiemdziesiątych odkryto zadziwiające zjawisko w mitochondriach uwicionych pasożytów z rodzaju *Trypanosoma* (świdrowce). Okazało się, że sekwencja nukleotydowa genu może być zasadniczo różna od wynikającej z sekwencji białka, kodowanego przez ten gen. Po to, by powstały „sensowne” mRNA niezbędne są niekiedy bardzo znaczne zmiany sekwencji pierwotnego transkryptu. Pierwotne mRNA są często pozbawione sygnałów startu i końca translacji, nie posiadają pełnej, owartej ramki odczytu, zawierają dodatkowe miejsca stop. Dokładniejsza analiza wykazała, że od przewidywanej sekwencji mRNA różnią się jedynie ilością i miejscem rozmieszczenia urydyn. Proces nadawania sensu takim pierwotnym transkryptom nazwano redagowaniem RNA (w ścisłym znaczeniu tego terminu).

Świdrowce mają pojedyncze bardzo złożone mitochondrium położone u podstawy pojedynczej wici. Zawiera ono dwa rodzaje kolistych cząsteczek DNA: ok. 20-50 kopii tzw. dużych kółek (ang. *maxi-circles*) o jednakowej sekwencji nukleotydowej i ok. 10^4 kopii mniej lub bardziej różniących się sekwencją małych kółek (ang. *mini-circles*), tworzących wzajemnie powiązaną sieć. Zawartość informacyjna i znaczenie małych kółek do niedawna były poznane w niewielkim stopniu. Duże natomiast zawierają część genów normalnych, część defektywnych [32, 33].

W 1985 roku stwierdzono, że u *Trypanosoma brucei* występuje mRNA kodujący podjednostkę II oksydazy cytochromowej (*coII*). Kodujący ją gen, położony w mitochondrialnym DNA dużych kółek, nie zawiera 4, leżących blisko siebie, w obrębie sekwencji kodującej reszt tymidylowych. Zmienia to zasadniczo przewidywaną sekwencję aminokwasową białka [34].

Już w pierwszych pracach wykazano, że w całkowitym DNA *T. brucei* nie istnieją „poprawne” wersje genów defektywnych. Na tej podstawie wyciągnięto wniosek, że pierwotny transkrypt tych genów podlega w czasie lub po transkrypcji zmianom polegającym, w przypadku np. genu *coII*, na insercji 4 reszt U [35].

Spektakularny przykład redagowania RNA dotyczy genu *coIII* — ponad 50% sekwencji nukleotydowej transkryptu powstaje już po transkrypcji [36]. Do 1986 roku przyjmowano, że w DNA dużych kółek

T. brucei znajdują się wszystkie te geny, które znajdują się zarazem w DNA dużych kółek innego świdrowca, *Leishmanii terantolae*, za wyjątkiem genów *coIII*, *ND7* i *A6*. W mitochondrialnym DNA *T. brucei* odcinki odpowiadające tym genom są znacznie krótsze i bogate w pary GC (sekwencje te nazwano kryptogenami) [37, 38].

W 1988 roku wykryto mRNA kodujący *coIII* u *T. brucei*. Okazało się, że sekwencja tego mRNA odpowiada sekwencji kryptogenu po dodaniu 398-miu reszt U w 158-miu ściśle określonych miejscach i usunięciu 19-stu reszt U w 9-ciu innych miejscach. Uzyskuje się wtedy pełną zgodność sekwencji kryptogenu i transkryptu. Transkrypt redagowany jest identyczny z transkryptem genu *coIII* innych świdrowców. Znalaziono również częściowo redagowane mRNA. Niektóre z nich zawierają więcej, inne mniej reszt U niż transkrypty dojrzałe.

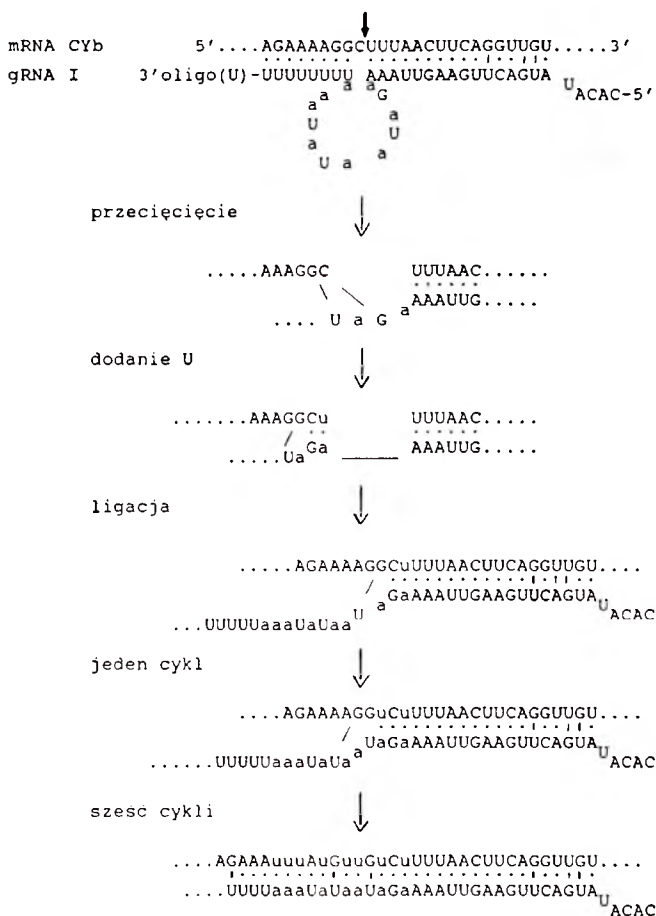
Dokładna analiza otrzymanych klonów cDNA wykazała, że proces redagowania przebiega prawdopodobnie od końca 3' w kierunku 5'. Wszystkie częściowo redagowane transkrypty genu *coIII* posiadają zmienione sekwencje na 3' końcu (podobnie jak transkrypty wielu innych kryptogenów) [39-41].

Sugerowano, że mechanizm redagowania polega na zidentyfikowaniu „niewłaściwej” sekwencji, przecięciu nici RNA, dodaniu lub wycięciu odpowiedniej ilości reszt U i ligacji [3]. Nie było jasne gdzie znajduje się informacja niezbędna do precyzyjnego poprawienia sekwencji pre-mRNA. W całkowitym DNA tego organizmu nie znaleziono sekwencji odpowiadającej dojrzałemu mRNA. Nie znaleziono też dowodów na istnienie łańcucha (—) RNA, który mógłby służyć jako matryca do redagowania czy replikacji (hipoteza alternatywnego genomu RNA) [5].

W 1990 roku grupa Simpsona zaproponowała model redagowania RNA i od tego czasu zgromadzono już dość dużo dowodów na jego poparcie [42]. W modelu tym przyjmuje się, że informacja niezbędna do redagowania zawarta jest nie w pierwotnym ciągłym transkrypcie, tak jak ma to miejsce w przypadku mRNA apolipoproteiny, lecz jest rozrzucona w genomie mitochondrialnym w kilkudziesięciu nukleotydowych odcinkach. Odcinki te kodują krótkie RNA (instructive, guide RNA, gRNA) korygujące sekwencje pre-mRNA. gRNA są w pełni komplementarne do redagowanych sekwencji w dojrzałym mRNA. Edytor może być kompleksem enzymatycznym składającym się z nukleazy, nukleodylo-transferazy urydylowej, ligazy RNA oraz odpowiednich gRNA.

Na rycinie 1 przedstawiono hipotetyczny mechanizm redagowania fragmentu pre-mRNA genu cytochromu b (*CYb*) *Leishmanii terantolae* [41].

mtDNA dużych kółek zawiera kryptogen *CYb*, którego sekwencja różni się od dojrzałego mRNA w dwóch regionach; redagowanie polega na dodaniu 8 i 31 reszt U (na rycinie przedstawiono redagowanie miejsca pierwszego). W odległości 2 i 16 kb od



Ryc. 1 Schematyczne przedstawienie udziału gRNA I w redagowaniu mRNA genu *CYb* *Leishmanii terantolae*. Przedstawiono trzy reakcje (przecięcia łańcucha RNA, dodanie U, ligacja) zachodzące podczas jednego, pełnego cyklu dodawania U oraz końcowy wynik redagowania tego fragmentu mRNA.

kryptogenu położone są dwa krótkie, tej samej polarności, odcinki kodujące gRNA *CYb*. Odszukano je stosując analizę komputerową sekwencji DNA dużych kółek. W obu gRNA znajdują się odcinki komplementarne do fragmentów (od ich 3' końca) kryptogenu. Dzięki temu gRNA mogą tworzyć stabilne hybrydy z nieredagowanym mRNA.

Hipotetyczny edytor tworzą: gRNA, pre-mRNA (tutaj: *CYb*) oraz kompleks enzymatyczny (edytor). Proces redagowania transkryptu może przebiegać w następujący sposób: 1. endonukleaza przecina pierwotny transkrypt od strony 3' pierwszej zasady nie parującej z gRNA (na rycinie miejsce to zaznaczono strzałką). W rezultacie na końcu 3' zostaje uwolniona grupa 3' OH. 2. Jeżeli 3' końcowa zasada w miejscu nacięcia łańcucha RNA nie jest urydyną — terminalna transferaza urydylowa dodaje U (naprzeciw A lub G w gRNA). Jeżeli 3' końcowa zasada jest urydyną — jest usuwana przez egzonukleazę lub egzonukleolityczną aktywność terminalnej transferazy. 3. Łańcuch RNA jest następnie ligowany, region dwuniciowy powiększa się o jeden nukleotyd i cały proces zaczyna się od nowa. Kompleks redagujący posuwa się w kierunku od 3' ku 5', aż do utworzenia pełnego (nie zawierającego niesparowanych zasad) dupletu gRNA:mRNA.

Do tej pory we frakcji mitochondrialnej różnych świdrowców wykryto kilka aktywności enzymatycznych zdolnych do przeprowadzenia procesu redagowania (3' terminalna transferaza urydylowa, endonukleaza i ligaza RNA, egzonukleaza urydylowa), choć nie udało się wykazać, że enzymy te uczestniczą rzeczywiście w redagowaniu RNA [43-45].

Wszystkie scharakteryzowane dotąd gRNA są cząsteczkami małymi (do 60 nukleotydów) i są w pełni komplementarne do zredagowanych (dojrzałych) sekwencji mRNA. Parowanie kotwiczącego 5' końca gRNA, liczącego od kilkunastu do ponad pięćdziesięciu nukleotydów z mRNA, jest pełne i klasyczne (A:U i C:G). Pozostałe fragmenty są komplementarne, gdy przyjmie się również parowanie typu G:U. Oznacza to, że gRNA nie jest matrycą konwencjonalną, wyznaczającą jednoznacznie (A:U, G:C) strukturę pierwszorzędową nowo syntetyzowanego fragmentu mRNA. W czasie redagowania urydyny mogą być włączane do mRNA naprzeciw G lub A w gRNA.

Na końcu 3' gRNA znajduje się krótki odcinek oligourydynowy (15-20 reszt U) dodawany po transkrypcji, prawdopodobnie przez mitochondrialną terminalną transferazę urydylową. Fragment ten, jak się wydaje, jest źródłem urydyn włączanych do mRNA oraz, jak się niekiedy sugeruje, może stabilizować duplet gRNA:mRNA w czasie redagowania (wiązania G:U) [46].

Spśród wielu zidentyfikowanych dotąd cząsteczek gRNA tylko komplementarne do 3' końca pre-mRNA mogą tworzyć stabilne duplety z nieredagowanym transkryptem. Pozostałe (dostarczające informacji do redagowania sekwencji położonych dalej, w kierunku 5' końca) mogą tworzyć kolejno kompleksy kotwiczące dopiero z częściowo zredagowanymi mRNA (reakcja kaskadowa). Być może jest to jeden ze sposobów ukierunkowania (3'→5') i uporządkowania procesu redagowania RNA. Byłoby to szczególnie istotne dla ekstensywnie redagowanych transkryptów (np. genu *coIII*) [17].

Mimo pewnych niejasności, model Simpsona tłumaczy większość obserwacji doświadczalnych i wyjaśnia, dlaczego tak długo nie wykryto redagowanych fragmentów kryptogenów. Miejsce redagowania jest wyznaczane w elegancki sposób przez komplementarne oddziaływania dwóch nici RNA [41, 42, 46, 47].

Nie dla wszystkich kryptogenów znaleziono do tej pory odpowiednie gRNA (np. *coIII*). Być może sekwencje te znajdują się w DNA małych kółek lub w jądrowym DNA. Jak się przypuszcza, do redagowania wszystkich kryptogenów *Tbrucei* potrzeba około 200 różnych gRNA [17].

Nie jest jasne dlaczego proces redagowania wydaje się tak bardzo nieprecyzyjny. „Niewłaściwie” redagowane transkrypty niektórych genów mogą stanowić ok. 40—50% całej puli tych mRNA. Można to przypisać tworzeniu błędnych dupletów gRNA:pre-mRNA lub wykorzystaniu niewłaściwych gRNA.

Sekwencje nukleotydowe ponad 40% transkryptów *coIII* w mitochondriach *L.terantolae* nie mogły powstać w wyniku procesu redagowania zachodzącego w kierunku 3'→5' z wykorzystaniem właściwych gRNA. Porównanie sekwencji tych transkryptów ze znanymi sekwencjami mitochondrialnego DNA doprowadziło do odnalezienia 49 nukleotydowego odcinka, komplementarnego do jednego z niewłaściwie redagowanych transkryptów. Obserwacja ta nie tłumaczy tak dużej niedokładności procesu redagowania RNA, ale stanowi dobrą podstawę dalszych badań. [41] Niewłaściwie redagowane transkrypty innych genów można również traktować jako produkty dokładnego procesu, przebiegającego z udziałem niewłaściwych gRNA (analiza komputerowa znanych sekwencji mitochondrialnego DNA wykazała istnienie kilku takich sekwencji) [41, 48].

Analiza niepełnie zredagowanych transkryptów w mitochondriach *T. brucei* (kryptogeny *coIII* i *CYb*) sugeruje, że sekwencja docelowa („tarcza”) jest wyznaczana nieprecyzyjnie [49]. Nieprecyzyjność dotyczy ściśle określonych regionów (domen). Domeny te mają pewne szczególne cechy struktury pierwszorzędowej pozwalające na rozpoznanie przez odpowiedni kompleks enzymatyczny, nadmiar G nad C warunkuje pofałdowaną strukturę drugorzędową, stabilizowaną wiązaniami G_{anti} - G_{syn} . Jak się wydaje, w podobny sposób telomeraza rozpoznaje odcinki DNA, od których rozpoczyna się replikacja telomerów [50].

Proces redagowania mógłby przebiegać w następujący sposób: 1. między 5' końcem gRNA a komplementarną sekwencją pre-mRNA powstaje struktura dwuniciowa 2. w obrębie domeny redagowania zachodzi przypadkowe dodawanie i usuwanie U, katalizowane przez kompleks enzymatyczny 3. gRNA tworzy stopniowo dupleks z właściwie poprawionymi produktami (ochrona przed degradacją lub dalszym redagowaniem).

Redagowanie byłoby więc wypadkową pomiędzy zachodzącymi w sposób statystyczny, w obrębie domeny redagowania, procesami delecji i insercji reszt U. Miejsce, w którym następuje nacięcie łańcucha pre-mRNA, umożliwiające dodawanie bądź usuwanie U, byłoby określane przez struktury wyższego rzędu samego RNA. Rola gRNA polegałaby jedynie na doborze poprawnych transkryptów. gRNA byłby więc jeszcze mniej konwencjonalną matrycą — parowanie zasad służyłoby jedynie wybieraniu podobnych do niej struktur.

Nie wiadomo kiedy gRNA odłącza się od dojrzałego mRNA — być może dopiero w czasie translacji. Umożliwiłoby to zależną od translacji pozytywną kontrolę procesu redagowania (przez regulację stężenia wolnych gRNA w komórce) oraz negatywne sprzężenie zwrotne (przez wiązanie wolnych gRNA z dojrzałymi mRNA).

Jak do tej pory nie ma satysfakcjonującej odpowie-

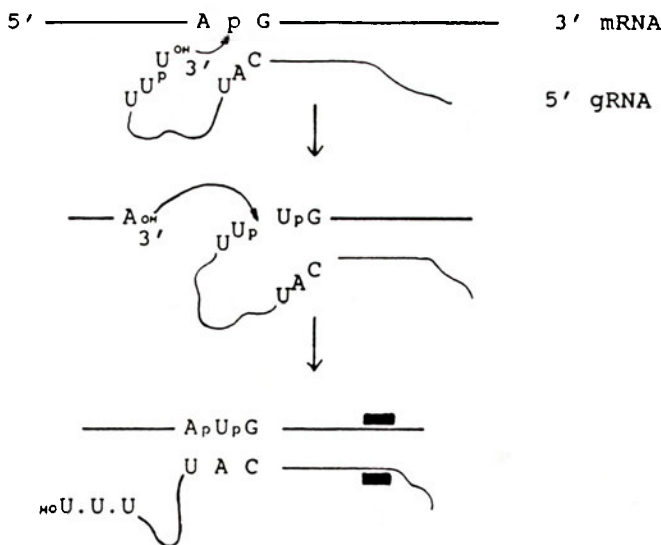
dzi na pytanie, co dzieje się z transkryptami niewłaściwie redagowanymi, czy (przynajmniej niektóre z nich) ulegają translacji. Kodon startu translacji nie zawsze jest dodawany pod koniec tego procesu. Redagowanie natomiast poprzedza poliadenylację, co może decydować o większej stabilności dojrzałego mRNA.

W 1991 roku grupa L. Simpsona zaproponowała alternatywną hipotezę, w której zarówno insercje, jak delecje U są wynikiem serii reakcji transestryfikacyjnych. Urydyny pochodzą z niekodowanego przez matrycę DNA 3' oligo(U) końca cząsteczek gRNA.

W modelu tym, idącym za sugestią Cecha [51], U są traktowane jako małe introny [52]. Na rycinie 2 przedstawiono proces redagowania pre-mRNA polegający na dwóch reakcjach transestryfikacji (włączenie dodatkowej urydyny). Jak poprzednio, utworzenie stabilnego dupleksu między 5' końcem gRNA a sekwencją położoną w kierunku 3' od miejsca redagowania pozwala na dokładne zlokalizowanie całego procesu. Ostatnia U z końca 3' gRNA, w wyniku ataku nukleofilowego zostaje włączona do mRNA od strony 3' pierwszego niesparowanego nukleotydu. Druga reakcja transestryfikacji polega na ataku wolnej grupy 3' OH mRNA od strony 5' włączanego nukleotydu. W przypadku delecji pierwszy atak nukleofilowy ma miejsce od 5' strony niesparowanej urydyny w mRNA.

Inaczej niż w modelu enzymatycznym, wszystkie reakcje niezbędne do redagowania transkryptu mogą być przeprowadzane w pojedynczym centrum aktywnym i przypominają znane procesy obróbki RNA [16].

Produktem pośrednim reakcji są cząsteczki złożone z kowalencyjnie połączonych nici mRNA i gRNA. Wykryto je metodą hybrydyzacyjną, jak również podając całkowity mitochondrialny RNA łańcuchowej reakcji polimerazy z dwoma primerami (na rycinie 2 zaznaczonymi pogrubionymi liniami). Cząsteczki



Ryc. 2 Schematyczne przedstawienie reakcji transestryfikacyjnych zachodzących w czasie redagowania mRNA (dodawanie U). Zaznaczono grupy fosforanowe (p) biorące udział w reakcjach transestryfikacji. Pogrubionymi liniami zaznaczono primery używane do wykrywania cząsteczek gRNA:mRNA w łańcuchowej reakcji polimerazy.

tego typu znaleziono wśród transkryptów kilku różnych genów mitochondrialnych *L. terantolae* (*ND7*, *coII* i *coIII* oraz *A6*) [52, 48].

Zredagowane częściowo transkrypty badanych genów zawierają odcinki, tzw. złącza (junctions), pomiędzy regionami dojrzałymi i nie poddanymi jeszcze redagowaniu. Każde złącze zawiera przemieszane sekwencje nieredagowane, redagowane częściowo i dojrzałe. Sugeruje to, że proces wprowadzania zmian nie jest dokładnie liniowo uporządkowany. Analiza sekwencji gRNA i odpowiadających im mRNA pozwala przypuszczać, że redagowanie jest wynikiem wzajemnych dynamicznych oddziaływań między mRNA i gRNA. W obu cząsteczkach RNA powstawałyby przejściowo stabilne, struktury drugorzędowe. Miejsca redagowania znajdowałyby się w odcinkach struktur drugorzędowych o niskiej stabilności termodynamicznej. Wprowadzane zmiany umożliwiałyby powstawanie struktur stabilnych — pełnych dupleksów gRNA:mRNA.

Przedstawiona, hipoteza „dynamicznych oddziaływań” pozwala zrozumieć w jaki sposób redagowane są np. sekwencje, w których U położone są po stronie 3' C. Jeżeli redagowanie jest procesem ściśle jednokierunkowym w gRNA powinna znajdować się G, komplementarna do C w mRNA. Byłaby ona jednak zdolna tworzyć parę z 3' U — zapobiegając tym samym delecji urydyny [47].

Istnienie kowalencyjnie połączonych cząsteczek gRNA:mRNA nie jest ostatecznym potwierdzeniem prawdziwości hipotezy transestryfikacyjnej. Również w modelu enzymatycznym U mogą pochodzić z końca oligo(U) cząsteczki gRNA, a połączone cząsteczki gRNA:mRNA mogłyby powstawać w wyniku działania nukleazy i ligazy RNA.

W tym roku opublikowano dwie prace przedstawiające układ do badania redagowania RNA *in vitro* [53, 54]. Wstępne wyniki sugerują, że grupą aktywną jest 3' końcowa grupa OH cząsteczki gRNA. Opracowanie układu *in vitro* jest zasadniczym przełomem w badaniu redagowania RNA. Możliwe będzie badanie form pośrednich występujących w trakcie redagowania i określenie, który z hipotetycznych mechanizmów reakcji jest prawdziwy.

IV. Redagowanie RNA u *Physarum polycephalum*

Pierwszym poznany przykładem redagowania RNA, w rezultacie którego w dojrzałym transkrypcie pojawiają się niekodowane przez DNA cytozyny, jest przekształcenie pierwotnego transkryptu genu podjednostki α syntetazy ATP u śluzowca *Physarum polycephalum* [55].

Do pre-mRNA podjednostki α mitochondrialnej syntetazy ATP wprowadzane są 54 cytozyny w 54 różnych miejscach, oddalonych od siebie, co najmniej o 11 nukleotydów (maksymalna odległość wynosi 54

nukleotydy). Większość (78%) insercji następuje od strony 5' dwunukleotydu purynowo-pirymidynowego. W około 90% przypadków wprowadzona cytydyna tworzy trzecią literę kodonu. Rozmieszczenie miejsca redagowania nie jest więc zupełnie przypadkowe. W strukturze pierwszorzędowej transkryptu nie znaleziono jednak sygnałów instrukcyjnych dla enzymu(ów). Redagowanie u *Physarum* nie jest, jak się przypuszcza, procesem kierunkowym i jest ograniczone (inaczej niż u świdrowców) wyłącznie do otwartej ramki odczytu. Jak dotąd nie wiadomo czy w procesie tym uczestniczą gRNA. Gdyby tak było, do redagowania samego tylko mRNA podjednostki α syntetazy ATP, potrzeba byłoby kilku, stosunkowo długich gRNA (włączane nukleotydy rozmieszczone są równomiernie) [56].

Ostatnio stwierdzono, że redagowaniu podlegają również inne transkrypty mitochondrialne *Physarum*: dwa rodzaje mRNA oraz rRNA małej podjednostki rybosomu. Jak się wydaje, insercji ulegają C, A i U [18].

V. Redagowanie transkryptów przywraca konserwowaną ewolucyjnie strukturę białek

Przez wiele lat uważano, że w mitochondriach roślinnych realizowany jest unikalny kod genetyczny. Dopiero pod koniec lat osiemdziesiątych stwierdzono, że w organellach tych wszystkie ulegające translacji mRNA są redagowane w ten sposób, że przywrócone zostają zasady uniwersalnego kodu genetycznego [12, 13, 18, 57, 58]. Redagowanie transkryptów mitochondrialnych zachodzi prawdopodobnie u wszystkich roślin wyższych. Być może proces ten przebiegał już u wspólnego przodka roślin współczesnych.

Redagowanie w mitochondriach roślinnych jest ekstensywne — dotyczy ok. 14% wszystkich kodonów i w ponad 80% przypadków zmienia ich znaczenie. Wymianie ulegają pojedyncze nukleotydy (od 2 do 23 w transkrypcie) i są to zmiany typu C→U lub U→C (być może również inne) [11, 59]. Redagowaniu podlegają również, choć z mniejszą częstością niektóre strukturalne RNA (26S rRNA), a w niewielkim stopniu także odcinki położone między genami, i nie ulegające translacji: np. między *orfB* a *coxII*, odcinki przed kodonem inicjatorowym (np. gen *coxII* z mitochondriów pszenicy) lub za kodonem terminacyjnym, (np. gen *coxIII* wiesiolka). W wyniku redagowania mogą być tworzone miejsca wiązania rybosomów (transkrypty genów *rps 9*, *rps 14*), sekwencje niezbędne do wycinania intronów (np. intronu w transkrypcie genu *nad 1*) oraz kodony terminacyjne (np. do mRNA genu *atp6* wprowadzony jest dodatkowy kodon terminacyjny, skracający transkrypt o 105 nukleotydowy odcinek, którego sekwencja nie jest konserwowana ewolucyjnie u innych organizmów). Tworzone są również kodony inicjatorowe, np. w transkrypcie genu *nad 1* pszenicy. Redagowanie w mitochondriach roślin-

nych dotyczy więc przede wszystkim otwartych ramek odczytu i może stanowić dobry wyznacznik aktywnych translacyjnie mRNA [60-63].

W wyniku redagowania znikają (na poziomie RNA i białek) różnice między genami mitochondrialnymi roślin i innych organizmów. Stosunkowo rzadko pojawiają się zmiany powodujące odejście od konserwowanej ewolucyjnie sekwencji genu [64].

Do tej pory nie wykryto w strukturze pierwszo- i drugorzędowej pre-mRNA żadnych sygnałów, wskazujących, które kodony wymagają redagowania [11, 59, 64, 65]. W większości przypadków rozmieszczenie miejsc redagowania wydaje się być przypadkowe — analiza niepełnie redagowanych transkryptów sugeruje, że proces ten nie jest kierunkowy [66, 67].

Podobnie jak w przypadku mRNA świdrowców, nie jest jasne, czy transkrypty „defektywne” ulegają translacji. Istniejące dane zdają się sugerować, że redagowanie jest ostatnią w sekwencji zmian jakim podlegają pre-mRNA [68-70]. mRNA niektórych genów obecne we frakcji polisomalnej nie są jednak w pełni zredegowane. Jeżeli transkrypty te ulegają translacji, to mogą powstawać białka o zmienionej sekwencji aminokwasowej, a być może również funkcji (w mitochondriach roślinnych, inaczej niż u trypanosomów, w wyniku redagowania RNA w niewielu genach powstają kodony startu translacji, a miejsca wiążące rybosomy są zmieniane stosunkowo rzadko).

Transkrypty częściowo redagowane, mogą być niezbędnymi strukturami pośrednimi. Być może istotne jest następstwo czasowe zmian konformacyjnych cząsteczki RNA tak, że pewne obszary nie mogą zostać zredegowane przed innymi. Przyjmowana konformacja może również uniemożliwiać przedwczesną translację niedojrzałych cząsteczek mRNA.

W przypadku kilku transkryptów wykryto „nadmiernie” redagowane cząsteczki mRNA. Niektóre z dodatkowych miejsc są „milczące” (nie zmieniają znaczenia kodonów). Istnieją również dodatkowe miejsca, jak w przypadku mRNA cytochromu b, w których redagowanie może wpływać na strukturę kodowanych białek. mRNA takie stanowią jednak nieznaczną część całkowitej puli ulegających translacji transkryptów [71-73]. Można przypuszczać, że redagowanie zachodzi mniej dokładnie w kodonach nie wpływających na strukturę przestrzenną kodowanego białka. Zmiany takie mogą jednak wpływać na konformację mRNA lub na proporcje użycia kodonów, i w ten sposób stanowić jeden z mechanizmów regulacji translacji [74].

W 1991 roku wykryto zjawisko redagowania RNA również w chloroplastach. W transkrypcie genu *rpl2*, w chloroplastach kukurydzy, kodon ACG ulega przekształceniu w kodon startu translacji (AUG). Analogicznej zmianie ulega transkrypt genu *psbL* roślin tytoniu i szpinaku [75, 76]. W transkrypcie genu *ndhA* kukurydzy redagowanie przywraca konserwowaną ewolucyjnie sekwencję nukleotydów [77].

Mechanizm procesu redagowania RNA w plastydach pozostaje nieznany. Może polegać na prostej reakcji deaminacji (zmiany typu C→U i odwrotnie). Istnieją jednak pewne dowody, że jest bardziej skomplikowany. W kilku analizowanych klonach cDNA zaobserwowano jednonukleotydowe delecje dokładnie w miejscu, które podlega redagowaniu, co sugeruje mechanizm oparty na wymianie nukleotydów.

Redagowanie mogłoby polegać na przecięciu nici RNA, wymianie nukleotydu i ligacji. Ligacja mogłaby zachodzić w pewnych warunkach przed wymianą nukleotydu, i w rezultacie powstawałby RNA krótszy o jeden nukleotyd. Mechanizm alternatywny, wymiana pirymidyny bez przecięcia łańcucha RNA, przypominałoby działanie niektórych systemów naprawy DNA [78]. W tym przypadku, cząsteczka RNA występowałaby w formie pośredniej, bez pirymidyny w miejscu redagowania. Otrzymane w wyniku działania odwrotnej transkryptazy kłony cDNA byłyby również krótsze o jeden nukleotyd.

Nie wiadomo czy w redagowaniu transkryptów w plastydach uczestniczą korygujące RNA. Brak wyraźnych sygnałów instrukcyjnych w redagowanym RNA i znaczne rozmiary genomów plastydowych zdaje się to sugerować [79].

Wysunięto sugestie, że również w mitochondriach wyplawków niektóre przynajmniej pre-mRNA ulegają redagowaniu. Jak się wydaje w wyniku redagowania znikają (na poziomie RNA i białek) różnice między genami mitochondrialnymi płazińców i innych organizmów [80].

Ostatnio podano, że redagowaniu podlega byłećcy tRNA selenocysteiny i tRNA asparaginy z komórek wątroby szczura [81, 82]. W tRNA asparaginy zmianie ulegają C₃₂→U i U₃₃→C. Wykryto również obecność niewielkich ilości niezredagowanego prekursora. Znaczenie funkcjonalne i mechanizm zmian pozostają na razie nieznanne.

VI. Dłaczego redagowanie?

„Redagowanie RNA” jest terminem opisowym. Obejmuje wiele mechanizmów przekształcania pierwotnych transkryptów, o różnym, jak się wydaje pochodzeniu ewolucyjnym. Redagowanie nie przypomina procesów, w których różnica w sekwencji pomiędzy DNA a odpowiednim mRNA powstaje w czasie transkrypcji (ang. *pseudo-templated transcription*) [22].

Redagowanie pre-mRNA genu apolipoproteiny B jest procesem stosunkowo prostym, pozwalającym na tkankowo specyficzną regulację ekspresji (zależną ponadto od stadium rozwojowego organizmu). Występowanie aktywności redagującej w komórkach, które nie produkują apolipoproteiny sugeruje, że może być to proces stosunkowo powszechny, wykorzystywany do zwiększania zmienności sekwencyjnej różnych rodzajów RNA i białek.

W mitochondriach świdrowców ekspresja genów może być regulowana poprzez zróżnicowane redagowanie powstających transkryptów. Cykl życiowy tych pasożytów jest bardzo złożony i wymaga zasadniczych zmian w systemie oddechowym i morfologii komórki. [83]. Stadium rozwojowe wywołujące objawy chorobowe (śpiączkę) żyje we krwi żywiciela i jest następnie przenoszone do jelita środkowego muchy tse-tse. Forma żyjąca we krwi — w warunkach tlenowych — nie posiada zestawu cytochromów, a energię czerpie z glikolizy (końcowe utlenianie NADH jest tlenowe). Forma jelitowa (procykliczna) ma pełny układ cytochromowy i wszystkie enzymy cyklu Krebsa oraz bardzo rozbudowane mitochondrium. Mimo tych dramatycznych zmian, wszystkie kryptogeny są aktywne w obu stadiach rozwojowych. Zróżnicowane jest natomiast redagowanie transkryptów w różnych formach rozwojowych pasożyta. Na przykład mRNA genów *CyB* i *coII* są redagowane w formie procyklicznej a nie w formie żyjącej we krwi żywiciela. Domena 3' mRNA genu *ND7* jest redagowana tylko w formie żyjącej we krwi. Inne transkrypty są zmieniane w obu formach rozwojowych (*coIII*, *A6*, 5' domena *ND7*). Redagowanie RNA jest tu jeszcze jednym (obok transsplicingu) sposobem regulacji ekspresji informacji genetycznej.

Nie wiadomo w jaki sposób zachodzi regulacja procesu redagowania RNA u świdrowców. Wydaje się, że zmianie w czasie cyklu rozwojowego nie ulega ilość cząsteczek gRNA dostępnych w komórce. Pozostaje więc kontrolowanie użycia gRNA — co wydaje się bardziej skomplikowane [17]. W regulacji mogą być na przykład wykorzystywane dwa czynniki zmieniające się w trakcie cyklu życiowego tych organizmów: ilość pre-mRNA w komórce oraz temperatura otoczenia (27°C i 37°C).

Redagowanie w mitochondriach roślinnych ma nieco inny charakter. W prawie wszystkich przypadkach zmianie (deaminacji, wymianie?) ulegają pojedyncze nukleotydy. Redagowanie powoduje zmiany w sekwencji kodowanych białek, tak że stają się one bardziej podobne do białek mitochondrialnych innych organizmów. Podobnie jak u świdrowców, proces ten jest nieprecyzyjny. Mogą powstawać warianty sekwencyjne białek. Byłby to sposób na zwiększenie plastyczności fenotypowej organizmu (izoenzymy, rodziny genów, redagowanie). Oczywiście jest również znaczenie regulacyjne — możliwość szybkiego uaktywnienia nieredagowanej puli mRNA [84].

Proces redagowania wykształcił się prawdopodobnie wcześniej niż 200—300 mln lat. W tym czasie rozchodzą się drogi *C.fasciculata* oraz *T.brucei* i *L.terantolae*, a wszystkie trzy mają, jak się wydaje, taki sam system redagowania RNA [32]. Znamy, na pewno, tylko jeden redagowany transkrypt w mitochondriach *Ph.polycephalum*. Pozostaje więc sprawą otwartą czy redagowanie przez insercje/delecje U i C powstały jednocześnie, czy pochodzą jedno od drugiego, czy też wywodzą się od wspólnego, pierwo-

tego procesu modyfikowania informacji genetycznej [188].

Ponieważ mitochondria pochodzą najprawdopodobniej od bakteryjnych endosymbiontów, proces redagowania RNA (podobnie jak splicing) mógł występować już u pierwotnych organizmów prokariotycznych. Bakterie, przyjmując inną od eukariontów strategię ewolucyjną, utraciły następnie zdolność redagowania transkryptów. Jeżeli tak było, różne mechanizmy redagowania: u roślin, *Physarum* i świdrowców — mogą pochodzić od różnych grup endosymbiontów (mitochondria i chloroplasty są organellami o pochodzeniu polifiletycznym). Być może procesy zwiększania zmienności genetycznej przypominające redagowanie występują nadal u archebakterii.

Redagowanie RNA, polegające na delecjach i insercjach nukleotydów, może być pozostałością znacznie starszego ewolucyjnie procesu. Splicing, replikacja i (prawdopodobnie) redagowanie oparte są na transestryfikacji. Obecnie powszechnie przyjmuje się, że pierwotne systemy replikacyjne wykorzystywały cząsteczki RNA o zdolnościach katalitycznych. Redagowanie może być pozostałością procesów replikacji oraz modyfikowania sekwencji RNA, zachodzących w „świecie RNA” przed powstaniem enzymów zdolnych do selekcji trójfosfonukleotydów przed włączeniem ich do nowo syntetyzowanego łańcucha.

Skład nukleotydowy pierwotnych RNA był zapewne odmienny od składu nukleotydowego spotykanych dziś RNA. Dominowały najprawdopodobniej puryny. Jak sugeruje M. Eigen [85] z pierwotnych bogatych w puryny, samoreplikujących się cząsteczek RNA pochodzą zarówno współczesne tRNA, które w dużej mierze zachowały pewien „nadmiar” puryn, jak mRNA. Być może proces redagowania pozwolił na wprowadzenie pirymidyn (C, U) do istniejących już bogatych w puryny cząsteczek RNA [5, 86, 87]. System modyfikacji RNA, znacznie przekształcony, w „świecie DNA” może nadawać konkretną przewagę selekcyjną, zwiększając plastyczność genomu i heterogenność populacji niektórych białek.

Dokładne testowanie hipotez dotyczących pochodzenia mechanizmów redagowania RNA staje się możliwe po opracowaniu układu do badania redagowania RNA *in vitro* [53, 54, 88, 89].

Artykuł otrzymano 12 maja 1992 r.

Zaakceptowano do druku 10 sierpnia 1992 r.

Piśmiennictwo

1. Maizels N, Weiner A (1988) *Nature* **334**: 469-470
2. Lamond A (1988) *Trends Biochem Sci* **13**: 283-284
3. Benne R (1989) *Biochem Biophys Acta* **1007**: 131-134
4. Stuart K (1989) *Parasitol Today* **5**: 5-8
5. Benne R (1990) *Trends Genet* **6**: 177-182
6. Blackburn EH (1990) *Nature* **346**: 609-610
7. Simpson L (1990) *Science* **250**: 512-513
8. Weiner AM, Maizels N (1990) *Cell* **61**: 917-920

9. Weissmann A, Cattaneo R, Billeter MA (1990) *Nature* **343**: 697-699
10. Szymanski M, Barciszewski J (1990) *Post Bioch* 1-2, 2-3
11. Walbot V (1991) *Trends Genet* **7**: 37-39
12. Mulligan RM (1991) *Plant Cell* **3**: 327-330
13. Chasan R (1991) *Plant Cell* **3**: 1045-1047
14. Hoffman M (1991) *Science* **253**: 136-138
15. Stuart K (1991) *Trends Biochem Sci* **16**: 68-72
16. Bass BL (1991) *Nature* **352**: 283-284
17. Stuart K (1991) *Ann Rev Microbiol* **45**: 327-344
18. Cattaneo R (1991) *Ann Rev Genet* **25**: 71-88
19. Cattaneo R (1992) *Trends Bioch Sci* **17**: 4-5
20. Sollner-Webb B (1992) *Nature* **356**: 743-744
21. Hodges P, Scott J (1992) *Trends Bioch Sci* **17**: 77-81
22. Jacques J-P, Kolakofsky D (1991) *Gen Devel* **5**: 707-713
23. Chen S-H, Habib G, Yang C-Y, Gu Z-W, Lee B-R, Weng S-A, Silberman S, Cai S-J, Deslypere J, Rosseneu M, Gotto A. M, Li W-H, Cahn L (1987) *Science* **238**: 363-366
24. Backhus JW, Smith HC (1991) *Nucl Acid Res* **19**: 6781-6786
25. Shah RR, Knott TJ, Legros JE, Navaratnam N, Greeve JC, Scott J (1991) *J Biol Chem* **266**: 16301-16304
26. Lau PP, Chen S-H, Wang JC, Chan L (1990) *Nucl Acid Res* **18**: 5817-5821
27. Smith HC, Kuo S-R, Backhus JW, Harris SG, Sparks CE, Sparks JD, (1991) *Proc Nat Acad Sci* **88**: 1489-1493
28. Hodges P, Navaratnam N, Greeve JC, Scott J (1991) *Nucl Acid Res* **19**: 1197-1201
29. Navaratnam N, Patel D, Shah RR, Greeve JC, Powell LM, Knott TJ, Scott J (1991) *Nucl Acid Res* **19**: 1741-1744
30. BaBie T, Verp H, Salomon D, Davidson NO (1990) *J Biol Chem* **265**: 20616-20620
31. Sommer B, Kohler M, Sprengel R, Seeburg P (1991) *Cell* **67**: 11-19
32. Ray DS (1987) *Plasmid* **17**: 177-190
33. Englund PT, Hajduk SJ, Marini JC (1982) *Ann Rev Biochem* **51**: 695-726
34. Benne R, Burg J van den, Brakenhoff JP, Sloff P, Boom JH van, Tromp MC (1986) *Cell* **46**: 819-826
35. Shaw JM, Campbell D, Simpson L (1989) *Proc Nat. Acad. Sci* **86**: 6220-6224
36. Feagin JE, Abraham JM, Stuart K (1988) *Cell* **53**: 413-422
37. Benne R, Vries BF de, Burg J van der (1983) *Nucl Acid Res* **11**: 6925-6941
38. Simpson L, Neckelman N de la Cruz, Simpson AM, Feagin J (1987) *J Biol Chem* **262**: 6182-6196
39. Abraham JM, Feagin JE, Stuart K (1988) *Cell* **55**: 267-272
40. Koslowsky DJ, Bhat GJ, Perrollaz AL, Feagin JE, Stuart K (1990) *Cell* **62**: 901-911
41. Sturm NR, Simpson L (1990) *Cell* **61**: 871-878
42. Blum B, Bakalara N, Simpson L (1990) *Cell* **60**: 189-198
43. Bakalara N, Simpson AM, Simpson L (1989) *J Biol Chem* **264**: 18679-18686
44. Zwierzynski TA, Widemer G, Buck GA (1984) *Nucl Acid Res* **17**: 4647-4661
45. Brimacombe RA (1984) *Trends Biochem Sci* **9**: 273-277
46. Pollard VW, Roher SP, Michelotti EF, Hancock K, Hajduk SL (1991) *Cell* **63**: 783-790
47. Blum B, Simpson L (1990) *Cell* **62**: 391-397
48. Koslowsky DJ, Bhat J, Read LK, Stuart K (1991) *Cell* **67**: 537-546
49. Decker CJ, Sollner-Webb B (1990) *Cell* **61**: 1001-1011
50. Frank-Kamenetskii M (1989) *Nature* **342**: 737
51. Cech TR (1991) *Cell* **64**: 667-669
52. Blum B, Sturm NR, Simpson AM, Simpson L (1991) *Cell* **65**: 543-550
53. Harris ME, Hajduk SL (1992) *Cell* **68**: 1091-1099
54. Koslowsky DJ, Goring HU, Morales TH, Stuart K (1992) *Nature* **356**: 807-809
55. Mahendran R, Spottswood MR, Miller DL (1991) *Nature* **349**: 434-438
56. Bass BL (1991) *Nature* **349**: 370-371
57. Gualberto JM, Lamattina L, Bonnard G, Weil J-H, Grienenberger J-M (1989) *Nature* **341**: 660-666
58. Hiesel R, Wissinger B, Schuster W, Brennicke A (1989) *Science* **246**: 1632-1634
59. Begu D, Graves PV, Domec C, Arselin G, Litvak S, Araya A (1990) *Plant Cell* **2**: 1283-1290
60. Schuster W, Hiesel R, Wissinger B, Brennicke A (1990) *Mol Cell Biol* **10**: 2428-2431
61. Schuster W, Brennicke A (1991) *Nucl Acid Res* **19**: 6923-6928
62. Chapedelaine Y, Bonen L (1991) *Cell* **65**: 465-472
63. Schuster W, Unsel M, Wissinger B, Brennicke A (1990) *Nucl Acid Res* **18**: 229-233
64. Covello PS, Gray M W (1990) *Nucl Acid Res* **18**: 5189-5196
65. Gualberto JM, Weil JH, Grienenberger JM (1990) *Nucl Acid Res* **18**: 3771-3776
66. Schuster W, Wissinger B, Unsel M, Brennicke A (1990) *EMBO J* **9**: 263-269
67. Salazar RA, Pring DR, Kempken F (1991) *Curr Genet* **20**: 483-486
68. Gualberto JM, Bonnard G, Lamattina L, Grienenberger JM (1991) *Plant Cell* **3**: 1109-1120
69. Sutton CA, Conklin PL, Pruvitt KD, Hanson MR (1991) *Moll Cell Biol* **11**: 4274-4272
70. Wissinger B, Schuster W, Brennicke A (1991) *Cell* **65**: 473-482
71. Schuster W, Brennicke A (1990) *FEBS Lett* **268**: 252-256
72. Kempken F, Mullen JA, Pring DR, Tang HV (1991) *Curr Genet* **20**: 417-422
73. Schuster W, Ternes R, Knoop V, Hiesel R, Wissinger B, Brennicke A (1991) *Curr Genet* **20**: 397-404
74. Hiesel R, Wissinger B, Brennicke A (1990) *Curr Genet* **18**: 371-375
75. Hoch B, Maier RM, Appel K, Igloi GL, Kossel H (1991), *Nature* **353**: 178-180
76. Kudla J, Igloi GL, Metzlauff M, Hagemann R, Kössel H (1992) *EMBO J* **11**: 1099-1103
77. Maier RM, Hoch B, Zeitz P, Kossel H (1992) *Plant Cell* **4**: 609-616
78. Olsen LC, Assland R, Wittner CU, Krokan HE, Helland DE (1989) *EMBO J* **8**: 3121-3125
79. Levings III CS, Brown GG (1989) *Cell* **56**: 171-179
80. Bessho Y, Ohama T, Osawa S (1992) *J Mol Evol* **34**: 331-335
81. Diamond AM, Montero-Puernen Y, Lee BJ, Hatfield D (1990) *Nucl Acid Res* **18**: 6727-6734
82. Beier H, Lee MC, Sekiya T, Kuchino Y, Nishimura S (1992) *Nucl Acid Res* **20**: 2679-2683
83. Koslowsky DJ, Riley GR, Feagin JE, Stuart K (1992) *Moll Cell Biol* **12**: 2043-2049
84. Schuster W, Wissinger B, Hiesel R, Unsel G, Gerold E, Knoop V, Marchfelder A, Binder S, Schobel W, Scheike R, Gronger P, Ternes R, Brennicke A (1991) *Physiol. Plant* **81**: 437-445
85. Eigen M, Winkler-Oswatitsch R (1981) *Naturwissenschaften* **68**, 217-228; 282-292
86. Joyce GF (1989) *Nature* **338**: 217-224
87. Lanzano A, Guerrero R, Margulis L, Oro J (1988) *J Mol Evol* **27**: 238-290
88. Araya A, Domec C, Begu D, Litvak S (1992) *Proc Nat Acad Sci* **89**: 1040-1044
89. Orgel LE (1992) *Nature* **358**: 203-209

Addendum

Redagowanie może poprzedzać inne procesy obróbki pre-mRNA. Tak jest w przypadku ekstensywnie redagowanego transkryptu genu CR6 *Trypanosoma brucei* (J. Biol. Chem. (1992) 267, 1123—1128) W Cell vol. 70 opublikowano dwie prace dotyczące ukierunkowania procesu redagowania RNA i znaczenia słabych wiązań G:U, A:C w odłączaniu gRNA od zredagowanego mRNA (strony: 456—467) oraz zjawiska „niewłaściwego” redagowania RNA i możliwej korekcji błędów (strony: 469—476).

Introny grupy I i II, satelitarne RNA wirusów roślinnych, wiroidy oraz struktury tRNA-podobne jako wybrane przykłady do rozważań nad rolą RNA w ewolucji współczesnego systemu genetycznego.

The introns of Group I and II, satellite RNAs of plant viruses, viroids and tRNA-like structures as chosen examples for discussion of the role of RNA in the evolution of the present-day genetic system.

MAŁGORZATA JAKUBOWICZ*

Spis treści:

- I. Wstęp
- II. Introny grupy I i II
- III. Satelitarne RNA wirusów roślinnych i wiroidy.
- IV. Struktury tRNA-podobne
- V. Uwagi końcowe.

Contents:

- I. Introduction.
- II. The introns of Group I and II.
- III. The satellite RNAs of plant viruses and viroids.
- IV. The tRNA-like structures.
- V. Summary.

I. Wstęp.

Pytanie o sposób powstawania współczesnego systemu przekazywania informacji genetycznej jest jednym z podstawowych w biologii molekularnej. Większość badaczy jest zgodna co do tego, iż cząsteczka RNA jest ewolucyjnie starsza od DNA [1]. Uzasadniane jest to następującymi spostrzeżeniami: w warunkach *in vivo* synteza deoksyrybonukleotydów następuje poprzez redukcję rybonukleotydów; tymina, zasada specyficzna dla DNA, powstaje wskutek metylacji uracylu, zasady specyficznej dla RNA; primery RNA są konieczne dla rozpoczęcia replikacji przez polimerazy DNA, natomiast polimerazy RNA nie wymagają primera. W świetle tych spostrzeżeń słusznym wydaje się być założenie, iż DNA pojawił się później niż RNA [2]. W odróżnieniu od DNA, RNA jest molekułą zdolną do autokatalizy. Przypuszcza się, że RNA wyłonił się w wyniku tzw. ewolucji chemicznej [1], podczas której replikację RNA przez RNA prawdopodobnie poprze-

dzwały układy samoreplikacji mniej skomplikowanych niż RNA cząsteczek chemicznych [3].

W latach 80-tych biologzy molekularni na określenie RNA o własnościach katalitycznych stworzyli termin rybozym. Okazało się, iż rybozymami są niektóre introny określone później jako introny grupy I i II oraz pewne małe roślinne patogeniczne RNA.

W niniejszej pracy omówiono trzy zagadnienia:

- a) interesujące ze względów ewolucyjnych cechy intronów grupy I i grupy II,
- b) katalityczne właściwości satelitarnych RNA wirusów roślinnych oraz wiroida ASBV,
- c) rolę 3' końcowych struktur tRNA-podobnych wirusów roślinnych, faga Q β oraz 3' końcowych struktur tRNA-podobnych występujących w transkryptach mitochondrialnych plazmidów *Neurospora crassa*.

Wspólnym mianownikiem w funkcjonowaniu tych dość odległych rodzajów cząsteczek jest to, iż cząsteczki te (wymienione w punkcie a i b) zdolne są do prowadzenia procesów katalitycznych, gdzie zarówno substratem jak i katalizatorem jest RNA. W świetle poglądu, iż ewolucyjnie RNA poprzedzał DNA, introny grupy I i II, satelitarne RNA wirusów roślinnych oraz struktury tRNA-podobne wirusów roślinnych, faga Q β i struktury tRNA-podobne w transkryptach mitochondrialnych plazmidów u *Neurospora crassa* mogą kandydować do miana „molekularnych skamieniałości”.

Praca nie porusza problemów związanych z występowaniem intronów u organizmów eukariotycznych i niewystępowaniem ich u prokariotów oraz wniosków ewolucyjnych wynikających z tego faktu.

II. Introny grupy I i II

W bardzo prymitywnych układach reakcje katalizowane przez RNA mogły również prowadzić replikację RNA. Hipotetyczny model takich procesów wymaga

* dr, Zakład Biochemii Biopolimerów UAM 61-701 Poznań ul. Fredry 10, telefon 52 32 43

podwójnej nici RNA, z których jedna posiada właściwości katalityczne umożliwiające prowadzenie procesów rozszczepiania i ligacji. Modele samoreplikującego się układu RNA zakładają istnienie rybozemu o właściwościach zbliżonych do właściwości intronów grupy I i II [4, 5]. Doudna i Szostak eksperymentalnie wykazali, że zmodyfikowany rybozym *Tetrahymeny* oraz pochodne intronu sun Y z bakteriofaga T4 mogą połączyć oligonukleotydy komplementarne do nici matrycowej w produkt będący nicią komplementarną (tzw. cRNA) [6, 7]. Trudno jednak brać pod uwagę dokładnie taką samą reakcję w prymitywnym świecie RNA, ponieważ rybozym *Tetrahymeny* jak i intron sun Y są dosyć dużymi cząsteczkami i posiadają skomplikowaną drugo- i trzeciorzędową strukturę [5, 8].

Śród znanych obecnie rodzajów intronów najciekawsze ze względów ewolucyjnych wydają się być introny grupy I i II (podział intronów wg Cecha i Bass [9]), ostatnio dość szczegółowo opisane przez Chachulską [3]. Poniższa praca z tego względu pomija dokładną ich charakterystykę.

Introny grupy I i II odróżniają się od pozostałych grup intronów między innymi tym, iż *in vitro* są zdolne do prowadzenia procesów składania pre-RNA autokatalitycznie, bez udziału białek (ang. *selfsplicing*).

Należy odnotować, iż introny grupy I i II za wyjątkiem kilku intronów w jądrowych genach rRNA występują w przedziałach komórkowych, gdzie transkrypcja i translacja nie jest fizycznie rozdzielona. Większość intronów zarówno grupy I jak i II zawiera regiony ograniczone translacyjnym kodonem inicjującym i kodonami terminującymi tzw. ORF (ang. open reading frame). Stwierdzono, iż kodują one białka [10].

Reakcja autokatalizy pre-RNA grupy I i II i składanie pre-mRNA wykazuje pewne interesujące podobieństwa. Obydwa procesy można rozpatrywać jako dwie następujące po sobie reakcje rozszczepienia i ligacji, w obydwu przypadkach grupy fosforanowe w miejscach składania są zachowane w produkcie. Każdy etap obydwu procesów zachowuje ilość wiązań fosfodwuestrowych w reagentach i produktach. Procesy te mogą być rozpatrywane jako seria reakcji transestryfikacji pomiędzy grupami hydroksylowymi 2' i 3' i wiązaniami fosfodwuestrowymi. Przypuszcza się, że reakcja autokatalizy RNA jest pierwotnym procesem składania, a procesy odpowiedzialne za składanie jądrowych prekursorowych mRNA są pochodnymi tej reakcji. W takim razie introny jądrowych genów kodujących prekursorowe mRNA są potomkami intronów zdolnych do samoskładania. Głównym etapem w przejściu od samoskładających się intronów do intronów typu jądrowego mogło być pojawienie się czynnika, który dokonywał wyboru miejsca rozszczepienia. Przeniesienie roli katalitycznej na taki czynnik spowodowało, iż struktura intronu nie musiała już być tak ściśle okre-

ślona jak w przypadku intronów samoskładających się [4].

Wykazano, iż po wycięciu intronu grupy II typu *lassa* bI1 (intron bI1 jest pierwszym intronem w mitochondrialnym genie *cob-box* u drożdży), intron ten ma zdolność ponownego integrowania do odpowiednich, zligowanych eksonów [11, 12]. Integracja ta zachodzi poprzez odwrócenie reakcji zaangażowanych w składanie normalne. Reakcja ta nie wymaga dodatkowego źródła energii, lecz jedynie specyficznej struktury intronu.

Udowodniono [12], że intron grupy II bI1 katalizuje pełen cykl składania normalnego i odwrotnego w warunkach *in vitro* również wtedy, gdy zastępuje się autentyczny ekson 2 monorybonukleotydami, deoksyoligonukleotydami, 3' końcową grupą fosforanową nukleotydu. Wiadomo, że np. monorybonukleotyd cytozynowy (pCp i pC_{OH}) może zastępować autentyczny bI1 ekson 2 normalnie rozpoczynający się od reszty U. Substytutami eksonu 2 mogą być również rybonukleotydy A, G, U, lecz w tym przypadku zmniejsza się szybkość reakcji normalnej i odwrotnej [12]. Ekson 2 mogą zastępować nawet deoksynukleotydy. Wykazano, że część DNA powstała z chimerycznego substratu RNA-DNA (ekson 1_(RNA)-ekson 2_(DNA)) jest przenoszona w reakcji normalnego i odwrotnego składania z taką samą wydajnością jak ekson 2 złożony z rybonukleotydów. Chimeryczny substrat RNA-DNA, gdzie 3' końcowy rybonukleotyd eksonu 1 był zastąpiony resztą deoksyadenozynową był prawie nieaktywny w czasie rozpoczynania reakcji odwrotnego składania. Stąd, przypuszcza się, iż grupa 2'OH końcowej rybozy eksonu 1 ma silny wpływ na miejscowo specyficzną transestryfikację przy sąsiadującym atomie fosforu.

Wszystkie dotąd znane introny grupy II układają się w charakterystyczną, chociaż nie identyczną strukturę drugorzędową. Poszczególne części intronu wykazujące ewolucyjną zachowawczość określono mianem domen [13]. Zagadnienie to zostało przedstawione przez Chachulską [3].

Delecja tzw. struktury C1 znajdującej się wewnątrz domeny I drożdżowego mitochondrialnego intronu grupy II bI1 znosi aktywność intronu w normalnej reakcji samoskładania typu *cis*, lecz nie ma dużego wpływu na reakcję odwrotnego składania typu *trans* polegającą na rozłączeniu przez uwolniony intron uprzednio zligowanych eksonów [13]. Omawiana delecja specyficznie blokuje pierwszy etap reakcji normalnego składania. Intron odzyskuje swoją aktywność samoskładania (typu *cis*), kiedy dochodzi do wewnątrzcząsteczkowej komplementacji za pomocą zewnętrznego małego RNA o sekwencji nukleotydowej zgodnej z sekwencją nukleotydową fragmentu RNA brakującego w zmutowanym intronie. Wyniki te wskazują na możliwość odbudowania *in vitro* funkcjonalnej aktywności okaleczonego intronu poprzez wewnątrzcząsteczkową komplementację. Obserwacja ta udawa-

nia, że fizyczne rozszczępienie RNA intronu na dwie lub nawet więcej części nie musi doprowadzać do utraty struktury RNA niezbędnej dla jego katalitycznego funkcjonowania. Możliwość składania typu *trans* wykazano *in vitro* dla intronów grupy I i II. J a r r e l [14] wykazał dla intronu grupy II a15c (intron występujący w genie podjednostki I oksydazy cytochromowej u drożdży), że domena V intronów grupy II jest odpowiedzialna za pierwszy etap składania. Interakcja domeny V z elementami intronu znajdującymi się powyżej niej nie zależy od kowalencyjnego wiązania pomiędzy nimi. Podobne obserwacje poczyniono również dla innych intronów grupy I i grupy II [13].

W odróżnieniu od samoskładania pre-RNA grupy I i grupy II, jądrowe pre-mRNA są składane za pośrednictwem grupy zewnętrznych małych, jądrowych, związanych z białkami RNA, tzw. snRNA [13]. Należy powiedzieć, iż co najmniej dwa snRNA U1 i U2 mogą parować się z intronem [15-17]. Helikalna struktura, która tworzy się w czasie oddziaływań U2 z intronem w pre-mRNA, otaczająca rozgałęzienie przy reszcie adenozykowej, wykazuje duże podobieństwo do struktury domeny VI intronów grupy II (domena VI obejmuje miejsce rozgałęzienia przy reszcie adenozykowej). Na rycinie 1 przedstawiono porównanie tych dwu rodzajów struktur [18]. Przypuszcza się, iż działające w sposób *trans* snRNA mogą mieć jakiś ewolucyjny związek z działającymi na drodze *cis* zachowawczymi elementami struktury intronów grupy II. Dane te podtrzymują hipotezę, iż introny grupy II są przodkami intronów w jądrowych pre-mRNA. W takim razie snRNA mogły powstać przez wydzielenie fragmentów RNA z pierwotnego intronu. Przypuszcza się, że kompleks snRNA i białek w przypadku składania jądrowych pre-mRNA jest potrzebny do doprowadzenia prekursorowego mRNA do od-

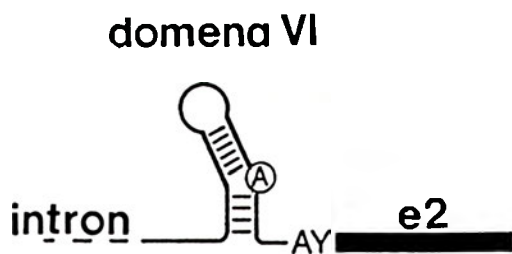
powiedniej geometrii umożliwiającej składanie tego pre-mRNA przez dwie następujące po sobie transesteryfikacje [19].

Chociaż introny grupy I i introny grupy II są zdolne do autokatalizy RNA, badania wykazały, że składanie ich *in vivo* zależy od specyficznych białek, które przypuszczalnie układają RNA w formę aktywną katalitycznie. Niektóre z tych białek są kodowane przez geny jądrowe, inne, tzw. maturazy, przez same introny [20, 21]. Wszystkie obecnie scharakteryzowane maturazy zazwyczaj biorą udział w składaniu intronu, przez który są kodowane. Składanie ostatniego intronu w drożdżowym mitochondrialnym genie apocytochromu b (intron grupy I) *in vivo* zależne jest od białka CBP2, kodowanego w genomie jądrowym i od stężenia jonów Mg^{+2} . Samoskładanie tego intronu *in vitro* uwarunkowane jest wyłącznie odpowiednio wysokim stężeniem jonów Mg^{+2} . W tym przypadku jony Mg^{+2} i białko CBP2 wydają się spełniać to samo zadanie [2].

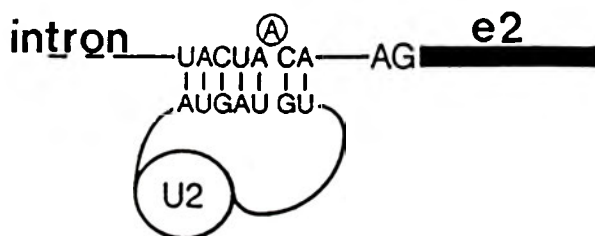
Zrekombinowany RNA lub RNA przepisany przez odwrotną transkryptazę na cDNA może integrować do genomu, np. bezpośrednio przy widelkach replikacyjnych w czasie replikacji [20, 4]. Jeśli w czasie odwrotnego składania intron wbuduje się do macierzystego RNA, to po ewentualnej integracji do genomu jego pre-RNA lub cDNA tego pre-RNA, powstanie nowa kopia takiego samego genu jak gen macierzystego RNA. Jeśli, natomiast intron wbuduje się do innego RNA, który przypadkowo spełnia wymogi strukturalne związane z mechanizmami odwrotnego składania, to po ewentualnym wbudowaniu do genomu tego RNA lub jego cDNA, powstanie kopia macierzystego genu tego RNA różniąca się jednak od pierwotnego genu tym, iż posiada intron pochodzący z innego genu.

U drożdży mechanizmem, który zapewnia insercję niektórych intronów w odpowiedniej lokalizacji w genomowym DNA jest rekombinacja miejscowo-specyficzna [23]. Wykazano, że przeniesienie intronu jest zależne od kodowanego w nim białka tzw. transpozazy [24-26]. Białko to jest miejscowo-specyficzną DNA endonukleazą [27, 28]. Opisano wiele przykładów tego typu miejscowo-specyficznej rekombinacji dla intronów grupy I [29-32]. Endonukleazy kodowane przez introny grupy I są enzymami rozpoznającymi charakterystyczne sekwencje nukleotydowe (odcinki rozpoznawane przez te enzymy są dłuższe niż 8 nukleo-

a



b



Ryc. 1. Porównanie drugorzędowej struktury RNA występującej w miejscu tworzenia się rozgałęzienia w intronach grupy II i w intronach drożdżowych pre-mRNA. Stosowane oznaczenia: e2 — ekson 2; U2 — mały jądrowy RNA 2.
a) drugorzędowa struktura RNA domeny VI intronów grupy II w miejscu występowania reszty adenozykowej (oznaczonej na rysunku kółkiem), gdzie w czasie składania tworzy się 2'-5' rozgałęzienia RNA.
b) drugorzędowa struktura RNA występująca w czasie składania w jądrowych intronach pre-mRNA drożdży w miejscu rozgałęzienia, a uzyskiwana wskutek sparowania tego fragmentu intronu z małym jądrowym RNA 2.

tydów) i dokonującymi w tym miejscu precyzyjnego rozszczepienia DNA. W miejsce to wbudowywany jest ten intron, który koduje endonukleazę dokonującą wcześniejszego rozszczepienia genomowego DNA. Szczegóły tego procesu nie są znane. W literaturze zjawisko to określane jest terminem *intron homing*.

Przypuszcza się, że rozpowszechnienie niektórych intronów związane jest z odwrotną transkrypcją. Analiza ORF w intronach grupy II wskazuje na pewną zachowawczość pierwszorzędowej struktury białek kodowanych przez te ORF. Białka te są większe od białek kodowanych w intronach grupy I i prawie wszystkie wykazują homologię z odwrotną transkryptazą, ponieważ zawierają charakterystyczny dla niej ciąg aminokwasowy [33].

Związane z senescencją (zahamowanie wzrostu w czasie procesów starzenia się) cząsteczki α -senDNA u *Podospora anserina* pojawiające się w mitochondriach tego grzyba, są precyzyjnie wycinanymi z mtDNA intronami grupy II. Kodują one białko podobne do odwrotnej transkryptazy [34].

Wykazano, że mitochondrialne plazmidy *Neurospora crassa* Mauriceville i Varkud zawierające fragmenty charakterystyczne dla grupy I intronów, kodują odwrotną transkryptazę funkcjonującą w replikacji plazmidu. W przypadku tych plazmidów stwierdzono replikację z udziałem transkryptu RNA tych plazmidów. W odwrotną transkrypcję zaangażowana jest 3' końcowa struktura tRNA-podobna transkryptu plazmidowego [35]. Przypuszcza się, że plazmidy te, chociaż nie funkcjonują jako introny, mogą integrować miejscowo-specyficznie w mtDNA [36].

Interesujący jest pogląd o związkach intronów z elementami mobilnymi. Przypuszcza się, że intronowe elementy mobilne miały mały lub żaden wpływ na ekspresję genów, dopóki ulegały wycięciu przez samo-składanie. Z czasem, niektóre z tych elementów utraciły zdolność do samoskładania i ich wycięcie stało się zależne od innych mechanizmów komórkowych. Mogły również uzyskać zdolność kodowania odpowiednich białek zaangażowanych w proces składania. Doprowadziło to do dalszej ewolucji intronów, co prawdopodobnie dało w efekcie strukturalną prostotę obecnych intronów jądrowych. Mota i Collins [37] odkryli ten sam intron w dwu różnych szczepach *Neurospora crassa*, każdy z nich jednak zawierał inną ORF.

Własności intronów znalezionych w mitochondriach grzybów wydają się wskazywać na związki intronów z retrotranspozonomami. Retrotranspozony typu nonLTR odkryte w rDNA owadów [38] kodują białko wykazujące podobieństwo do odwrotnych transkryptaz intronów. W przypadku mobilnego elementu R2 *Bombyx mori* wykazano aktywność specyficznej DNA endonukleazy rozszczepiającej gen 28S rRNA w miejscu insercji R2. Związek intronów z retrotranspozonomami nonLTR może nasuwać przypuszczenie, że białka kodowane przez grupę II intronów także

mają specyficzną aktywność endonukleazową zaangażowaną w transpozycję tych elementów.

III. Satelitarne RNA wirusów roślinnych i wiroidy

Wiroidy są małymi (246-375 nukleotydów), jednociowymi, kolistymi cząsteczkami RNA, które w odróżnieniu od wirusów nie ulegają enkapsydacji. Wiroidy występują wyłącznie u roślin. Ich struktura drugorzędowa uwarunkowana jest rozległymi obszarami sparowania pomiędzy nukleotydami kolistego jednociowego RNA wiroida, nadającymi im kształt pałczkowaty. Pomimo ich małych rozmiarów replikują autonomicznie [39]. Wiroidy nie funkcjonują jako mRNA, a ich replikacja zachodzi z udziałem enzymów gospodarza [40], bez udziału DNA, poprzez intermediat RNA o odwrotnej polarności.

Satelitarne RNA wirusów roślinnych są kolistymi jednociowymi RNA o wielkości około 350 nukleotydów, występującymi razem z liniowym, jednociowym RNA wirusa pomocniczego. Satelitarne RNA, na ogół nie funkcjonują jako mRNA. Niektóre satelitarne RNA są liniowe, ale z zainfekowanych tkanek roślinnych można wyizolować ich formy koliste [41]. Ze względu na znajdowane multimeryczne formy liniowe wydaje się, że satelitarne RNA i wiroidy replikują zgodnie z modelem „toczącego się koła”. Taki sposób replikacji wymaga precyzyjnego mechanizmu wycinającego monomery z multimerycznego intermediatu replikacyjnego. Proces ten jest analogiem reakcji rozszczepienia i ligacji prowadzących do składania prekursorów w funkcjonalne mRNA.

Ze względu na obecność w wiroidach i satelitarnych RNA odcinków podobnych do konserwatywnych elementów intronów grupy I, rozważa się możliwość istnienia między nimi jakichś związków ewolucyjnych [42-44]. Badania nad samorozszczepianiem się fragmentów satelitarnych RNA wykazały, że fragmenty podobne do konserwatywnych elementów intronów grupy I nie są w tym procesie istotne [45, 46]. Dlaczego te introno-podobne odcinki są utrzymywane w wiroidach i satelitarnych RNA? Możliwe, że podobieństwo jest przypadkowe [47]. Są one, być może, późniejsze ewolucyjnie niż mechanizmy samorozszczepiania wiroidów i satelitarnych RNA. Gdyby tak było, wiroidy i satelitarne RNA byłyby wcześniejsze niż powstanie intronów. Fakt, że w przeciwieństwie do wielu intronów nie znamy wiroida kodującego białko, jest zgodny z taką koncepcją. Podobieństwa między wiroidami i mobilnymi elementami genetycznymi [48] polegają na tym, iż niektóre wiroidy są podobne do końcowych odcinków elementów mobilnych.

Większość multimerów nici plus satelitarnych RNA i jeden multimer RNA wiroida ASBVd (ang. *avocado sunblotch viroid*, wiroid skazy słonecznej awokado) [49] ulega samorozszczepieniu, pozostałe wymagają czynników gospodarza [50]. Większość samoroz-

szczepiających się satelitarnych RNA posiada bardzo zachowawcze fragmenty, które mogą tworzyć strukturę drugorzędową określaną w literaturze jako struktura *hammerhead*. Wiroidy, za wyjątkiem ASBVd, nie mogą tworzyć takiej struktury [51]. Przypuszcza się, że zdolność do tworzenia struktury *hammerhead* warunkuje samorozszczepienie multimerycznych form większości roślinnych satelitarnych RNA [52]. Na podstawie analizy porównawczej 12 znanych satelitarnych RNA roślinnych wykazano, że 9 z tych RNA (nić RNA plus) może tworzyć strukturę *hammerhead* [53]. Wykazano, iż samorozszczepienie RNA zachodzące przy udziale struktury *hammerhead* jest reakcją nieodwracalną. W przypadku satelitarnych RNA odwracalne samorozszczepienie zaobserwowano tylko dla nici minus satelitarnego RNA sTRSV (TRSV ang. *tobacco ringspot virus*) [54]. Rybozym zaangażowany w to samorozszczepienie jest nieco inny niż rybozym *hammerhead*; określany jest mianem rybozemu typu *hairpin* [55]. W poniższej pracy nie przedstawiono szczegółowej analizy struktur tych rybozymów, ponieważ zostało to niedawno przedstawione przez Chulską [3]. Po samorozszczepieniu rybozymów typu *hammerhead* i *hairpin* powstają końce 5'OH oraz 2', 3' cykliczne fosforany. Końce te są odmienne od tych, jakie się tworzą w czasie autokatalitycznych procesów związanych z samowycinaniem się intronów grupy I i II.

W przypadku wiroidów (za wyjątkiem ASBVd) mechanizm rozszczepienia i ligacji przy udziale enzymów gospodarza jest mniej znany. W środkowej części cząsteczki znajduje się region bardzo konserwatywny w obrębie poszczególnych grup wiroidów. Otrzymał on ogólną nazwę CCR (ang. *central conserved region*) [56-58]. ASBVd odróżnia się od pozostałych wiroidów tym, że zawiera tylko małą część regionu CCR [45]. Przypuszczalne miejsce rozszczepienia i ligacji multimerycznego intermediatu replikacyjnego wiroidów związane jest ze zdolnością do utworzenia termodynamicznie stabilnej struktury typu palindromu poprzez duplikację regionu CCR [59].

Istnienie wśród tych małych roślinnych patogenicznych RNA dwu różnych procesów rozszczepiania, jednego wymagającego czynników gospodarza i drugiego, polegającego na autokatalizie multimerycznego intermediatu RNA, przypomina mechanizmy składania różnych grup intronów. Niektóre wymagają czynnika zewnętrznego, podczas gdy wycięcie intronów z pre-RNA grupy I i II może zachodzić na drodze autokatalizy RNA [4].

Mechanizm samorozszczepienia multimerycznych form wiroida ASBVd jest starszy niż mechanizmy składania pozostałych wiroidów. Przypuszczalnie, wiroid ASBVd jest ogniwem pośrednim między wiroidami i satelitarnymi RNA. Sądzi się, iż wiroidy wyewoluowały od satelitarnych RNA. Na podstawie analizy struktury ASBVd, wiroidów grupy PSTVd (PSTV, ang. *potato tuber spindle viroid*, wiroid wrzecionowato-

ści bulw ziemniaka) i ASSVd (ASSV, ang. *apple scar skin viroid*) przypuszcza się, iż struktura *hammerhead* u wiroidów została przekształcona w bardziej stabilną konformację helikalną. Możliwe, że we współczesnych wiroidach odcinki tworzące miejsca rozszczepienia wykorzystywane przez enzymy gospodarza, powstały z odcinków RNA tworzących pierwotnie struktury RNA zdolne do autokatalizy, takiej jak u ASBVd i satelitarnych RNA.

Badania satelitarnego RNA sLTSV (LTSV, ang. *lucerne transient streak virus*) wykazały, że rozszczepienie sLTSV RNA [60] wymaga pojedynczego ciągłego odcinka 51 nukleotydów (odcinek ten jest mniejszy niż cała struktura *hammerhead* tego satelitarnego RNA). Skonstruowano syntetyczne 19- i 24-nukleotydowe fragmenty RNA [61], które połączone razem, parując się odtwarzały strukturę RNA taką, jak ta zaangażowana w samorozszczepienie. Wydajne rozszczepienie zachodziło w przypadku odcinka 24-nukleotydowego. Fragment 19-nukleotydowy pozostawał niezmieniony i mógł brać udział w wielu reakcjach rozszczepiania. Wydaje się, że rybozomy satelitarnych RNA mogą być prostsze niż rybozomy intronów. Może to właśnie one, a nie rybozomy intronów są pierwotniejsze.

Obecnie możliwe jest skonstruowanie *in vitro* rybozymów zdolnych do rozszczepiania heterologicznego RNA [52] oraz wklonowanie skonstruowanych dla nich genów do genomu komórki gospodarza [55, 62, 63].

W porównaniu z modelami intronowymi koncepcja przedkomórkowej replikacji RNA oparta na prekursorach wiroidów i satelitarnych RNA wirusów roślinnych wydaje się być bardziej uzasadniona. Nieenzymatyczna synteza [64] prostego kilkunasto- lub kilkudziesięcionukleotydowego rybozemu jest bardziej prawdopodobna niż synteza RNA o długości ponad 300 nukleotydów, czego wymaga model intro- nowy [65].

Wiroidy i satelitarne RNA mogą stanowić relikty systemu RNA, między innymi dlatego, że w przypadku mniejszych cząsteczek RNA osiągnięcie wierności replikacji jest łatwiejsze [45]. Istotną jest również stabilność cząsteczki, którą zwiększają występujące w niej pary GC. Strukturę drugorzędową wiroidów i satelitarnych RNA charakteryzują liczne pary GC. Ich kolisty genom zapewnia całkowitą replikację, a duża liczba kopii zostaje osiągnięta przez transkrypcję kolistej matrycy wg modelu „toczącego się koła”. Juhász [66] wykazał, że wszystkie wiroidy (za wyjątkiem wiroida karłowatości chmielu) wykazują strukturalną okresowość charakteryzującą się powtarzającymi się jednostkami o długości od 12 do 60 lub 80 nukleotydów, zależnie od rodzaju wiroida. Znane są dwa wiroidy zawierające w jednostkach powtarzających się część struktury *hammerhead*. Możliwe, że fragmenty te są pozostałościami „wymarłych” miejsc samorozszczepienia.

IV. Struktury tRNA-podobne.

Weiner i Maizels [60, 67-69] sugerują, że struktury tRNA-podobne obecnie znajdowane na 3' końcach genomowego RNA colifagów i wirusów roślinnych służyły, jako miejsca inicjacji replikacji w świecie RNA. Model Weinerja i Maizels wskazuje na ewolucyjne powiązanie pomiędzy replikacją RNA i translacją.

W świecie RNA pierwszą „żywą” cząsteczką mogła być replikaza RNA, która kopiowała pozostałe cząsteczki RNA. W wyniku jej działania powstawały nici plus i minus RNA kopiowanej cząsteczki. Każdy prymitywny, „żyjący” system mógł składać się z cząsteczek RNA bardzo zróżnicowanych strukturalnie i o bardzo różnych aktywnościach katalitycznych (szczegółowo różnorodności aktywności katalitycznej RNA zostały omówione przez Chachulską [3]), ale wszystkie one uzależnione były od wspólnej RNA-replikazy warunkującej ich skopiowanie. Replikaza taka spełniała funkcje analogiczne do funkcji współczesnych enzymów, które prowadzą replikację wirusowych genomów RNA tak odległych ewolucyjnie wirusów, jak fag Q β i roślinne wirusy RNA [67].

Obecnie wiadomo, iż na 3' końcach wielu roślinnych i bakteryjnych RNA wirusów znajdują się struktury tRNA-podobne. Struktury te rozpoznawane są przez niektóre enzymy związane z metabolizmem tRNA (nukleotydylotransferaza tRNA, metylotransferaza tRNA, hydrolaza peptydylo-tRNA, syntetaza aminocyclo-tRNA, elongacyjny czynnik I), jako cząsteczki tRNA. Badania nad replikacją RNA faga Q β wskazują, iż replikaza tego faga jest białkowym tetramerem, w skład którego wchodzi podjednostka II kodowana w fagowym RNA i trzy białka gospodarza wirusa, a mianowicie: rybosomowe białko S1 oraz elongacyjne czynniki Tu i Ts [67]. Pomimo, iż drugorzędowa struktura 3' końców plus i minus RNA faga Q β nie przypomina idealnie drugorzędowej struktury typowej dla tRNA, to jednak obydwie nici RNA posiadają na 3' końcu typową dla tRNA sekwencję-CCA. Normalnie, w czasie biosyntezy białka czynnik elongacyjny Tu wiąże się z aminoacylowanym tRNA, zaś Ts wiąże się z Tu. Przez analogię można zakładać, iż podjednostki Tu i Ts replikazy Q β są zdolne do przyłączenia się do 3' końcowej struktury tRNA-podobnej genomu wirusowego. Dowody eksperymentalne są zgodne co do tego, iż 3' końcowa struktura w genomowym RNA faga Q β służy za miejsce inicjacji replikacji, jak również jest prostym telomerem, który chroni genom faga przed stopniową utratą 3' końcowych odcinków genomu w czasie kolejnych rund replikacyjnych (telomer ten jest rozpoznawany przez enzym dodający koniec-CCA).

Powstaje pytanie, w jaki sposób doszło do wykorzystania czynnika translacyjnego przez faga Q β i prawdopodobnie przez eukariotyczne RNA wirusy do własnej replikacji. Odpowiedź może być dwojaka, albo

genomy tych wszystkich RNA wirusów ze strukturą tRNA-podobną powstały pod presją doboru związanego z istnieniem wcześniej już powstałych białek gospodarza, albo struktury tRNA-podobne są pierwotniejsze niż podział świata żywego na eukarionty i prokarioty, i występowały już u przodka współczesnych RNA wirusów. Wydaje się, iż ta druga odpowiedź jest słuszna, ponieważ trudno sobie wyobrazić aby tak odległe od siebie wirusy, jak bakteryjne RNA fagi i roślinne RNA wirusy mogły, niezależnie ewoluując, wytworzyć tak podobne struktury 3' końcowe. Ten sposób rozumowania prowadzi do wniosku, że 3' końcowe, tRNA-podobne struktury wirusów bakteryjnych i roślinnych są „molekularnymi skamieniałościami” świata RNA, w którym stanowiły „zaczepy” (ang. *genomic tag*) dla RNA replikazy.

Według Weinerja i Maizels, początkowo nie istniał rozdział na funkcję genomową i katalityczną RNA. Cząsteczka replikazy RNA była zarówno enzymem jak i genomem. Później, w trakcie ewolucji różnych aktywności katalitycznych rybozymowych RNA, (patrz [3]) każdy z rybozymów, aby mieć zapewnioną możliwość replikacji, musiał prawdopodobnie posiadać 3' końcową strukturę tRNA-podobną, niezbędną dla RNA replikazy. tRNA-podobna struktura 3' końcowa mogła jednak uniemożliwiać różnorodność reakcje, w których bierze udział 3' koniec RNA, dlatego też usunięcie jej po replikacji, zwiększając katalityczne możliwości rybozymów, powodowało presję ewolucyjną na powstanie odcinającej ją RNA endonukleazy. Weiner i Maizels [67] skłaniają się do twierdzenia, iż składowa RNA RNA-azy P jest „molekularną skamieniałością” takiej właśnie aktywności endonukleazowej. Pierwotnie RNA-aza P funkcjonowała prawdopodobnie, jako rybozym usuwający 3' końcowe struktury tRNA-podobne, które z czasem jako populacja dość jednorodnych cząsteczek, mogły stać się przodkami tRNA. Wczesna replikaza RNA, rybozym ze zmienioną aktywnością enzymatyczną, mógł wiązać struktury tRNA-podobne z aminokwasami. Aktywowane aminokwasy mogły spontanicznie polimeryzować w krótkie peptydy [67].

Według Weinerja i Maizels koniec 3'-CCA współcześnie niezbędny dla prawidłowej funkcji tRNA, w pierwotnym świecie RNA był telomerem i zabezpieczał replikację genomowego RNA. Istnienie takich funkcji wykazano w eksperymentach *in vivo*, w których używano mutantów BMV (wirusa mozaiki stokłosa) ze zmienionym RNA3 (RNA3 jest fragmentem genomowego RNA wirusa posiadającym strukturę tRNA-podobną na 3' końcu). U mutantów tych zmieniono koniec 3' CCA. W protoplastach jęczmienia i całych roślinach mutanty RNA3 były szybko i wydajnie naprawiane przez CTP, ATP: nukleotydylotransferazę tRNA [69] do RNA3 typu dzikiego z prawidłowym końcem 3' -CCA. Naprawienie końca 3' -CCA warunkowało replikację RNA tego wirusa.

Według Weinaera i Maizels, pierwsza telomeraza była rybozymem dodającym koniec 3' -CCA [68]. Sugerują oni, iż odcinek -CCA stanowiący koniec 3' jednoniciowego genomowego RNA pierwotnego organizmu ewoluował w fragment dwuniciowy poprzez utworzenie struktury typu szpilki [67]. Enzym dodający do tRNA koniec 3' CCA wymaga, jako primera, struktury tRNA, podczas gdy telomeraza z *Tetrahymeny* dodająca T_2G_4 wymaga jednoniciowego fragmentu primerowego $(T_2G_4)_n$, gdzie n jest większe lub równe 1. U *Tetrahymeny* i *Euplotes* telomeraza posiada istotny dla jej aktywności fragment RNA [70, 71]. Fragment ten, o długości około 150 nukleotydów, zawiera odcinek komplementarny do półtorej kopii odpowiedniego powtórzenia telomerowego [72]. Stąd można przypuszczać, iż odcinek ten jest matrycowym RNA dla syntezy telomerów. W przypadku *Euplotes* i *Tetrahymeny* można powiedzieć, iż synteza telomerów jest reakcją odwrotnej transkrypcji na wewnętrznej matrycy enzymu. Aktywność odwrotnej transkryptazy związana jest z białkową składową tej telomerazy, ponieważ to białko decyduje, iż na matrycy RNA syntetyzowany jest cDNA, a nie cRNA [72].

Przypuszcza się, iż enzymy typu RNA-azy P i telomerazy z *Tetrahymeny* i *Euplotes* zawierające istotny dla ich aktywności fragment RNA, reprezentują „skamieniałości molekularne” katalitycznych form przejściowych pochodzących z okresu, kiedy kataliza białkowa zastępowała katalizę RNA w prymitywnych układach replikacyjnych.

Ważną rolę w replikacji mitochondrialnych plazmidów *Neurospora crassa* odgrywa struktura tRNA-podobna znajdująca się na 3' końcu głównego transkryptu plazmidowego [73, 35]. Służy ona za miejsce inicjacji odwrotnej transkrypcji. Inicjacja odwrotnej transkrypcji współczesnych retrowirusów [74] rozpoczyna się od tRNA nie przyłączonego kowalencyjnie do matrycy. Odwrotna transkrypcja retrowirusów musi więc być traktowana jako replikacja, która wyłoniła się później, gdy tRNA i tRNA-podobne struktury były już oddzielne od 3' końca genomu [35].

I. Uwagi końcowe.

Hipoteza, że RNA ewolucyjnie poprzedzał DNA wydaje się dość dobrze uzasadniona. RNA jest obecnie jedyną molekułą, która może funkcjonować jako matryca replikacyjna i jako katalizator. Narastająca ilość informacji w biologii molekularnej umożliwi być może kiedyś pełniejszą rekonstrukcję zdarzeń, które doprowadziły do powstania współczesnego systemu genetycznego.

Artykuł otrzymano 20 maja 1992 r.
Zaakceptowano do druku 4 września 1992 r.

1. Joyce G F (1989) *Nature* **338**: 217-224.
2. Lamond A I, Gibson T J (1990) *TIG* **6** nr 5: 145-149
3. Chachulska A M (1992) *Post Biochem* w druku
4. Sharp P A (1985) *Cell* **42**: 397-400
5. Cech T R (1986) *PNAS* **83**: 4360-4363
6. Doudna J A, Szostak J W (1989) *Nature* **339**: 519-522
7. Doudna J A, Couture S, Szostak J (1991) *Science* **251**: 1605-1608
8. Cech T R (1989) *Nature* **339**: 507-508
9. Cech T R, Bass B L (1986) *Ann Rev Biochem* **55**: 599-629
10. Dujon B (1989) *Gene* **82** 91-114
11. Augustin S, Muller M, Schweyen J R (1990) *Nature* **343**: 383-386
12. Muller M W, Stocker P, Hetzer M, Schweyen R J (1991) *J Mol Biol* **222**: 145-154
13. Suchy M, Schmelzer C (1991) *J Mol Biol* **222**: 179-187
14. Jarrel K A, Peebles C L, Dietrich L, Romiti S L, Perlman P S (1988a) *J Biochem* **263**: 3432-3439
15. Ares M (1986) *Cell* **47**: 49-59
16. Parker R, Siliciano P G, Guthrie C (1987) *Cell* **49**: 229-239
17. Zhuang Y, Weiner A M (1986) *Cell* **46**: 827-835
18. Jacquier A (1990) *TIBS* **15**: 351-354
19. Cech T R (1990) *Cell* **44**: 207-210
20. Cech T R (1985) *Int Rev Cytol* **93**: 3-22
21. Benne R (1988) *Trends Genet* **4**: 181-182
22. Burke J M (1988) *Gene* **73**: 273-294
23. Dujon B (1980) *Cell* **20**: 185-197
24. Zinn A R, Butow R A (1985) *Cell* **40**: 887-895
25. Jacquier K A, Dujon B (1985) *Cell* **41**: 383-394
26. Macreadie I G, Scott R M, Zinn A R, Butow R A (1985) *Cell* **41**: 395-402
27. Colleaux L, d'Auriol L, Betermier M, Cottarel G, Jacquier A, Galibert F, Dujon B (1986) *Cell* **44**: 521-533
28. Szostak J W, Orr-Weaver T L, Rothstein R J, Stahl F W (1983) *Cell* **33**: 25-35
29. Quirk S M, Bell-Pedersen D, Belfort M (1989) *Cell* **56**: 455-465
30. Muscarella D E, Vogt V M (1989) *Cell* **56**: 443-454
31. Wenzlau J M, Saldanha R J, Butow R A, Perlman P S (1989) *Cell* **56**: 421-430
32. Delahodde A, Gouguel V, Becam A M, Creusot F, Perea J, Banroques J, Jacq C (1989) *Cell* **56**: 421-441
33. Michel F, Lang B F (1985) *Nature* **316**: 641-643
34. Osiewacz H D, Esser K (1984) *Curr Genet* **8**: 299-305
35. Kuiper M T R, Lambowitz A M (1988) *Cell* **55**: 693-704
36. Akins R A, Kelley R L, Lambowitz A M (1986) *Cell* **47**: 505-516
37. Mota E M, Collins R A (1988) *Nature* **332**: 654-656
38. Xiong Y, Eickbush T H (1988) *Cell* **55**: 235-246
39. Diener T O (1971) *Virology* **45**: 411-428
40. Branch A D, Robertson H D (1984) *Science* **223**: 450-455
41. Lindhosrt H J M, Kaper J M (1984) *Virology* **137**: 206-210
42. Crick F (1979) *Science* **204**: 264-271
43. Diener T O (1981) *PNAS* **78**: 5014-5015
44. Dinter-Gottlieb G (1986) *PNAS* **83**: 6250-6254
45. Diener T O (1989) *PNAS* **86**: 9370-9374
46. Buzayan J M, Gerlach W L, Bruening G (1986) *PNAS* **83**: 8859-8862
47. Collmer C W, Hadidi A, Kaper J M (1985) *PNAS* **82**: 3110-3114.
48. Kiefer M C, Owens R A, Diener T O (1983) *PNAS* **80**: 6234-6238
49. Hutchins C J, Rathjen P D, Forster A C, Symons R H (1986) *NAR* **14**: 3627-3640
50. Tsagris M, Tabler M, Muhlbach H P, Sanger H L (1987) *EMBO J* **6**: 2173-2183
51. Forster A C, Symons R H (1987) *Cell* **49**: 211-220

52. Haseloff J, Gerlach W L (1988) *Nature* **334**: 585-591
53. Sheldon C C, Jefferies A C, Davies C, Symons R (1990) W: *Nucleic Acids and Molecular Biology*, vol 4, Eckstein F i Lilley D M J (red) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, str 227-242
54. Buzayan J M, Gerlach W L, Bruening G (1986) *Nature* **323**: 349-353
55. Rossi J J, Sarver N (1990) *TIBTECH* **8**: 179-183
56. Hashimoto J, Koganezawa H (1987) *NAR* **15**: 7045-7052
57. Koltunow A M, Rezaian M A (1988) *NAR* **16**: 849-864
58. Koltunow A M, Rezaian M A (1989) *Virology* **170**: 575-578
59. Diener T O (1986) *PNAS* **83**: 58-62
60. Forster A C, Symons R H (1987) *Cell* **50**: 9-16
61. Uhlenbeck O C (1987) *Nature* **328**: 596-600
62. Cotten M, Birnstiel M L (1989) *EMBO J* **8**: 3861-3866
63. Cotten M (1990) *TIBTECH* **8**: 174-178
64. Inoue T, Orgel L E (1983) *Science* **219**: 859-862
65. Reaney D (1984) *Nature* **307**: 318-319
66. Juhasz A, Hegyi H, Solymosy F (1988) *BBA* **950**: 455-458
67. Weiner A M, Maizels N (1987) *PNAS* **84**: 7383-7387
68. Weiner A M (1988) *Cell* **52**: 155-157
69. Rao A L N, Dreher T W, Marsh L E, Hall T C (1989) *PNAS* **86**: 5335-5339
70. Greider C W, Blackburn E H (1988) *Nature* **337**: 331-337
71. Shippen-Lentz D, Blackburn E H (1990) *Science* **247**: 546-552
72. Boeke J D (1990) *Cell* **61**: 193-195
73. Akins R A, Kelley R L, Lambowitz A M (1989) *Mol Cell Biol* **9**: 678-691
74. Varmus H E (1988) *Science* **240**: 1427-1435

Zależność funkcji kwasów nukleinowych od struktury*

Relations between structure and functions of nucleic acids

MIROŚŁAWA Z. BARCISZEWSKA¹
JAN BARCISZEWSKI²

Spis treści:

1. Wprowadzenie
2. Rozwiązanie każdego problemu biologicznego znajduje się w komórce
3. tRNA — jako cząsteczka wielofunkcyjna
4. Struktura przestrzenna 5S rRNA
5. O konformacji kwasów nukleinowych decyduje hydratacja
6. Podsumowanie

Contents:

1. Introduction
2. Each biological problem has its solution in the cell
3. tRNA — multifunctional molecule
4. Tertiary structure of 5S rRNA
5. Conformation of nucleic acids depend on hydration
6. Summary

Wykaz stosowanych skrótów: DSC — mikrokalorymetria różnicowa; tRNA — transferowy kwas rybonukleinowy; AARS — syntetaza aminoacylo-tRNA;

I. Wprowadzenie

Zależność między strukturą i funkcją kwasów nukleinowych jest jednym z podstawowych problemów biologii molekularnej. Od zaproponowania struktury podwójnej spirali DNA przez J. Watsona i F.H.C. Cricka na początku lat pięćdziesiątych aż do dziś,

zmiany strukturalne kwasów nukleinowych są precyzyjnie analizowane na różnych poziomach przekazu informacji genetycznej. Obecnie postrzegamy strukturę kwasów nukleinowych jako dużo bardziej skomplikowaną aniżeli sądzono o tym wcześniej. Nie można zatem zbyt dosłownie traktować wypowiedzi Maurice Wilkina, który odbierając w 1962 Nagrodę Nobla powiedział, „Nucleic acids are basically simple”. W tamtych czasach, hipoteza F.H.C. Cricka o oddziaływaniach kodon-antykonon wydawała się również prosta. Dzisiaj wiadomo na przykład, że o tych oddziaływaniach decydują nie tylko wiązania wodorowe między antyrównoległymi trójnukleotydami. Zatem o specyfice kodu genetycznego nie można wnioskować wyłącznie ze znajomości sekwencji nukleotydowej kodonu i antykodonu, stosując reguły wiązań wodorowych między komplementarnymi zasadami kwasów nukleinowych.

Od kilkunastu lat nasze zainteresowania badawcze dotyczą głównie transferowych kwasów rybonukleinowych (tRNA), w których upatrujemy dogodną i precyzyjną sondę za pomocą której można analizować funkcjonowanie aparatu genetycznego komórki. Podobny cel przyświeca nam w badaniach rybosomal-

* Od redakcji. Artykuł Mirosławy i Jana Barciszewskich opisuje tok myślowy badaczy szukających na drodze doświadczalnej wyjaśnienia obserwowanych zjawisk; w wersji rozszerzonej omawiał przedstawione tu kwestie wykład wygłoszony podczas XXVII Zjazdu P. T. Bioch, w Lublinie w 1991 r.

1, 2 — Doc. dr hab. Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, ul. Noskowskiego 12, 61-704 Poznań

nych 5S RNA. Dla przedstawienia problemu zależności między strukturą i funkcją kwasów nukleinowych wybraliśmy kilka wyników badań własnych, które przedstawiamy na szerszym tle rezultatów uzyskanych w innych laboratoriach.

II. Rozwiązanie każdego problemu biologicznego znajduje się w komórce

Rozpatrując różne aspekty struktury kwasów nukleinowych należy pamiętać, że klucz do rozwiązania większości problemów biologii molekularnej leży w komórce [1]. Chcąc poznać molekularne podłoże funkcjonowania komórki — zależności między strukturą i funkcją jej składników — musimy korzystać z wielu cząstkowych informacji dostarczanych przez różne metody, analizujące komórkę na wielu poziomach jej organizacji.

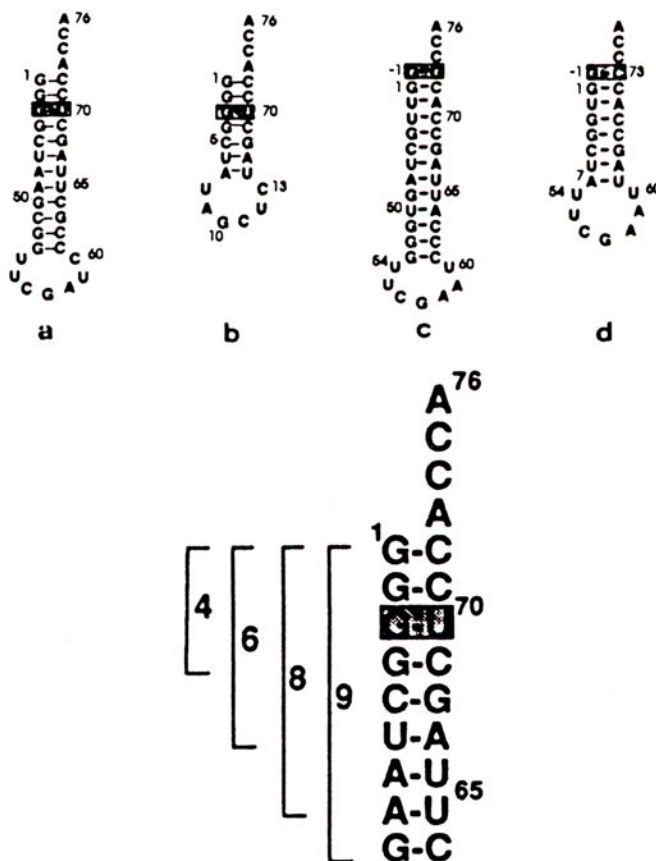
Jakie czynniki strukturalne decydują o specyficzności danego procesu? Zagadnienie to przedyskutujemy na trzech przykładach: zmian w strukturze I rzędowej tRNA, wpływu składu środowiska (jonów magnezu) na strukturę 5S rRNA oraz wpływu hydratacji na strukturę i aktywności RNA i DNA.

III. tRNA — jest cząsteczką wielofunkcyjną

Jakie czynniki strukturalne decydują o wypełnianiu specyficznej funkcji przez transferowe kwasy nukleinowe (tRNA)? Cząsteczki tRNA charakteryzują się szczególnym ułożeniem nukleotydów i precyzyjną strukturą przestrzenną. Zawierają one 70-90 nukleotydów, w tym około 20% zmodyfikowanych tzw. nukleotydów rzadkich (obecnie znane są 82 takie nukleotydy). Transferowe kwasy rybonukleinowe oprócz podstawowej roli w biosyntezie białka, spełniają wiele innych funkcji biologicznych, których spis jest długi i prawdopodobnie niezamknięty [3]. Dla zilustrowania zagadnienia postawionego w tytule pracy, skoncentrujemy się tylko na właściwościach związanych z biosyntezą białka oraz supresją. Jakie elementy struktury I, II lub III rzędowej decydują o określonej aktywności i funkcji danego tRNA? Rozpoznanie (selekcja) tRNA przez syntetazy aminoacylo — tRNA (AARS) jest kluczowym etapem biosyntezy białka. Selekcja odpowiedniego tRNA (w zależności od funkcji) do acylacji określonym aminokwasem odbywa się poprzez tworzenie unikalnego, specyficznego kompleksu tRNA — syntetaza aminoacylo-tRNA. Dla określenia swoistości tego procesu używa się zamiennie określeń rozpoznawanie i identyfikacja tRNA przez odpowiednią syntetazę dzięki specyficznym elementom strukturalnym tRNA. Identyfikacja tRNA jest pojęciem nieco szerszym, określającym aktywność akceptorową tRNA, obejmującym elementy rozpoznawalne przez swoistą syntetazę i jednocześnie cechy strukturalne, które uniemożliwiają rozpoznawanie tRNA

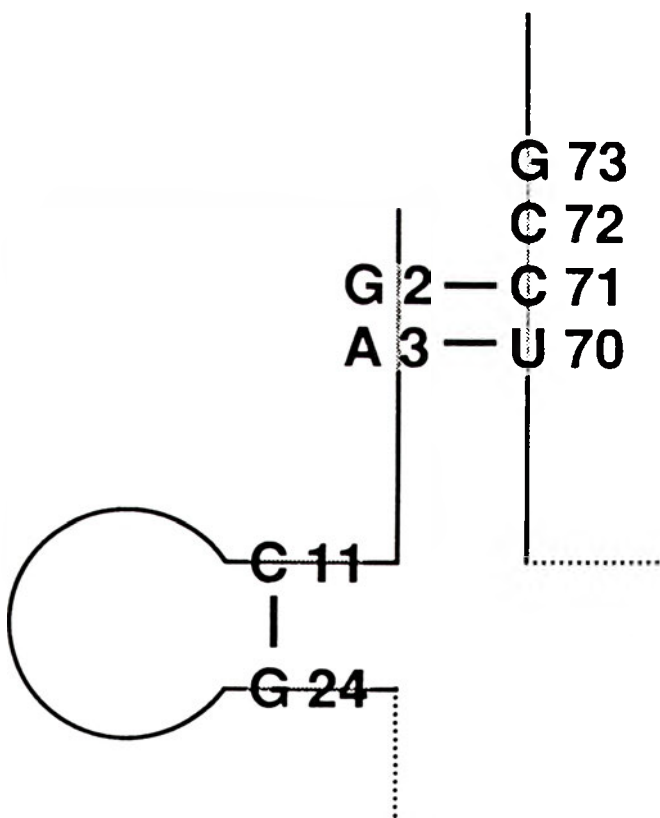
przez niehomologiczną syntetazę [4]. Dane analizy rentgenostrukturalnej kompleksów tRNA^{Glu}-GluRS z *E.coli* [5, 6] i tRNA^{Asp}-AspRS z drożdży [30] ukazują wzajemne ułożenie cząsteczek białka i kwasu nukleinowego. Ponadto, analiza licznych mutantów tRNA pozwala wyróżniać nukleotydy decydujące o prawidłowym rozpoznawaniu tRNA przez syntetazy aminoacylo-tRNA, szczególnie nukleotydy ramienia aminokwasowego i fragmentu antykodonu. Z badań tych wynika wyraźnie, że prawie cała cząsteczka tRNA jest zaangażowana w procesie rozpoznawania jej przez syntetazę aminoacylo-tRNA [7].

Ale czy rzeczywiście cała cząsteczka tRNA jest niezbędna do tego aby aminokwas został specyficznie przyłączony do końcowej adenozy? Analiza sekwencji nukleotydowych specyficznych tRNA wykazała na przykład, że wszystkie tRNA aminoacylowane alaniną zawierają stałą parę zasad G3-U70. Przeniesienie (transplantacja) tej pary zasad do tRNA^{Cys} spowodowała zmianę specyficzności i błędne przyłączanie do niego alaniny [8, 9]. W dalszych badaniach sprawdzono czy cały łańcuch polinukleotydowy tRNA (tzn. ok. 76 nukleotydów) jest rzeczywiście niezbędny dla aminoacylacji. Okazało się, że krótkie fragmenty RNA o określonej długości mini i mikro helisy (Ryc. 1),



Ryc.1. Minihelisy RNA specyficznie przyłączające — alaninę „a” i histydyne — „c” oraz mikrohelisy specyficznie aminoacylowane alaniną „b” i histydyną „d” przez swoiste syntetazy aminoacylo-tRNA. Pary zasad krytyczne dla reakcji aminoacylacji zaznaczone są ramką. Poniżej, dwuniciowy oligorybonukleotyd aminoacylowany alaniną. Każdy dwuniciowy odcinek RNA ma wspólny 13-nukleotydowy fragment oraz komplementarną sekwencję zawierający odpowiednio 4, 6, 8 i 9 nukleotydów [10].

zawierające odcinki dwuniciowe odpowiadające ramionom aminokwasowemu i rybotymidyny wraz z elementem identyczności (np. G3-U70 w przypadku tRNA^{Ala}), mogą przyłączać swoicie alaninę za pomocą enzymu [10-12]. Wynik ten jest równie zaskakujący, co trudny do wytłumaczenia. Jakie warunki strukturalne musi zatem spełniać dany fragment RNA aby w wyniku oddziaływania z enzymem nastąpiła acylacja tRNA? Wydaje się, że egzocykliczna grupa aminowa przy węglu 2 guanozyny w poz. 3 (G3) w ramieniu aminokwasowym i znajdująca się w małej bruzdzie RNA jest niezbędna dla rozpoznania tRNA przez syntetazę [13]. Wynika z tego, że obecność określonej pary zasad w specyficznym miejscu ramienia aminokwasowego indukuje odpowiednią konformację łańcucha polinukleotydowego, która warunkuje aminocylację tRNA alaniną czy histydyną [10]. Nieco inne czynniki strukturalne warunkują acylację tRNA^{Ser} przez syntetazę serylo-tRNA [14]. Chodzi tu o osiem nukleotydów wspólnych dla pięciu serynowych tRNA (Ryc. 2). Niezależnie jednak od różnych elementów identyczności tRNA można wnioskować, że specyficzność oddziaływania tRNA z syntetazą zakodowana jest głównie w sekwencji nukleotydowej.



Ryc. 2. Fragment struktury drugorzędowej wraz z nukleotydami, które decydują o identyczności serynowych tRNA z *E. coli* [10, 14].

Podobne wymagania strukturalne są konieczne dla udziału tRNA w rozszerzeniu znaczenia kodu genetycznego. Zjawisko to nazywane również supresją, polega na tym, że gdy rybosom przesuwał się wzdłuż mRNA natrafi na kodon stop synteza białka jest

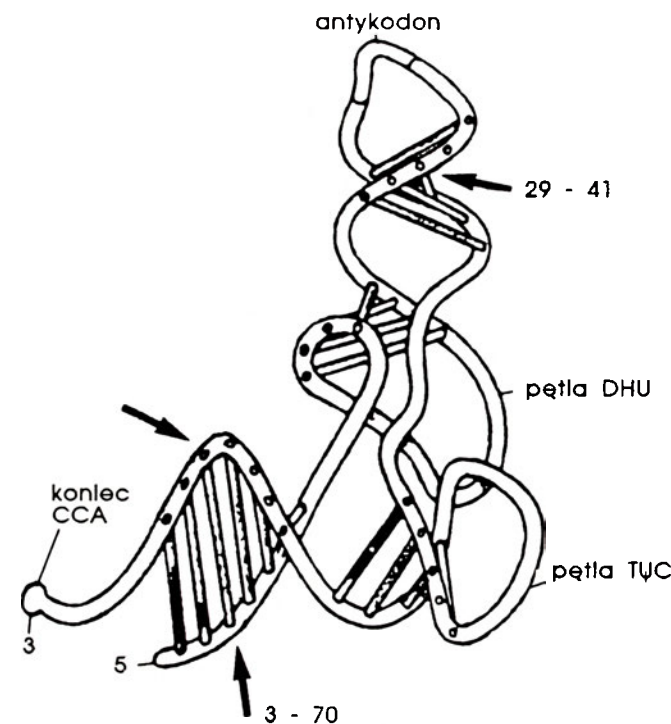
kontynuowana, a to dzięki obecności supresorowych tRNA [15]. Mechanizm tego procesu nie jest znany. Wykorzystując system biosyntezy białka *in vitro* z retikulocytów królika oraz *Xenopus laevis*, prowadzi się badania supresorowych tRNA w wielu laboratoriach, w tym również w naszym. Jako mRNA wykorzystuje się często RNA wirusa mozaiki tytoniu (TMV-RNA), który koduje białko płaszczka o masie 126 kDa. Dodanie do układu tRNA^{Tyr} z roślin powoduje supresję kodonu amber w TMV-RNA i syntezę białka supresorowego o m.c. 183 kDa [16]. Wykazano, że także tRNA^{Leu} i tRNA^{Gln} mają podobne właściwości [15]. Dla rozwiązania tego problemu porównaliśmy w naszym laboratorium struktury pierwszorzędowe wszystkich specyficznych tRNA przyłączających tyrozynę, leucynę i glutaminę, a szczególnie ich ramiona i pętle antykodonu [15, 16]. Zauważyliśmy, że o właściwościach supresorowych tych tRNA decyduje obecność pary zasad G29-C41 w ramieniu antykodonu oraz obecność w pętli antykodonu co najmniej dwóch zmodyfikowanych nukleotydów z wyjątkiem rzadkich zasad w pozycji 34 inozyny i kweiny Q (Ryc. 3). Ich struktura uniemożliwia utworzenie wiązań wodorowych między trzecią zasadą kodonu stop (UAG) i pierwszą zasadą antykodonu. W oparciu o te reguły można przewidzieć właściwości supresorowe tRNA. W związku z tym dokonaliśmy analizy tRNA^{Gln} z roślin. Wyodrębniliśmy tRNA specyficzne dla glutaminy z pszenicy i łubinu oraz określiliśmy ich sekwencje nukleotydowe. Wspomniane reguły pozwoliły przewidzieć właściwości supresorowe tylko tRNA^{Gln} z łubinu. Dwa pozostałe izoakceptorowe tRNA^{Gln}_{1,2} z pszenicy takich warunków nie spełniały [16].

Z omówionych dwóch przykładów badań wynika ważny wniosek, że środkowa para zasad w ramieniu antykodonu tRNA (G29-C41), (Ryc. 4) decyduje prawdopodobnie o konformacji ramienia antykodonu, która umożliwi oddziaływania antykodonu z kodonem

	WŁASNOŚCI SUPRESOROWE	
	+	-
tRNA ^{Tyr}	<p>Drosophila rośliny</p>	<p>Drosophila rośliny wążbroda wążbroda</p>
tRNA ^{Gln}	<p>Tetrahymena (1) wążbroda myszy (2)</p>	<p>Tetrahymena wążbroda myszy</p>
tRNA ^{Leu}	<p>wążbroda wążbroda (1) mleczny (2)</p>	<p>wążbroda (1) (2) łubin żółty (6,7) (3,4,5)</p>

Ryc. 3. Sekwencje nukleotydowe pętli i ramion antykodonowych specyficznych tRNA, których izoakceptory wykazują właściwości supresorowe [15, 16].

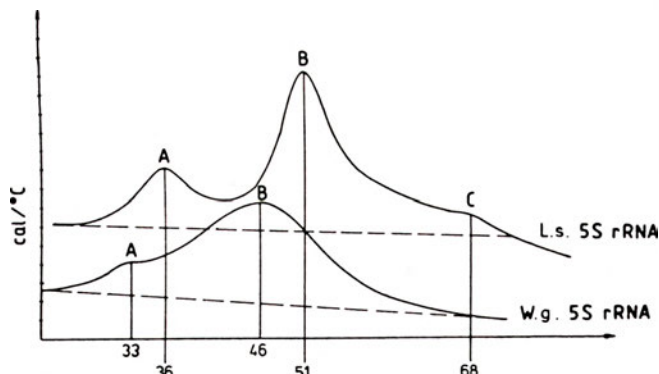
stop. Podobnie środkowa para (G3-U70) w ramieniu aminokwasowym tRNA^{Ala} wpływa na konformację tej części cząsteczki umożliwiając aminoacylację tRNA.



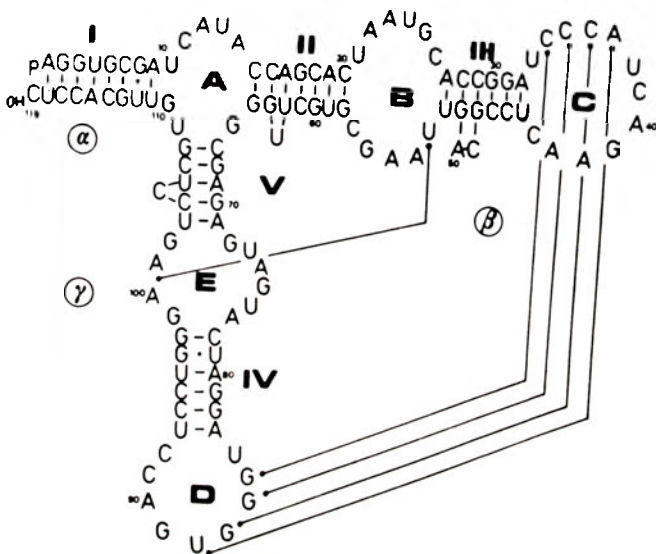
Ryc. 4. Model struktury przestrzennej tRNA na którym zaznaczono pary zasad 29-41 i 3-70 krytyczne odpowiednio dla: supresji kodonu *amber* i aminoacylacji alaniną [15, 16].

IV. Struktura przestrzenna 5S rRNA

Rybosomalny kwas rybonukleinowy o stałej sedymentacji 5S, występuje w dużej podjednostce rybosomalnej 50S. Zawiera 120 nukleotydów. Oprócz głównej roli 5S rRNA związanej z funkcjonowaniem rybosomów, wykazano również szereg innych jego właściwości [17]. Nasze doświadczenia rozpoczęliśmy od analizy struktury I rzędowej (sekwencji nukleotydowej) cząsteczek 5S rRNA wyodrębnionych z różnych roślin. Okazało się, że sekwencje nukleotydowe roślinnych 5S rRNA można było zapisać zgodnie z panującym w tamtym czasie poglądem na temat struktury II rzędowej [18]. Uważano wówczas, że w cząsteczce 5S rRNA nie występują oddziaływania trzeciorzędowe oraz że jedna z pętli ma tylko 4 nukleotydy (ang. *tetra loop*). Próbuąc rozwiązać problem struktury przestrzennej 5S rRNA wykonaliśmy pomiary ciepła właściwego 5S rRNA z łubinu żółtego i pszenicy za pomocą mikrokalorymetru różnicowego (DSC), [19]. Zauważyliśmy zmiany ciepła właściwego cząsteczek roślinnych 5S rRNA (Ryc. 5) w temperaturze, około 37°C [19]. Efekt ten można było przypisać tylko zmianom struktury przestrzennej 5S rRNA utrzymywanej za pomocą III rzędowych wiązań wodorowych. Wiele obserwacji własnych (DSC) oraz innych autorów wskazywało na możliwości utworzenia trzeciorzędowych wiązań wodorowych (Ryc. 6 i 7) między



Ryc. 5. Krzywe zmiany ciepła właściwego cząsteczek 5S rRNA nasion łubinu (L.s.) i zarodków pszenicy (W.g.) w zależności od temperatury. Pik A reprezentuje zmiany struktury trzeciorzędowej cząsteczek 5S rRNA [19].

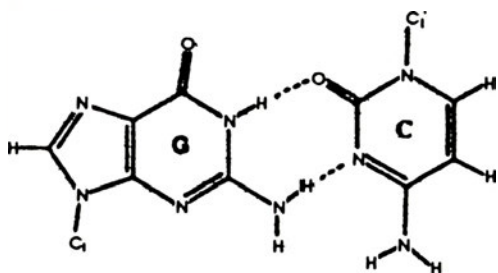


Ryc. 6. Model struktury drugorzędowej 5S rRNA z łubinu żółtego. W pętli D zawierającej 9 nukleotydów, widoczne są nukleotydy GGGU mogące tworzyć trzeciorzędowe oddziaływania z pętlą C.

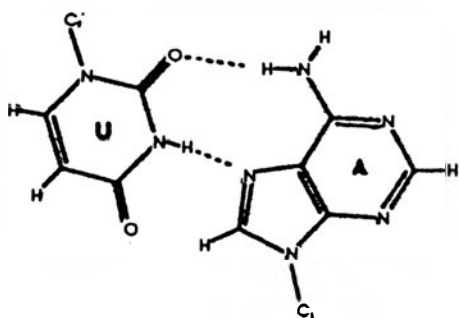
pętlami C i D. Taki obraz struktury przestrzennej 5S rRNA potwierdziliśmy kilkoma niezależnymi metodami biochemicznymi [20]. Zauważyliśmy jednak, że struktura przestrzenna 5S rRNA jest wyraźnie zależna od stężenia jonów magnezu na co wskazują pomiary kalorymetryczne (Ryc. 8), [19]. Wiadomo, że 5S rRNA oddziałuje z wieloma białkami, z których dwa są bardzo dobrze opisane: czynnik transkrypcyjny TFIIA oraz rybosomalne białko L5. Tworzenie takich kompleksów można obserwować tylko przy stężeniu jonów magnezu nie większym niż 1 mM [21].

Próbowano wykazać, że cztero-nukleotydy pętli rzeczywiście istnieją. Korzystając z dostępnych metod syntezy RNA otrzymano odpowiednie oligorybonukleotydy (Ryc. 9) [22], które poddawano krystalizacji oraz badaniom NMR. Interpretacja wyników badań NMR wskazywała na tworzenie się silnych oddziaływań wodorowych wewnątrz czteronukleotydy pętli (Ryc. 10). Takich oddziaływań nie potwierdzono jednak w analizie rentgenostrukturalnej, gdzie stwierdzono istnienie podwójnej spirali RNA typu A z udziałem

lem nietypowych par zasad U-C (Ryc. 11), [24].
 Badania 5S rRNA omówione powyżej wskazują na decydujący wpływ czynników zewnętrznych (środowiskowych) na konformację RNA. Świadczy o tym również fakt, że M1 RNA (składnik rybonukleazy P) hydrolizuje pre-tRNA^{Tyr} w 60 mM ale nie w 10 mM MgCl₂ [32].

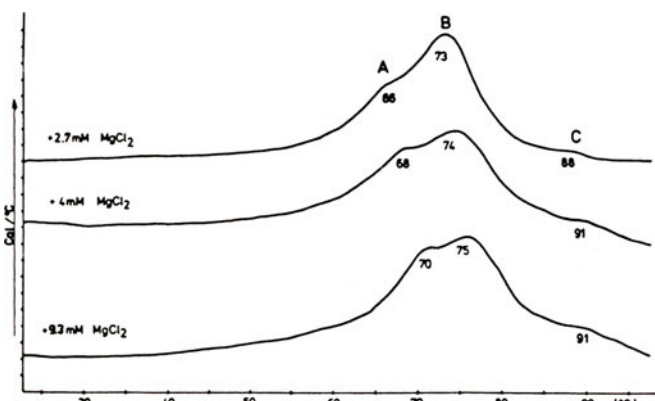


Reverse Watson-Crick

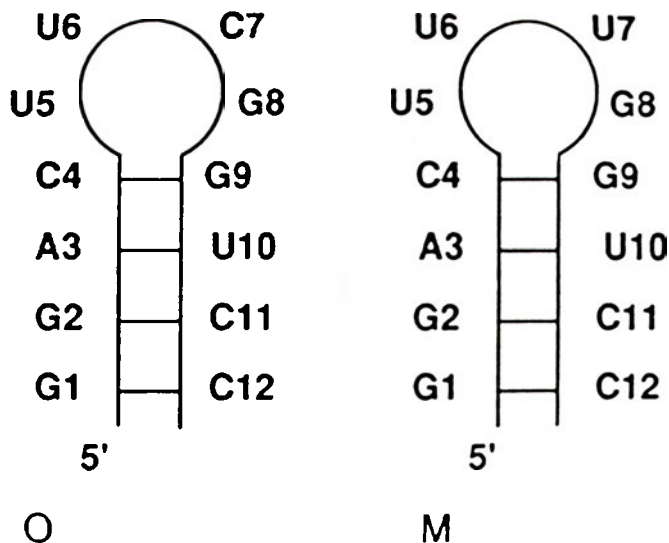


Reverse Hoogsteen

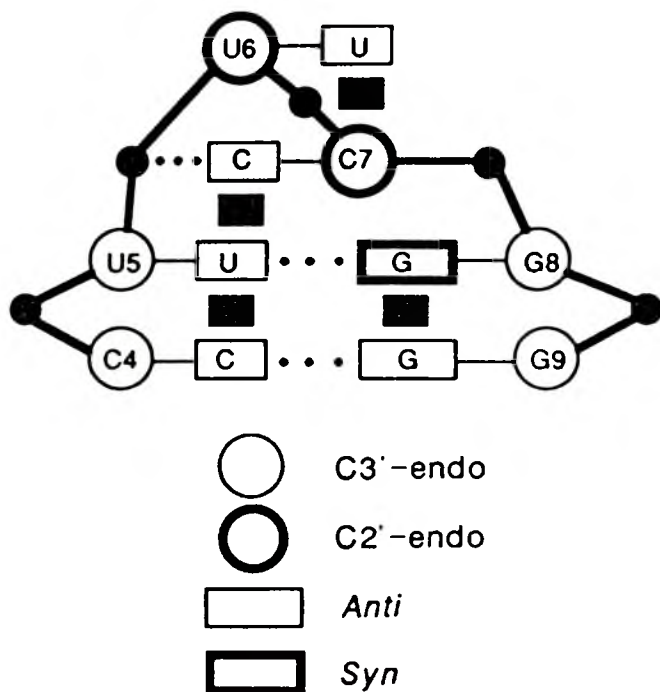
Ryc. 7. Nietypowe oddziaływania wodorowe stabilizujące trzeciorzędową strukturę RNA (23). Są to wiązania typu „Reverse Watson-Crick” (odwrotne ułożenie pirymidyny aniżeli w wiązaniach typu Watson-Crick) — proponowane dla 5S rRNA [17] oraz „Reverse Hoogsteen” (oddziaływanie poprzez imidazolowy pierścien puryny).







Ryc. 8. Zmiany ciepła właściwego 5S rRNA z łubinu w zależności od temperatury przy różnych stężeniach chlorku magnezowego. Przy stężeniu 2,7 mM MgCl₂, niskotemperaturowa przemiana 5S rRNA (Zob. Ryc. 6) jest już niewidoczna.



Ryc. 9. Modele struktury drugorzędowej pętli czteronukleotydowych wykorzystane do badań krystalograficznych i NMR. Obecność struktury typu „O” sugerowano w strukturze 16S rRNA. W mutacji „M” zamieniono cytozynę na urydynę w pozycji [22, 23].

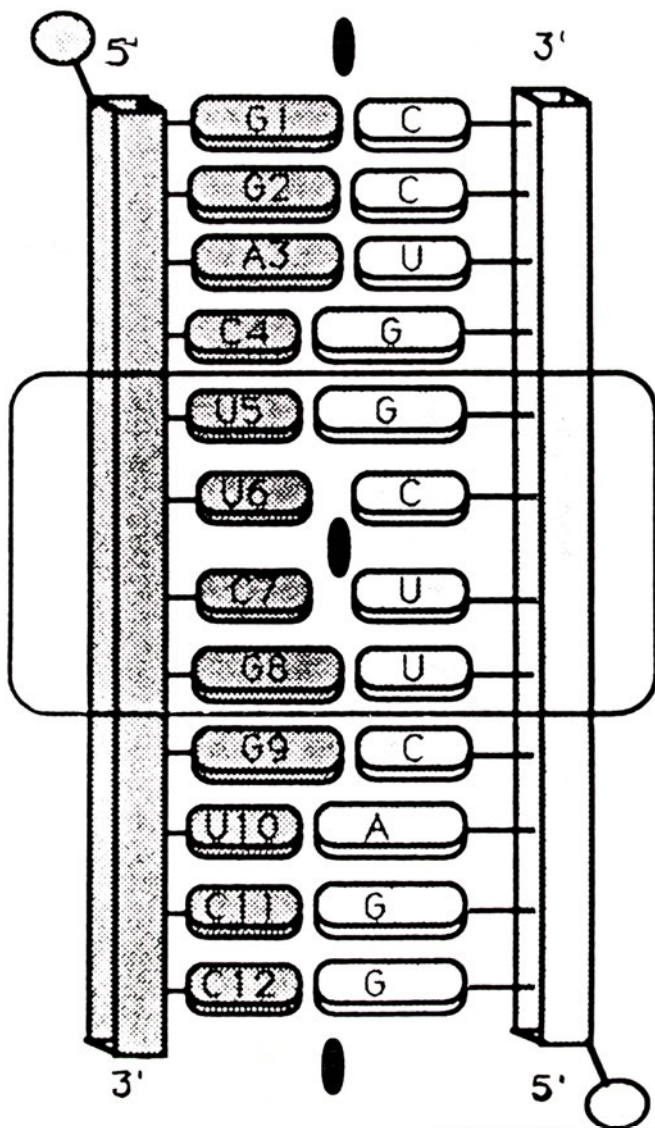


-  C3'-endo
-  C2'-endo
-  *Anti*
-  *Syn*

Ryc. 10. Schemat struktury czteronukleotydowej pętli na podstawie pomiarów NMR (struktura typu „O”, Ryc. 9). Nukleotydy U5, U6, C7 i C8 znajdujące się w pętli tworzą sieć różnych oddziaływań stabilizujących proponowaną pętlę [22]. Konformacje: *syn* lub *anti* dotyczy zasady a C3' lub C2' endo, dotyczy rybozy.

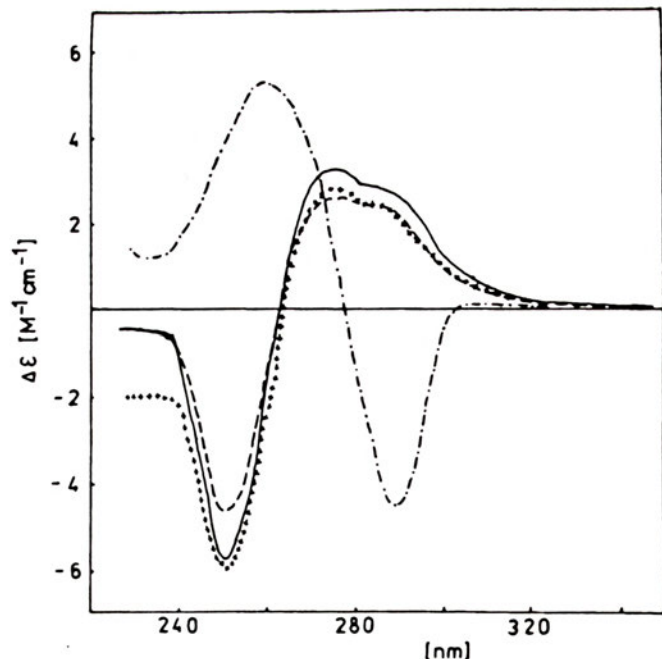
V. O konformacji kwasów nukleinowych decyduje hydratacja

Powyżej wskazywaliśmy, że struktura i w konsekwencji funkcja kwasów nukleinowych zależy od sekwencji nukleotydowej i od środowiska reakcji, np. stężenia jonów metali. Wydaje się nam jednak, że istnieje jeszcze bardziej subtelna przyczyna zmian konformacyjnych kwasów nukleinowych. Problem ten interesował nas — i nie tylko nas — od dawna;



Ryc. 11. Schemat struktury krystalicznego kompleksu dodekameru GGACUUCGGUCC. Wiązania wodorowe typu W-C tworzą cztery krańcowe pary zasad, a nietypowe (niestandardowe) wiązania wodorowe, środkowe pary zasad.

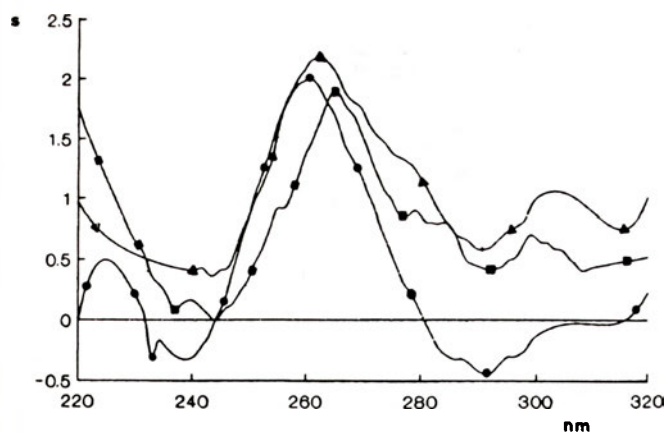
zwłaszcza po stwierdzeniu przejścia konformacyjnego DNA z formy B do formy Z, które zachodziło w środowisku o różnym stężeniu soli oraz etanolu [25]. Jeśli dokładnie przyjrzeć się warunkom, w których taka przemiana zachodzi (wysokie stężenie różnych soli, etanol, poliaminy itd.), widać, że u jej podłoża może leżeć wspólny mechanizm. Nasze próby zrozumienia tego mechanizmu polegały na poddawaniu kwasów nukleinowych wysokiemu ciśnieniu, rzędu kilku kilobarów ($1\text{ bar} = 10^5\text{ Pa}$). Tak wysokie ciśnienie działa jako nietermiczny przekaznik energii. Podobne ciśnienia w przyrodzie wprawdzie występują, ale trudno sobie wyobrazić aby w takich warunkach mogły istnieć organizmy żywe. Z własnych doświadczeń wiemy, że przy ciśnieniu 10 kbar woda ulega zestaleniu. Celowość wykorzystania techniki wysokich ciśnień do badań konformacyjnych uzasadniały obserwacje zmian mechanizmów reakcji oraz różny wpływ rozpuszczalnika na przebieg reakcji przebiegających pod zwiększonym ciśnieniem. Zauważyliśmy, że poddanie poli (dG/dC) ciśnieniu 6–9 kbar powoduje zmianę



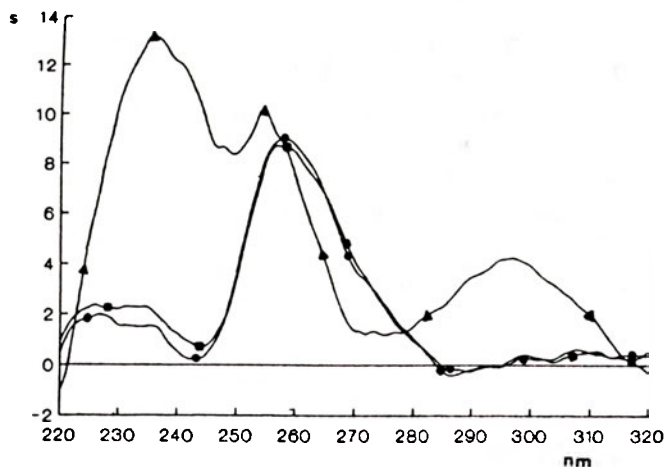
Ryc. 12. Widma dichroizmu kolowego poli(dGdC) poli(dGdC) po traktowaniu wysokim ciśnieniem [26]. Widmo --- — oznacza formę Z-DNA (ujemny efekt Cottona przy 290 nm). Otrzymano ją przy ciśnieniu 6 kbar stosowanym w ciągu 19 godz. Inne krzywe oznaczają formę B-DNA [26].

jego konformacji z B do Z [26]. Obserwacja takiej zmiany w DNA polega na rejestracji ujemnego pasma CD przy 290 nm (Ryc. 12) oraz analizie stosunku absorpcji $A_{257}/A_{292}\text{ nm}$. Konformacja Z-DNA jest trwała kilkanaście godzin (przy niskiej temperaturze), co wskazuje na bardzo wolny charakter przemiany B-Z DNA. Innymi słowy, wysokie ciśnienie może powodować taką samą przemianę konformacyjną DNA, jak wysokie stężenie soli nieorganicznych, alkoholu itd. Oznacza to, że głównym czynnikiem powodującym przemianę konformacyjną jest dehydratacja. Pod wpływem ciśnienia następuje „odchodzenie” większości cząsteczek wody z formy B-DNA, w której hydratowane są głównie oddzielne reszty kwasu fosforowego i w konsekwencji utworzenie formy Z-DNA. W tej konformacji DNA cząsteczki wody tworzą sieć wiązań wodorowych z sąsiednimi grupami fosfordwuestrowymi i stabilizują nowo powstałą konformację DNA. Zauważyliśmy ponadto, że poli (dG/dm⁵ C) nie zmienia swej konformacji pod wpływem ciśnienia, co sugeruje, że grupy metylowe znajdujące się w pozycji 5 cytozyny stanowią wystarczająco dużą zawadę steryczną by uniemożliwić zmianę konformacji poprzez dehydratację. Taka zmiana jest jednak możliwa w temperaturze 60°C.

Kwasy rybonukleinowe zachowują się pod wpływem wysokiego ciśnienia inaczej niż kwasy deoksyrybonukleinowe. Konformacja oligorybonukleotydów (GC)₆ i (AU)₆ ulega zmianie, chociaż widma dichroizmu kolowego (CD) nie wskazują na konformację Z-RNA (Ryc. 13) [27]. Widma te sugerują jednak silne oddziaływania RNA (chromoforu) z rozpuszczalnikiem (wodą). Efekt ten jest większy przy



Ryc. 13. Widmo dichroizmu kołowego oligorybonukleotydu $r(GC)_6$ traktowanego wysokim ciśnieniem przez 18 godz. Oznaczenia: s — wielkość efektu Cotona (Zob. Ryc. 12), kwadraty — 6 kbar; trójkąty — 8 kbar; kółka — ciś. atm.

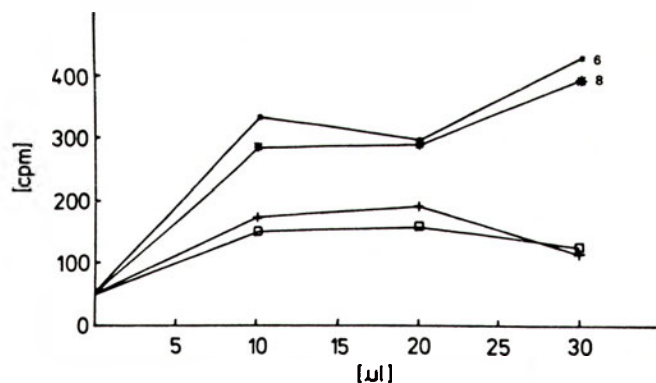


Ryc. 14. Widmo dichroizmu kołowego $r(GC)_6$ traktowanego wysokim ciśnieniem w czasie 18 godz. w obecności 5M NaCl oznaczenia: s — wielkość efektu Cotona (Zob. Ryc. 12), kółka — ciśnienie atm., 150 mM NaCl; kwadraty — ciśnienie atm., 5M NaCl; trójkąty — 6 kbar, 5M NaCl.

ciśnieniu równym 6 kbar niż przy ciśnieniu 8 kbar. W widmach CD RNA traktowanego wysokim ciśnieniem, zauważono także nowe pasmo powyżej 300 nm, które może pochodzić z rozpraszania światła oraz oligomeryzację polirybonukleotydu. Obserwacje te zdają się wskazywać, że konformacja RNA jest dużo bardziej stabilna aniżeli konformacja DNA. Aby uzyskać przejście konformacyjne RNA z formy podstawowej A do formy Z, musieliśmy zastosować oprócz wysokiego ciśnienia, dodatkowo 5 molowe stężenie chlorku sodowego (Ryc. 14), które samo nie powoduje przejścia konformacyjnego. Zatem efekt tych dwóch czynników jest wyraźnie synergiczny. Wiadomo, że traktowanie DNA i RNA jonami metali, roztworami alkoholi lub poddawanie ich wysokim ciśnieniem może spowodować zmianę konformacji do formy Z. Działanie tych czynników na RNA i DNA jest niespecyficzne. Poszczególne reszty fosforanowe w DNA ulegają w takich warunkach niezależnej hydratacji, a ich odległość (ok. 6,6Å) uniemożliwia tworzenie się mostków wodorowych [29]. Wysokie ciśnienie, zmieniając oddziaływania między samymi cząsteczkami wody, powoduje dehydratację łańcucha polinukleotydowego. Ponieważ woda tworząc wiązania wodorowe stabilizuje konformację kwasów nukleinowych (B-DNA lub A-RNA), jej usuwanie czyli proces dehydratacji prowadzi do formy Z. Zauważyliśmy jednak, że zmiana konformacji w przypadku RNA jest dużo trudniejsza. Przyczyną mogą być tutaj cząsteczki wody tworzące wiązania wodorowe między tlenem O(2') i O(N2) zasady pirymidynowej lub N(3) zasady purynowej, które silnie stabilizują spiralę RNA. Zniszczenie tej siatki wiązań wodorowych (dehydratacja) jest trudniejsze w RNA aniżeli w DNA.

Potencjalne konsekwencje wymuszania zmian konformacyjnych w RNA przez poddanie go wysokiemu ciśnieniu wydawały się nam bardzo interesujące. Do śledzenia efektów tych zmian wykorzystaliśmy reakcję acylacji tRNA. Dość nieoczekiwanie zauważyliśmy, że aminokwas przyłącza się do tRNA pod wpływem ciśnienia w nieobecności syntetazy aminoacylo-tRNA

[28], (Ryc. 15). Reakcja aminoacylacji pod ciśnieniem jest około $10 \times$ mniej efektywna niż reakcja enzymatyczna, ale sam fakt jej zachodzenia jest już zastanawiający. Analiza składu nukleotydowego tRNA aminoacylowanego pod ciśnieniem wyraźnie wskazuje na powstanie adenozyno-feniloalaniny i specyficzność reakcji aminoacylacji tRNA. Ta obserwacja wymaga dalszych badań nad swoistością tego procesu, ale już teraz można wnioskować, że wysokie ciśnienie, podobnie jak enzym, wymusza określoną konformację ramienia aminokwasowego w tRNA, podobną do indukowanej przez enzym.



Ryc. 15. Nieenzymatyczna aminoacylacja tRNA specyficznego feniloalaninowego z *E. coli* feniloalaniną pod wpływem wysokiego ciśnienia. Liczby na rysunku oznaczają wielkość ciśnienia w kbar. Dolne krzywe oznaczają aminoacylację seryną w tych samych warunkach.

VI. Podsumowanie

Przedstawiliśmy kilka przykładów zaczerpniętych z piśmiennictwa oraz badań własnych o warunkach zaistnienia zmian konformacyjnych różnych rodzajów kwasów nukleinowych. Zmiany takie mogły powodować takie czynniki jak skład nukleotydowy, jony metali oraz cząsteczki rozpuszczalnika t.j. wody. Wydaje się nam, że oddziaływania z cząsteczkami wody mogą być pierwszym i podstawowym czynnikiem

wywołującym drobne ale funkcjonalnie znaczące zmiany konformacji kwasów nukleinowych. Nota bene, wiele laboratoriów już od dawna, wskazywało na podstawowe znaczenie wody dla mechanizmu rozpoznawania kwas nukleinowy-białko.

Konformacyjna trwałość i stabilizowanie struktury RNA przez cząsteczki wody potwierdzają przypuszczenie że to właśnie RNA mógł być pierwszym nośnikiem informacji genetycznej, a DNA „wszedł na scenę” znacznie później.

Artykuł otrzymano 26 marca 1992 r.
Zaakceptowano do druku 10 sierpnia 1992 r.

Piśmiennictwo

1. Alberts B M (1989) *Amer Zool* **29**: 483-486
2. Goodsell D S (1991) *Trends Biochem Sci* **16**: 203-206
3. Barciszewska M, Barciszewski J (1992) *Biotechnol Przegł Infor* **16**: 63-75
4. Schulman L H (1991) *Progr Nucl Acids Res Mol Biol* **41**: 23-87
5. Rould M A, Perona J J, Söll D, Steiz T A (1989) *Science* **246**: 1135-1142
6. Steiz T A (1980) *Quart Rev Biophys* **23**: 205-280
7. Perona J J, Swanson R N, Rould M A, Steiz T A, Söll D (1989) *Science* **246**: 1152-1154
8. Mc Clain W W, Foss K (1988) *Science* **240**: 1804-1806
9. Hou Y M, Schimmel P R (1988) *Nature* **333**: 140-142
10. Schimmel P R (1991) *FASEB J* **5**: 2180-2187
11. Francklyn C, Schimmel P (1989) *Nature* **337**: 478-487
12. Francklyn C, Schimmel P R (1990) *Proc Natl Acad Sci USA* **87**: 8655-8659
13. Martinis S A, Schimmel P (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 65-69

14. Normanly J, Ogden R C, Horvath S J, Abelson J (1986) *Nature* **321**: 213-219
15. Baciszewska M Z, Barciszewski J, Legocki A: (1991) *Wiad Chem* **45**: 9-27
16. Barciszewska M, Keith G, Dirheimer G, Mashkova T, Kubli E, Barciszewski J (1990) *Biochim Biophys Acta* **1048**: 78-84
17. Joachimiak A, Nalaskowska M, Barciszewska M, Mashkova T D, Barciszewski J (1990) *Int J Biol Macromol* **12**: 321-327
18. Barciszewska M, Mashkova T D, Kisselev L L, Barciszewski J (1985) *FEBS Letters* **192**: 289-293
19. Barciszewski J, Bratek-Wiewiórkowska M, Górnicki P, Barciszewska M, Wiewiórkowski M, Zielenkiewicz A, Zielenkiewicz W (1988) *Nucleic Acids Res* **16**: 685-701
20. Barciszewska M, Erdmann V A, Barciszewski J (1991) *Int J Biol Macromol* **14**: 41-44
21. Barciszewska M, praca przygotowana do druku
22. Cheong C, Varani G, Tinoco I Jr (1990) *Nature*: **346** 680-682
23. Chastain M, Tinoco I Jr (1991) *Progr Nucleic Acids Res Mol Biol* **41**: 131-177
24. Holbrook S R, Cheong C, Tinoco I Jr, Kim S H (1991) *Nature* **353**: 579-581
25. Rich A, Nordheim A, Wang A H-J (1984) *Annu Rev Biochem* **53**: 791-846
26. Krzyżaniak A, Sałański P, Jurczak J, Barciszewski J (1991) *FEBS Letters* **279**: 1-4
27. Krzyżaniak A, Sałański P, Furste J P, Jurczak J, Erdmann V A, Barciszewski J (1992) *Nucleic Acids Res.* w druku
28. Krzyżaniak A, Sałański P, Jurczak, Barciszewski J (1992) *Science*, wysłano do druku
29. Westhof E (1988) *Annu Rev Biophys Chem* **17**: 125-144
30. Ruff M, Krishnaswamy S, Boeglin M, Poterszman A, Mishler A, Podjarny A, Rees B, Thierry J C, Moras D (1991) *Science* **246**: 1135-1142
31. Guthrie C (1989) *Amer Zool* **29**: 557-567
32. Kazakov S, Altmann S (1991) *Proc Natl Acad Sci* **88**: 9133-9197

Rola białka C w układzie krzepnięcia i fibrynolizy

The role of protein C in coagulation and fibrinolytic system

IWONA FIJAŁKOWSKA¹,
ANNA BABIŃSKA²,
CZESŁAW S. CIERNIEWSKI²

Spis treści:

- I Wprowadzenie
- II Gen kodujący białko C
- III Struktura cząsteczki białka C
- IV Mechanizm aktywacji enzymu
- V Właściwości enzymatyczne białka C
- VI Aktywność profibrynolityczna białka C
- VII Unieczynnianie i eliminacja aktywnego białka C
- VIII Uwagi końcowe

Contents:

- I Introduction
- II Protein C gene
- III Structure of protein C molecule
- IV Mechanism of activation of the enzyme
- V Enzymatic properties of protein C
- VI Profibrinolytic activity of protein C
- VII Inhibition and elimination of activated protein C
- VIII Concluding remarks

1 mgr, Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN,
2 dr, prof. Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna w Łodzi,
90-131 Łódź, ul. Lindleya 3

Wykaz stosowanych skrótów: SDS — siarczan dodecylu sodu, EGF — epidermalny czynnik wzrostu, Gla — kwas gamma-karboksyglutaminowy, a także nazwa domeny biał-

ka zawierającej kilka reszt tego aminokwasu, PCI — inhibitor białka C, PAI — inhibitor aktywatora plazminogenu, AP — antyplazmina, M — makroglobulina, AT — antytrypsyna.

I. Wprowadzenie

Warunkiem sprawnego przebiegu procesów krzepnięcia i fibrynolizy jest trwała równowaga hemostazy — równowaga pomiędzy czynnikami biorącymi w nich udział. W procesach tych ważną rolę odgrywa białko, które ze względu na swe właściwości antykoagulacyjne i profibrynolityczne uważa się za regulatora hemostazy. Enzym ten zaliczany jest do proteaz serynowych zależnych od witaminy K. Podobnie jak protrombina, czynniki: VII, IX i X, białko to obecne jest we frakcji białek osoczowych adsorbujących się na cytrynianie baru lub siarczanie baru. Kiedy eluat barowy białek osocza wołowego rozdzielono chromatograficznie przy użyciu złoża DEAE-Sephadex, otrzymano kilka frakcji, które roboczo oznaczono A, B, C, D. Frakcje A, B i D zidentyfikowano jako czynnik IX, protrombinę i czynnik X. Frakcja C okazała się być odrębnym białkiem, któremu nadano nazwę białko C [1]. Jest to glikoproteina zbudowana z łańcuchów lekkiego 23 kDa i ciężkiego 41 kDa. W krwi obecna jest w postaci zymogenu aktywowanego następnie przez kompleks trombina-trombomodulina. Aktywny enzym powoduje proteolizę czynników Va i VIIIa i bierze udział w lizie skrzepu tworząc kompleksy z inhibitorami aktywatora plazminogenu [2].

Fizjologiczną zawartość białka C w osoczu ludzkim ocenia się na 3-5 $\mu\text{g/ml}$. Zbyt niskie stężenie białka C i wynikająca stąd niedostateczna aktywność enzymatyczna, tzw. niedobór typu I, może wywoływać ciężkie schorzenia, takie jak: plamica piorunująca, czy rozległe zakrzepy żyłne [3-5].

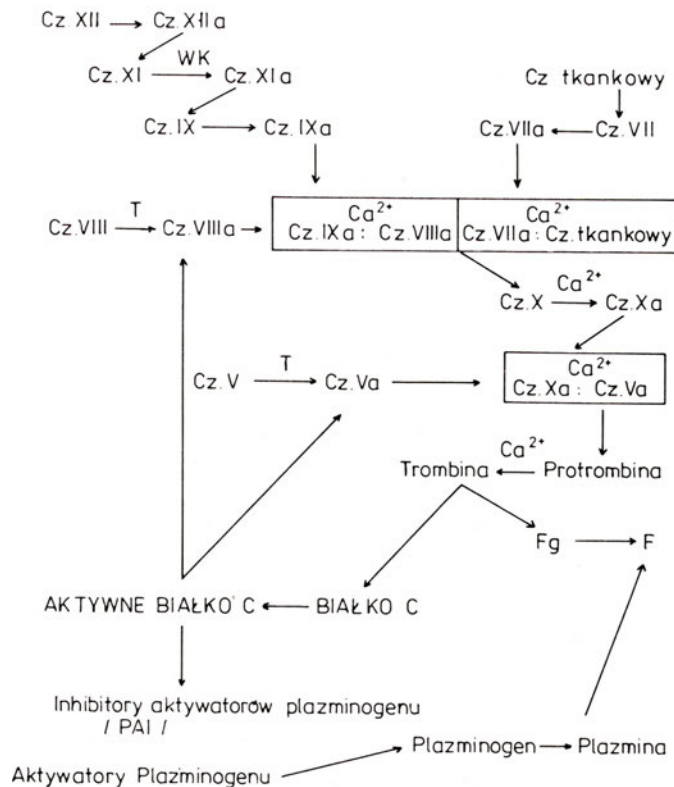
Niedostateczna aktywność białka przy normalnym jego poziomie jako antygeny, stan nazwany niedoborem typu II, może być powodem nawracającej zakrzepicy żyłnej, zatoru płucnego czy udaru mózgu [6, 7].

Wymienione typy niedoboru białka C mogą mieć charakter nabyty lub dziedziczny.

II. Gen kodujący białko C

Gen kodujący białko C zlokalizowano w chromosomie 2 w regionie 2q13-q14 [8-10]. Zaczynając od końca 5' składa się on z następujących obszarów: regionu niekodującego 5' (73 pary zasad), sekwencji kodującej białko prekursorowe o długości 461 aminokwasów, kodonu terminalnego TAA oraz odcinka nietranslacyjnego 296 par zasad zawierającego segment poliadenylowy [11].

Sekwencja kodująca oraz regiony nietranslacyjne składają się z 9 eksonów i 8 intronów. Całkowita długość wewnętrzna genu wynosi 11.2 kb, z czego 83%



Ryc. 1. Schemat kaskadowego procesu krzepnięcia krwi i fibrynolizy, a — aktywne postaci czynników krzepnięcia, WK — wielkocząsteczkowy kininogen, Fg — fibrynogen, F — fibryna, T — trombina.

Kaskadę krzepnięcia może zapoczątkować czynnik tkankowy uwalniany z uszkodzonych komórek śródbłonna wyściełającego naczynia lub białka obecne w krwi. W obu przypadkach ciąg reakcji przekształcających proenzymy do ich postaci aktywnych prowadzi do utworzenia trombiny, która w wyniku dodatniego sprzężenia zwrotnego aktywuje czynniki XI, V, VIII i XIII, a przede wszystkim przekształca fibrynogen w fibrynę. Fibryna następnie polimeryzuje i, wraz z innymi białkami jak np. czynnik XIIIa, fibronektyna alfa, — antyplazmina oraz z płytkami krwi, w miejscu uszkodzenia tworzy skrzep uszczelniający naczynie krwionośne.

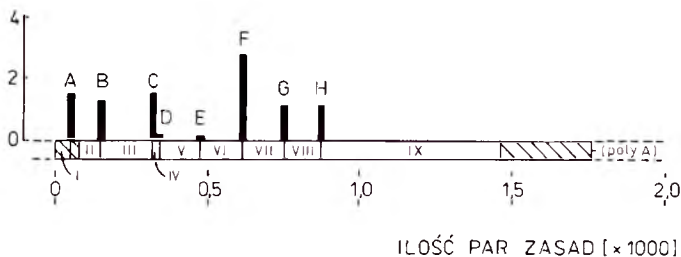
Niemal równoległe z kaskadą krzepnięcia uaktywniają się procesy fibrynolizy. Za pomocą aktywatorów plazminogenu przekształcany jest w plazminę, która już w kilka godzin po utworzeniu się skrzepu rozpoczyna trawienie fibryny [2].

przypada na sekwencje intronowe. Zgodność pomiędzy sekwencją eksonów a sekwencją DNA kodującego całą cząsteczkę dowodzi, że w genomie ludzkim jest tylko jedna kopia genu białka C. Znaczący to, że u osobników heterozygotycznych anomalie na poziomie DNA dziedziczą się jako cechy autosomalne dominujące, a wynikające stąd zaburzenia chorobowe mają łżejszy przebieg niż schorzenia pacjentów o homozygotycznym zestawie genów [12, 13].

III. Budowa białka C

W wątrobie białko C syntetyzowane jest w postaci jednołańcuchowej cząsteczki prekursorowej o długości 461 aminokwasów, tam też podlega licznym modyfikacjom potranslacyjnym.

Modyfikacje białka C zapoczątkowuje odcięcie przez peptydazę sygnałową N-końcowego 12-aminokwasowego fragmentu Met 42 - Gly 23, zwanego peptydem sygnałowym. W ten sposób wyeksponowa-



Ryc. 2. Diagram przedstawia rozmiary i rozlokowanie intronów i eksonów w genie białka C. Pionowe, czarne słupki oznaczają introny, odcinki na osi odciętych oznaczone cyframi rzymskimi przedstawiają eksony, ich rozmiary są proporcjonalne do ilości przypadających nań par zasad, odcinki zakreślone oznaczają sekwencje niekodujące.

Poszczególne eksony kodują następujące odcinki białka: I: Met 42 — Leu 20; II: Asp 19 — Thr 37; III: Leu 38 — Val 45; IV: Asp 46 — Glu 92; V: Val 93 — Ala 136; VI: Val 137 — Gln 184; VII: 185 — Arg 222; VIII: Leu 223 — Pro 419. Proteazy serynowe, w tym białko C kodowane są przez geny wywodzące się od wspólnego, pierwotnego genu trypsynowego. Duże obszary sekwencji homologicznych znaleziono w genomach prokariotów, bezkręgowców i ssaków. Np. porównanie organizacji genów białka C i czynnika IX pokazuje, że chociaż rozmiary intronów różnią się znacznie, ich rozlokowanie a zatem i rozmiary eksonów są identyczne. Za tym idzie duże podobieństwo strukturalne obu białek i sądzić można, że ewolucyjnie są one dość blisko, a ich geny są produktem niedawnej duplikacji, [11, 12].

ny zostaje propeptyd rozpoznawany przez kompleks enzymów związanych z siateczką śródplazmatyczną, powodujących gamma-karboksylację. Później, prawdopodobnie już po zakończeniu procesów modyfikacyjnych, a tuż przed wydzieleniem białka z komórki, propeptyd ten odcinany jest przez proteazę o specyficzności podobnej do trypsyny [14].

Zależna od witaminy K karboksylaza mikrosomalna modyfikuje 9 reszt glutaminowych znajdujących się w rejonie N-końcowym białka tworząc tzw. domenę Gla. Domena ta uczestniczy w wapnio-zależnym oddziaływaniu białka z kwaśnymi fosfolipidami błony komórkowej, co jest jednym z warunków aktywności enzymatycznej [15-17]. Wykazano, że zamiana reszt kwasu gamma-karboksylglutaminowego w pozycjach 6-7 i 19-20 oraz usunięcie mostka disiarczkowego z pętli Cys 17-Cys 22 zmienia zależną od wapnia kinetykę aktywacji białka przez kompleks trombina-trombomodulina i niemal całkowicie blokuje aktywność antykoagulacyjną enzymu [18].

Białko pozbawione całej domeny Gla nie przejawia właściwości antykoagulacyjnych, aczkolwiek poddaje się aktywacji kompleksem trombina-trombomodulina w sposób wapnio-zależny i wykazuje aktywność amidolityczną. Sugeruje to obecność niezależnego od domeny Gla regionu wiążącego wapń z dużym powinowactwem [19].

Wydaje się, że takim regionem, w wyniku kolejnej modyfikacji potranslacyjnej jest pierwsza z domen podobnych do EGF. Dioksygenaza zależna od 2-ketoglutaranu powoduje beta-hydroksylację Asp 71, tworząc kwas beta-hydroksyasparaginowy odpowiedzialny za wiązanie wapnia. Część białka, w której

aminokwas ten zastąpiono resztą glutaminową nie przyłącza jonów metalu i ma o 90% zredukowaną aktywność [20, 21]. Reakcja z wapniem prawdopodobnie wywołuje zmianę konformacji białka w jego części katalitycznej [22, 12].

Domeny podobne do EGF biorą udział w specyficznych oddziaływaniach między białkami, być może także w oddziaływaniu białko C-białko S [20, 23].

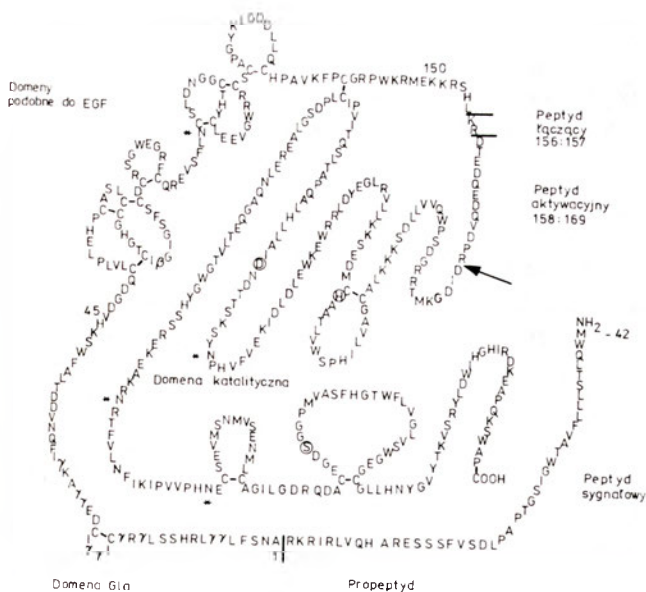
Przed wydzieleniem z komórki prekursorowe białko C podlega glikozylacji. Do reszt asparaginowych w pozycjach 97, 248, 313, 329 przyłączają się: mannoza, galaktoza, N-acetyloglukozamina i kwas sialowy. Ogółem węglowodany stanowią 23% ciężaru cząsteczkowego ludzkiego białka C. Trzy pierwsze wymienione aminokwasy znajdują się w typowym otoczeniu Asn-X-Ser/Thr, podczas gdy ostatni umieszczony jest w sekwencji Asn-X-Cys-Ser. Uważa się, że jeżeli Cys 331 utworzy mostek siarczkowy z Cys 345, to wówczas trudniej staje się akceptorem wiązania wodorowego z węglowodanem i może nie dochodzić do reakcji glikozylacji. Powstałe białko nie zawiera wtedy reszty kwasu sialowego i ma mniejszy ciężar cząsteczkowy. Określa się je mianem formy beta [24]. Obecność lub brak kwasu sialowego w cząsteczce białka zasadniczo nie wpływa na jego aktywność antykoagulacyjną, może ją jednak modulować [25].

Eksperymenty z zastosowaniem mutacji punktowych wykazały, że glikozylacja w pozycji Asp 97 jest niezbędna dla procesu wydzielania białka z komórki, natomiast obecność węglowodanu w pozycji Asp 248 ma pewien wpływ na reakcję usuwania przez peptydazę dwupeptydu Lys 156-Arg 157. Usunięcie reszt węglowodanowych z łańcucha ciężkiego, zależnie od wyeliminowanego cukru, 2-3 krotnie zwiększało aktywność antykoagulacyjną białka, choć nie zmieniało hamującego wpływu afa₁-antytrypsyny na enzym. Białko pozbawione reszty węglowodanowej w pozycji 313 miało większe powinowactwo do kompleksu trombina-trombomodulina i około 2,5 raza szybciej poddawało się aktywacji [26].

Uważa się, że różnice w stopniu glikozylacji mogą być przyczyną różnorodności form białka, które obserwuje się podczas rozdzielania elektroforetycznego w żelu poliakryloamidowym z SDS. Przy ciężarze cząsteczkowym białka wynoszącym 61.6 kDa, łańcuch ciężki typu alfa ma ciężar cząsteczkowy 42 kDa (3 reszty glikozydowe), a łańcuch typu beta jest o około 4 kDa lżejszy. Ostatnio opisano także formę gamma, która różni się o 3 kDa od formy beta. Podobnie, łańcuch lekki może migrować jako dublet, co tłumaczy się częściową utratą węglowodanu [27-29].

Ostatnim stadium modyfikacji potranslacyjnych jest wycięcie z jednołańcuchowej cząsteczki białka dwupeptydu Lys 156 - Arg 157 i utworzenie formy dwułańcuchowej. Proces ten nie zawsze jednak przebiega do końca. Na ogół 10%-20% białka wydzielane jest do układu krążenia w formie jednołańcuchowej.

Badania porównawcze różnych proteaz serynowych



Ryc. 3. Sekwencja aminokwasowa i hipotetyczna struktura białka C [14].

Gwiazdki oznaczają miejsca glikozylacji, kreski oznaczają miejsca trawienia przez peptydazy przygotowujące dojrzałą cząsteczkę, strzałka oznacza miejsce proteolizy zymogenu przez trombinę, C-C — mostek disiarczkowy, β — kwas beta-hydroksyasparaginowy, γ — kwas gamma-karboksyglutaminowy, domena Gla — region kwasu gamma-karboksyglutaminowego. Aminokwasy stanowiące centrum aktywne proteazy serynowej: His 212, Asp 257 i Ser 360 zaznaczono kółkiem. Liczby wskazują kolejne numery aminokwasów.

Struktura i właściwości białka C są typowe dla proteaz serynowych zależnych od witaminy K. W regionie Ala 1-Lys 44 białko C ma taką samą sekwencję jak czynnik IX, a w 59% i 67% identyczną z sekwencją czynnika X i protrombiny. Pozostała część łańcucha lekkiego jest homologiczna z czynnikiem IX, X i protrombiną odpowiednio w 38%, 47% i 8%. Porównanie sekwencji łańcucha ciężkiego białka C z czynnikami IX, X, trombiną i chymotrypsyną wykazuje homologię w około 35%-40%, szczególnie w rejonie N-końcowym, [30]. Kwas beta-hydroksyasparaginowy znaleziono również w czynnikach VII, IX, X i w białku S. Domena Gla zawierająca 9 do 12 reszt kwasu gamma-karboksyglutaminowego znajduje się również w czynnikach VII, X, IX, protrombinie i białku S, [2].

pokazały, że budowa centrum aktywnego: His, Arg, Ser jest typowa dla tych enzymów, natomiast pozostałe sekwencje domen katalitycznych są niehomologiczne. Są to obszary odpowiedzialne za specyficzność enzymów wobec substratów [30, 31].

IV. Mechanizm aktywacji enzymu

Trombina obecna w osoczu aktywuje płytki krwi, czynniki V i VIII, przekształca fibrynogen w fibrynę i inaktywuje białko S. Trombomodulina, białko receptorowe obecne w błonach komórkowych endotelium, wiąże trombinę i wywołuje w niej zmiany konformacyjne. Prawdopodobnie na skutek tych zmian trombina traci swą aktywność koagulacyjną a nabiera zdolność do aktywowania białka C. W obecności jonów wapnia i fosfolipidów znajdujących się w błonie komórek śródbłonna, odczepia od końca N łańcucha ciężkiego 12-aminokwasowy odcinek Asp 158 - Arg 169, tzw. peptyd aktywacyjny [32]. Stała Michaelisa reakcji przejścia białka C w postać aktywną pod działaniem

kompleksu trombina-trombomodulina wynosi 0.5 μ M/L, sama zaś reakcja odbywa się około 20000 razy szybciej niż gdy aktywatorem jest tylko trombina. Niezbędne są w tym procesie jony wapnia, które jednak przy braku trombomoduliny działają hamująco zmniejszając do połowy szybkość aktywacji białka C przez trombinę [33, 34].

Opisany wyżej proces jest głównym, ale jak się zdaje nie jedynym mechanizmem aktywacji białka C *in vivo*. Wykazano, że łańcuch lekki czynnika Va oraz czynnik Xa wspomagają trombinę, podobnie jak trombomodulina przyspieszając aktywację enzymu [35, 36].

Enzym uzyskuje aktywność amidolityczną i antykoagulacyjną także w wyniku hydrolizy przez trypsynopodobną proteazę serynową wyizolowaną z jadu węży *Agkistrodon contortrix contortrix*. Proteaza ta, o nazwie handlowej Protac, trawi wiązania Arg i Lys w łańcuchu ciężkim prowadząc do powstania aktywnego białka. Reakcję tę wykorzystuje się powszechnie w diagnostyce [37-39].

Proces aktywacji białka C zachodzi głównie w naczyńkach włosowatych, w których stosunek powierzchni śródbłonna do objętości przepływającej krwi jest odpowiednio wysoki. Zaktywowany enzym odłącza się od kompleksu aktywującego i rozpoczyna proteolizę czynników Va i VIIIa.

V. Właściwości enzymatyczne białka C

Przeprowadzone *in vivo* eksperymenty, w których białko C aktywowano czynnikiem Xa wykazały, że już po 2 minutach od podania czynnika indukującego, około 60% zymogenu uległo przekształceniu w aktywne białko C. Towarzyszył temu znaczny spadek aktywności czynników Va i VIIIa trwający około 30 minut [40].

Inaktywacja czynników Va i VIIIa odbywa się na powierzchni komórek śródbłonna, z którym aktywne białko C wiąże się za pośrednictwem mostków wapniowych. Czynnik VIII jest białkiem heterogennym złożonym z niskocząsteczkowego dubletu o ciężarze 79-80 kDa i z około 6 większych polipeptydów połączonych w łańcuch ciężki 188 kDa. Aktywne białko C wiąże się z domeną A3 łańcucha ciężkiego aktywnego czynnika VIIIa i hydrolizuje wiązania Arg 562 - Gly 563, następnie Arg 336 - Met 337. Po degradacji aktywność czynnika VIIIa spada do około 1% [41, 42].

Inaktywacja czynnika Va również polega na proteolitycznym trawieniu łańcucha ciężkiego Arg 562 - Gly 563 [41, 42]. Niektórzy badacze jednak uważają, że łańcuch ciężki czynnika Va hydrolizowany jest na 5 peptydów, a łańcuch lekki na dwa fragmenty. Ponadto, uważa się, że enzym selektywnie degraduje formy aktywne czynników Va i VIIIa, nie naruszając struktury obecnych w osoczu ich form nieczynnych (prokofaktorów) [43].

Kofaktorem wymienionych reakcji jest białko S, tj.

jednołańcuchowa glikoproteina 70 kDa należąca do grupy białek zależnych od witaminy K. Wspomaga ono wiązanie się aktywnego białka C z fosfolipidami na powierzchni błony komórkowej [44, 45].

VI. Aktywność profibrynolityczna białka C

Rola aktywnego białka C w fibrylizacji nie jest do końca wyjaśniona. W eksperymentach przeprowadzonych *in vitro*, w układzie wywołującym skrzep, w obecności plazminogenu (tPA), tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA), inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1), fibrynogenu i trombiny aktywne białko C wzmacnia fibrylizację w sposób dawko-zależny pozostając bez wpływu na tworzenie się fibryny. Uważa się, że aktywne białko C tworzy kompleksy z PAI-1, i że ta reakcja nie wymaga obecności białka S, jonów wapnia ani fosfolipidów [46, 47]. W efekcie przedłuża się działanie aktywatorów plazminogenu, co równoznaczne jest ze wzmożoną fibrylizacją. Potwierdzają to badania *in vivo*, w których wykazano, że po podaniu dożylnym rekombinowanego białka C w stężeniach fizjologicznych następowało skrócenie czasu lizy nowopowstałego skrzepu. Jest to proces dawko-zależny, a aktywność połowiczną osiąga enzym przy stężeniu 10 nM [48].

Białko, w którym centrum katalityczne zablokowano diizopropylodifosforanem lub przeciwciałami nie wykazuje żadnego wpływu na fibrylizację, ani nie degraduje czynników Va i VIIIa [47].

VII. Unieczynnianie i eliminacja aktywnego enzymu

Zauważono, że spadek aktywności amidolitycznej białka C następuje szybciej niż jego eliminacja z układu krążenia, co spowodowane jest obecnością substancji mających zdolność unieczynniania enzymu. Do tej pory zidentyfikowano trzy takie białka: inhibitor białka C (Protein C Inhibitor, PCI), alfa₁-antytrypsyna (alfa₁AT) oraz alfa₂-makroglobulina (alfa₂M) [49].

Eksperymenty, w których badano ilości kompleksów białka C z różnymi inhibitorami wykazały, że największe powinowactwo wobec enzymu i największą szybkość wiązania wykazuje inhibitor białka C (Protein C Inhibitor, PCI). Jest to jednołańcuchowa glikoproteina o masie 57 kDa, immunologicznie identyczna z inhibitorem aktywatora plazminogenu PAI-3, hamuje także aktywność trombiny, czynników Xa i XIa, kallikreiny, urokinazy, tPA, trypsyny i chymotrypsyny. Blokowanie aktywności odbywa się na drodze niekompetencyjnej przez utworzenie kompleksu białka C z inhibitorem w stosunku stechiometrycznym 1:1. Szybkość jego działania wzrasta 30-50 razy w obecności dużych stężeń heparyny [50]. Jednak przy zawartości w osoczu 5 µg/ml, dostępność PCI dla białka C jest ograniczona i szybko następuje wysycenie. Wtedy aktywne białko C wiązane jest przez alfa₁-antytryp-

synę, której jest w osoczu około 1000 razy więcej niż PCI. Alfa₁AT wiąże się z białkiem C wolniej niż PCI, ale dłuższy jest czas półtrwania tych kompleksów: 72.6 + 6.1 godzin wobec 19.6 + 3.1 godzin dla kompleksów białka C z PCI [40, 51, 52]. W odróżnieniu od PCI alfa₁-antytrypsyna nie jest inhibitorem heparynozależnym.

Ostatnio stwierdzono, że alfa₂-makroglobulina, wysokocząsteczkowe białko mające zdolność wiązania wielu enzymów obecnych w osoczu, wiąże i hamuje także aktywne białko C, prawdopodobnie przy udziale wapnia [51].

Proces eliminacji białka C ma charakter dwufazowy. Po podaniu zwierzętom aktywnego białka C, niezależnie od dawki i sposobu podania, do wątroby w ciągu 30 minut docierało około jednej trzeciej zaaplikowanego znakowanego białka.

VIII. Uwagi końcowe

Badania kliniczne wykazały zbieżność pomiędzy obniżoną zawartością białka C lub jego niedostateczną aktywnością w organizmie a ryzykiem chorób zakrzepowych. Zastosowanie technik inżynierii genetycznej do badań nad białkiem C pozwoliło nie tylko uzyskać wgląd w jego strukturę, ale także wyprodukować w pełni aktywny enzym [20, 54]. Podjęto próby łagodzenia objawów chorobowych podawaniem białka uzyskiwanego technikami rekombinacyjnymi i, być może, już wkrótce pewne typy schorzeń staną się uleczalne [55].

Artykuł otrzymano 29 maja 1992 r.

Zaakceptowano do druku 5 września 1992 r.

Piśmiennictwo

1. Stenflo J (1976) *Journal of Biol Chem* **251**: 355-363
2. Davie E W, Fujikawa K, Kisiel W (1991) *Biochemistry* **30**: 10363-10370
3. Manucci P M, Vigano S (1982) *Lancet* **2**: 463-466
4. Marlar R A (1985) *Semin Thromb Hemost* **11**: 387-393
5. Marlar R A, Endres-Brooks J, Miller C (1985) *Blood* **66**: 59-63
6. Marlar R A, Adcock D M (1989) *Human Pathol* **20**: 1040-1047
7. Miletich J, Sherman L, Broze G (1987) *The New England Medicine* **313**: 991-996
8. Long G L, Marshall A, Gardner J C, Naylor S L (1988), *Somatic Cell Molecular Genetics* **14**: 93-98
9. Rocchi M, Roncuuzzi L, Santamaria R, Archidiacono N, Dente L, Romeo G (1986) *Hum Genet* **74**: 30-33
10. Patracchini P, Aiello V, Palazzi P, Calzolari E, Bernardi F (1989) *Hum Gen* **81**: 191-192
11. Beckman R J, Schmidt R J, Santerre R F, Plutzky J, Crabtree G R, Long G L (1985) *Nucl Acid Res* **13**: 5233-5247
12. Plutzky J, Hoskins J A, Long G L, Crabtree G R (1986) *Proc Natl Acad Sci USA* **83**: 546-550

13. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss A, Wideman C (1981) *J Clin Invest* **68**: 1370-1337
14. Foster DC, Yoshitake S, Davie EW (1985) *Proc Natl Acad Sci USA* **82**: 4673-4677
15. Furie B, Furie BC (1990) *Blood* **75**: 1753-1762
16. Grinnell BW, Berg DT, Walls J, Yan B (1987) *Biotechnology* **5**: 1189-1192
17. Miletich JP, Broze GJ (1990) *J Biol Chem* **265**: 21125-21130
18. Li Zhang, Castellino FJ (1990) *Biochemistry* **30**: 6696-6704
19. Esmon NL, DeBault LE, Esmon CT (1983) *Journal Biol Chem* **258**: 5548-5553
20. Yan SCB, Razzano P, Chao YB, Walls JD, Berg DT, McClure DB, Grinnell BW (1990) *Bio/Technology* **8**: 655-661
21. Ohlin AK, Landes G, Bourdon P, Oppenheimer C, Wydro R, Stenflo J (1988) *J Biol Chem* **263**: 19240-19248
22. Stearns DJ, Kurosawa S, Sims PJ, Esmon NL, Esmon CT (1988) *Biol Chem* **263**: 826-832
23. Ohlin AK, Bjorn J, Stenflo J (1990) *Biochemistry* **29**: 644-651
24. Miletich JP, Broze GJ (1988) *Blood* **72**: 11397-11404
25. Hau L, Salem HL (1988) *Thromb Haemost* **60**: 267-270
26. Grinnell BW, Walls JD, Gerlitz B (1991) *J Biol Chem* **266**: 9778-9785
27. Kisiel W, Davie EW (1985) *Meth Enzym* **80**: 320-332
28. Heeb MJ, Schwartz P, White T, Lammle B, Berrettini M, Griffin JH (1988) *Thromb Res* **52**: 33-43
29. Greffe BS, Manco-Johnson MJ, Marlar RA (1989) *Thromb Haemost* **3**: 902-905
30. Stenflo J, Fernlund P (1982) *J Biol Chem* **257**: 12180-12190
31. Stenflo J (1984) *Sem Thromb Hemost* **10**: 109-121
32. Bauer K, Kass LB, Beeler DL, Rosenberg RD (1982) *J Clin Invest* **74**: 2033-2041
33. Dittman WA, Majerus PV (1990) *Blood* **75**: 329-336
34. Ehrlich HJ, Grinnell BW, Jaskunas SR, Esmon CT, Yan SB, Bang NU (1990) *EMBO-J* **9**: 2367-2373
35. Salem HH, Esmon NL, Esmon CT, Majerus PW (1984) *J Clin Invest* **73**: 968-972
36. Haley PF, Doyle MF, Mann KG (1989) *J Biol Chem* **264**: 16303-16309
37. Orthner CL, Bhattacharya P, Strickland DK (1988) *Biochemistry* **27**: 2558-2564
38. Mc Mullen BA, Fujikawa K, Kisiel W (1989) *Biochemistry* **28**: 674-679
39. Sturzebecher J, Neuman U, Meier J (1991) *Toxicol* **29**: 151-155
40. Hoogendoorn H, Nesheim ME, Giles AR (1990) *Blood* **75**: 2164-2171
41. Fulcher CA, Gardiner JE, Griffin JH, Zimmerman TS (1984) *Blood* **63**: 486-489
42. Fay PJ, Smudzin TM, Walker FJ (1991) *Journal Biol Chem* **30**: 20139-20145
43. Comp PC, Esmon CT (1981) *J Clin Invest* **68**: 1221-1228
44. Walker FJ (1981) *J Biol Chem* **256**: 11128-11131
45. Dahlbach B (1991) *Thromb Haemost* **66**: 49-61
46. van Hinsbergh VWM, Bertina RM, van Wijngaarden A, van Tilburg NH, Emeis JJ, Haverkate F (1985) *Blood* **65**: 444-451
47. de Fouw NJ, de Jong YF, Haverkate F, Bertina RM (1989) *Thromb Haemost* **60**: 328-333
48. Bajzar L, Fredenburg JC, Nesheim M (1990) *J Biol Chem* **265**: 16948-16954
49. Berger H, Kirsten CG, Orthner CL (1991) *Blood* **77**: 2174-2184
50. Suzuki K, Deyashiki Y, Nishioka J (1988) *Thromb Haemost* **61**: 337-342
51. Espana F, Gruber A, Heeb MJ, Hanson SR, Harker LA, Griffin JH (1991) *Blood* **77**: 1754-1760
52. Laurell M, Stenflo J, Carlson TM (1990) *Blood* **76**: 2290-2297
53. Hoogendoorn H, Toh CH, Nesheim ME, Giles AR (1991) *Blood* **78**: 2283-2290
54. Grinnell BW, Berg DT, Walls J, Yan SB (1987) *Biotechnology* **5**: 1189-1192
55. Madden RM, Oppenheimer C, Wydro R, Marlar RA (1990) *Thromb Res* **57**: 425-435

Błonowe pirofosfatazy transportujące protony

Membrane-bound proton-translocating pyrophosphatases

STANISŁAW KOWALCZYK*

Spis treści:

- I. Wstęp
- II. Syntaza PP_i; transportująca protony w chromatoforach bakterii fotosyntetyzujących
- III. H⁺-PPaza związana z roślinnymi błonami plazmatycznymi
- IV. Badania mitochondrialnej pirofosfatazy
- V. Uwagi końcowe

Contents:

- I. Introduction
- II. Chromatophore proton-translocating PP_i synthase from photosynthetic bacteria
- III. H⁺-PPase of plant plasma membrane
- IV. Study of mitochondrial pyrophosphatase
- V. Concluding remarks

Wykaz stosowanych skrótów: H⁺-ATPaza — ATPaza transportująca protony (syntaza ATP); H⁺-PPaza — pirofosfataza transportująca protony; PP_i — nieorganiczny pirofosforan; DCCD — N,N'-dwucykloheksylokarbodwuimid; FCCP — karbonylocyjanek p-(trójfluorometoksy)fenylohydrazonu.

* dr, Zakład Biochemii Instytutu Biologii Uniwersytetu M. Kopernika, ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

I. Wstęp

W pierwszej przeglądowej pracy poświęconej badaniom roli nieorganicznego pirofosforanu w magazynowaniu i przekazywaniu energii opublikowanej w *Postęпах Biochemii* w 1981 [1] przedstawiono szereg nowych wówczas wyników i hipotez odnośnie udziału PP_i w metabolizmie komórkowym. Mimo, że większość ówczesnych badań dotyczyła organizmów prokariotycznych, to niektóre wyniki sugerowały już wówczas, że konieczna rewizja poglądów na temat roli PP_i w komórce obejmie w przyszłości również organizmy eukariotyczne. Badania przeprowadzone w ostatnim dziesięcioleciu potwierdziły te przypuszczenia, a w przypadku prac prowadzonych na roślinach zapoczątkowały nową tematykę badań z zakresu regulacji metabolizmu cukrów. Badania te związane są w głównej mierze z odkryciem u roślin alternatywnej drogi fosforylacji fruktozo 6-fosforanu i defosforylacji fruktozo 1,6-bisfosforanu, w której uczestniczy PP_i -fosfofruktokinaza specyficzna względem pirofosforanu i podlegająca regulacji przez fruktozo 2,6-bisfosforan. Wyniki licznych już obecnie prac oraz aktualne hipotezy z tego zakresu badań są tematem oddzielnej publikacji przygotowywanej do druku.

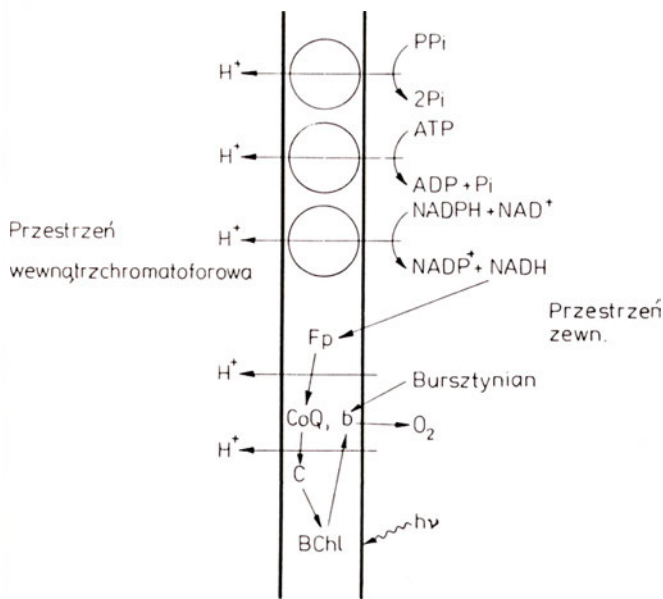
Obecny wzrost zainteresowania rolą nieorganicznego pirofosforanu w metabolizmie komórkowym został zapoczątkowany badaniami nad syntezą PP_i w chromatoforach *Rhodospirillum rubrum*. Stwierdzona tu możliwość syntezy PP_i w reakcji fotofosforylacji nasunęła przypuszczenie, że zachodzi ona z udziałem odwracalnie działającego układu enzymatycznego analogicznego do syntazy ATP. Badania ostatnich lat wykazały, że układem tym w błonach chromatoforowych jest syntaza PP_i transportująca protony. Odkąd po raz pierwszy zwrócono uwagę, że pirofosfataza chromatoforowa syntetyzuje PP_i na koszt transmembranowego gradientu protonowego, podjęto szereg badań nad lokalizacją pirofosfatazy w komórkach organizmów eukariotycznych. W badaniach tych wykazano, że pirofosfataza związana z błonami plazmatycznymi komórek roślinnych funkcjonuje jako pompa protonowa w sprzężeniu z reakcją hydrolizy PP_i ($P_2O_7^{4-} + H_2O \rightarrow 2PO_4^{3-} + 2H^+$). Pirofosfatazę zawiera również błona wewnętrzna mitochondriów izolowanych zarówno z tkanek zwierzęcych jak też roślinnych. Badania tego enzymu, jakkolwiek jeszcze niepełne, sugerują, że również mitochondrialna pirofosfataza jest syntazą produkującą PP_i kosztem transmembranowego potencjału protonowego.

Tematem obecnego artykułu jest przegląd najnowszych badań dotyczących poznanych dotychczas błonowych pirofosfataz funkcjonujących jako układy transportujące protony.

II. Syntaza PP_i transportująca protony w chromatoforach bakterii fotosyntetyzujących

W 1966 roku wykazano po raz pierwszy, że w chromatoforach beziarkowych bakterii purpurowych *Rhodospirillum rubrum* zachodzi na świetle synteza PP_i [2]. Produkcja PP_i jest całkowicie hamowana przez antymycynę A, związki rozprzegające i jony fluorkowe, nie jest natomiast hamowana przez oligomycynę, znany inhibitor mitochondrialnej i chromatoforowej ATPazy [1]. W przeprowadzonych badaniach wykazano ponadto, że chromatofory przemywane roztworem LiCl traciły aktywność ATPazową i zdolność do fosforylacji ADP, a zachowywały zdolność do syntezy PP_i [3]. Uzyskane wyniki nasuwały przypuszczenie, że w syntezie ATP i PP_i uczestniczą dwa niezależne, konkurencyjne względem siebie układy enzymatyczne a mianowicie syntaza ATP i syntaza PP_i . Zgodnie z teorią chemiosmotyczną, związana z błonami syntaza PP_i powinna funkcjonować jako odwracalny układ analogiczny do H^+ -ATPazy. Szereg eksperymentów *in vitro* potwierdzał to przypuszczenie, bowiem hydrolizie dodawanego do zawiesiny chromatoforów PP_i towarzyszy zakwaszenie środowiska wewnątrzchromatoforowego [4], zmiana widma barwnika OX-6 [5] i fluorescencji ANS [6, 7] oraz transport penetrujących błony anionów [8]. Generowanie w wyniku hydrolizy PP_i gradientu protonowego (ΔpH) będącego składową siły protonomotorycznej ($\Delta \mu_H^+$) wyjaśnia szereg zależnych od energii procesów zachodzących w chromatoforach. Stwierdzono mianowicie, że PP_i może być źródłem energii dla reakcji odwrócenia kierunku transportu elektronów, redukcji NAD^+ przez bursztynian i $NADP^+$ przez $NADH$, syntezy ATP zależnej od PP_i oraz zmian widma karotenoidów [9]. Wszystkie powyższe zjawiska znajdują wytlumaczenie przy założeniu, że są one sprzężone z hydrolizą PP_i za pośrednictwem gradientu protonowego tak, jak przedstawiono to na rycinie 1.

Badania przeprowadzone w ostatnich latach na izolowanych chromatoforach potwierdzają powyższy schemat i jednoznacznie wskazują, że związana z błonami syntaza PP_i jest pompą protonową. I tak w doświadczeniach, w których śledzono syntezę PP_i i ATP w warunkach krótkotrwałego (milisekundowego) naświetlania wykazano, że reakcje syntezy PP_i i ATP są reakcjami niezależnymi i konkurencyjnymi względem siebie, przy czym wydajność syntezy PP_i w tych warunkach jest nieco wyższa niż wydajność syntezy ATP. Z wyższą wydajnością syntetyzowany jest PP_i , również w warunkach niskiego natężenia światła [10]. Syntezę pirofosforanu badano ponadto w warunkach sztucznie wytworzonego gradientu protonowego (ΔpH), gradientu jonowego ($\Delta \psi$) lub kombinacji obydwu. Synteza pirofosforanu zachodzi w każdym z wymienionych warunków, natomiast fosforylacja ADP nie przebiega w sytuacji gdy został wytworzony tylko gradient protonowy [11, 12]. Produkcja PP_i może zachodzić również w warunkach generowanego przez transhydrogenazę nukleotydowną gradientu protonowego. Jak wykazano w tym przypadku, reakcji reduk-



Ryc. 1 Powstawanie gradientu protonowego na błonach pęcherzyków chromatoforowych. Na schemacie przedstawiono pompy protonowe związane z aktywnością H^+ -PPazy, H^+ -ATPazy, transhydrogenazy nukleotydu oraz reakcjami cyklicznej fotofosforylacji.

cji NAD^+ przez $NADPH$ może towarzyszyć wytworzenie różnicy potencjału membranowego, którego wartość u *Rhodospirillum rubrum* wynosi 35 mV, a w chromatoforach izolowanych z *Rhodopseudomonas viridis* 25 mV [13, 14]. Wyznaczona przez autorów różnica potencjału membranowego jaki tworzy się w wyniku hydrolizy pirofosforanu na błonach chromatoforowych tych bakterii wynosi odpowiednio 50 i 14 mV [13].

Równoległe z prowadzonymi badaniami nad syntezą PP_i podejmowano próby izolowania i oczyszczania syntazy PP_i z błon chromatoforów *Rhodospirillum rubrum*. Związany z błonami enzym ekstrahowano cholanem w obecności $MgCl_2$, a następnie frakcjonowano siarczanem amonu i rozdzielano metodą sączenia żelowego [15]. Uzyskany w ten sposób dziesięciokrotnie oczyszczony enzym wykazywał w obecności jonów Mg^{+2} wysoką specyficzność względem PP_i i był silnie aktywowany przez fosfolipidy, szczególnie przez kardiolipinę. Wysokooczyszczoną syntazę PP_i otrzymano po raz pierwszy w pracowni Baltschefska i Ch., używając do ekstrakcji Tritonu X-100 przy wysokim stężeniu $MgCl_2$ i glikolu etylenowego [16]. Budowa molekularna syntazy PP_i nie jest ostatecznie wyjaśniona. Enzym oczyszczony w ostatnim czasie do stopnia elektroforetycznej homogenności wydaje się być homooligomerem zbudowanym z podjednostki o masie cząsteczkowej 56 kDa [17]. W badaniach, które miały na celu ustalenie wielkości cząsteczki natywnego enzymu zastosowano metodę napromieniowania błon promieniami γ . Wyznaczenie zależności między dawką promieniowania a stopniem inaktywacji enzymu pozwala określić wielkość układu enzymatycznego integralnie związanego z błonami. Masa cząsteczkowa syntazy PP_i wyznaczona na podstawie

inaktywacji hydrolizy PP_i wynosi 156 kDa. Układ syntetyzujący PP_i jest nieco większy, bowiem jego masa cząsteczkowa wynosi 196 kDa [18].

Aktywność hydrolityczna enzymu jest silnie hamowana przez NaF i analogi PP_i (imidofosforan, metylenodwufosfonian). W przeciwieństwie do enzymu związanego z błonami, aktywność pirofosfatazowa po ekstrakcji nie jest stymulowana przez związki rozprzegające i nie ulega hamowaniu przez DCCD. N-etylomaleimid silnie hamuje enzym zarówno związany, jak też uwolniony z błon chromatoforów w temperaturze $0^\circ C$, nieznacznie tylko zmienia aktywność w temperaturze $30^\circ C$ [19]. Częściowo oczyszczoną syntazę udaje się wbudować do pęcherzyków liposomalnych, w których w wyniku hydrolizy PP_i tworzy się różnica błonowego potencjału elektrycznego rzędu 15 mV. Generowanie gradientu jonowego na błonach liposomalnych uzależnione jest od obecności w środowisku jonów Mg^{+2} i hamowane jest przez fluorki, natomiast w przeciwieństwie do naturalnych błon niewrażliwe jest na DCCD [20]. Obserwowano również, że aktywność hydrolityczna PP_i liposomów stymulowana jest przez związki rozprzegające (FCCP) i rośnie znacząco pod wpływem walinomycyny i nigerycyny w środowisku zawierającym jony potasu, natomiast nie jest hamowana przez DCCD [21, 22]. Wyniki powyższe sugerują, że ekstrakcja i oczyszczanie pirofosfatazy pozbawia ją peptydu wiążącego DCCD w wyniku czego enzym wbudowany w liposomy jest niewrażliwy na ten inhibitor.

Równoczesne wbudowanie do liposomów układu syntazy PP_i i syntazy ATP pozwoliło stwierdzić, że gradient protonowy tworzony przez syntazę w wyniku hydrolizy PP_i może zostać wykorzystany do fosforylacji ADP [23].

Badana syntaza PP_i błon chromatoforowych jakkolwiek różni się funkcją od badanej wcześniej bakteryjnej fosfohydrolazy nieorganicznego pirofosforanu zlokalizowanej w cytoplazmie, to jednak obydwa enzymy wykazują wiele podobieństw pod względem właściwości kinetycznych [24]. Oprócz *Rhodospirillum rubrum* obecność syntazy PP_i stwierdzono również w chromatoforach kilku innych bakterii fotosyntetyzujących [13, 25, 26, 27]. Można zatem przypuszczać, że syntaza PP_i jest układem enzymatycznym powszechnie występującym w ciałkach chromatoforowych bakterii fotosyntetyzujących.

III. H^+ -PPaza związana z roślinnymi błonami plazmatycznymi

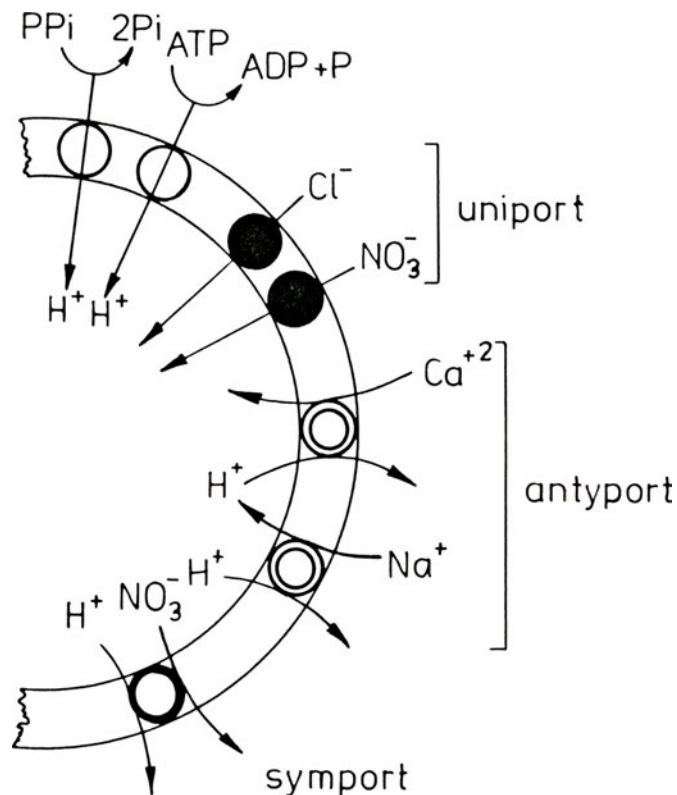
Pirofosfatazę związaną z błonami plazmatycznymi odkryto po raz pierwszy w liściach i korzeniach buraka cukrowego [28]. Obecność tego enzymu stwierdzono głównie we frakcji błon wakuolarnych i frakcjach błon wzbogaconych w struktury Golgiego [29, 30]. W ostatnim czasie pojawiło się wiele nowych doniesień, które potwierdzają powszechność występowania tego en-

zemu w błonach tonoplastowych roślin z różnych grup taksonomicznych [31-39].

Próba oczyszczania H^+ -PPazy z błon wakuolarnych buraka ćwikłowego została podjęta po raz pierwszy przez Rea i wsp. [40]. Autorzy stwierdzili, że pirofosfataza jest enzymem odrębnym od hamowanej przez azotany i aktywowanej jonami chlorkowymi wakuolarniej ATPazy. Częściowo oczyszczony enzym jest aktywowany 15-20-krotnie przez jony K^+ [39]. Wysokooczyszczony enzym o masie cząsteczkowej 64-67 kDa uzyskano z błon wakuolarnych buraka ćwikłowego [41, 42] a elektroforetycznie jednorodny enzym o masie cząsteczkowej 73 kDa otrzymano z błon tonoplastowych hipokotyli fasoli [43]. Próby ekstrakcji enzymu z błon roztworami rodanku i $NaCO_3$ oraz sieciowanie dwumetylosuberynianem prowadzi autorów do wniosku, że PPaza jest integralnie związana z błonami i funkcjonuje jako dimer [44, 45].

Właściwości kinetyczne tonoplastowej pirofosfatazy wskazują, że jest ona enzymem o wysokiej specyficzności substratowej, bowiem wyznaczone wartości K_M mieszczą się w zakresie $17-130 \times 10^{-6} M$ [33, 34, 38, 46, 47]. PPaza wymaga obecności jonów magnezowych w optymalnym stosunku $Mg^{+2}:PP_i$ równym 1. Jest silnie aktywowana przez jony K^+ i w obecności detergentów przez fosfolipidy, natomiast hamowana jest przez DCCD, N-etylomaleimid, jony F^- i analogi PP_i . W odróżnieniu od ATPazy wykazuje całkowity brak wrażliwości na jony wanadu, molibdenian, oligomycynę i bafilomycynę.

Szczegółowe badania tonoplastowej PPazy były poprzedzone obserwacjami, z których wynikało, że w pęcherzykach błon tonoplastowych transport protonów może zachodzić na koszt energii hydrolizy PP_i . Obserwacji tych dokonano przy okazji badań wakuolarniej H^+ -ATPazy [48, 49]. W badaniach poświęconych energizacji błon wakuolarnych kolecytki kukurydzy i korzeni owsa wykazano, że występująca w błonach H^+ -PPaza może generować gradient protonowy o podobnej lub wyższej wartości niż H^+ -ATPaza [30, 39, 50]. Substratem H^+ -PPazy jest kompleks $MgP_2O_7^{-2}$, względem którego wartości K_M mieszczą się w zakresie stężeń od 5 do $30 \mu M$ [33, 34, 38, 39, 46, 51]. Mimo, że hydroliza pirofosforanu nie jest aktywowana przez aniony, to jony Cl^- , Br^- i NO_3^- stymulują zależny od pirofosforanu transport protonów. Efekt ten może być wynikiem wtórnego transportu anionów do wnętrza pęcherzyków w wyniku tworzącego się gradientu jonowego, którego źródłem jest gradient protonowy (Ryc. 2). Efekt stymulacji znoszony jest przez walinomycynę w obecności jonów K^+ [52]. Zależny od pirofosforanu transport protonów hamowany jest przez organiczne kationy (bis-tris-propan) zastępujące jony K^+ [53], DCCD [35, 39, 46], jony F^- [39] i imidodwufosforan [30, 38]. W ostatnim czasie wykazano, że zależne od PP_i tworzenie gradientu jonowego aktywowane jest przez jony K^+ tylko po



Ryc. 2 Transport protonów z udziałem H^+ -PPazy i H^+ -ATPazy oraz schemat wtórnego transportu jonów przez błony wakuolarne.

stronie cytoplazmatycznej nienaruszonych wakuoli [54]. Ta asymetryczna aktywacja sugeruje, że enzym może funkcjonować w przenoszeniu jonów potasowych przez błony. Wakuolarna H^+ -PPaza może również brać udział w magazynowaniu wapnia w wakuolach, który jest transportowany do wnętrza na zasadzie antyportu H^+/Ca^{+2} [55].

Plazmatyczna H^+ -PPaza stała się w ostatnim czasie przedmiotem intensywnych badań kilku zespołów. Badania te mają na celu poznanie stechiometrii H^+/PP_i oraz roli jaką może grać ten układ w komórkach roślinnych.

IV. Badania mitochondrialnej pirofosfatazy

Przed ponad dwudziestu laty Irie i wsp. [56] wykazali po raz pierwszy, że mitochondria wątroby szczura zawierają dwa izoenzymy fosfohydrolazy nieorganicznego pirofosforanu. Dwie rozdzielające się elektroforetycznie formy pirofosfatazy różnią się specyficznością substratową i wymaganiami względem optymalnego stężenia jonów Mg^{+2} . W ostatnich latach dwie zróżnicowane formy PPazy wyizolowano i częściowo oczyszczono z mitochondriów serca i wątroby wołu. Masa cząsteczkowa izoenzymów wyznaczona metodą elektroforezy w gradiencie żelu poliakrylamidowego wynosi odpowiednio 60 i 185 kDa [57]. Forma I o niższej masie cząsteczkowej ma budowę heterodimeru typu $\alpha\beta$ (28, 30 kDa) podczas gdy forma II (185 kDa) w trakcie elektroforezy z SDS rozdziela się na 4 podjednostki o zróżnicowanej masie cząstecz-

kowej (28, 30, 40 i 60 kDa). Badania lokalizacji submitochondrialnej sugerują, że forma I PPazy jest enzymem pochodzenia matriksowego, natomiast forma II jest związana z błoną wewnętrzną. W przypadku gdy do ekstrakcji białek wewnętrznej błony mitochondriów wątroby szczura używano cholanu, to w rozdiale elektroforetycznym obserwowano dwie formy PPazy o masie cząsteczkowej 120 i 210 kDa. To zróżnicowanie formy II PPazy jest według autorów wynikiem uwalniania się z błon różnych peptydów związanych z podjednostkami katalitycznymi enzymu [58, 59].

Właściwości kinetyczne pirofosfatazy izolowanej z błony wewnętrznej zasadniczo nie odbiegają od właściwości enzymu z matriks. Substratem dla obydwu enzymów jest $MgP_2O_7^{-2}$ i obydwie formy aktywowane są przez fosfolipidy. PPaza pochodząca z błon wykazuje nieco wyższą wrażliwość na zmiany stężenia jonów Mg^{+2} niż enzym zlokalizowany w matriks [60-62]. Obydwa enzymy różnią się natomiast zdecydowanie pod względem zmian aktywności hydrolitycznej w zależności od temperatury. PPaza I charakteryzuje się liniowym wzrostem aktywności wraz ze wzrostem temperatury, podczas gdy PPaza błonowa posiada dwa punkty infleksyjne, jeden w temperaturze 18°C, drugi natomiast w 26°C [63].

Obecność pirofosfatazy o masie cząsteczkowej 32 kDa związanej z wewnętrzną błoną mitochondrialną wykazano również w mitochondriach izolowanych z liści i kielków kukurydzy [64, 65, 66] oraz drożdży [67]. Właściwości tej pirofosfatazy nie odbiegają również od właściwości enzymu związanego z innymi strukturami subkomórkowymi [64].

Funkcję mitochondrialnej PPazy wiązano do niedawna jedynie z koniecznością usuwania PP_i , którego głównym źródłem w mitochondriach są reakcje aktywacji kwasów tłuszczowych i aminokwasów. Stężenie PP_i w mitochondriach mieści się w zakresie 1-20 mM, podczas gdy w cytoplazmie jest rzędu 10^{-6} M [68]. W pracowni Manusovej [68] wykazano, że znaczne ilości PP_i — produkowane w mitochondriach w reakcji aktywacji maślanu — ulegają gwałtownej hydrolizie w obecności związków rozprzegających. Wyniki te sugerują, że poziom PP_i w mitochondriach może być kontrolowany przez różnicę błonowego potencjału elektrycznego. Jak jednak wykazały ostatnie badania, produkowany w mitochondriach pirofosforan niekoniecznie musi ulegać hydrolizie do ortofosforanu. W badaniach własnych wykazaliśmy po raz pierwszy, że PP_i może być transportowany przez błonę wewnętrzną mitochondriów roślinnych za pośrednictwem translokazy nukleotyduowej [69]. Podobne wyniki uzyskano również w badaniach przeprowadzonych na mitochondriach wątroby i serca szczura oraz na liposomach zawierających wbudowaną translokazę nukleotyduową [70-72].

Obecny wzrost zainteresowania mitochondrialną PPazą, podobnie jak w przypadku błon chromatoforo-

wych, jest następstwem badań dotyczących sprzężonej z oddychaniem syntezy PP_i . W 1975 roku stwierdzono po raz pierwszy, że w mitochondriach *Endomyces magnusii*, wątroby szczura i serca wołu w warunkach fosforylacji oksydacyjnej może być produkowany również PP_i [73, 74]. Synteza PP_i hamowana jest przez dwunitrofenol, antymycynę, NaCN i NaF, natomiast rośnie w obecności oligomycyny. Synteza PP_i w odróżnieniu od fosforylacji ADP zachodzi z największą intensywnością w temperaturze 18°C i drastycznie jest hamowana w temperaturze 30°C, optymalnej dla syntezy ATP [75]. Autorzy pracy wiążą to zjawisko ze zmianami lepkości błon jakie mają miejsce przy zmianie temperatury. Sprzężoną z oddychaniem syntezę pirofosforanu w mitochondriach izolowanych z etiologicznych kielków kukurydzy stwierdzono również w naszej pracowni [65, 76].

W dotychczasowych badaniach wykazano, że w warunkach fosforylacji oksydacyjnej przy braku lub niskim poziomie ADP zachodzi w mitochondriach synteza PP_i . Hamowanie syntezy przez inhibitory pirofosfatazy i brak hamowania przez oligomycynę sugeruje, że w syntezie PP_i nie bierze udziału syntaza ATP lecz analogiczna do enzymu chromatoforowego syntaza PP_i . Jak dotąd, brak jest potwierdzenia tożsamości lub rozróżnienia między PPazą a syntazą PP_i . Pirofosfataza mitochondrialna w przeciwieństwie do chromatoforowej jest stosunkowo luźno związana z wewnętrzną błoną mitochondriów i może być łatwo z niej uwalniana działaniem ultradźwięków. Pozbawione pirofosfatazy cząstki submitochondrialne tracą zdolność do syntezy PP_i , która jednakże może być przywrócona po ich preinkubacji z frakcją białek uwolnionych z błon zawierającą również pirofosfatazę. W badaniach, które przeprowadzono w ostatnim czasie na cząstkach submitochondrialnych z pędów grochu wykazano jednoznacznie, że mitochondrialna pirofosfataza jest pompą protonową analogiczną do hamowanej przez oligomycynę F_0F_1 -ATPazy. Hydrolizie PP_i przez cząstki submitochondrialne towarzyszy transport protonów do wnętrza pęcherzyków. Generowanie gradientu protonowego hamowane jest przez inhibitory PPazy oraz przez DCCD i Ca^{+2} [78]. Można zatem przypuszczać, że badania w tym zakresie będą obecnie zmierzały do prób rekonstrukcji syntazy PP_i w błonach liposomalnych.

V. Uwagi końcowe

Zebrane w przedstawionym artykule informacje dotyczą nadal niedostatecznie poznanych procesów energetycznych zachodzących w komórce. Mimo ogromnego postępu jaki się dokonał w ostatnich dwóch dziesięcioleciach w badaniach mechanizmów magazynowania i przetwarzania energii, problem udziału PP_i w tych procesach był przez długi czas niedoceniany. W wyniku badania organizmów prokariotycznych odkryto szereg nowych enzymów, które

wykorzystują PP_i w reakcjach fosforylacji zamiast ATP [1, 79]. Enzymem wzbudzającym szczególne zainteresowanie, którego obecność stwierdzono również w komórkach *Rhodospirillum rubrum* [80] jest 1-fosfotransferaza PP_i -fruktozo 6-fosforanowa. PP_i -fosfotransferaza katalizuje odwracalną reakcję fosforylacji fruktozo 6-fosforanu zgodnie z równaniem: $PP_i + Fru-6-P \rightleftharpoons Fru-1,6-P_2 + P_i$. W komórkach bakteryjnych ten nieallosteryczny enzym, różny od regulowanej przez fruktozo 2,6-bisfosforan PP_i -fosfotransferazy z roślin wyższych, funkcjonuje w glikolizie w warunkach gdy źródłem węgla jest glukoza [81]. Można zatem przypuszczać, że synteza PP_i w chromatoforach dostarcza wysokoenergetycznego związku fosforanowego w sytuacji gdy synteza ATP zachodzi z ograniczoną szybkością. Może to mieć miejsce np. w warunkach niskiego natężenia światła [9].

Rola mitochondrialnej syntazy PP_i organizmów eukariotycznych jest obecnie niejasna. W tkankach zwierzęcych nie stwierdzono obecności PP_i -fosfotransferazy a enzymem regulowanym przez Fru-2,6- P_2 jest klasyczna ATP-fosfotransferaza. Tkanki roślinne zawierają chloroplastową i cytoplazmatyczną ATP-fosfotransferazę i dodatkowo PP_i -fosfotransferazę zlokalizowaną w cytoplazmie i podlegającą allosterycznej regulacji przez Fru-2,6- P_2 . Wbrew pierwotnym przypuszczeniom, które wiązały funkcję tego enzymu z glikolizą, obecnie uważa się, że PP_i -fosfotransferaza reguluje w cytoplazmie poziom PP_i . Odwracalność reakcji katalizowanej przez PP_i -fosfotransferazę umożliwia przemianę $P_i \rightleftharpoons PP_i$, która jak się wydaje jest ważnym elementem mechanizmu integracji chloroplastowego i cytoplazmatycznego metabolizmu cukrów [82]. Można zatem przypuszczać, że synteza PP_i w mitochondriach odgrywa ważną rolę w regulacji przemian, które są sprzężone z metabolizmem PP_i .

Chromatoforowa i mitochondrialna syntaza PP_i ma prostszą budowę niż syntaza ATP i dlatego jest dogodniejszym układem do badań mechanizmu fosforylacji sprzężonej z transportem protonów. Dotychczasowe badania w tym zakresie koncentrowały się na zmianach właściwości mikrośrodowiska reakcji — miejsca o niskiej „aktywności wody”, w którym powstaje „niskoenergetyczne” wiązanie pirofosforanowe [83-86]. W badaniach syntazy PP_i nie można wykluczyć funkcjonalnego a być może również strukturalnego związku z syntazą ATP. Mitochondrialna F_1 -ATPaza posiada bowiem specyficzne miejsca wiążące pirofosforan, które oddziałują na centrum katalityczne oraz na miejsca wiążące nukleotydy [87].

Tkanki roślinne w odróżnieniu od drożdży i tkanek zwierzęcych nie zawierają cytoplazmatycznej pirofosfatazy [88]. Funkcja tego enzymu polega na usuwaniu PP_i powstającego w wielu reakcjach syntezy. Zatem hydroliza PP_i w komórkach roślinnych przez wakuolarną H^+ - PP_i azę umożliwiałyby zachowanie energii wiązania bezwodnikowego pirofosforanu w formie transmembranowego potencjału elektrycznego. Być

może, że konieczność magazynowania w wakuolach dużych ilości różnorodnych substancji wymusza oszczędniejszą gospodarkę wysokoenergetycznymi związkami fosforu. Poszerzeniem tej koncepcji jest pogląd Skulacheva, który sugeruje, że ze względu na małą pojemność elektryczną błon, PP_i za pośrednictwem H^+ - PP_i azy może pełnić rolę „buforu $\Delta \mu_{H^+}$ ” [89]. Wakuolarna H^+ - PP_i aza wykazuje strukturalne podobieństwo z chromatoforową syntazą PP_i . Przeciwnością względem H^+ - PP_i azy wykazują reakcję immunologiczną z peptydem o masie cząsteczkowej 56 kDa z błon chromatoforowych [90]. Nie stwierdzono immunologicznego pokrewieństwa H^+ - PP_i azy z mitochondrialną syntazą PP_i [47].

Przedstawione wyniki badań prowadzą do wniosku, że zarówno rola pirofosfatazowych pomp protonowych, jak też zagadnienie roli PP_i w metabolizmie są nadal otwarte i wymagają dalszych szczegółowych badań. W kontekście tych badań interesujący wydaje się również problem związków wysokoenergetycznych w rozwoju ewolucyjnym organizmów. Możliwość prostej syntezy PP_i z ortofosforanu w warunkach bezwodnych i podwyższonej temperaturze daje podstawy do spekulacji na temat roli PP_i jako ewolucyjnie pierwotnego związku wysokoenergetycznego. Hipoteza ta daje podstawy nie tylko do rozważań teoretycznych, ale może być nowym, interesującym podejściem do zagadnienia roli PP_i i pirofosfatazowych pomp protonowych.

Artykuł otrzymano 16 stycznia 1992 r.

Zaakceptowano do druku 14 września 1992 r.

Piśmiennictwo

- Masłowski P, Kowalczyk S (1981) *Post Biochem* 27: 147-156
- Horio T, von Stedingk L V, Baltscheffsky H (1966) *Acta Chem Scand* 20: 1-10
- Guillory RJ, Fisher R (1972) *Biochem J* 129: 471-481
- Moyle J, Mitchell R, Mitchell P (1972) *FEBS Lett* 23: 233-236
- Bashford CL, Baltscheffsky M, Prince R (1979) *FEBS Lett* 97: 55-60
- Azzi A, Baltscheffsky M, Baltscheffsky H, Vainio H (1971) *FEBS Lett* 17: 49-52
- Vainio H, Baltscheffsky M, Azzi A (1972) *Eur J Biochem* 30: 301-306
- Isaev PI, Liberman EA, Samuilov VD, Skulachev VP, Tsolina LM (1970) *Biochim Biophys Acta* 216: 22-29
- Baltscheffsky M, Nyrén P (1984) W: Ernster L (red) *New Comprehensive Biochemistry: Bioenergetics*, t 9. Elsevier, Amsterdam, str. 187-206
- Nyrén P, Nore BF, Baltscheffsky M (1986) *Photobiochem Photobiophys* 11: 189-196
- Strid A, Karlsson IM, Baltscheffsky M (1987) *FEBS Lett* 224: 348-352
- Strid A, Nyrén P, Boork J, Baltscheffsky M (1986) *FEBS Lett* 196: 337-340
- Nore BF, Sakai Y, Baltscheffsky M (1990) *Biochim Biophys Acta* 1015: 189-194
- Nore BF, Husain I, Nyrén P, Baltscheffsky M (1986) *FEBS Lett* 200: 133-138

15. Rao PV, Keister DL (1978) *Biochem Biophys Res Commun* **84**: 465-473
16. Nyrén P, Hajnal K, Baltscheffsky M (1984) *Biochim Biophys Acta* **766**: 630-635
17. Nyrén P, Nore BF, Strid A (1991) *Biochemistry* **30**: 2883-2887
18. Wu JJ, Ma JT, Pan RL (1991) *FEBS Lett* **283**: 57-60
19. Randhal H (1979) *Eur J Biochem* **102**: 251-256
20. Kondrashin AA, Remennikov VG, Samuilov VD, Skulachev VP (1980) *Eur J Biochem* **113**: 219-222
21. Shakhov YA, Nyrén P, Baltscheffsky M (1982) *FEBS Lett* **146**: 177-180
22. Baltscheffsky M, Nyrén P (1984) W: Liss AR (red) *Information and Energy Transduction in Biological Membranes*, New York, str 199-207
23. Nyrén P, Baltscheffsky M (1983) *FEBS Lett* **155**: 125-130
24. Klemme JH, Klemme B, Gest H (1971) *J Bacteriol* **108**: 1122-1128
25. Schwarm HM, Vigenschow H, Knobloch K (1986) *Biol Chem Hoppe-Seyler* **367**: 127-133
26. Jones OTG, Saunders VA (1972) *Biochim Biophys Acta* **275**: 427-436
27. Nore BF, Nyrén P, Salih GF, Strid A (1990) *Photosynth Res* **24**: 75-80
28. Karlsson J (1975) *Biochim Biophys Acta* **399**: 356-363
29. Walker RR, Leigh RA (1981) *Planta* **153**: 150-155
30. Chanson A, Fichmann J, Spear D, Taiz L (1985) *Plant Physiol* **79**: 159-164
31. Wagner GJ, Mulready P (1983) *Biochim Biophys Acta* **728**: 267-280
32. Rea PA, Poole RJ (1985) *Plant Physiol* **77**: 46-52
33. Marquardt G, Lutge U (1987) *J Plant Physiol* **129**: 269-286
34. White PJ, Marshall J, Smith JAC (1990) *Plant Physiol* **93**: 1063-1070
35. Macri F, Vianello A (1987) *FEBS Lett* **215**: 47-52
36. Takeshige K, Hager A (1988) *Plant Cell Physiol* **29**: 649-657
37. Petel G, Gendraud M (1989) *J Plant Physiol* **134**: 466-470
38. Macri F, Vianello A (1990) *Plant Cell Physiol* **31**: 261-266
39. Wang Y, Leigh RA, Kaestner KH, Sze H (1986) *Plant Physiol* **81**: 497-502
40. Rea PA, Poole RJ (1986) *Plant Physiol* **81**: 126-129
41. Sarafian V, Poole RJ (1989) *Plant Physiol* **91**: 34-38
42. Britten ChJ, Turner JC, Rea PA (1989) *FEBS Lett* **256**: 200-206
43. Maeshima M, Yoshida S (1989) *J Biol Chem* **264**: 20068-20073
44. Maeshima M (1990) *Biochem Biophys Res Commun* **168**: 1157-1162
45. Sato MH, Maeshima M, Ohsumi Y, Yoshida M (1991) *FEBS Lett* **290**: 177-180
46. Chanson A, Pilet PE (1988) *Physiol Plant* **74**: 643-650
47. Meashima M (1991) *Eur J Biochem* **196**: 11-17
48. Churchill KA, Sze H (1983) *Plant Physiol* **76**: 490-497
49. Bennett AB, Spanswick RM (1984) *Plant Physiol* **74**: 545-548
50. Johannes E, Felle H (1990) *Plant Physiol* **93**: 412-417
51. Johannes E, Felle HH (1989) *Physiol Plant* **77**: 326-331
52. Pope AJ, Leigh RA (1987) *Planta* **172**: 91-100
53. Shimmen T, MacRobbie EAC (1987) *Plant Cell Physiol* **28**: 1023-1031
54. Davies JM, Rea PA, Sanders D (1991) *FEBS Lett* **278**: 66-68
55. Chanson A (1991) *J Plant Physiol* **137**: 471-476
56. Irie M, Yabuta A, Kimura K, Shindo Y, Tomita K (1970) *J Biochem* **67**: 47-58
57. Volk SE, Baykov AA, Kostenko EB, Avaeva SM (1983) *Biochim Biophys Acta* **744**: 127-134
58. Volk SE, Baykov AA (1984) *Biochim Biophys Acta* **791**: 198-204
59. Kostenko EB, Smirnova IN, Baykov AA, Avaeva SM (1983) *Biochimia* **48**: 707-713
60. Volk SE, Baykov AA, Duzhenko VS, Avaeva SM (1982) *Eur J Biochem* **125**: 215-220
61. Unguryte A, Smirnova IN, Baykov AA (1989) *Arch Biochem Biophys* **273**: 292-300
62. Shakhov YA, Dukhovich VF, Velandia AM, Spiridonova VA, Mansurova SE, Kulaev IS (1982) *Biochimia* **47**: 601-607
63. Mansurova SE, Dukhovich VF, Spiridonova VA, Shakhov YA, Velandia AM, Khrapova NV, Tikhonov AN (1984) *Biochem Int* **8**: 749-755
64. Masłowski P, Masłowska H, Kowalczyk S (1977) *Acta Biochim Polon* **24**: 117-126
65. Masłowski P, Kowalczyk S, Kazubska E (1978) *Acta Biochim Polon* **25**: 175-183
66. Kowalczyk S, Masłowski P (1988) *Acta Univ Nicolai Copernici Biologia XXXI* 3-18
67. Lundin M, Deopujari SW, Lichko L, da Silva LP, Baltscheffsky H (1992) *Biochim Biophys Acta* **1098**: 217-223
68. Mansurova SE (1989) *Biochim Biophys Acta* **977**: 237-247
69. Kowalczyk S, Masłowski P (1981) *Phytochemistry* **20**: 2611-2615
70. Asimakis GK, Aprile JR (1980) *Arch Biochem Biophys* **203**: 307-316
71. Vercesi A, Lehninger AL (1984) *Biochem Biophys Res Commun* **118**: 147-153
72. Kramer R (1985) *Biochem Biophys Res Commun* **127**: 129-135
73. Mansurova SE, Ermakova SA, Zviagil'skaya RA, Kulaev IS (1975) *Mikrobiologia* **44**: 874-879
74. Mansurova SE, Shakhov YA, Belyakova TN, Kulaev IS (1975) *FEBS Lett* **55**: 94-98
75. Mansurova SE, Kulaev IS (1982) *Biochem Int* **5**: 457-462
76. Kowalczyk S, Masłowski P (1984) *Biochim Biophys Acta* **766**: 570-575
77. Mansurova SE, Shakhov YA, Kulaev IS (1977) *FEBS Lett* **74**: 31-34
78. Vianello A, Zancani M, Braidot E, Petrusa E, Macri F (1991) *Biochim Biophys Acta* **1060**: 299-302
79. Wood HG (1977) *Fed Proc* **36**: 2197-2205
80. Pflleiderer C, Klemme J-H (1980) *Z Naturforsch* **35c**: 229-238
81. O'Brien WE, Bowien S, Wood HG (1975) *J Biol Chem* **250**: 8690-8695
82. Stitt M (1987) *Plant Physiol* **84**: 201-204
83. De Meis L (1984) *J Biol Chem* **259**: 6090-6097
84. Celis H, Romero J, Gómez-Puyou A (1985) *Arch Biochem Biophys* **236**: 766-774
85. De Meis L, Behrens MI, Petretski JH (1985) *Biochemistry* **24**: 7783-7789
86. De Meis L, Behrens MI, Celis H, Romero J, Gómez Puyou MT, Gómez Puyou A (1986) *Eur J Biochem* **158**: 149-157
87. Peinnequin A, Issartel JP, Lunardi J, Vignais PV (1992) *Biochemistry* **31**: 2088-2092
88. Weiner H, Stitt M, Heldt HW (1987) *Biochim Biophys Acta* **893**: 13-21
89. Skulachev VP (1977) *FEBS Lett* **74**: 1-9
90. Nore BF, Sakai-Nore Y, Maeshima M, Baltscheffsky M, Nyrén P (1991) *Biochem Biophys Res Commun* **181**: 962-967

**15th International Congress
of Clinical Chemistry,
Melbourne, Australia, 16—20 February 1993**
Info: Multinational Meetings
Information service BV,
J W Brouwersplein 27, POB 5090,
1007 AB Amsterdam, The Netherlands.

SPRAWOZDANIE

z działalności Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Biochemicznego XIII Kadencji, 1990-1992 r.

W okresie sprawozdawczym Polskie Towarzystwo Biochemiczne liczyło 1205 Członków zgrupowanych w 12 Oddziałach. Rocznie przyjmowano około 100 nowych Członków. 120 Członków, którzy z różnych powodów zalegali z płaceniem składek przeniesiono w poczet tzw. członków biernych, tracących jednocześnie część przywilejów, jak ulgi w prenumeracie „Postępów Biochemii”, opłacie za uczestnictwo w zjazdach itp. Pozostali Członkowie Towarzystwa płacą regularnie składkę, jej wysokość w minionej kadencji wynosiła kolejno 16.000 zł (r. 1990) 30.000 zł (r. 1991) i 40.000 zł r.b. Została przygotowana i wykonana lista elektroniczna Członków n/Towarzystwa, ułatwi ona w przyszłości pracę sekretariatu.

W ciągu dwóch pierwszych lat XIII Kadencji Towarzystwo było dotowane przez Polską Akademię Nauk. W 1992 r. nie uzyskano żadnych dotacji. Budżet finansowy Towarzystwa w obecnej chwili jest równy około 52 mln. przyjmując, że wszyscy Członkowie płacą regularnie składki.

Zarząd Towarzystwa próbował podjąć działalność gospodarczą. Zorganizowano kurs przygotowawczy dla młodzieży ubiegającej się o przyjęcie na Wyższe Studia. Prowadzenie zajęć w ciągu dwóch semestrów przyniosło dochód 17 mln zł. Dotychczasowe dochody z trudem pokrywają najniezbędniejsze wydatki Zarządu (wynagrodzenie dwóch urzędniczek, opłata za lokal, składka FEBS, doroczne nagrody, delegacje i przesyłki).

Zarząd Główny urzędował, dyżurując w lokalu Towarzystwa chemicznego przy ul. Freta 16, raz na tydzień, we wtorki. Plenarne zebrania Zarządu Głównego odbywały się raz na kwartał. Uczestniczyli w nich oprócz członków Zarządu, pełnomocnicy, przewodniczący Oddziałów oraz organizatorzy dorocznych Zjazdów.

W bieżącej kadencji ważniejszymi uchwałami dotyczącymi zadań statutowych było:

- Uchwalenie nowych zasad przyznawania nagrody im. prof. Włodzimierza Mozołowskiego
- uchwalenie regulaminu konkursu i nagrody na najlepiej przygotowany i wygłoszony wykład z dziedziny biochemii i biologii molekularnej
- uchwalenie podwyższenia składki członkowskiej z 30.000 zł do 40.000 zł
- powołanie Komisji Statutowej w celu nowelizacji statutu Towarzystwa
- uchwalenie Regulaminu dotyczącego przyjmowania studentów w poczet Członków PTBioch.

Głównym celem Towarzystwa, określonym przez Statut jest popieranie rozwoju biochemii, popularyzacja jej osiągnięć oraz integracja środowiska biochemicznego. Zarząd Główny XIII Kadencji realizował te cele poprzez:

- działalność wydawniczą: Postępy Biochemii i Monografie
- premiowanie najwartościowszych osiągnięć naukowych w postaci Nagród im. prof. Jakuba Parnasa, im. prof. Bolesława Skarżyńskiego i im. prof. Włodzimierza Mozołowskiego
- popularyzację osiągnięć nauki światowej poprzez konkursy na najlepiej przygotowany i wygłoszony wykład z dziedziny biochemii i biologii molekularnej
- popularyzację nauk biologicznych w środowisku młodzieży licealnej
- integrację środowiska biochemicznego poprzez redakcję LIST'ów do Członków
- popularyzację staży naukowych krajowych i zagranicznych fundowanych przez FEBS
- organizację dorocznych Zjazdów Towarzystwa
- popularyzację zebrań oddziałowych
- inspirowanie i popieranie organizacji monotelematycznych sesji
- popieranie działalności związanej z organizacją nauczania poprzez wymianę doświadczeń dydaktycznych oraz przygotowanie pomocy ułatwiających pracę nauczycieli akademickich i licealnych

Działalność wydawnicza

Kwartalnik „Postępy Biochemii” rozwija się pomyslnie. W XIII Kadencji zmienił szatę graficzną oraz formę prezentowanych artykułów. Redaktor naczelny prof. Zofia Zielińska, zastępcy redaktora doc. Grażyna Palamarczyk i doc. Andrzej Jerzmanowski, doc. Jacek Kuźnicki oraz inż. Bożena Szymanowska sprawili, że Postępy Biochemii stały się pismem na dobrym, europejskim poziomie. Są dobrze redagowane, publikowane artykuły zawierają kompendium wiedzy pozwalające na poznanie współczesnych kierunków badań, szans ich rozwoju oraz wynikających z tego praktycznych korzyści. Postępy Biochemii w obecnej formie dostarczają informacji, nie tylko specjalistom z dziedziny biochemii, genetyki czy biologii, stanowią one pomoc naukową dla studentów z Wydziałów biologicznych Uniwersytetu oraz studentów Akademii Medycznych. Są uzupełnieniem podręczników akademickich, pogłębiają i uaktualniają wiedzę dotyczącą nauk biologicznych. Należy zwrócić uwagę na staranną i estetyczną szatę graficzną. Ciekawie zaprojektowana okładka, w różnych kolorach dla poszczególnych roczników, zwraca uwagę i zachęca do kupna. Warto również podkreślić krótki cykl wydawniczy, co nie dezaktualizuje wiadomości, zachęca autorów do

współpracy. Według redaktora naczelnego prof. Zofii Zielińskiej, zmiana profilu merytorycznego pisma, cyklu wydawniczego, jak i kolportażu mogła się dokonać dzięki ogromnemu poświęceniu i kompetencji doc. Jacka Kuźnickiego oraz znajomości rzemiosła edytorskiego inż. Bożeny Szymanowskiej. Nie oszczędzili oni swego czasu ani inwencji dla usprawnienia pracy redaktorskiej i wydawniczej. Wydano tom 36, 37 i 38 kwartalnika. Obok artykułów drukowano leksykon nowych terminów biochemicznych, reguły słownictwa oraz recenzje książek. Wpłynęło łącznie 91 artykułów, z tego opublikowano 42, w druku jest 7, odrzucono 31, pozostałe w rewizji autorskiej.

Od zeszytu 3 tomu 38, 1992r., stronę technologiczną przejęła inż. Jolanta Grzybowska, zastępca głównego technologa w drukarni Naukowo-Technicznej przy ul. Mińskiej 65, gdzie obecnie drukowany jest kwartalnik. Od 3 zeszytu 38 tomu, 1992 r. nazwisko inż. Grzybowskiej figuruje w składzie Redakcji, w miejsce nazwiska inż. Bożeny Szymanowskiej.

Nakład pisma w ostatnich trzech latach był w granicach od 600 do 800 egzemplarzy. Jest 340 prenumeratorów pisma oraz 40 bibliotek zamawia corocznie 120 egzemplarzy.

Monografie Biochemiczne

Z inicjatywy Sekcji Dydaktycznej Towarzystwa wydano dwie monografie „Rozpad fosfolipidów a przekazywanie informacji w komórce” Jolanta Barańska oraz „ATPazy — budowa i funkcje” Wiesława Leśniak, Zofia Poremska. Obie publikacje zawierają najnowsze informacje dotyczące omawianych tematów. Tekst ilustrowany jest rysunkami i schematami, które mogą być wykorzystane do wykonania przeźroczy, przydatnych w pracy dydaktycznej ze studentami. Monografie stanowią uzupełnienie podręczników akademickich i mogą być użyteczne zarówno dla młodych asystentów jak i studentów.

Sekcja Dydaktyczna podjęła również trud wydania repetytorium z biochemii w testach pt. „Zarys biochemii w pytaniach i odpowiedziach” pod redakcją Lilli Lachowicz. Autorzy podręcznika uważają, że nie powinien on służyć do sprawdzianu wiadomości studenta, lecz jako pomoc w opanowaniu materiału z biochemii.

Wszystkie wydawnictwa spotkały się z przychylną oceną recenzentów i czytelników. Do Zarządu napływają zamówienia; niska cena zachęca do kupna.

Nagrody

Nagrody im. prof. Jakuba Parnasa oraz im. prof. Bolesława Skarżyńskiego za najciekawszą pracę

doświadczalną oraz najlepszy artykuł przeglądowy opublikowany w kwartalniku „Postępy Biochemii” są przyznawane regularnie. Nagrodę im. prof. Włodzimierza Mozołowskiego otrzymuje corocznie młody biochemik na Zjeździe Towarzystwa za najciekawszą i najlepiej prezentowaną pracę.

Nagrody stanowią nie tylko wyróżnienie, od trzech lat związana z tym jest stosunkowo znaczna suma pieniędzy.

Konkurs na najlepiej przygotowany i wygłoszony wykład

Od trzech lat odbywają się konkursy na najlepiej przygotowany i wygłoszony wykład. W 1990 i 1991 roku Zarząd otrzymał zgłoszenie jednego wykładu, w roku bieżącym trzech kandydatów ubiegało się o zdobycie nagrody. Organizacje konkursów ma na celu popularyzację osiągnięć nauk biologicznych, przygotowanie młodych pracowników do samodzielnego zbierania i opracowania materiału, a następnie wyboru najciekawszej formy jego prezentacji.

Doświadczenia trzech lat dowodzą, że spotkania konkursowe służą nie tylko popularyzacji, ale w znacznym stopniu integrują społeczność biochemiczną z różnych ośrodków oraz dostarczają ciekawych materiałów do publikacji monografii.

W roku bieżącym wykład „Rozpad fosfolipidów a przekazywanie informacji w komórce” Jolanty Barańskiej został nagrodzony i wydany w postaci monografii.

Biuletyn Towarzystwa „LISTY DO CZŁONKÓW”

Biuletyn jest redagowany przez dr Teresę Wesołowską i wydawany w Szczecinie. W ciągu XIII Kadencji przekazano Członkom Towarzystwa 10 LIST'ów informujących o działalności naszego i innych Towarzystw. Biuletyn przekazuje aktualne wiadomości dotyczące pracy Zarządu, pracy Oddziałów. Informuje o naukowych imprezach w kraju i zagranicą. Jest trybuną porozumienia między Zarządem, Oddziałami i poszczególnymi Członkami. Biuletyn otwarty jest na wszelkie informacje z Oddziałów i nieustannie oczekuje na listy korespondentów. Forma redagowania LIST'ów oraz ciepły życzliwy stosunek Redaktora Biuletynu do Czytelników i w dużym stopniu przyczynia się do integracji naszej biochemicznej społeczności.

Staża naukowe

Staża naukowe są gorąco popierane przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Biochemicznego. Z prawdziwą przyjemnością należy podkreślić, że Członkowie n/Towarzystwa brali udział w wielu

krajowych i zagranicznych Zjazdach, sympozjach, kilkumiesięcznych lub rocznych pobytach naukowych w placówkach zagranicznych. Współpraca z FEBS rozwijała się zadawalająco. Około 5 do 8 osób każdego roku korzystało ze stypendium FEBS dla przeprowadzenia badań lub zapoznania się z nowymi technikami badawczymi. Dzięki pomocy FEBS kontynuowane jest rozprowadzanie bezpłatnej prenumeraty kwartalnika *Biochemical Education*, który otrzymują ośrodki akademickie.

Zjazdy Polskiego Towarzystwa Biochemicznego

Coroczne Zjazdy PTBioch. w bieżącej kadencji odbyły się w Gdańsku (1990), w Lublinie (1991) i w Łodzi (1992). Spotkania te cieszyły się dużym zainteresowaniem, czego dowodem była wysoka frekwencja (500-600 osób), oraz ilość i różnorodność nadsyłanych komunikatów. W ostatnim okresie w programie Zjazdu znajdują się sesje na temat biotechnologii, biochemii klinicznej oraz już dwukrotnie sympozja poświęcone dydaktyce. Coraz liczniejszy jest również udział osób nie będących członkami n/Towarzystwa. Stwarza to okazję do szerokiej wymiany poglądów między przedstawicielami różnych pokrewnych dyscyplin naukowych.

Monotematyczne sesje naukowe

Monotematyczne sesje naukowe zyskują coraz większe zainteresowanie i są systematycznie organizowane. W bieżącej kadencji sesje takie odbyły się:

1. We Wrocławiu (4.IX.1990) jednodniowa konferencja pt. „Molekularne podstawy mechanizmów odpowiedzi immunologicznej” zorganizowana przez prof. Lisowską oraz Oddział Wrocławskiej PTBioch.
2. W Białymstoku (9-13.VII 1990) XII Sesja Europejskich Towarzystw Tkanki Łącznej. Spotkanie przygotował prof. Bańkowski oraz Białostocki Oddział PTBioch. Poziom merytoryczny oraz strona organizacyjna sesji zostały wysoko ocenione przez zagranicznych gości i uczestników z kraju.
3. W Gdańsku (15.IX.1990) sympozjum pt. „Metody immunologiczne w biochemii klinicznej”. Spotkanie przygotował prof. Angielski w ramach działalności Sekcji „Biochemii Klinicznej” PTBioch.
4. W Warszawie (8.XII.1990) sesja pt. „Osteoporoza — problemy kliniczne”. Spotkanie przygotowane przez prof. Lorenca w ramach działalności sekcji „Metabolizm Wapniowy”.
5. W Lublinie (20.IX.1991) sesja polsko-francuska poświęcona metabolizmowi wapnia. W spotkaniu udział wzięli goście z Francji,

specjaliści w dziedzinie gospodarki mineralnej. Spotkanie przygotowała prof. Poremska w ramach działalności sekcji „Metabolizm wapniowy”.

6. W Gdańsku (5-6.IX.1991) dwudniowa, międzynarodowa sesja *Clinical Biochemistry in renal Diseases*”. Sesję przygotował prof. Angielski w ramach działalności sekcji „Biochemii Klinicznej”. Patologia i biochemia filtracji kłębkowej były przedmiotem obrad.
7. W Warszawie (2.V.1992) spotkanie zorganizowane przez Zarząd Główny PTBioch., na którym laureatka Nagrody im. B. Skarżyńskiego wygłosiła referat pt. „Białka szoku cieplnego, budowa i funkcja”.
8. W Warszawie (12.V.1992) spotkanie zorganizowane przez Zarząd Główny PTBioch., na którym prof. Sławomir Strumiło z Grodna wygłosił wykład pt. „Mechanizmy regulacji dekarboksylacji ketokwasów”.
9. W Szczecinie regularnie organizowane przez prof. Zygmunta Machoya oraz Oddział Szczeciński PTBioch. sympozja na temat biochemii i toksykologii fluoru.
10. W Gdańsku, coroczne, systematycznie organizowane w maju spotkania, poświęcone pamięci prof. Mozołowskiego, przygotowywane przez Katedrę Biochemii Gdańskiej Akademii Medycznej oraz Oddział Gdański PTBioch.
11. Coroczne spotkanie wykładowców chemii, biochemii oraz biochemii klinicznej poświęcone organizacji nauczania biochemii w akademiach medycznych. W XIII Kadencji spotkania odbyły się w Łodzi (1990), Bydgoszczy (1992) i w Katowicach (1992).
12. W Warszawie sesje z cyklu „Co nowego w biologii molekularnej” organizowane przez prof. Fikus oraz Oddział Warszawski PTBioch. Spotkania te odbyły się w 1990 i 1991 r. i cieszyły się dużym uznaniem uczestników z całej Polski.

Sekcje Polskiego Towarzystwa Biochemicznego

W ramach Towarzystwa pracują sekcje:

- Metabolizmu Wapniowego
- Tkanki Łącznej
- Biochemii Klinicznej
- Dydaktyki
- Glikokoniugatów

Powołane sekcje mają na celu integrowanie biochemików zainteresowanych podobnymi specjalnościami. Trzy pierwsze sekcje pracują bardzo aktywnie, organizują coroczne spotkania, manifestują swoją obecność na corocznych Zjazdach PTBioch.,

oraz międzynarodowych imprezach zbliżonych tematycznie. Członkowie sekcji Tkanki Łącznej biorą czynny udział w pracy międzynarodowej Unii Tkanki Łącznej, wchodzi w skład zarządu. W lipcu 1990, sekcja Tkanki Łącznej PTBioch. razem z Oddziałem Białostockim PTBioch. zorganizowała w Białymstoku Międzynarodowy Zjazd Unii Tkanki Łącznej. Sekcja Glikokoniugatów i jej prezes prof. Kościelak organizują w 1993 r. w Krakowie międzynarodowy zjazd poświęcony tematyce glikokoniugatów. Powstała w 1992 r. sekcja dydaktyczna zorganizowała kurs przygotowawczy dla młodzieży ubiegającej się o przyjęcie na studia. Przygotowała i wydała drukiem dwie monografie, przydatne w nauczaniu biochemii, wydała zbiór pytań testowych pod redakcją prof. Lachowicz.

Dwie kolejne monografie „Budowa błony plazmatycznej i jej funkcja” oraz „Kanały jonowe” są w końcowej fazie redakcji. Ich ukazanie się drukiem przewidziane jest na początek listopada. Jednocześnie przygotowywane są rysunki na przeźroczka do opracowanych przez sekcję monografii. Ich wydanie w grudniu zależy wyłącznie od zasobów finansowych Towarzystwa.

Sesje dydaktyczne

Sesje dydaktyczne odbywają się każdego roku i poświęcone są nauczaniu chemii, biochemii i biochemii klinicznej w Akademiach Medycznych w Polsce. Biorą w nich udział kierownicy zakładów oraz osoby odpowiedzialne za organizację dydaktyki. Podczas tych spotkań dyskutowane są merytoryczne i metodologiczne sposoby realizacji programów nauczania oraz formowane postulaty do władz uczelni i Ministerstwa Zdrowia. Pierwsze spotkanie odbyło się z inicjatywy prof. Mariusza Żydowo w Gdańsku. Od tego czasu miało miejsce 8 sesji, w bieżącej Kadencji (XIII) w Łodzi, Bydgoszczy i Katowicach. Spotkania dydaktyczne stanowią nie tylko forum do wymiany doświadczeń, podręczników czy pomocy naukowych, są one również okazją do nawiązania bliższych osobistych kontaktów tak ważnych w integracji środowiska biochemicznego.

W trosce o nauczanie i popularyzację osiągnięć biologii molekularnej podjęto również inicjatywę spotkań dydaktycznych dla nauczycieli akademickich u ośrodków uniwersyteckich. Pierwsza sesja poświęcona tej tematyce zorganizowana przez prof. Zofię Walter odbyła się podczas Zjazdu PTBioch. w Łodzi.

Ogólna ocena pracy w XIII Kadencji

Miniona XIII Kadencja władz Polskiego Towarzystwa Biochemicznego przebiegała podobnie jak poprzednie wśród wielu trudności, tak organizacyj-

nych, jak i finansowych. Brak stałych, jasnych przepisów utrudniał w dużym stopniu pracę Zarządu. Zmieniające się i zawile zarządzenia niechętały do podejmowania wielu projektowanych inicjatyw.

Walka z popiwkiem, prawdopodobnie, ale nie na pewno pozytywnie zakończona, niepotrzebnie zabierała energię i entuzjazm Członków Zarządu. Obawa przed nieczytelnymi do końca przepisami, dotyczącymi działalności gospodarczej doprowadziła do rezygnacji z wielu planowanych wcześniej inicjatyw Zarządu. Brak dotacji obliguje do podejmowania działalności gospodarczej, jednak obowiązujące przepisy praktycznie uniemożliwiają wszelką inicjatywę prowadzącą do uzyskania zysków dla Towarzystwa. Jedynym realnym dochodem są składki członkowskie. Ich wartość stanowi około 50 mln zł. Jest to jednak niewystarczająca suma na pokrycie kosztów działalności Towarzystwa.

Wydaje się że działalność gospodarcza Towarzystwa jest nieodzowna, jednak jeszcze przez kilka lat prowadzenie jej będzie związane z wieloma kłopotami.

Niezależnie od wszystkich trudności część inicjatyw Zarządu powiodła się. Odbyło się wiele interesujących imprez naukowych, uzyskano niezaprzeczalne wyniki w dziedzinie dydaktyki, osiągnięto sukcesy wydawnicze.

Wydaje się, że wszystkie te poczynania doprowadziły do większej integracji naszego biochemicznego środowiska. Udało się również zaobserwować większą ofiarność i entuzjazm dla prawdziwej, bezinteresownej pracy społecznej. Dzięki naszym Kolegom mogliśmy zrealizować wiele inicjatyw i akcji na rzecz rozwoju naszej dyscypliny, a to właśnie jest statutowym celem naszego Towarzystwa.

*Prezes Zarządu Głównego XII kadencji
prof. dr hab. Zofia Poremska
Dnia 18 września 1992 r.*

Wszystkim Członkom Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Biochemicznego oraz Przewodniczącym Oddziałów Towarzystwa serdecznie dziękuję za wspólną pracę i wiele owocnych inicjatyw. Nowemu Zarządowi XIV kadencji życzę sukcesów i osiągnięć.

Zofia Poremska

ARTYKUŁY

- Renata Dąbrowska** — Współczesne poglądy n.t. mechanizmów regulacji skurczu mięśni gładkich 2
- Paweł Golik, Marek Gniadkowski** — Onkogeny kodujące elementy układu czynnik wzrostowy/receptor 6
- Wanda Sokół-Misiak** — Jądrowe receptory jako czynniki regulujące transkrypcję 12
- Elżbieta Hrabec, Zbigniew Hrabec, Andrzej Płucienniczak** — Biosynteza substancji P oraz innych neurokinin ssaków 23
- Zbigniew Hrabec, Elżbieta Hrabec** — Receptory neurokinin. Udział substancji P w procesach zapalnych 28
- Janina Kwiatkowska** — Kwas retinowy reguluje proces wzrostu i różnicowania 32
- Krzysztof Demkowicz-Dobrzański, Ewa E. Hening** — Modyfikacja procesów mutagenyzy i karcerogenezy chemicznej przez syntetyczne przeciwutleniacze fenolowe na przykładzie butylohydroksyanizolu 37
- Małgorzata Zatyka, Agnieszka Sirko, Grażyna Jagura-Burdzy, Monika Hryniewicz, Danuta Hulanicka** — Regulator cysteinowy u Enterobacteriaceae 46
- Jolanta Kwiatkowska, Ryszard Słomski** — Gen DMD — największy gen człowieka 49
- Celina Janion** — Enzymy naprawiające DNA: Uvr ABC-endonukleaza *Escherichia coli* 55
- Elżbieta Grzesiuk** — System SOS: Mutagenna odpowiedź komórki na uszkodzenia DNA 59
- Anna Maria Chachulska** — Rybozomy — katalityczne cząsteczki RNA 64
- Ryszard Słomski, Hanna Chlebowska, Jochen Reiss** — Zastosowanie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w diagnostyce klinicznej 75
- Robert Makuch, Renata Dąbrowska** — Kalesmon — regulator skurczu mięśni gładkich i zjawisk ruchu w komórkach niemięśniowych 90
- Barbara Grzelakowska-Sztabert** — Regulacja cyklu komórkowego — historii i komplikacji ciąg dalszy 98
- Małgorzata Czarny, Hanna Poddana, Jolanta Barańska** — Metabolizm fosfatydyloinozytoli i ich rola w przekazywaniu informacji w komórkach roślinnych 107
- Joanna Sadowska** — Rybonukleaza P — przykład katalitycznej aktywności RNA 112
- Zbigniew Hrabec, Elżbieta Hrabec, Janusz Greger, Lilla Lachowicz** — Degradacja substancji P — biologiczna aktywność produktów 123
- Krzysztof Zwierz, Jarosław Juszkiewicz, Leszek Arciuch, Andrzej Gindzieński** — N-Acetylo- β -D-heksozoaminidaza — enzym chorób Tay-Sachsa i Sandhoffa 127
- Krystyna Filipiak, Jerzy B. Warchol** — Automatyczne metody analizy obrazów — zastosowanie w biologii komórkowej 132
- Cezary Żekanowski** — Redagowanie RNA 156
- Małgorzata Jakubowicz** — Introny grupy I i II, satelitarne RNA wirusów roślinnych, wiroidy i struktury tRNA-podobne jako wybrane przykłady do rozważań nad ewolucyjną rolą RNA 164
- Mirosława Z. Barciszewska, Jan Barciszewski** — Zależności między strukturą i funkcją kwasów nukleinowych 171
- Iwona Fijałkowska, Anna Babińska, Czesław Cierniewski** — Rola białka C w układzie krzepnięcia i fibrynolizy 178
- Stanisław Kowalczyk** — Błonowe pirofosfaty transportujące protony 183

NOTY BIOGRAFICZNE

- Od Redakcji** — Patroni nagród naukowych Polskiego Towarzystwa Biochemicznego . . . 138
- Zofia Zielińska** — Jakub Karol Parnas, patron nagrody za najlepszą pracę doświadczalną. 138
- Tadeusz Mann** — Słowo z Cambridge. . . 139
- Bogusław Halikowski** — Nobel, którego nie było. 140
- Tadeusz Korzybski** — Stenogram wykładu profesora Parnasa w 1941 r. we Lwowie. . . 140
- Jan Oskar Parnas** — Syn o Ojcu — Nauczycielu. 142
- Leszek Tomaszewski** — Wspomnienia studenta. 145

SŁOWNICTWO

- Andrzej Gamian** — Słownictwo glikoprotein, glikopeptydów i peptydoglikanów. . . 81

- Włodzimierz Antyporowicz** — Wieczór wigilijny 1939 roku w Wilnie. 145
- Jan Oskar Parnas** — Ewakuacja ze Lwowa, Ufa, Moskwa. 146
- Stanisław Hubl** — Wspomnienia o Profesorze Parnasie. 149
- Janina Kwiatkowska** — W latach pięćdziesiątych we Lwowie. 150
- Włodzimierz Ostrowski** — Bolesław Skarżyński — patron nagrody za najlepszy artykuł w Postęпах Biochemii. 151
- Mariusz Żydowo** — Włodzimierz Mozołowski — patron nagrody dla młodych biochemików za najlepsze doniesienia zjazdowe. . . 153

SPRAWOZDANIA

- Zofia Poremska** — Sprawozdanie Zarządu Głównego XIII kadencji. 190

INDEKS AUTORÓW PRAC PRZEGLĄDOWYCH TOM 38, 1992

A

- Arciuch L** — Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Instytut Chemii AM, ul. Mickiewicza 2, 15-230 Białystok

B

- Babińska A** — Zakład Biofizyki AM, ul. Lindleya 3, 90-131 Łódź
- Barańska J** — Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa
- Barciszewska MZ** — Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, ul. Noskowskiego 12, 61-704 Poznań
- Barciszewski J** — Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, ul. Noskowskiego 12, 61-704 Poznań

C

- Chachulska AM** — Zakład Biosyntezy Białka, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa
- Chlebowska H** — Zakład Genetyki Człowieka PAN, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań
- Cierniewski Cz** — Zakład Biofizyki AM, ul. Lindleya 3, 90131 Łódź
- Czarny M** — Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

D

- Demkowicz-Dobrzański K** — Zakład Badania Środowiska AM, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa
- Dąbrowska R** — Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

F

- Fijałkowska I** — Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN, ul. Lindleya 3, 90-131 Łódź
- Filipiak K** — Katedra i Zakład Histologii i Embriologii AM, ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań

G

- Gindzieński A** — Zakład Chemii Ogólnej i Organicznej, Instytut Chemii AM, ul. Mickiewicza 2, 15-230 Białystok
- Gniadkowski M** — Zakład Genetyki U.W., Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa
- Golik P** — Zakład Genetyki U.W., Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa
- Greger J** — I Zakład Biochemii Instytutu Fizjologii i Biochemii AM, ul. Lindleya 6, 90-131 Łódź
- Grzelakowska-Sztabert B** — Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

Grzesiuk E — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN,
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

H

Henning EE — Zakład Badania Środowiska AM, ul.
Banacha 1, 02-097 Warszawa

Hulanicka D — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN,
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Hrabec E — I Zakład Biochemii Instytutu Fizjologii
i Biochemii AM, ul. Lindleya 6, 90-131 Łódź

Hrabec Z — II Zakład Biochemii Instytutu Fizjologii
i Biochemii AM, ul. Lindleya 6, 90-131 Łódź

Hryniewicz M — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN,
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

J

Jagura-Burdzy G — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN,
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Jakubowicz M — Zakład Biochemii Biopolimerów
UAM, ul. Fredry 10, 61-701 Poznań

Janion C — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul.
Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Juszkiewicz J — Zakład Biochemii Farmaceutycznej,
Instytut Chemii AM, ul. Mickiewicza 2, 15-230
Białystok

K

Kwiatkowska J — Zakład Biochemii AM, ul. Chałubińs-
kiego 10, 50-368 Wrocław

Kwiatkowska J — Zakład Genetyki Człowieka PAN,
ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

Kowalczyk S — Zakład Biochemii, Instytut Biologii
Uniwersytetu M. Kopernika, ul. Gagarina 7, 87-100
Toruń

L

Lachowicz L — II Zakład Biochemii Instytutu Fizjologii
i Biochemii AM, ul. Lindleya 6, 90-131 Łódź

M

Makuch R — Instytut Biologii Doświadczalnej im.
M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 War-
szawa

P

Poddana H — Instytut Biologii Doświadczalnej im.
M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 War-
szawa

Płucienniczak A — I Zakład Biochemii Instytutu Fizjo-
logii i Biochemii AM, ul. Lindleya 6, 90-131 Łódź

R

Reiss J — Zakład Genetyki Człowieka PAN, ul. Strze-
szyńska 32, 60-479 Poznań

S

Sadowska J — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN,
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Sirko A — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul.
Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Słomski R — Zakład Genetyki Człowieka PAN, ul.
Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

Sokół-Misiak W — Zakład Biologii Molekularnej IGZH
PAN, Jastrzębiec, 05-551 Mroków

W

Warchoń JB — Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
AM, ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań

Z

Zatyka M — Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul.
Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Zwierz K — Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Instytut
Chemii AM, ul. Mickiewicza 2, 15-230 Białystok

Ż

Żekanowski C — Zakład Biosyntezy Białka, Instytut
Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Rakowiecka 36,
02-532 Warszawa



Do członków Polskiego Towarzystwa Biochemicznego

Zarząd P.T.Bioch. uprzejmie prosi wszystkich członków o wpłatę zaległych i bieżących składek członkowskich. Zachęcamy także do zaprenumerowania „Postępów Biochemii”.

Nowe wydawnictwa PTBioch!

- I. Repetytorium z biochemii w testach pt.
„ZARYS BIOCHEMII W PYTANIACH
I ODPOWIEDZIACH”

praca zbiorowa pod red. Lilli Lachowicz
Warszawa 1992 cena 30 000 zł

- II. Seria krótkich monografii biochemicznych szczególnie przydatnych w pracy dydaktycznej:

„ROZPAD FOSFOLIPIDÓW
A PRZEKAZYWANIE INFORMACJI
W KOMÓRCIE”

autor — Jolanta Barańska
Warszawa 1992 cena 30 000 zł

Aby zaprenumerować „Postępy Biochemii” w 1993 r. należy wpłacić odpowiednią kwotę na konto bankowe wydawcy (Polskiego Towarzystwa Biochemicznego) za pomocą przekazu zamieszczonego na odwrocie. Zamówione egzemplarze będziemy wysyłać pocztą na adres podany nam na przekazie. Ponieważ odcinek przekazu docierający do nas jest jednocześnie zamówieniem, prosimy o **bardzo wyraźne** napisanie

imienia, nazwiska (lub nazwy instytucji) i dokładnego adresu wraz z kodem pocztowym (DRUKOWANYMI LITERAMI) na wszystkich trzech odcinkach przekazu.

Prenumerata krajowa dla instytucji:
340 000 zł.

Prenumerata krajowa indywidualna:
160 000 zł, (50% zniżki dla członków Polskiego Towarzystwa Biochemicznego).

**Prenumerując
„Postępy
Biochemii”
wspierasz
swoje
czasopismo!**

„ATPazy — BUDOWA I FUNKCJE”

autorzy: Wiesława Leśniak
i Zofia Porembaska

Warszawa 1992

cena 30 000 zł

Zamówienia prosimy kierować na adres Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, ul. Freta 16, 00-227 Warszawa, tel. 31 13 04



Pokwitowanie dla wpłacającego

zł

słownie

wpłacający

imię, nazwisko, dokładny adres z kodem pocztowym

na rachunek

Polskie Towarzystwo Biochemiczne
00-227 Warszawa, ul. Freta 16
P.B.K. XIII/O W-wa, Al. Jerozolimskie
37 00 44-1225-139-11

stempel

Pobrano opłatę

zł.

.....
podpis przyjmującego

Odcinek dla posiadacza rachunku

zł

słownie

wpłacający

imię, nazwisko, dokładny adres z kodem pocztowym

na rachunek

Polskie Towarzystwo Biochemiczne
00-227 Warszawa, ul. Freta 16
P.B.K. XIII/O W-wa, Al. Jerozolimskie
37 00 44-1225-139-11

stempel

Pobrano opłatę

zł.

.....
podpis przyjmującego

Odcinek dla poczty lub banku

zł

słownie

wpłacający

imię, nazwisko, dokładny adres z kodem pocztowym

na rachunek

Polskie Towarzystwo Biochemiczne
00-227 Warszawa, ul. Freta 16
P.B.K. XIII/O W-wa, Al. Jerozolimskie
37 00 44-1225-139-11

stempel

Pobrano opłatę

zł.

.....
podpis przyjmującego

Wskazówki dla autorów

Wydawany przez Polskie Towarzystwo Biochemiczne kwartalnik „Postępy Biochemii” publikuje prace przeglądowe omawiające bieżące osiągnięcia, koncepcje i kierunki badawcze w dziedzinie biochemii i nauk pokrewnych; publikuje też noty z historii biochemii, zasady polskiego słownictwa biochemicznego, recenzje nadesłanych książek oraz sprawozdania ze zjazdów, konferencji i szkół, w których biorą udział członkowie Towarzystwa.

Prace przeznaczone do publikacji w „Postępkach Biochemii” mogą mieć charakter artykułów monograficznych (do 20 stron tekstu licząc piśmiennictwo i tabele), minirewiewy (do 10 stron tekstu), oraz krótkich not o najnowszych osiągnięciach i poglądach (do 5 stron tekstu).

Autorzy artykułu odpowiadają za prawidłowość i ścisłość podawanych informacji oraz poprawność cytowania piśmiennictwa. Ujęcie prac winno być syntetyczne, a przedstawione zagadnienie zilustrowane za pomocą tabel, rycin (wykresy, schematy, reakcje), wzorów i fotografii.

Wskazany jest podział artykułów monograficznych na rozdziały i podrozdziały, których rzeczowe tytuły tworzą spis treści. Zgodnie z przyjętą konwencją rozdziały noszą cyfry rzymskie, podrozdziały odpowiednio rzymskie i arabskie np. I-1, I-2. Poprawność logiczna i stylistyczna tekstu warunkuje jego jednoznaczność i czytelność. Autorzy przeto winni unikać składni obcojęzycznej, gwary laboratoryjnej, a także ograniczać stosowanie doraźnie tworzonych skrótów, nawet jeżeli bywają używane w pracach specjalistycznych. Każda z nadesłanych do Redakcji prac podlega ocenie specjalistów i opracowaniu redakcyjnemu. Redakcja zastrzega sobie możliwość skrócenia tekstu i wprowadzenia zmian nie wpływających na treść pracy, deklaruje też gotowość konsultowania tekstu z Autorami.

Przekazanie artykułu do redakcji jest równoznacznie z oświadczeniem, że nadesłana praca nie była i nie będzie publikowana w innym czasopiśmie, jeżeli zostanie ogłoszona w „Postępkach Biochemii”. W przypadku, gdy Autor(z) zamierza(ją) włączyć do swego autora artykułu ilustracje publikowane przez autorów prac cytowanych, należy uzyskać i przekazać nam odpowiednią zgodę na przedruk.

Redakcja prosi Autorów o przestrzeganie następujących wskazówek szczegółowych:

TEKST. Maszynopis powinien być napisany jednostronnie czcionką wielkości standartowej, z podwójną interlinią, z lewym marginesem ok. 4 cm

W tekście nie należy stosować żadnych podkreśleń, ani rozstrzelonego druku. Ewentualne sugestie co do charakteru czcionki drukarskiej mogą Autorzy zaznaczyć ołówkiem na marginesach maszynopisu. W przypadku stosowania w tekście liter alfabetu greckiego trzeba na marginesie wpisać ołówkiem ich fonetyczne brzmienie.

Strona informacyjna maszynopisu jest nienumerowana, zawiera imiona i nazwisko (a) autora (ów), nazwy, adresy wraz z numerem telefonu zakładów (w języku polskim

i angielskim), w których pracują autorzy, adres do korespondencji nr telefonu i ewentualnie fax, adresy prywatne autorów, tytuł artykułu w języku polskim i angielskim oraz — w prawym dolnym rogu — liczbę tabel, rycin, wzorów i fotografii oraz skrót tytułu pracy (do 25 znaków).

Strona 1 (tytułowa) zawiera imiona i nazwiska autorów, tytuł pracy w języku polskim i angielskim, rzeczowy spis treści też w obu językach, tytuł naukowy każdego z autorów i ich miejsce pracy z adresem pocztowym oraz wykaz stosowanych skrótów.

Kolejno numerowane dalsze strony obejmują tekst pracy, piśmiennictwo, tabele, podpisy i objaśnienia rycin, wzorów i fotografii.

PIŚMIENICTWO: Wykaz piśmiennictwa obejmuje prace w kolejności ich cytowania w tekście, zaznacza się je liczbami porządkowymi ujętymi w nawiasy kwadratowe. np. [3,7,9,—26]. Odnośniki bibliograficzne winny mieć nową uproszczoną formę. Sposób cytowania czasopism (1), monografii (2), rozdziałów z książek jednotomowych (3), rozdziałów z tomów serii opracowanej przez tych samych redaktorów (4), rozdziałów z tomów serii opracowanych przez różnych redaktorów (5) wskazują poniżej podane przykłady:

1. Hildenbrandt GR, Aronson NN (1980) *Biochim Biophys Acta* **631**: 499—502
2. Bostock CJ, Sumner AT (1978) *The Eukaryotic Chromosome*, Elsevier, North-Holland, Amsterdam
3. Norberth T, Piscator M (1979) W: Friberg L, Nordberg GF, Von VB (red) *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier, North-Holland, Amsterdam, str 541-553
4. Delej J, Kesters K (1975) W: Florkin M, Stotz EH (red) *Comprehensive Biochemistry* t 29B. Elsevier, North-Holland Amsterdam, str 1-77
5. Franks NP, Lieb WR (1981) W: Knight CG (red) *Research Monographs in Cell and Tissue Physiology*, t 7. Elsevier, North-Holland, Amsterdam, str 243-272

ILUSTRACJE: Ryciny winny być gotowe do reprodukcji. Fotografie czarno-białe (kontrastowe), powinny być wykonane na papierze matowym. Pozostałe ryciny należy wykonać tuszem na białym papierze lub kalce technicznej. Wskazane jest, aby ryciny były dwukrotnie większe od przyszłej reprodukcji, tj. w skali 2:1. Cyfry i litery służące do opisu rysunku powinny mieć wysokość nie mniejszą niż 5 mm. Na rysunkach nie należy umieszczać opisów słownych, lecz posługiwać się skrótami. Osie wykresów winny być opatrzone napisem łatwo zrozumiałym. Decyzję o stopniu zmniejszenia ryciny podejmie wydawca. Ilustracji nie należy włączać w tekst maszynopisu, lecz odpowiednio ponumerować: tabele i ryciny noszą cyfry arabskie, wzory zaś rzymskie. Na marginesie tekstu należy zaznaczyć ołówkiem preferowane miejsce umieszczenia tabeli, rycin, czy wzoru. Tabele odpowiednio porubrykowane, winny być opatrzone jednoznacznym tytułem i ewentualnie także niezbędnymi objaśnieniami. Słowne objaśnienia znaków graficznych można umieścić w podpisie pod ryciną, rysunkowe zaś jedynie na planszy ryciny. Tytuły i objaśnienia rycin sporządza się w postaci oddzielnego wykazu. Ilustracje należy podpisać nazwiskiem pierwszego z autorów i pierwszym słowem tytułu pracy oraz oznaczyć „górną-dół” (ołówkiem, na odwrocie). Ze względu na wewnętrzną spójność artykułu wskazane jest konstruowanie oryginalnych rycin i zbiorczych tabel na podstawie danych z piśmiennictwa.

Maszynopis i załączniki (w dwu egzemplarzach), właściwie zabezpieczone przed uszkodzeniem w czasie transportu, należy przesać na adres:

Redakcja kwartalnika „Postępy Biochemii”
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego,
ul. Pasteura 3,
02-093 Warszawa

2nd IUBMB CONFERENCE BIOCHEMISTRY OF CELL MEMBRANES

September 29 - October 3 1993 - Bari, Italy

SCIENTIFIC PROGRAMME

The Scientific Programme will include two Plenary Lectures and Symposia, Colloquia and Poster Sessions to specifically cover the following topics:

- 1) Receptor-Effector Coupling by G-Proteins
- 2) Adhesion Receptors and Cell-Matrix Interactions
- 3) Growth Signals and their Transduction
- 4) Signal Transduction Via Protein Phosphorylation
- 5) Control of Calcium Homeostasis
- 6) Nitric Oxide and Cell Signalling
- 7) T-Cell Receptors
- 8) Signal Transduction in Plants
- 9) Intracellular Sorting and Targeting of Proteins
- 10) Biogenesis of Cellular Organelles
- 11) Transport and Intracellular Flow of Lipids
- 12) Vesicular Membrane Flow and Membrane Fusion
- 13) Membrane Proteins and Lipid Anchors
- 14) Biogenesis of Membrane-Bound Glycoconjugates
- 15) Pathways of Endocytosis, Exocytosis and Autophagy
- 16) Membrane Insertion and Translocation of Proteins
- 17) Neurotransmitters: Production, Storage and Release
- 18) Nerve Receptors
- 19) Nerve Channels
- 20) Redox Chains of Coupling Membranes
- 21) Photosynthetic Reaction Centres
- 22) Redox and Light Driven Proton Pumps
- 23) Ion Transport ATPases
- 24) F_0F_1 H^+ ATP Synthase
- 25) Terminal Oxidases
- 26) Modulation of Intracellular Ion Gradients
- 27) Phosphotransferase Systems
- 28) Secondary Active Transport in Bacteria
- 29) Secondary Active Transport in Eukaryotes
- 30) The Glucose Transporter and its Regulation
- 31) ABC Transporters (Traffic ATPases)
- 32) Intracellular Organelle Diseases
- 33) Genes of Membrane Proteins in Diseases
- 34) Enzyme Release in Liver and Gastrointestinal Diseases
- 35) Virus-Membrane and Drug-Membrane Interactions
- 36) Membrane Proteins in CNS Diseases
- 37) Cytochromes P-450 of Endoplasmic Reticulum
- 38) Cell Membranes in Neoplasia
- 39) Calcium Transport in Disease
- 40) Membranes and the Immuno Response
- 41) Membranes in Ageing

INVITATION

The 2nd IUBMB International Conference - "Biochemistry of Cell Membranes" - will be held at the Sheraton Congress Centre in Bari, Italy on September 29 October 3, 1993. The Organising Committee takes pleasure in inviting all those interested to participate in the Conference. The Conference, which will cover the most topical aspects and developments in the area of biochemistry of cell membranes, is intended for biochemists and scientists of related disciplines.

ORGANISING AND SCIENTIFIC COMMITTEE

President: Benedetto de Bernard (Trieste)
Vice-President: Sir Hans Kornberg (Cambridge)
Honorary President: Ernesto Quagliariello (Bari)
Chairman: Sergio Papa (Bari)

Members: Cesare Balduini (Pavia)
Maurizio Brunori (Roma)
Gordon Dixon (Calgary)
Anthony Linnane (Clayton)
Ferdinando Palmieri (Bari)
Sandro Pontremoli (Genova)
Franco Salvatore (Napoli)
Joseph Tager (Bari)
Guido Tettamanti (Milano)
Vito Turk (Ljubljana)

SPONSORS

The Conference is sponsored by:
The International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB);
The Italian Biochemical Society (SIB);
The "Consiglio Nazionale delle Ricerche", Italy (CNR);
The Italian Society of Biophysics and Molecular Biology (SIBBM);
The Italian Society of Clinical Biochemistry (SIBiOC).

Organising Secretariat
Centro Internazionale Congressi s.r.l.
Viale Papa Pio XII, 18
70125 Bari
Tel. +39-80-517299
Fax +39-80-514533

GENERAL INFORMATION

Letter of Invitation

On request, the Committee will send a letter of invitation for participation in the Conference to any scientist. Such an invitation is only meant to help participants to obtain travel funds or a visa, and does not imply any commitment on the part of the organisers to provide financial support.

Scientific Exhibition

An exhibition of scientific instruments, materials and books will be held in the exhibition hall of the Congress Centre.

Language

The official language of the Conference will be English.

Further Information

The Secretariat
2nd IUBMB Conference
c/o Centro Internazionale Congressi
Viale Papa Pio XII, 18 - 70125 Bari, Italy
Tel. +39-80-517299
Fax +39-80-514533

PRELIMINARY REGISTRATION FORM

Return this form to ensure receiving the preliminary programme of the IUBMB Conference.

Family name _____

First name & initials _____

Title Prof. Dr. Ms./Mr.

Name of Institution _____

Address _____

Postal code _____ Country _____

Tel. _____ Fax _____

Number of accompanying persons _____

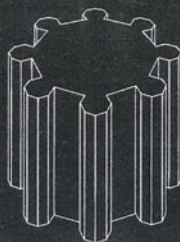
I am considering submitting a paper on the following topic(s) (Circle the appropriate ones)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41

Please type or use block letters. Return by airmail.
The preliminary program will be sent in January 1993.



THE INTERNATIONAL UNION
OF BIOCHEMISTRY
AND MOLECULAR BIOLOGY



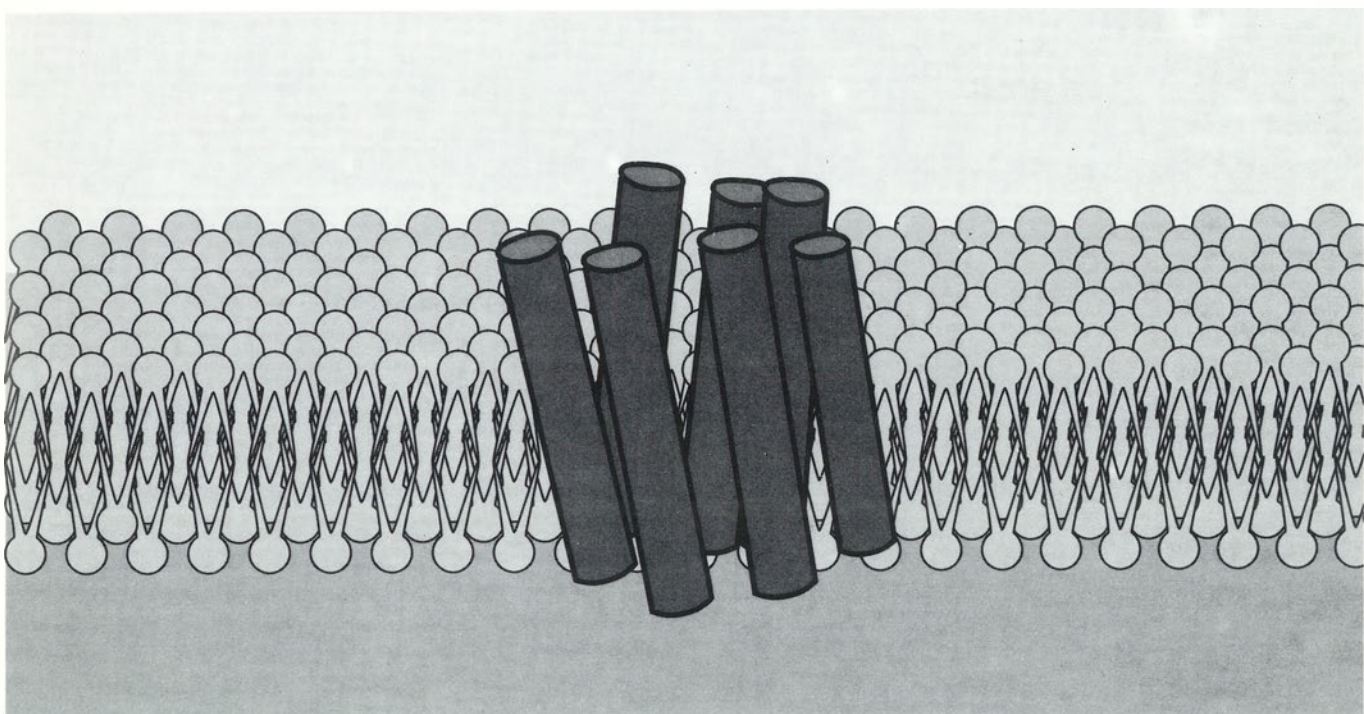
SOCIETA'
ITALIANA
DI BIOCHIMICA

2nd IUBMB Conference

BIOCHEMISTRY OF CELL MEMBRANES

September 29 - October 3 1993

Bari, Italy



Post card

AIRMAIL

Place
Stamp
Here

To: The Secretariat
2nd IUBMB Conference
c/o Centro Internazionale Congressi
Viale Papa Pio XII, 18
70125 Bari, Italy

<http://rcin.org.pl>

THE LIBRARY OF THE
BIOCHEMISTRY
CELL MEMBRANES

Volume 29 October 1992
No. 10

10