



III Konferencja Doktorantów Nauk Przyrodniczych

25-28 czerwca 2019

Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk



Gdańsk, 25-28 czerwca 2019 r.



KOMITET ORGANIZACYJNY

PRZEWODNICZĄCA

prof. UG, dr hab. Joanna N. Izdebska

WICEPRZEWODNICZĄCA:

prof. UG, dr hab. Joanna Skórko-Glonek

SEKRETARZ

mgr Monika Majewska

CZŁONKOWIE

prof. UG, dr hab. Monika Badura
prof. UG, dr hab. Joanna Jakóbkiewicz-Banecka
prof. UG, dr hab. Leszek Rolbiecki
dr hab. Anna Aksmann
mgr Sebastian Dorawa
mgr Darya Gorszkowa
mgr Dawid Kościelniak
mgr Mateusz Puchalski
mgr Monika Szadkowska
mgr Aleksandra Szczuk

OPRACOWANIE

Joanna N. Izdebska, Monika Majewska, Leszek Rolbiecki

III Konferencja Doktorantów Nauk Przyrodniczych

25-28 czerwca 2019

PROGRAM

25 czerwca 2019 r. (Wtorek)

8:00 - 9:00 **Otwarcie rejestracji**

9:00 - 9:30 **Otwarcie konferencji** przez Dziekana Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego *prof. dr. hab. Włodzimierza Meissnera*

9:30 - 10:30 **Wykład plenarny otwierający konferencję**

prof. dr hab. Ewa Łojkowska *Analiza zmienności genotypowej oraz pangenomów fitopatogenów z gatunków Dickeya solani i Pectobacterium parmentieri*

10:30 - 10:50 Przerwa kawowo-herbaciana

10:50 - 11:00 **Prezentacja sponsora – Stypendia DBU**

11:00 - 13:00 **Sesja referatowa**

R1 Michał May *Analiza porównawcza transkryptomów bezzieleniowych storczyków mykoheterotroficznych Epipogium aphyllum Sw. i Neottia nidus-avis (L.) L. C. Rich*

R2 Aleksandra Karczemna *Dlaczego tak ważne jest odpowiednie dobranie metod i narzędzi w celu oszacowania spoczynkowej przemiany materii u młodych osób zdrowych?*

R3 Małgorzata Waclawik *Optymalizacja metody oznaczania metabolitów amin katecholowych w ślinie ludzkiej*

R4 Anne Ausems *Food and Feathers: nutritional condition in storm-petrels*

R5 Ewa Gołaszewska *Stanowisko storczykowatych w Polsce Północnej we wczesnym holocenie*

R6 Magdalena Karnas *Zastosowanie metody pogłębionego utleniania do redukcji zawartości antyutleniaczy w ściekach przemysłu spożywczego*

13:00 - 14:30 **Przerwa obiadowa**

14:30 - 16:00 **Sesja referatowa**

R7 Sara Stefanowska *Wykorzystanie markerów mikrosatelitarnych w identyfikacji mieszańców Taxus baccata i Taxus cuspidata*

R8 Monika Nowak *Wpływ acetamiprydu na produkcję destruksyn u Metarhizium sp.*

R9 Barbara Kołodko *Dynamika rodzaju i poziomu inwazji pasożytniczych u żubra (Bison bonasus L.) w Bieszczadach w latach 2017-2019*

R10 Wiktoria Zgagacz *Zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym (DAD) do oznaczania jonów siarczkowych w próbkach ludzkiego moczu za pomocą chemosensorów*

R11 Edyta Rekiel *Porównanie właściwości wybranych biosurfaktantów i surfaktantów klasycznych*

16:00 - 17:30 **Sesja plakatowa I**

26 czerwca 2019 r. (Środa)

9:00 - 11:00 **Wykłady plenarne**

prof. dr hab. Hanna Mazur-Marzec *Cyjanopeptydy – od ekologii do biotechnologii*

prof. dr hab. Wojciech Piekoszewski *„Miękkie narkotyki” – Pigułka szczęścia?*

11:00 - 11:20 Przerwa kawowo-herbaciana

11:20 - 11:40 **Prezentacja sponsora - Bio-techne**

11:40 – 13:00 **Sesja referatowa**

R12 Klaudyna Krause *Brokuły w natarciu: rzecz o wykorzystaniu izotiocyjanianów w kontroli wirulencji *V. cholerae**

R13 Karolina Cierocka *Roztocze skórne i tkankowe z rzędu Prostigmata u ryjówkokształtnych Soricomorpha, z nowymi danymi o Demodecidae u zębielka karliczka *Crocidura suaveolens* i kreta europejskiego *Talpa europaea**

R14 Aleksandra Piwka *Wpływ aktywacji i blokady cholinergicznej VTA na hipokampalny rytm theta*

R15 Hanna Sominka *Specyficzność rozpoznawania i transportu substratów systemu degradacji białek związanego z retikulum endoplazmatycznym (ERAD)*

13:00 - 14.30 Przerwa obiadowa

14:30 - 16:00 **Sesja referatowa**

R16 Monika Lipińska *Badania nad podplemieniem Maxillariinae: przegląd i perspektywy*

R17 Iwona Skorowska *Porównanie obrazowanych mikrostruktur fragmentów organów generatywnych wybranych przedstawicieli Oncidinae Benth. (Orchidaceae) przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego*

R18 Anna Litwin *Badanie wpływu pyretroidów na żywotność i osłony komórkowe *B. bassiana**

R19 Paulina Putko *Oznaczanie zawartości krzemu we włosach metodą ICP-OES*

R20 Xymena Stachurska *Możliwości ko-aplikacyjne bakteriofagów litycznych i nanomateriałów*

R21 Joanna Brokowska *Zmiany w przebiegu procesu autofagii i cyklu komórkowego jako nowe aspekty patogenezy MPS*

16:00 - 18:00 **Sesja plakatowa II**

27 czerwca 2019 r. (Czwartek)

9:00 - 10:00 **Wykład plenarny**

dr Jakub Jakubowski *Badania przyrodnicze w Gdańsku w wieku XVII i XVIII oraz ilustrowane edycje naukowe jako efekt pracy gdańskich przyrodników, drukarzy, ilustratorów i wydawców*

10:00 - 11:20 **Sesja referatowa**

R22 Agnieszka Necel *Quo vadis antybiotykoterapio? Potencjał bakteriofaga vB_Eco4M-7 w zwalczaniu patogennych Escherichia coli o serotypie O157:H7*

R23 Anna Przybylska-Balcerek *Wpływ czynników stresogennych na poziom stężenia polifenoli w ziarnie pszenicy uprawianej w latach 2016-2018*

R24 Sylwia Chojnacka *Reakcja Galinsoga parviflora na ochronę herbicydową w łanie jęczmienia jarego*

R25 Edyta Janik *Ocena wpływu toksyny T-2 na generowanie wolnych rodników przez komórki ludzkich fibroblastów linii Hs68*

11:20 - 11:40 Przerwa kawowo-herbaciana

11:40 - 14:00 **Sesja referatowa**

R26 Paweł Świsłowski *Fitokumulacja metali ciężkich w ziołach*

R27 Jowita Nowakowska *Rola białek EDEM w transporcie substratów systemu degradacji białek związanego z retikulum endoplazmatycznym (ERAD)*

R28 Magdalena Kosecka *Fotobionty z rodziny Trentepohliaceae (Ulvophyceae) w symbiozie porostowej*

R29 Klaudia Woźniak *Zwilżalność wieloskładnikowych filmów Langmuira-Blodgett na politereftalanie etylenu*

R30 Hubert Rusecki *Wpływ nawożenia biowęgłem na plonowanie, skład chemiczny i jakość ziarna kukurydzy*

R31 Aleksandra Góralczyk-Bińkowska *Ocena zdolności dekoloryzacji barwników przemysłowych przez grzyb strzępkowy Myrothecium sp. IM 6443*

R32 Damian Jaśniewicz *Akustyczne przejawy występowania metanu w formie gazowej w przypowierzchniowej warstwie osadów Zatoki Gdańskiej*

14:00 - 15:30 Przerwa obiadowa

15:30 - 17:00 **Sesja plakatowa III**

18:00 - Spotkanie integracyjne

28 czerwca 2019 r. (Piątek)

10:00 - 11:00 **Wykład plenarny**

prof. dr hab. Jacek Herbich *Ochrona bioróżnorodności – różnorodność ochrony. Motywy i działania*

11:00 - 12:20 **Sesja referatowa**

R33 Natalia Mazurkiewicz *System CRISPR/Cas9 w transgenezie dużych zwierząt modelowych*

R34 Magdalena Zarzycka *Zjawisko renaturalizacji szaty roślinnej grodzisk na terenie województwa śląskiego*

R35 Nina Pawlik *Przeciwołyłościowa aktywność związków fenolowych owoców *Viburnum opulus**

R36 Szymon Świtajski *Procedura oceny oddziaływania na środowisko „Przekopu Mierzei Wiślanej” jak przykład upadku idei i praktyki w zderzeniu z autorytarnym reżimem władzy*

12.20 - 12.40 Przerwa kawowo-herbaciana

12.40 - 13:40 **Sesja referatowa**

R37 Małgorzata Drzewiecka *Indukcja pęknięć dwuniciowych w komórkach czerniaka po zastosowaniu inhibitora białka PARP1 samodzielnie lub w kombinacji z kwasem walproinowym i związkiem alkilującym*

R38 Adriana Szutt *Zmiany chemiczne zachodzące w pelargoniowych olejkach eterycznych pozyskanych z własnej uprawy *P. graveolens* w trakcie ich przechowywania*

R39 Zuzanna Orwat *Działanie przeciwdrobnoustrojowe ekstraktów z roślin owadożernych – metodologia*

13:40 - 15:00 **Sesja plakatowa IV**

15:00 - 16:00 Przerwa obiadowa

16:00 - **Zakończenie Konferencji oraz ogłoszenie wyników konkursów na najlepszą prezentację ustną i najlepsze prezentacje plakatowe.**

STRESZCZENIA REFERATÓW

Ochrona bioróżnorodności – różnorodność ochrony. Motywy i działania

Jacek Herbach

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody

Człowiek oddziaływał na przyrodę odkąd się w niej pojawił. Początkowo był jej częścią i podlegał takim samym prawom, jak różne gatunki zwierząt. W miarę rozwoju społeczno-gospodarczego zaczynał dominować nad pozostałą częścią przyrody, początkowo lokalnie, a stopniowo na coraz większych obszarach. W ciągu ostatnich dwóch stuleci rosła bezwzględna dominacja człowieka, w ostatnich dekadach o charakterze globalnym.

Reakcją na postępujące zniszczenia jest ochrona zagrożonych najcenniejszych fragmentów przyrody. We współczesnej ochronie przyrody najważniejsze cele mają charakter naukowy, choć istotną rolę odgrywają także inne – gospodarcze, religijne, kulturowe, etyczne, estetyczne.

W „klasycznej” konserwatorskiej ochronie przyrody wyróżnia się ochronę gatunkową, obszarową i indywidualną. Z tym wiąże się ustanawianie różnych form ochrony. W ostatnich latach rozwija się koncepcja ochrony różnorodności biologicznej, czyli różnorodności wszystkich form i struktur życia na Ziemi, zgodnie z którą podstawowym celem współczesnej ochrony przyrody jest utrzymanie jej dotychczasowego bogactwa. Różnorodność biologiczna obejmuje 3 poziomy organizacji przyrody:

- Różnorodność wewnątrzgatunkowa, czyli pula genowa,
- Różnorodność gatunków,
- Różnorodność ekosystemów.

Ochrona może być bierna lub czynna (aktywna). Pierwszą z nich stosuje się w odniesieniu do układów naturalnych, w których wykluczona jest jakakolwiek ingerencja człowieka; jest to najczęściej ochrona ścisła. Ochrona czynna polega na stosowaniu, w razie potrzeby, zabiegów ochronnych w celu przywrócenia naturalnego stanu ekosystemów i siedlisk gatunków, najczęściej zmienionych przez wcześniejszą działalność człowieka. W zależności od obiektu chronionego, celu ochrony i charakteru zmian, stosuje się różne metody i techniki. Wybór optymalnej formy ochrony oraz zaplanowanie odpowiednich zabiegów ochrony wymaga dobrej znajomości przedmiotu ochrony, dużej wiedzy i doświadczenia, a realizacja ochrony czynnej – często niemałych środków.

Przykładów takich działań w naszym regionie jest wiele. Ochrona lasów ze zmienionym przez dawniejszą gospodarkę leśną składem drzewostanów polega najczęściej na usunięciu gatunków obcych i przywrócenia rodzimych składników właściwych dla siedliska, co zwykle powoduje pożądane pozytywne zmiany w runie. Ochrona ekosystemów i gatunków łąkowych wymaga przywrócenia lub kontynuacji koszenia takiego, pod wpływem którego te łąki powstały. W przypadku torfowisk główną przyczyną negatywnych zmian jest odwodnienie i/lub eksploatacja torfu, a więc podstawowym działaniem jest zablokowanie odpływu wody z torfowiska i w skrajnych przypadkach sztuczne wprowadzenie gatunków torfowiskowych na specjalnie przygotowane powierzchnie. Niekiedy konieczne jest odtworzenie całkowicie zniszczonych fitocenoz wraz z ich siedliskiem, w związku z czym konieczna jest wymiana całego substratu glebowego, usunięcie gatunków inwazyjnych i posadzenie roślin właściwych dla odtwarzanego ekosystemu. W przypadku wymarcia roślin w wyniku niekorzystnych zmian ich siedliska na konkretnym stanowisku odbudowuje się tu naturalne warunki siedliskowe i następnie wprowadza ten gatunek.

Z ochroną przyrody wiąże się udostępnienie chronionych obiektów, m.in. w celach dydaktycznych czy rekreacyjnych. Warunkiem udostępnienia jest wówczas takie przygotowanie np. tras zwiedzania, aby wykluczyć negatywne oddziaływanie ludzi na przedmiot ochrony. Jest to także o tyle istotne, że opłaty za wstęp mogą stanowić istotne źródło dochodu, stanowiące podstawę tzw. przemysłu turystycznego.

Badania przyrodnicze w Gdańsku w wieku XVII i XVIII oraz ilustrowane edycje naukowe jako efekt pracy gdańskich przyrodników, drukarzy, ilustratorów i wydawców

Jakub Jakubowski

W wieku XVII i XVIII, czyli w epoce Baroku i Oświecenia, prowadzono w Gdańsku działalność naukową na wszystkich polach tradycyjnie pojętej historii naturalnej: w zakresie mineralogii, botaniki i zoologii (łącznie z anatomią człowieka). Pasja badawcza oraz wrażliwość estetyczna przyrodników gdańskich kształtowały się w ramach wielu aktywności o charakterze poznawczym: zrzeszania się badaczy o pokrewnych zainteresowaniach naukowych; zakładania i utrzymywania ogrodów botanicznych; kolekcjonowania tzw. przedmiotów naturalnych (in. naturaliiów); organizowania prywatnych oraz publicznych sekcji anatomicznych.

W wyniku prowadzonych prac powstawały publikacje naukowe, tłoczone w zakładach drukarskich na terenie Gdańska. Dawna książka naukowa (szczególnie ta, którą wyposażano w ilustracje) była środkiem komunikowania naukowych treści, lecz zarazem dziełem sztuki edytorskiej i ilustracyjnej, powstającym w ramach kanonu estetycznego, charakterystycznego dla danej epoki. W książkach naukowych obecne były ilustracje alegoryczne, w sposób metaforyczny wprowadzające w kulturowy kontekst przedkładanych czytelnikowi edycji oraz naukowe ilustracje mimetyczne, dopełniające komunikat tekstowy.

W prace nad stworzeniem naukowej edycji zaangażowani byli autorzy-przyrodnicy, którzy samodzielnie wykonywali rysunki *in situ* lub zlecali wykonywanie szkiców zaufanym rysownikom, działającym pod ich nadzorem; sprawni rytownicy, którzy odwzorowywali rysunki na matrycach graficznych; drukarze i wydawcy, którzy dbali o ostateczny kształt edytorsko-typograficzny gotowych publikacji. Powstawanie ilustrowanej książki naukowej było wieloetapowym procesem, którego udaną realizację zapewniała współpraca profesjonalistów różnych dziedzin.

Gdańskie edycje przyrodnicze wieku XVII i XVIII (ilustrowane dzieła autorstwa botanika Jacoba Breynego (1637-1697), lekarza i anatoma Christophorusa Gottwalda (1636-1700), zoologa Jacoba Theodora Kleina (1685-1759)) nie odbiegały poziomem merytorycznym oraz edytorskim od najlepszych wzorców ówczesnej epoki, wpisując się tym samym w europejski kanon pięknej książki naukowej.

Słowa kluczowe: historia przyrodoznawstwa – Gdańsk, XVII w., XVIII w.; historia ilustracji naukowej – Gdańsk, XVII w., XVIII w.; Christoph(orus) Gottwald (1636-1700); Jacob Breyne (1637-1697); Jacob Theodor Klein (1685-1759).

Analiza zmienności genotypowej oraz pangenomów fitopatogenów z gatunków *Dickeya solani* i *Pectobacterium parmentieri*

Ewa Lojkowska, Agata Motyka, Sabina Zoledowska, Marta Potrykus, Wojciech Sledz, Małgorzata Golanowska, Alessio Mengoni, Nicole Hugouvieux-Cotet-Pattat

Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Ewa.Lojkowska@biotech.ug.edu.pl

Bakterie z niedawno wyróżnionych gatunków *Dickeya solani* (wyodrębniony w 2014 r.) i *Pectobacterium parmentieri* (wyodrębniony w 2016 r.) należą do rodziny *Pectobacteriaceae*, rzędu *Eubacteriales* i są ważnymi gospodarczo patogenami roślin ozdobnych i użytkowych, przede wszystkim ziemniaka. Badania przeprowadzono na podstawie analizy sekwencji szczepów wyizolowanych w Polsce, Belgii, Finlandii i Francji. Sekwencje genomowe 12 szczepów z każdego z wymienionych gatunków uzyskano za pomocą technologii NGS: Illumina i PacBio. Pozostałe analizowane sekwencje uzyskano z GenBanku, odpowiednio 10 genomów dla *D. solani* i 3 genomy dla *P. parmentieri*. Genomy szczepów sekwencjonowanych w naszym laboratorium złożono za pomocą programów Illumina reads i SPAdes a następnie optymalizowano za pomocą PacBio reads i Quiver software.

Szczepy należące do badanych gatunków różnią się istotnie bioróżnorodnością; szczepy *D. solani* charakteryzują się wysoką homogennością genomu, jednocześnie wykazując zróżnicowaną wirulencję, natomiast szczepy *P. parmentieri* wykazują większą heterogenność w obrębie badanych genomów oraz zróżnicowaną wirulencję. Przeprowadzone badania wykazały, iż genom podstawowy (ang. core genome) obu gatunków jest podobnej wielkości i obejmuje 4000 genów. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, iż genom dodatkowy (ang. accessory genome) i unikatowy (ang. unique genome) *P. parmentieri* jest większy i obejmuje odpowiednio około 48% genów podczas gdy w przypadku *D. solani* odpowiednie genom dodatkowy i unikatowy obejmują około 15% genów.

Wirulencja bakterii gatunków *D. solani* i *P. parmentieri* związana jest przede wszystkim z wytwarzaniem szerokiej gamy enzymów degradujących składniki roślinnych ścian komórkowych: pektynaz, celulaz i proteaz ale także wytwarzaniem biofilmu i sideroforów oraz zdolnością do ruchu. Obecnie prowadzone badania zmierzają do identyfikacji ważnych w procesie patogenyzy genów strukturalnych i mających wpływ na ich ekspresję i powodzenie infekcji genów regulatorowych. Prowadzone badania pozwolą na lepsze opisanie bioróżnorodności patogenów roślin oraz opracowanie innowacyjnych i efektywnych metod ochrony roślin uprawnych przed tymi mikroorganizmami. Przykładem takiego podejścia jest zastosowanie metod opartych o zimną plazmę do eradykacji patogenów roślin.

Słowa kluczowe: patogeny roślin, wirulencja, mokra zgnilizna, ochrona roślin

Cyjanopeptydy – od ekologii do biotechnologii

Hanna Mazur-Marzec^{1,2}

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Zakład Biotechnologii Morskiej, Al. Marszałka J. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

²Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Powstańców Warszawy 55, 81-712 Sopot

biohm@ug.edu.pl

Cyjanobakterie (sinice) należą do najstarszych organizmów żyjących na Ziemi. W trakcie długiej ewolucji, wykształciły szereg mechanizmów adaptacji do zmieniających się, czasem ekstremalnych warunków środowiska. Jednym z elementów procesu adaptacji jest produkcja metabolitów wtórnych, do których zaliczają się również peptydy. Ta grupa związków charakteryzuje się dużym zróżnicowaniem zarówno pod względem struktury, aktywności biologicznej, funkcji, jak i przebiegu procesu biosyntezy. Wiele klas tych związków oraz ich strukturalnych analogów zidentyfikowano u cyjanobakterii reprezentujących różne grupy taksonomiczne oraz pochodzących z różnych rejonów geograficznych. Stwierdzono, że profil cyjanopeptydowy jest cechą stałą i właściwą dla danego szczepu, a więc może być wykorzystany jako specyficzny marker taksonomiczny. Prezentacja dotyczy peptydów produkowanych zarówno przez cyjanobakterie, które występują masowo, jak i te, których obecność była rzadko odnotowywana. Na przykładzie własnych badań zaprezentowana zostanie możliwość wykorzystania peptydów oraz profili peptydowych w ocenie wewnątrzgatunkowego zróżnicowania cyjanobakterii. Narzędzie to posłużyło również w badaniach paleoekologicznych do odtworzenia kilkutysiącletniej historii występowania toksycznego gatunku *Nodularia spumigena* w Morzu Bałtyckim i Fjordach Norweskich. Uzyskane wyniki wskazują na wspólne pochodzenie tych populacji oraz ścisły związek masowych zakwitów z ociepleniem klimatu.

Istotną cechą cyjanopeptydów jest również ich aktywność biologiczna. Znaczna grupa tych związków wykazuje właściwości cytotoksyczne czy antybiotyczne, są wśród nich również inhibitory ważnych enzymów metabolicznych oraz związki o działaniu herbicydowym.

Wśród metabolitów zidentyfikowanych u bałtyckich cyjanobakterii są inhibitory proteaz serynowych oraz fosfataz białkowych. Należą do nich anabaenopeptyny, aeruginozyny, cyjanopeptoliny i spumigin. Deregulacja aktywności tych enzymów może prowadzić do istotnych zmian chorobowych w organizmie, stąd ich inhibitory są poszukiwanymi kandydatami leków. Ważną grupą peptydów wykrytych u bałtyckiej cyjanobakterii z gatunku *Nostoc edaphicum* są kryptoficyny. Te cykliczne depsipeptydy wykazują silne działanie cytotoksyczne i są badane pod kątem zastosowania w leczeniu nowotworów.

Jedną z bardziej intrygujących kwestii dotyczących cyjanopeptydów jest ich rola w życiu samych cyjanobakterii. Choć kwestia ta była przedmiotem wielu badań, to jednak brak jest jej jednoznacznego rozstrzygnięcia. W prezentacji, przedstawiona zostanie jedna z możliwych hipotez, która jest wynikiem badań własnych.

Słowa kluczowe: peptydy, chemiczne markery, paleoekologia, aktywność biologiczna

„Miękkie narkotyki” – Pigułka szczęścia?

Wojciech Piekoszewski

Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, Zakład Chemii Analitycznej, Zespół Analiz Toksykologicznych i Farmaceutycznych, Kraków Gronostajowa 2

wojciech.piekoszewski@uj.edu.pl

Poszukiwanie szczęścia towarzyszy ludziom od zarania dziejów. Jak wiele, rzeczy taki i szczęście chcielibyśmy uzyskać natychmiast najlepiej bez nakładu żadnego wysiłku z naszej strony.

Taka szansa pojawiła się w roku, 1988 kiedy firma Ely Lilly w Stanach Zjednoczonych wprowadziła na rynek lek o nazwie Prozak, który natychmiast okrzyknięto ‘pigułką szczęścia’. Bardzo szybko okazało się, że nie może on zapewnić szczęścia generalnej populacji, ale jest bardzo dobrym lekiem przeciwdepresyjnym.

Na przełomie tysiącleci popularność zyskały tak zwane ”miękkie narkotyki” (narkotyki klubowe), które miały nam zapewnić, relaksację, dobre samopoczucie – szczęście.

Na podstawie wiedzy medycznej podział „narkotyków”(substancji psychoaktywnych). Na miękkie i twarde jest nieuzasadniony. Niestety i ta metoda szybkiego uzyskania stanu szczęśliwości okazała się iluzoryczna.

Związki te obok działania oczekiwanego przez osoby je przyjmujące wykazują wiele działań niepożądanych.

W dalszej prezentacji zostaną omówione takie związki jak: ekstazy, GHB, LSD, THC (marihuana). Omówienie dotyczy przede wszystkim nieporządnego działania tych związków. Omówione będzie też przestępcze wykorzystanie tych związków w celu tak zwanych gwałtów chemicznie ułatwionych (Data rape drugs).

Na koniec postaramy się odpowiedzieć na kilka nurtujących wiele osób pytań:

Narkotyki dzieli się na twarde i miękkie?

Marihuana nie uzależnia?

Amfetamina pomaga w nauce?

Jak wezmę raz, to nic się nie stanie?

LSD to dobry sposób na większą wrażliwość?

Biorę tylko dla przyjemności, kiedy zechce przestanę?

Narkotyk nie jest czymś złym, bo w wielu kulturach jego używanie jest czymś normalnym?

Słowa kluczowe: *szczęście, „miękkie narkotyki, ekstazy, LSD, marihuana..*

Wpływ CORM-A1 i CORM-3 na uszkodzenia oksydacyjne białek osocza

Weronika Adach, Beata Olas

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej, ul. Pomorska 141/143,
90-236 Łódź

weronika.adach@biol.uni.lodz.pl

Tlenek węgla (CO) to nieorganiczny związek chemiczny, którego wysoką toksyczność warunkuje wiązanie z hemoglobina. W organizmach żywych wytwarzany jest endogennie podczas degradacji hemu przez enzym oksygenazę hemową, która występuje w trzech izoformach HO-1, HO-2 i HO-3. Z biologicznego punktu widzenia tlenek węgla (II) może natomiast odgrywać istotną rolę w regulacji wielu funkcji fizjologicznych. CORM's (ang. Carbon Oxide Releasing Molecules) to nowa grupa związków zdolna do kontrolowanego uwalniania CO, bezpośrednio w tkankach lub narządach. Uwalnianie zależy m.in. od stężenia danego związku, pH, rodzaju rozpuszczalnika czy temperatury.

Głównym celem eksperymentu była analiza wpływu rozpuszczalnych w wodzie donorów tlenku węgla: CORM-A1 oraz CORM-3 na poziom biomarkerów stresu oksydacyjnego w osoczu ludzkim w układzie *in vitro*. Utlenianie reszt aminokwasowych w białkach osocza ludzkiego mierzono przez określenie poziomu grup karbonylowych oraz grup tiolowych. W tym celu donory o stężeniach w zakresie 0.1-100 μM inkubowano z ludzkim osoczem w czasie 30 oraz 60 minut. Aby indukować stres oksydacyjny osocze traktowano układem $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}$, który stanowił dawkę rodnika hydroksylowego - $\text{OH} \cdot$.

CORM-A1 oraz CORM-3 wywołały wzrost poziomu grup tiolowych w reakcji zarówno w układzie z samym osoczem jak i z induktorem stresu oksydacyjnego. CORM-3 spowodował wzrost poziomu grup karbonylowych w reakcji z samym osoczem, ale nie miał istotnego wpływu na poziom grup karbonylowych w układzie z induktorem stresu oksydacyjnego ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}$). Natomiast, CORM-A1 w najniższych testowanych stężeniach (0.1, 1 oraz 10 μM) wywołał wzrost poziomu grup karbonylowych w układzie z samym osoczem oraz wzrost poziomu grup karbonylowych we wszystkich stężeniach w układzie z induktorem stresu oksydacyjnego *in vitro*.

Mechanizmy oddziaływania związków uwalniających tlenek węgla (II) (CORM's) z komponentami hemostazy m.in. z białkami osocza są kluczowe dla zrozumienia procesów zachodzących *in vitro*. Niestety pomimo stale rosnącej liczby publikacji oraz dużego postępu badań nad terapeutycznym działaniem donorów CO wciąż pozostają one niejasne, a dane literaturowe bywają kontrowersyjne.

Słowa kluczowe: tlenek węgla, CORM, stres oksydacyjny.

Białkowy „odcisk palca” bakterii *Helicobacter pylori*

Małgorzata Apanowicz, Paulina Czaplewska i Joanna Skórko-Głonek

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej, Pracownia Biochemii Białek i Kwasów Nukleinowych, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

malgorzata.apanowicz@phdstud.ug.edu.pl

Klinika Gastroenterologii CMKP w Warszawie szacuje, że za 80 procent występujących przypadków wrzodów żołądka odpowiada zakażenie bakterią *Helicobacter pylori*. Ocenia się, że w Polsce zakażonych jest ok. 84 procent osób dorosłych. W wielu przypadkach zakażenie bakterią ma charakter ukryto objawowy, przez co nieleczone stany zapalne i wrzody mogą doprowadzić do nowotworzenia, jednocześnie stając się jeszcze bardziej niebezpiecznym zagrożeniem dla zdrowia i życia ludzi. Wśród wielu czynników wirulencji wytwarzanej przez tę bakterię, za czynnik istotny w procesie infekcji uznaje się proteazę HtrA, zdolną do degradacji białek połączeń adherentnych i ścisłych (E-kadheryny, kładyny i okładyny). HtrA jest białkiem peryplazmatycznym związanym z błoną wewnętrzną, jednak pewna jego frakcja jest wydzielana pozakomórkowo, gdzie może uszkadzać nabłonek żołądka. U bakterii *H. pylori* HtrA_{Hp} pełni najprawdopodobniej kluczowe funkcje w fizjologii komórki, ponieważ usunięcie genu *htrA*_{Hp} było niemożliwe w ponad 100 przetestowanych szczepach. Analiza genomów uzyskanych szczepów zawierających mutację *htrA* (uzyskanych we współpracy z zespołem prof. Anny Pawlik z Laboratorium Biologii Molekularnej Mikroorganizmów IITD PAN) ujawniła obecność powtarzających się mutacji w genie *secA* (kodującym białko biorące udział w eksporcie białek z cytoplazmy), a wszelkie próby przywrócenia prawidłowej sekwencji *secA* do tej pory nie przyniosły pozytywnych rezultatów.

Wstępne badania proteomiczne, uzyskane dzięki analizom spektrometrii mas oraz elektroforezy dwukierunkowej, wskazują na istotne zmiany w proteomie *H. pylori*, wywołane delecją genu *htrA*. Różnice w poziomie zidentyfikowanych białek dotyczą procesu transportu białek i jonów metali, transkrypcji, translacji oraz wielu procesów metabolizmu. Szczególną uwagę zwraca również spadek ilości białek odpowiedzialnych za wirulencję *H. pylori*. Jest zatem prawdopodobne, że HtrA_{Hp} pełni istotną rolę w wydajności sekrecyjnej lub uczestniczy w dojrzewaniu wydzielanych białek.

Zaplanowane badania powinny doprowadzić do określenia skutków braku aktywności HtrA_{Hp} na poziomie proteomu, a w dalszej kolejności do poznania procesów komórkowych, które wymagają funkcji HtrA_{Hp} i są niezbędne dla *H. pylori*.

Finansowanie w ramach projektu NCN OPUS: UMO-2016/21/B/NZ2/01775

Słowa kluczowe: proteom, *Helicobacter pylori*, proteaza, HtrA.

Food and Feathers: nutritional condition in storm-petrels

Anne N.M.A. Ausems, Katarzyna Wojczulanis-Jakubas, Dariusz Jakubas

Department of Vertebrate Ecology and Zoology, Faculty of Biology, University of Gdańsk, Gdańsk, Poland

anne.ausems@gmail.com

Moulting and breeding are costly stages of the avian annual cycle and may impose trade-offs in energy allocation between them or in the timing of both stages. We compared feather growth rates (FGR) of tail-feathers in adults between two pairs of small pelagic Procellariiformes differing in moult-breeding strategies: the European storm-petrel *Hydrobates pelagicus* and Leach's storm-petrel *Oceanodroma leucorhoa* breeding in the Northern hemisphere (Faroe Islands), partially overlapping breeding and moult; and the Wilson's storm-petrel *Oceanites oceanicus* and black-bellied storm-petrel *Fregetta tropica*, breeding in the Southern hemisphere (South Shetlands), temporally separating moult and breeding. To reconstruct FGR we used a technique called ptilochronology, i.e. we measured the mean width of visible light and dark bands in the feather. Based on previous research, we expected positive correlations between feather length (FL) and FGR. Additionally, we expected to find differences in FGR relative to FL between species adopting different the moult-breeding strategies, where a relatively higher FGR to FL indicates a higher energy availability (i.e. nutritional condition) for moult. To investigate if nutritional condition during moult in the studied species is similar to species from other avian orders, we collected literature data of FGR and FL ($n = 164$). We fitted a phylogenetic generalized least squares (PGLS) model to FGR with FL, group (i.e. Procellariiformes vs non-Procellariiformes) and the interaction FL * group as predictors. As it has been suggested that Procellariiformes may form two growth bars per 24 h, we fitted the same model but with doubled FGR values for Procellariiformes (PGLSadj). The group term was significant in the PGLS model, but was not in the PGLSadj model, confirming this suggestion. Individually predicted FGR by the PGLS model based on FL with group set to Procellariiformes, showed that the Southern hemisphere storm-petrels have a significantly higher FGR relative to FL compared to the Northern hemisphere storm-petrels. Additionally, we found no correlation between FL and FGR in the Northern species, and a positive correlation between FL and FGR in the Southern species, suggesting differences in the trade-off between feather growth and size between storm-petrel species from both hemispheres. The observed differences between the Northern and Southern storm-petrel species may be caused by different moult-breeding strategies. The Southern species may have had a better nutritional condition during moult as they are free from breeding duties that time, while the Northern species may have had a lower nutritional condition due to a trade-off in energy allocation between breeding and moulting. Our study shows how different moult-breeding strategies may affect relative nutritional condition or energy allocation during moult of migratory pelagic seabirds.

Keywords: ptilochronology, nutritional condition, energy allocation, storm-petrels.

Zmienność kształtu skorupki karapaksu dwóch gatunków małżoraczków z rodzaju *Heterocypris* (Ostracoda) badana metodami morfometrii geometrycznej

Jowita Baran, Ewa Kosmala, Anna Wysocka, Adrianna Kilikowska, Tadeusz Namiotko

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Genetyki i Biosystematyki, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

jowita.baran@phdstud.ug.edu.pl

Coraz więcej doniesień wskazuje na powszechność występowania zmienności kryptycznej słodkowodnych małżoraczków. W związku z tym, że klasyczne metody biometryczne nie pozwalają na precyzyjną kwantyfikację często nieznacznych tylko różnic w kształcie skorupki karapaksu małżoraczków, coraz częściej wykorzystuje się techniki morfometrii geometrycznej. Metody te nie tylko umożliwiają dokładne opisanie kształtu obiektów biologicznych i jego wizualizację przy pomocy funkcji matematycznej, co pozwala testować istotność różnic kształtu z wykorzystaniem wielowymiarowych analiz statystycznych, ale pozwalają również na porównanie różnic w kształcie z pominięciem czynnika wielkości, co trudno uzyskać metodami, które są stosowane w klasycznej morfologii porównawczej. Celem niniejszych badań było porównanie zakresu wewnątrz- i międzypopulacyjnej zmienności kształtu skorupki karapaksu dwóch wyjątkowo wysoce zmiennych genetycznie gatunków małżoraczków

z rodzaju *Heterocypris* (*Heterocypris incongruens* i *Heterocypris salina*). Do badań morfometrycznych wykorzystano łącznie 800 skorupki (479 *H. incongruens* oraz 321 *H. salina*) partenogenetycznych samic wyhodowanych w jednakowych warunkach laboratoryjnych z jaj przetrwałych pochodzących z 15 stanowisk w Europie i północnej Afryce. Po aproksymacji zarysów skorupki metodą krzywych B-sklejanych, analiza głównych współrzędnych PCoA i „analiza podobieństwa” ANOSIM ujawniły statystycznie istotne różnice w kształcie skorupki między niemal wszystkimi parami badanych populacji w przypadku obu gatunków, co świadczy o niezwykle dużej zmienności fenotypowej badanych mikroskorupiaków. Wydaje się, że przynajmniej niektóre wysoce odmienne genetycznie osobniki, reprezentujące potencjalnie odrębne gatunki kryptyczne, mogą subtelnie, ale statystycznie istotnie, różnić się również morfologicznie pod względem kształtu skorupki karapaksu.

Słowa kluczowe: małżoraczki, morfometria geometryczna, zmienność kształtu, zmienność kryptyczna.

Molekularna analiza składu pokarmu trzech gatunków nietoperzy o podobnej taktyce żerowania

Konrad Bidziński

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ekologii i Zoologii Kręgowców,
Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

konradbidzinski@gmail.com

Nietoperze odżywiające się stawonogami przyjęło się postrzegać jako oportunistów pokarmowych. Wśród nietoperzy da się jednak wyróżnić kilka głównych sposobów pobierania pokarmu związanych z jego występowaniem w środowisku - tak zwanych „gildii”. Jedną z tego typu grup są nietoperze zbierające pokarm z powierzchni liści i pni drzew oraz podszytu. Pokarm nietoperzy reprezentujących tę grupę jest rozmieszczony równomiernie, a jego dostępność w czasie jest stabilna i przewidywalna, przez co gatunki te nie tworzą dużych kolonii letnich. Budowa ciała pozwala im na wolny i zwrotny lot, co umożliwia zbieranie, za pomocą błony ogonowej lub skrzydła, ofiar siedzących na roślinach. Dotychczasowy stan wiedzy o ich pokarmie opiera się na analizie morfologicznej szczątków ofiar. Metoda ta pozwala oznaczać stawonogi jedynie do wyższych poziomów taksonomicznych (rzędu lub rodziny, rzadziej rodzaju), co przy tak dużym zróżnicowaniu bezkręgowców w pokarmie nie pozwalało wyróżnić, które gatunki nietoperzy są generalistami, a które przejawiają preferencje do określonych gatunków (lub grup) bezkręgowców. Badania molekularne (sekwencjonowanie barkodów DNA) umożliwiające oznaczanie taksonów ofiar do znacznie niższych poziomów taksonomicznych niż analiza ich szczątków w odchodach pokazują, że zróżnicowanie nisz troficznych, nawet wśród pozornie bardzo podobnych do siebie pod względem ekologicznym gatunków nietoperzy, polujących w ten sam sposób, może być znaczne. Podobny, nie zbadany dotychczas podział zasobów może zachodzić między trzema gatunkami krajowych „zbierających” nietoperzy, zajmujących podobne nisze, jednak występujących z różną częstością w różnych miejscach kraju: nockiem Natterera *Myotis nattereri*, gackiem brunatnym *Plecotus auritus* i nockiem Bechsteina *Myotis bechsteinii*. W niniejszej prezentacji opisujemy metodykę wykonywania molekularnych analiz składu pokarmu, oraz dotychczasowy stan wiedzy i założenia projektu, będącego próbą zbadania diety tych trzech gatunków nietoperzy nowymi metodami.

Słowa kluczowe: analiza molekularna, nietoperze zbierające, podział zasobów.

Stężenie katelicydyny LL-37 w surowicy pacjentów z rakiem niedrobnokomórkowym płuca poddanych resekcji guza

**Filip Bielec¹, Magdalena Gorzewska-Bojczuk¹, Aleksandra Stolarz¹, Monika Bigos¹,
Janina Łucja Grzegorzczak²**

¹Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Wydział Lekarski, Katedra Biologii i Mikrobiologii Medycznej,
Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej, ul. Pomorska 251 bud. C5, 92-213 Łódź

²Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Wydział Lekarski, Katedra Immunologii Klinicznej i Reumatologii,
Klinika Immunologii i Alergii, ul. Pomorska 251 bud. C5, 92-213 Łódź

filip.bielec@stud.umed.lodz.pl

Jednym z czynników aktywujących nieswoiste układ odpornościowy – w tym także skóry – jest stres operacyjny. Istotną rolę w reakcji na stres odgrywa stan odporności wrodzonej (nieswoistej) chorego, do której biomarkerów zaliczana jest katelicydyna LL-37 – peptyd przeciwdrobnoustrojowy o wielokierunkowym działaniu. Natężenie reakcji na stres operacyjny jest proporcjonalne do rozległości uszkodzenia tkanek oraz może być powiązane z mikrobiotą skóry, dla której chirurgiczne nacięcie stanowi wrota infekcji. Celem pracy pomiar stężenia katelicydyny LL-37 w surowicy w odpowiedzi na stres operacyjny w zależności od obecności gronkowcowej mikrobioty skóry oraz rodzaju dostępu chirurgicznego.

Grupę badaną stanowiło 9 pacjentów (5 kobiet i 4 mężczyzn w wieku 40-79 lat) z niedrobnokomórkowym rakiem płuca, hospitalizowanych w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z powodu planowanej resekcji guza płuca. Uczestników kwalifikowano na podstawie wywiadu lekarskiego. Materiał biologiczny pobrano w 2 punktach czasowych (przed operacją i w 2 dobie po): 1. wymazy ze skóry okolicy operowanej; 2. krew żylną obwodową na surowicę. Z wymazów wykonano posiewy w kierunku *Staphylococcus spp.* i antybiogramy z zastosowaniem oceny EUCAST. W surowicy krwi określono stężenie katelicydyny LL-37 metodą immunoenzymatyczną ELISA.

Zaobserwowano istotny statystycznie wzrost stężenia katelicydyny LL-37 w surowicy 48 godzin po przebytej operacji. Podobnie istotny wzrost stężenia badanego białka zaobserwowano w grupie z obecną mikrobiotą gronkowcową skóry okolicy operowanej i w grupie operowanej metodą torakotomii, w porównaniu odpowiednio do grupy bez mikrobioty gronkowcowej i grupy operowanej torakoskopowo.

Wzrost stężenia katelicydyny LL-37 w surowicy po przebytej operacji, zaobserwowany nie tylko w grupie pacjentów z potwierdzoną mikrobiotą gronkowcową skóry, świadczy o pleiotropowym charakterze badanego peptydu przeciwdrobnoustrojowego. Jednocześnie mniejszy wzrost stężenia tego białka u pacjentów poddanych torakoskopii, może świadczyć o korzystniejszej odpowiedzi na stres operacyjny w chirurgii o mniejszym stopniu inwazyjności.

Słowa kluczowe: odporność nieswoista, katelicydyna LL-37, torakochirurgia.

Analiza udziału lizosomu w chorobach zapalnych skóry: znaczenie dla łuszczycy

Katarzyna Bocheńska¹, Marta Moskot^{1,2}, Magdalena Gabig-Cimińska^{1,2}

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii i Genetyki Medycznej, Wita Stwosza 59,
80-308 Gdańsk

²Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Pracownia Biologii Molekularnej, Kładki 24, 80-822 Gdańsk

katarzyna.bochenska@phdstud.ug.edu.pl

Pomimo stale aktualizowanego stanu wiedzy na temat zarówno indukcji, jak i rozwoju łuszczycy, czynniki, które mogą stanowić potencjalną przyczynę tej choroby są nieprzerwanie i intensywnie poszukiwane. Architektura naskórka jest w dużej mierze regulowana przez działanie lizosomów, organelli uczestniczących w wielu istotnych procesach, takich jak: trawienie wewnątrzkomórkowe, transport cholesterolu, apoptoza, adhezja i migracja komórek, prezentacja antygenów, naprawa błon komórkowych czy kontrola wybranych szlaków metabolicznych.

Celem niniejszych badań jest analiza układu endosomalno-lizosomalnego w łuszczycy przy zastosowaniu dwuwymiarowego (2D) modelu *in vitro* keratynocytów linii HaCaT oraz *in situ*, tj. tkanek skórnych pobranych od pacjentów, z miejsc zmienionych i niezmienionych chorobowo oraz osób zdrowych jako kontroli. Oznaczenia fluorescencyjne oraz immunohistochemiczne wykazały zwiększony poziom ilości lizosomów (marker LAMP1 - Lysosomal-Associated Membrane Protein 1) zarówno w komórkach naskórka – hodowlach *in vitro* keratynocytów o fenotypie łuszczycowym (jednocześnie przy obniżonej puli kwaśnych organelli), jak i w materiale biopsji skórnych 70% pacjentów. Pacjenci z najwyższą wartością wskaźników PASI (Psoriasis Area and Severity Index), BSA (Body Surface Area) i DLQI (Dermatology Life Quality Index) wykazali znacząco zwiększony poziom białka błony lizosomalnej LAMP1 w warstwie naskórka. Ponadto stwierdzono, iż wzorzec zmian ekspresji genów kodujących białka związanych z biogenezą i działaniem lizosomów był zmieniony w porównaniu do kontroli, a jednocześnie porównywalny dla skóry zmienionej i niezmienionej łuszczycowo, co wskazuje, że zmiany ilościowe i jakościowe układu endosomalno-lizosomalnego mogą zachodzić jeszcze przed wystąpieniem charakterystycznego fenotypu choroby. Obserwowana zmniejszona aktywność genów kodujących czynniki transkrypcyjne rodziny MiT (odpowiedzialnych za biogenezę lizosomów) w tkankach skórnych pacjentów może wynikać z: podwyższonej ekspresji genu *MTORC1*, którego produkt białkowy jest inhibitorem czynnika transkrypcyjnego EB (TFEB), a także obniżenia aktywności genów *PPP3CA* i *PPP3CB* kodujących podjednostki kalcyneuryny, będącej aktywatorem czynnika TFEB. Zwiększona ilość lizosomów może być zatem spowodowana potencjalną deregulacją szlaków sygnalizacyjnych zależnych od stresu retikulum endoplazmatycznego. Zmiany ilościowe i jakościowe aparatu endosomalno-lizosomalnego w tkance chorobowo zmienionej mogą skutkować modulacją aktywności wybranych enzymów hydrolitycznych, m.in. zaangażowanych w szlak przemian sfingolipidów, przez co w konsekwencji może dochodzić do zaburzeń ilościowych ceramidów – związków niezbędnych do tworzenia prawidłowej struktury naskórka, a tym samym do braku różnicowania i nadmiernej proliferacji keratynocytów, zahamowania procesu apoptozy oraz do uszkodzenia bariery skórnej. Nadmierna synteza sfingozyno-1-fosforanu (antagonisty ceramidów) wskutek zwiększonej aktywności wybranych grup enzymów lizosomalnych, może przyczynić się do nasilenia stanu zapalnego poprzez zwiększenie produkcji czynników prozapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworu TNF- α , aktywacji szlaku NF- κ B czy sekrecji prozapalnej interleukiny 8.

Słowa kluczowe: łuszczyca, lizosom, stan zapalny, bariera skórna

Bisfenol A w łańcuchu troficznym Zatoki Gdańskiej

Karina Bodziach, Marta Staniszeńska, Iga Nehring, Lucyna Falkowska

Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Instytut Oceanografii, Zakład Chemii Morza i Ochrony Środowiska Morskiego, al. Marszałka Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

karina.bodziach@phdstud.ug.edu.pl

Bisfenol A (BPA) to związek powszechnie stosowany przy produkcji tworzyw sztucznych wykorzystywanych m.in. w opakowaniach do przechowywania żywności i napojów, sprzętu medycznego oraz sportowego, elektroniki, materiałów budowlanych. Światowa produkcja tego związku stale rośnie np. w 2006 roku wyniosła 3,9 mln ton, a w 2008 już 4,7 mln ton. Ponadto przewiduje się, iż globalna konsumpcja BPA osiągnie 10,6 mln ton do 2022 r. W związku z wypłukiwaniem BPA z tworzyw sztucznych oraz niepełnym usuwaniem w oczyszczalniach ścieków najbardziej narażeni na ten ksenobiotyk są ludzie i organizmy wodne. Bisfenol A może łatwo przemieszczać się przez powierzchnię błon komórkowych skóry, nabłonka skrzelu lub jelita do wnętrza organizmu. Wykazuje również powinowactwo do tkanki tłuszczowej. W organizmie jako związek endokrynnie aktywny, zaburza gospodarkę hormonalną. Już w bardzo niskich dawkach może wywoływać niekorzystne efekty jak np. choroby tarczycy, otyłość, problemy neurobehawioralne, zaburzenia reprodukcyjne, deformacje narządów płciowych, nieprawidłowy rozwój embrionów, rak piersi oraz prostaty. Wiele krajów europejskich podjęło walkę z narażeniem ludzi i zwierząt na BPA. Jednakże, pomimo narzuconych licznych restrykcji, badacze na całym świecie zgłaszają obecność tego ksenobiotyku m.in. w pokarmie i moczu ludzi oraz w środowisku morskim.

Celem niniejszej pracy było określenie zanieczyszczenia Zatoki Gdańskiej przez bisfenol A oraz oszacowanie jego biokumulacji w organizmach bytujących w tym akwenie. Analizie poddano wody powierzchniowe i naddenne, fito- i zooplankton, małże, a także mięśnie ryb oraz ptaków wodnych. Oznaczenia końcowe przeprowadzono z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej z detektorem fluorescencyjnym.

Bisfenol A obecny był w każdym z badanych elementów środowiska Zatoki Gdańskiej. Oznaczone stężenia w wodzie wahały się od 10,3 do 67,7 ng·dm⁻³, z najwyższymi wartościami przypadającymi na wodę naddenną. Wśród organizmów najniższe stężenia oznaczono

w śledziach (2,0 – 98,6 ng·g⁻¹ s.m.), mięśniach nurogęsi (23,6 – 121,3 ng·g⁻¹ s.m.) oraz mew srebrzystych (6,3 – 156,4 ng·g⁻¹ s.m.), a najwyższe w zooplanktonie (105,7 – 769,2 ng·g⁻¹ s.m.), mięśniach flądry (98,3 – 755,7 ng·g⁻¹ s.m.) oraz dorsza (25,4 – 798,4 ng·g⁻¹ s.m.). Wykazano, iż BPA ma potencjał do kumulacji w łańcuchu pokarmowym Zatoki Gdańskiej, co może skutkować negatywnym wpływem tego ksenobiotyku na rozwój i zachowanie organizmów na każdym poziomie troficznym.

Słowa kluczowe: bisfenol A, łańcuch troficzny, Zatoka Gdańska.

Ichnoskamieniałości w bursztynie bałtyckim

Błażej Bojarski

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii, Pracownia
Entomologii Ewolucyjnej i Muzeum Inkluzji w Bursztynie, ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

blazej.bojarski@phdstud.ug.edu.pl

Bursztyn bałtycki jest eoceńską żywicą kopalną, której dokładny wiek jest wciąż kwestią dyskusyjną, lecz najczęściej datowaną na priabon – lutet (34 – 48 mln lat). Jest on znany z bogactwa zachowanych inkluzji, które są przedmiotem badań od ponad 200 lat (Weitschat i Wichard 2010), jednak inkluzje nie są jedynym rodzajem skamieniałości zachowanych na i w bursztynie bałtyckim. Ichnoskamieniałości (skamieniałości śladowe) to ślady bytowania organizmów żywych zachowane w formie kopalnej. W żywicach kopalnych można znaleźć ichnoskamieniałości zarówno w formie inkluzji (Martínez-Delclòs i in. 2004), jak i w postaci śladów pozostawionych w macierzy bursztynowej. Znajdźiska takie są jednak pomijane w opracowaniach naukowych lub też mylnie interpretowane.

W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki przeszukania trzech prób surowego bursztynu bałtyckiego z terenu województwa Pomorskiego: Gdańsk – Przeróbka (33 kg), Żuławki (9 kg) i Lublewo (5 kg). Każda z bryłek została przeanalizowana osobno pod kątem występowania skamieniałości śladowych. Wyselekcjonowany materiał był szlifowany na szlifierkach wodnych, przycinany przy pomocy piły stołowej wyposażonej w diamentową tarczę, a następnie polerowany przy użyciu szlifierko-polerki. Tak przygotowane preparaty stanowiły podstawę do opisu i dokumentacji zachowanych ichnoskamieniałości.

Przebadany materiał zawierał skamieniałości śladowe zarówno w formie inkluzji, jak i śladów na powierzchni bryłki. Wykazano obecność inkluzji takich jak: koprolity, sieci pajęczce, ślady żerowania ksylofagów oraz koszyczek larwy motyla z rodziny Psychidae. Ponadto znalezione zostały nowe dla żywic kopalnych, a co za tym idzie nowe dla bursztynu bałtyckiego, skamieniałości śladowe w formie wierceń sklasyfikowane do następujących ichnorodzajów: *Teredolites* Leymerie, 1842, *Gastrochaenolites* Leymerie, 1842 oraz *Petroxestes* Wilson i Palmer, 1988.

Biorąc pod uwagę stosunkowo niewielkie próby wykorzystane do badań, można wnioskować, że bursztyn bałtycki, jak i inne żywice kopalne, jest bogaty również w różnorodne skamieniałości śladowe. Znalezione okazy wymagają dokładniejszego opisu ichnogatunków i umiejscowienia ich w obrębie aktualnie istniejących ichnorodzajów, lub wydzielenia dla nich nowych ichnotaksonów.

Słowa kluczowe: bursztyn bałtycki, tafonomia, ichnoskamieniałości, skamieniałości śladowe, żywice kopalne.

Komórki raka nerki ulegają starzeniu w warunkach normoksyjnych oraz hipoksyjnych po leczeniu chemoterapeutykami stosowanymi w klinice

Agata Borkowska^{1,2}, Claudine Kieda¹, Halina Waś¹

¹Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie, Polska

²Studium Medycyny Molekularnej w Warszawie, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

hwas@wim.mil.pl

Pacjenci cierpiący z powodu raków nerek wykazują niski odsetek odpowiedzi na leczenie chemio- oraz radioterapią. Podejrzewa się, że jedną z przyczyn tego zjawiska jest starzenie komórkowe indukowane leczeniem (ang. Therapy induced senescence, TIS), następujące w wyniku stosowanej chemio- i radioterapii. Podejrzewa się, że stare komórki nowotworowe występujące w populacji guza mogą opowiadać zarówno za oporność na terapię, jak i wznowę choroby po zakończeniu leczenia. Wśród cech charakterystycznych dla starych komórek nowotworowych wymienia się: zahamowanie proliferacji, zwiększenie wielkości i granularności, a także podwyższoną aktywność β -galaktozydazy związanej ze starzeniem komórkowym (SA- β -Gal, ang. Senescence Associated SA- β -Galactosidase). Na chwilę obecną większość badań prowadzonych w tej dziedzinie prowadzona była tylko w warunkach normoksyjnych (~21% O₂). Co ważne, w guzach nowotworowych występuje obniżony poziom tlenu, tzw. hipoksja. W związku z powyższym celem tego projektu było zbadanie, czy leczenie komórek raka nerki środkami stosowanymi najczęściej w klinice może indukować starzenie komórkowe nie tylko w warunkach normoksyjnych, ale i hipoksyjnych. W eksperymentach wykorzystano linie komórkowe raka nerki, ludzką RCC4 i mysią RenCa. Komórki traktowano lekami stosowanymi w chemioterapii tego typu nowotworów: Gemcytabina (GEM), Winblastyna (VIN) i 5-Fluorouracyl (5-FU). Schemat traktowania został zaprojektowany w sposób imitujący pojedynczy cykl chemioterapii, gdzie komórki po inkubacji z lekami rosły przez kolejne siedem dni bez leków. Eksperymenty prowadzono w normoksji (21% O₂) i hipoksji (1% O₂). Celem ustalenia dawek leków, niebędących toksycznymi dla badanych linii komórkowych przeprowadzono analizę żywotności komórek metodą MTT. Zaobserwowano, że żywotność obu linii hodowanych w hipoksji spada, a także zmniejsza się ich wrażliwość na stosowaną chemioterapię. Po wytypowaniu zakresu nietoksycznych dla komórek dawek chemoterapeutyków, przeprowadzono analizę proliferacji komórek. Zaobserwowano, że w wyniku traktowania wszystkimi lekami, zdolność obu linii do podziałów komórkowych spada. W celu potwierdzenia obecności starych komórek nowotworowych po zastosowanym leczeniu przeprowadzono barwienie cytochemiczne na aktywność SA- β -Gal. Zaobserwowano, że stosowane leki indukują proces starzenia w obu liniach komórkowych powodując zmiany w morfologii komórek w różnym natężeniu, szczególnie silne zmiany fenotypowe wywołała winblastyna. W przyszłości planowane są badania, których celem będzie zbadanie przyczyn występujących różnic, a także weryfikacja otrzymanych wyników w modelach *in vivo* i na materiale klinicznym. Badania realizowane w ramach projektu nr 2017/26/E/NZ3/00434 przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki w Polsce.

Słowa kluczowe: nowotwory nerek, chemioterapia, starzenie komórkowe indukowane terapią, hipoksja.

Zmiany w przebiegu procesu autofagii i cyklu komórkowego jako nowe aspekty patogenezy MPS

Joanna Brokowska, Karolina Pierzynowska, Lidia Gaffke, Grzegorz Węgrzyn

Katedra Biologii Molekularnej, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

joanna.brokowska@phdstud.ug.edu.pl

Mukopolisacharydozy (MPS) to grupa lizosomalnych chorób spichrzeniowych charakteryzujących się akumulacją glikozoaminoglikanów (GAG) w lizosomach, czego przyczyną jest brak lub szczątkowa aktywność specyficznych enzymów z grupy hydrolaz lizosomalnych. W zależności od defektywnego enzymu oraz rodzaju spichrzanego GAG, wyróżnia się 11 typów/podtypów mukopolisacharydoz (MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, IVA, IVB, VI, VII i IX).

Przez długi czas zakładano, że spichrzenie GAG jest nie tylko pierwotną, ale także jedyną przyczyną defektów komórkowych, które w późniejszym czasie uwidaczniają się na poziomie tkanek i narządów jako specyficzne objawy kliniczne (pogrubienie rysów twarzy, ograniczona ruchomość stawów, spowolnienie wzrostu, zakrzywienie palców, problemy z układem oddechowym, bezdech senny, przepuklina pępkowa i pachwinowa oraz organomegalia, w przypadku niektórych typów - upośledzenie umysłowe). Jednak należy wziąć pod uwagę, że sama dysfunkcja lizosomów spowodowana nagromadzeniem się GAG nie tłumaczy tak ogromnej różnorodności objawów jaka występuje pomiędzy typami MPS. Co więcej, wyniki najnowszych badań sugerują, że wtórne efekty mutacji wywołujących MPS mogą być równie ważne w patomechanizmie choroby, jak i pierwotna akumulacja GAG. Zatem zmiana efektywności różnych procesów komórkowych może znacząco przyczynić się do fenotypu choroby.

W tym świetle, celem niniejszej pracy było zbadanie zmian w wydajności procesu autofagii oraz zmian w przebiegu cyklu komórkowego w MPS jako jednych z najważniejszych procesów dla zachowania homeostazy. Badania przeprowadzono na liniach komórkowych pobranych od pacjentów ze wszystkimi typami/podtypami MPS, a także na linii HDFa jako zdrowej kontroli.

Otrzymane wyniki mikroskopii elektronowej sugerują zmiany w wydajności procesu autofagii w przypadku prawie wszystkich typów MPS w stosunku do komórek zdrowych o czym świadczą zaburzenia proporcji pęcherzyków autofagosomalnych (lizosomy, autofagosomy, autofagolizosomy). Analizy poziomów białek biorących udział we wszystkich etapach procesu autofagii (inicjacja, nukleacja i elongacja fagoforu) techniką Western blotting wskazały na modulację ich poziomu co korelowało ze zwiększoną lub zmniejszoną (w zależności od typu MPS) liczbą pęcherzyków autofagosomalnych. Co więcej, analiza transkryptomiczna przeprowadzona techniką RNA-seq wskazała na zmiany poziomu mRNA w przypadku genów kodujących te białka tylko w przypadku MPS IIIA i IIIB co wskazuje na udział czynników transkrypcyjnych w patomechanizmie tych podtypów choroby, ale nie koniecznie innych typów.

Z kolei badania przebiegu cyklu komórkowego wykonane za pomocą cytometrii przepływowej ukazują różnice w długości trwania fazy S w różnych typach MPS, a analiza Western blotting pokazała zmiany w poziomie białek regulujących przejście w kolejne fazy cyklu.

Podsumowując, zarówno proces autofagii jak i cykl komórkowy odgrywają niezwykle ważną rolę w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania komórek i tkanek. Dysfunkcja tych procesów w MPS może wskazywać na niezbadany dotąd mechanizm patogenezy tej choroby. Są to pierwsze badania, które wskazać mogą na przyczynę tak ogromnej różnorodności objawów występujących w przypadku MPS.

Słowa kluczowe: mukopolisacharydozy, autofagia, cykl komórkowy.

A veinly affair

Alicja Brysz

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii, Pracownia Entomologii Ewolucyjnej i Muzeum Inkluzji w Bursztynie, Wita Stwosza 59 80-308 Gdańsk

alicja.brysz@biol.ug.edu.pl

Podczas badań paleontologicznych często zdarza się, że nowo opisywane taksony (czy to na poziomie gatunku, czy to rodzaju) bardzo podobne do już istniejących są błędnie uważane za nowe dla nauki, a istniejące różnice powinny być przypisane czy to stopniowi lub sposobowi zachowania okazu, czy to zaburzeniom rozwojowym, którym przecież organizmy podlegają od zawsze, więc czemu nie miałyby być one widoczne w materiale kopalnym.

Jednym z przykładów takiego rodzaju błędu jest osobne opisywanie skrzydeł z odcisków kopalnych jako dwóch różnych taksonów – znany jest przykład gdy lewe skrzydło miało typowe dla swojej grupy proporcje, zaś prawe było kilkukrotnie dłuższe, co zaburzało całkowicie proporcje. Badacz opisujący je nie zauważył, że powodem takiego stanu rzeczy było rozciągnięcie się skał, w których odcisnięte było prawe skrzydło, a oba odciski tak naprawdę należały do nie tylko tego samego taksonu, ale do tego samego okazu.

Przypadek zaburzeń rozwojowych w zapisie kopalnym jest słabo poznany z kilku różnych przyczyn: niedostępności lub braku materiału do badań porównawczych, a także braku rewizji blisko spokrewnionych taksonów w celu wykluczenia wspomnianych wcześniej błędnych diagnoz „nowych dla nauki” taksonów. Szczęśliwie, w przypadku inkluzji w bursztynie coraz częściej zdarza się, że duża powtarzalność materiału pozwala na zbadanie częstotliwości występowania oraz okresu występowania zaburzeń rozwojowych.

Takim obserwacjom poddane zostały pluskwiaki z rodziny Achilidae pochodzące z okresu eocenu (inkluzje w bursztynie bałtyckim) oraz kredy (inkluzje w bursztynie Kachin). W przypadku tych pierwszych użytkowanie skrzydeł (będące najlepiej zachowanymi i najbardziej podatnymi na widoczne zaburzenia elementami ciała owadów) wykazuje dużą oraz powszechnie występującą zmienność w obrębie kilkunastu gatunków, podczas gdy kredowe zaburzeń nie posiadają prawie wcale. Nasuwa to pytanie: Jaka jest przyczyna takiego stanu rzeczy i co świadczy to o stanie środowiska tych dwóch okresów geologicznych?

Słowa kluczowe: bursztyn, inkluzja, pluskwiaki, użytkowanie skrzydeł, zaburzenia rozwojowe

Megasporogeneza u *Sedum* (Crassulaceae) - analiza porównawcza

Emilia Brzezicka, Małgorzata Kozieradzka-Kiszkurno

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Cytologii i Embriologii Roślin, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

emilia.brzezicka@phdstud.ug.edu.pl

Kwiat roślin okrytonasiennych to organ generatywny, w obrębie którego zachodzą m.in. takie procesy jak zapylenie i zapłodnienie. Słupek i pręciki to elementy kwiatu, które stanowią miejsce rozwoju gametofitów. Woreczek zalążkowy to gametofit żeński, który rozwija się w ośrodku zalążka położonego w zalążni słupka. Gametofit zredukowany przeważnie do siedmiu komórek formuje się w procesie megagametogenezy z megaspory funkcjonalnej powstałej po podziale mejotycznym megasporocytu (megasporogeneza). W zależności od ilości jąder komórkowych obecnych w komórce macierzystej woreczka zalążkowego wyróżnia się trzy typy rozwoju: monosporowy, bisporowy i tetrasporowy.

Crassulaceae to rodzina roślin okrytonasiennych reprezentowana przez gatunki sukulentowe. Badania nad procesami sporogenezy i gametogenezy były wykonywane tylko u niektórych przedstawicieli rodziny i wyłącznie przy użyciu mikroskopii świetlnej. Celem pracy jest porównanie danych embriologicznych uzyskanych metodami mikroskopowymi dotychczas niewykorzystywanymi w badaniach gatunków Crassulaceae. Do analizy wykorzystano zalążki gatunków *Sedum* dla których opis rozwoju megaspor i woreczka zalążkowego jest niekompletny lub brak go zupełnie. Analiza porównawcza struktury komórek oraz przebiegu procesu formowania megaspor u badanych gatunków wskazuje zarówno na podobieństwa jak i różnice.

Słowa kluczowe: zalążek, megasporogeneza, Crassulaceae.

Opracowanie nowej metody leczenia zaburzeń afektywnych w oparciu o neuromodulacyjne działanie inhibitora wychwytu zwrotnego noradrenaliny i serotoniny (SNRI)

Żaneta Chelminiak, Jennifer Mytych, Marek Koziorowski, Przemysław Solek

*Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biotechnologii, Katedra Fizjologii i Rozrodu Zwierząt
al. Rejtana 16c, 35-959 Rzeszów*

pp.solek@gmail.com

Zaburzenia depresyjne są poważnym problemem zdrowotnym o charakterze globalnym. Choroba dotyka miliony osób na całym świecie, z dwukrotnie wyższym odsetkiem występowania u kobiet niż u mężczyzn. Podczas depresji pojawiają się zmiany strukturalne oraz neurochemiczne w mózgu. Hipoteza neurotroficzna zakłada, że nieprawidłowe stężenie neuroprzekaźników niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania mózgu człowieka, jest jednym z głównych przyczyn powstawania zaburzeń afektywnych.

Uważa się, że stosowanie farmakoterapii z wykorzystaniem leków przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania powoduje przywrócenie właściwej aktywności neuroprzekaźników. Skutkiem działania tych leków jest ustąpienie objawów depresji. Jednymi z obecnie najczęściej stosowanymi lekami w praktyce klinicznej są selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny oraz serotoniny (SNRI).

Celem prowadzonych badań była ocena zmian zachodzących w ekspresji genów czynników neurotroficzych (BDNF, CDFN, MANF) oraz ich białkowych produktów, po zastosowaniu nowoczesnego leku przeciwdepresyjnego wenlafaksyny w stężeniu zbliżonym do stosowanych dawek klinicznych. Model eksperymentalny stanowiły dwie linie komórkowe *in vitro*: 1) linia mysich komórek hipokampa (HT-22) oraz 2) linia ludzkich komórek glejaka (U-87 MG).

Uzyskane wyniki wskazują na spadek aktywności metabolicznej badanych komórek wraz ze wzrostem stężenia badanego leku oraz czasu inkubacji. Do dalszych badań wybrano stężenie powodujące jedynie nieznaczne obniżenie żywotności odpowiadające 10 μ M. Ponadto, nie zaobserwowano istotnych zmian morfologicznych komórek badanych linii podczas ekspozycji na lek w wybranym stężeniu. Co istotniejsze, badany lek przeciwdepresyjny powodował wzrost ekspresji wszystkich badanych czynników neurotroficzych w obu liniach komórkowych. Linia HT-22 charakteryzuje się wyższym poziomem ekspresji neurotrofin w porównaniu do linii U-87 MG. Uzyskane wyniki znajdowały bezpośrednie odzwierciedlenie w poziomie syntezy białek.

Podsumowując, przeprowadzone badania pozwalają na optymalizację farmakoterapii chorób afektywnych poprzez opracowanie nowych podejść terapeutycznych opartych na wiedzy dotyczącej mechanizmów molekularnych działania nowoczesnych leków.

Słowa kluczowe: depresja, farmakoterapia, wenlafaksyna, *in vitro*, czynniki neurotroficzne.

Reakcja *Galinsoga parviflora* na ochronę herbicydową w łanie jęczmienia jarego

Sylwia Chojnacka, Małgorzata Haliniarz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Katedra Herbológii i Technik Uprawy Roślin,
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

schojnacka2@gmail.com

Doświadczenie polowe prowadzono w latach 2010-2014 w Gospodarstwie Doświadczalnym w Czesławicach, należącym do Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Przedmiotem badań był jęczmień jary odmiana Suweren. Doświadczenie zlokalizowano na glebie płowej wytworzonej z lessu, należącej do kompleksu pszennego dobrego i II klasy bonitacyjnej. Doświadczenie założono metodą split-block, w trzech powtórzeniach. Powierzchnia poletek do siewu wynosiła 50 m², natomiast do zbioru – 30 m². Herbicyd Chwastox Turbo 340 SL (MCPA, dikamba) stosowano w dawkach rekomendowanych przez producenta oraz obniżonych o 33 i 50%. Herbicyd aplikowano samodzielnie i z dodatkiem aktywującego adiuwanta olejowego – Atpolan 80 EC (olej parafinowy) w dawce 1,5 l ha⁻¹. Zabiegi herbicydowe wykonywano opryskiwaczem poletkowym pod ciśnieniem 0,25 MPa, którego wydatek cieczy opryskowej wynosił 250 l ha⁻¹. Obiektem kontrolnym były poletka bez aplikacji herbicydu i adiuwanta. Przed zbiorem rośliny uprawnej zbierano po 5 okazów *Galinsoga parviflora* z każdego obiektu. Ocenie poddano następujące elementy morfologii chwastu: wysokość roślin, liczba rozgałęzień bocznych, liczba kwiatostanów na roślinie oraz plenność i powietrznie sucha masa rośliny. Dodatkowo wyliczono procentowy udział części generatywnych w powietrznie suchej masie całego pędu nadziemnego (potencjalny wysiłek reprodukcyjny). Z każdego poletka zbierano niełupki *Galinsoga parviflora* w celu oceny ich zdolności kiełkowania. Kiełkowanie prowadzono w warunkach kontrolowanych. Eksperymenty prowadzono w 6 powtórzeniach. Pojemniki o powierzchni 268,75 cm² wykładano 5 warstwami bibuły filtracyjnej, a następnie wysiewano do nich po 50 niełupiek. Kiełkowanie przeprowadzano w temperaturze 20–22°C w warunkach ciemnych i 25°C w świetle. Pojemniki codziennie podlewano wodą destylowaną w celu utrzymania stałej wilgotności podłoża. Przed założeniem doświadczenia nasiona były schładzane w temperaturze 5°C przez okres 7 dni w celu przerwania okresu spoczynku. Zdolność kiełkowania oceniano po 14 dniach. Otrzymane wyniki badań poddano obliczeniom statystycznym metodą analizy wariancji (ANOVA), a występujące różnice weryfikowano testem Tukey'a na poziomie istotności 0,05.

Wysokość roślin *Galinsoga parviflora* w łanie jęczmienia jarego była istotnie modyfikowana przez stosowaną ochronę herbicydową. Najwyższe rośliny znajdowały się w warunkach kontrolnych, istotnie od nich niższe – na poletkach traktowanych 100% dawką herbicydu. Takie same zależności wykazano w przypadku liczby rozgałęzień. Liczba kwiatostanów na roślinie również była największa na obiekcie kontrolnym (64,5 szt., max. 252 szt.). Istotnie mniej organów generatywnych stwierdzono w warunkach stosowania 100% dawki herbicydu z adiuwantem i bez wspomagacza. Najwięcej niełupiek stwierdzono na obiekcie kontrolnym (1 677 szt.), najmniej zaś w warunkach aplikowania dawki rekomendowanej (510 i 613 szt.). Wysiłek reprodukcyjny żółtlicy drobnokwiatowej w łanie jęczmienia jarego wynosił od 10,3% do 17,8%. Zdolność kiełkowania *Galinsoga parviflora* nie była istotnie zróżnicowana przez warianty ochrony herbicydowej, przy czym największą stwierdzono w przypadku nasion zebranych z poletek kontrolnych.

Słowa kluczowe: *Galinsoga parviflora*, herbicyd, MCPA, dikamba, jęczmień jary.

Inwazje biologiczne - realne zagrożenie

Adrian Chojnacki

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Biologii, Wydział Przyrodniczy, Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce

oleand90@gmail.com

Inwazje biologiczne stanowią poważny problem, zarówno dla środowiska naturalnego, jak i antropogenicznego. Wiele gatunków inwazyjnych dysponuje szeregiem mechanizmów, służących zdominowaniu nowo zasiedlanych ekosystemów. W tym celu korzystają z wielu metod zarówno chemicznych, opartych na szerokiej gamie związków, jak i biologicznych uzależnionych od specyficznych cech gatunku. Organizmy te nie miałyby jednak takiej możliwości, gdyby nie przypadkowe, bądź celowe wprowadzenie przy udziale czynnika ludzkiego ich do nowych dla siebie ekosystemów, bądź rzadziej drogami naturalnymi. W razie zdomowienia gatunek, może stać się inwazyjny. Istnieje tym samym możliwość, że zacznie on stanowić groźną konkurencję dla rodzimych organizmów. W głównej mierze rywalizuje o ograniczone zasoby. Mogą również zmieniać strukturę ekosystemów. Człowiek poprzez zmiany klimatyczne intensyfikuje inwazyjność, tym samym gatunki miejscowe podejmują nierówną walkę wobec zagrożenia ze strony innego organizmu, jak i zmieniającego się klimatu. W tej rywalizacji uzyskały one pomoc ze strony człowieka w postaci szeregu metod zarówno pochodzenia naturalnego, jak i chemicznego.

Słowa kluczowe: inwazyjność, szkodliwość, zwalczanie, konkurencja.

Rola eksenatydu w leczeniu cukrzycy typu 2 i kierunki zastosowania leku w przyszłości

Eliza Cichońska

*Instytut Biochemii Technicznej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka,
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź*

eliza.cichonska@wp.pl

Cukrzyca to jedna z najczęściej występujących chorób metabolicznych. Według danych Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej w 2017 roku cierpiało na nią już 425 milionów dorosłych osób. [1] Przypuszcza się, że nieprawidłowe działanie komórek beta wysp trzustkowych wraz z towarzyszącą insulinoopornością może być związane ze zmniejszonym wydzielaniem inkretynowego hormonu jelitowego – glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1). [2]. Natywny GLP-1 charakteryzuje się bardzo krótkim okresem półtrwania, co utrudnia długoterminowe leczenie. Naukowcy opracowali zatem długodziałający analog GLP-1 - eksenatyd. Jest to syntetyczna postać hormonu peptydowego – eksendyny 4 – występującego w wydzielinie gruczołów ślinowych u jaszczurki *Heloderma suspectum*. Eksenatyd powoduje wyrzut insuliny zależny od glukozy, zmniejsza wydzielanie glukagonu, a także ogranicza łaknienie, opóźniając opróżnianie żołądka. Przyczynia się to do redukcji masy ciała chorych. [3]

Skuteczność eksenatydu została potwierdzona u pacjentów z cukrzycą typu 2 w wielu badaniach klinicznych. Jednakże pojawiły się doniesienia o innych potencjalnych zastosowaniach leku. Opisano, że eksenatyd hamuje wzrost komórek nowotworu piersi, wpływając na ich apoptozę [4] Wskazano również na przeciwnowotworowe zastosowanie eksenatydu w stanach cukrzycowych. [5] Wykazano ochronne działanie leku w chorobie Parkinsona - podczas stosowania leku zmniejszyło się tempo degeneracji komórek mózgu u pacjentów z Parkinsonem, co spowalniało postęp choroby. [6] Przedstawiono także badania świadczące o pozytywnym wpływie eksenatydu w chorobie naczyniowej. Jedną z przyczyn rozwoju tej choroby, zwłaszcza miażdżycy tętnic, jest nadmierna apoptoza komórek śródbłónka. Eksenatyd przyczyniał się do zmniejszenia apoptozy ludzkich komórek śródbłónka żyły pępowinowej, indukowanej przez tunikamycynę. [7]

Celem pracy jest zestawienie badań potwierdzających skuteczność eksenatydu w leczeniu cukrzycy typu 2 i wyjaśnienie mechanizmów działania leku, a także określenie potencjalnego zastosowania eksenatydu w chorobach nowotworowych oraz neurodegeneracyjnych.

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 2, leki inkretynowe, eksenatyd, analogi receptora GLP-1.

Roztocze skórne i tkankowe z rzędu Prostigmata u ryjówkokszałtnych Soricomorpha, z nowymi danymi o Demodecidae u zębiełka karliczka *Crocidura suaveolens* i kreta europejskiego *Talpa europaea*

Karolina Cierocka, Joanna N. Izdebska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

karolina.cierocka@phdstud.ug.edu.pl

Fauna roztoczy skórnych i tkankowych ryjówkokszałtnych Soricomorpha jest bardzo słabo poznana i obejmuje zaledwie 22 gatunki, z czego 17 znanych jest z Soricidae, a 5 z Talpidae. Przy czym 6 gatunków wykazano z rodziny Demodecidae, 13 z Psorergatidae oraz 3 z Epimyodecidae. Były to zwykle pojedyncze stwierdzenia, stanowiące opis nowego gatunku; tylko nieliczne znane są dwóch lub trzech publikacji oryginalnych. Ten skromny stan wiedzy ma zapewne związek z trudnościami metodycznymi w wykrywaniu i badaniu tych roztoczy, a także ograniczonym dostępem do materiału, który stanowią ssaki rzadkie i chronione. I tak w Polsce, gdzie żyje 9 gatunków z Soricomorpha, znaleziono dotychczas tylko 3 gatunki z Demodecidae (Izdebska i Rolbiecki 2003, Izdebska 2004) i 1 z Psorergatidae (Haitlinger 1987, Izdebska i Fryderyk 2012).

Obecnie badaniami objęto 5 zębiełków karliczków *Crocidura suaveolens*, rzadko notowanych w Polsce ssaków oraz 5 kretów europejskich *Talpa europaea*. Wszystkie zębiełki pochodziły z Wielkopolski, podczas gdy krety – z Wielkopolski i Pomorza. W celu stwierdzenia obecności roztoczy skórnych, a także określenia ich topografii u żywicieli, pobrano fragmenty skóry z różnych rejonów ciała, które przeanalizowano przy zastosowaniu metody wytrawiania i dekantacji. Ze znalezionych okazów roztoczy wykonywano preparaty permanentne w poliwinylu-laktofenolu.

W skórze badanych ssaków stwierdzono przedstawicieli 3 gatunków z rodziny Demodecidae, w tym wykazany wcześniej tylko z Czech *Demodex foveolator*, swoisty dla zębiełka oraz dwa nieznane dotychczas gatunki, z zębiełka i kreta. Wszystkie wykazywały wyraźne preferencje topograficzne – *D. foveolator* znaleziony został tylko w skórze ogona, podczas gdy *Demodex* sp. zasiedlał u zębiełka owłosioną skórę różnych okolic ciała. Z kolei trzeci gatunek, *Demodex* sp. z kreta występował w okolicach warg. Biorąc pod uwagę różnorodność gatunkową w tym rzędzie ssaków wraz z dużym zróżnicowaniem i wysoką swoistością żywicielską roztoczy skórnych i tkankowych, można przewidywać, że akarofauna ryjówkokszałtnych jest bogatsza. Wymaga to jednak kompleksowych i systematycznych badań z uwzględnieniem rzadkich i lokalnie występujących Soricomorpha. Uzyskane wyniki stanowią zatem istotny przyczynek do rozwoju tej problematyki badawczej.

Słowa kluczowe: Soricomorpha, zębiełek, kret, parazytofauna, nużencowate.

Opracowanie nowej metody leczenia skojarzonego zaburzeń afektywnych w oparciu o neuromodulacyjne działanie selektywnego inhibitora wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI)

Magdalena Cupryś, Jennifer Mytych, Marek Koziorowski, Przemysław Solek

*Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biotechnologii, Katedra Fizjologii i Rozrodu Zwierząt
al. Rejtana 16c, 35-959 Rzeszów*

pp.solek@gmail.com

Depresja to choroba, w przebiegu której dochodzi do zmian neurochemicznych oraz strukturalnych w mózgu. Jest jedną z najczęściej występujących chorób na całym świecie, obejmuje około 1,5 mln osób w Polsce. Depresja ma związek z nieprawidłowym stężeniem neuroprzekazników, które są niezbędne do prawidłowego działania mózgu człowieka. Do najważniejszych i przypuszczalnie najistotniejszych neurotrofin w przebiegu depresji zaliczamy BDNF, CDNF oraz MANF. Niedobór czynników neurotroficznych powoduje nieprawidłowości strukturalne różnych regionów mózgu. Podczas przebiegu zaburzeń depresyjnych dochodzi również do szeregu zmian limbicznych, głównie w hipokampie, regulującym funkcje pamięci oraz nastroj. Farmakoterapia jest jedną z metod leczenia zaburzeń depresyjnych. Dotychczas prowadzone badania wykazały, iż zastosowanie u pacjentów leków przeciwdepresyjnych, o różnych mechanizmach działania, wykazuje ustąpienie objawów choroby.

Celem niniejszej pracy była ocena zmian ekspresji czynników neurotroficznych BDNF, CDNF, MANF oraz białek CREB i GAD 67 zaangażowanych w odpowiedź na leczenie farmakologiczne depresji. Model eksperymentalny stanowiły dwie linie komórkowe *in vitro*: linia mysich komórek hipokampa (HT-22) oraz linia ludzkich komórek glejaka (U-87 MG) traktowane lekiem przeciwdepresyjnym escitalopramem o mechanizmie działania SSRI.

Na podstawie testu MTT zostały wybrane odpowiednie stężenia leku użyte do dalszych badań. Zauważono, że wraz ze wzrostem stężenia leku zmniejszał się poziom aktywności metabolicznej komórek. Wartość ta odpowiadała jednocześnie spadkowi liczby żywych komórek. Wybrane stężenia nie powodowały istotnych zmian w komórkach i charakteryzowały się niską toksycznością (5 μ M, 10 μ M). W komórkach linii HT-22 został zaobserwowany istotny wzrost syntezy wszystkich neurotrofin. Ponadto stężenie leku 5 μ M powodowało wzrost syntezy białka CREB oraz jednocześnie obniżenie syntezy GAD 67 w stosunku do komórek kontrolnych. W komórkach linii U-87 MG obserwowano odwrotną tendencję czyli wraz ze wzrostem stężenia leku spadał poziom syntezy. Odnotowano również znaczny spadek syntezy CREB w badanym zakresie stężeń równocześnie z niewielkim, ale istotnym statystycznie wzrostem syntezy białka GAD 67.

Podsumowując, uzyskane wyniki wykazują pozytywny wpływ stosowania farmakoterapii lekami z grupy SSRI w zaburzeniach depresyjnych. Z punktu widzenia klinicznego, zaproponowanie odpowiedzi na pytanie, która forma terapii ma bardziej korzystny profil działań w leczeniu depresji stanowi wyzwanie dla światowego zdrowia psychicznego.

Słowa kluczowe: zaburzenia afektywne, leki przeciwdepresyjne, terapia, escitalopram, *in vitro*.

Bezpieczeństwo konsumentów i zagrożenia dla środowiska naturalnego związane ze stosowaniem substancji promieniochronnych

Paulina Dąbrowska, Bartosz Wielgomas

*Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny,
Katedra i zakład Toksykologii, Al. Gen. J. Hallera 107, Gdańsk*

paulina_dabrowska@gumed.edu.pl

Filtry promieniochronne, to substancje, które chronią skórę przed szkodliwym działaniem promieniowania ultrafioletowego. Obecnie 27 związków jest dopuszczonych do stosowania w kosmetykach na rynku europejskim w różnych stężeniach. Większość ma budowę organiczną, jedynie dwa – tlenek cynku i tytanu to substancje nieorganiczne, występujące także w postaci nanocząstek.

Powiązano wiele niekorzystnych efektów zdrowotnych z ekspozycją na filtry oraz produkty ich degradacji (także fotodegradacji) lub metabolizmu. Jako składniki kosmetyków, filtry promieniochronne podlegają szeregowi badań, ale publicznie dostępnych danych na ten temat oraz badań biomonitoringowych u ludzi wciąż jest niewiele. Potwierdzono jednak wpływ niektórych z nich na układ enzymatyczny ssaków oraz udowodniono, że przenikają przez barierę skórną i są wykrywane w rutynowych badaniach epidemiologicznych zarówno u dorosłych jak i dzieci¹.

W produktach kosmetycznych filtry występują często w formie mieszanin, aby zwiększyć skuteczność promieniochronną. Z analizy składów około 200 produktów kosmetycznych z polskiego rynku wynika, że najczęściej występują w kombinacji 2 do 3 substancji. Jedynie 17% produktów zawierało w swoim składzie tylko jedną substancję promieniochronną². Ze względu na powszechne stosowanie, związki te często trafiają bezpośrednio do wód powierzchniowych w wyniku spłukiwania ze skóry podczas kąpieli w rzekach, jeziorach czy morzach. Następstwem tego jest znaczny wzrost ich stężenia po okresach zwiększonego nasłonecznienia i sezonach urlopowych³. Ze względu na swoją trwałość oraz kumulację w organizmach żywych, filtry promieniochronne są obecnie uznawane za poważne zanieczyszczenie środowiska naturalnego⁴.

Słowa kluczowe: filtry UV, kosmetyki, zanieczyszczenie środowiska.

¹ Stiefel C, Schwack W. *Photoprotection in changing times - UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects*. Int J Cosmet Sci. 2015 Feb;37(1):2-30.

² Kociałkowska P, Seńcio M, Dąbrowska P, Hinc P, Kimel K, Krefft Z, Wielgomas B. *Rola i bezpieczeństwo stosowania wybranych filtrów promieniochronnych : przegląd literatury I analiza rynku kosmetycznego w Polsce*. Materiały konferencyjne "XXIV Konferencja Naukowa Wydziału Farmaceutycznego z OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego", Gdańsk 2016, s. 94.

³ Kim KY, Ekpeghere KI, Jeong HJ, Oh JE. *Effects of the summer holiday season on UV filter and illicit drug concentrations in the Korean wastewater system and aquatic environment*. Environ Pollut. 2017 Aug;227:587-595.

⁴ Ramos S, Homem V, Alves A, Santos L. *A review of organic UV-filters in wastewater treatment plants*. Environ Int. 2016 Jan;86:24-44.

Charakterystyka molekularna polimerazy DNA faga Tt72

Sebastian Dorawa¹, Magdalena Plotka¹, Anna-Karina Kaczorowska², Joanna Makowska³, Olafur H. Fridjonsson⁴, Gudmundur O. Hreggvidsson⁴, Tadeusz Kaczorowski¹

¹Pracownia Biologii Ekstremofili, Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

²Kolekcja Plazmidów i Drobnoustrojów, Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

³Pracownia Biologicznej Chemii Nieorganicznej, Katedra Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

⁴Matis, Vinlandsleid 12, Reykjavík 113, Islandia

sebastian.dorawa@phdstud.ug.edu.pl

Polimerazy DNA odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu oraz przekazywaniu informacji genetycznej. Katalizują reakcję wydłużania nici DNA przez przyłączanie do jej końca 3' kolejnych komplementarnych deoksyrybonukleotydów. Biorą także udział w procesach naprawy i rekombinacji DNA. Polimerazy DNA są szeroko stosowane w biologii molekularnej, inżynierii genetycznej czy diagnostyce molekularnej. W niniejszej pracy przedstawiamy molekularną charakterystykę polimerazy DNA faga Tt72 (Myoviridae), który infekuje termofilną bakterię *Thermus thermophilus* MAT72.

Gen kodujący polimerazę DNA Tt72 klonowano i poddano nadekspresji w komórkach *Escherichia coli* BL21(DE3)[pRARE]. Gen *polTt72* składa się z 2112 nukleotydów. Łączna zawartość procentowa G+C w obrębie genu wynosi 31,58%, czyli znacznie mniej niż zawartość G+C w genomie bakterii *Thermus thermophilus* (69,49%). Gen *polA* Tt72 koduje białko o masie cząsteczkowej 80,477 kDa (703 aa). Analiza porównawcza sekwencji aminokwasowej białka wykazała obecność domeny odpowiedzialnej za polimeryzację DNA oraz domenę o aktywności 3'-5'. Polimeraza DNA Tt72 została oczyszczona do stanu jednorodności elektroforetycznej oraz katalitycznej za pomocą trzy etapowego procesu oczyszczania, a następnie poddana charakterystyce biochemicznej. Aktywność białka zbadano przez pomiar inkorporacji znakowanych radioaktywnie nukleotydów. Optymalną aktywność polimerazy DNA Tt72 stwierdzono w 55°C, pH 8,5, 25 mM KCl i 0,5 mM Mg²⁺. Stabilność termiczną określono za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej. Analiza krzywej termicznej polimerazy DNA Tt72 wykazała $T_m = 74.57 \pm 0.16^\circ\text{C}$.

Słowa kluczowe: polimeraza DNA, *Thermus thermophilus*, bakteriofag.

Indukcja pęknięć dwuniciowych w komórkach czerniaka po zastosowaniu inhibitora białka PARP1 samodzielnie lub w kombinacji z kwasem walproinowym i związkiem alkilującym

Malgorzata Drzewiecka¹, Tomasz Śliwiński¹

¹*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Genetyki Molekularnej Instytutu Biochemii, Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

mal.drzewiecka@gmail.com

Unikalne cechy nowotworów, które mogą być wykorzystywane przez ukierunkowane terapie, są kluczowym tematem obecnych badań nad rakiem. Jednym z nowatorskich podejść w eliminowaniu komórek nowotworowych jest wykorzystanie zjawiska syntetycznej letalności. Jest ono definiowane jako genetyczna kombinacja mutacji w dwu, bądź więcej genach prowadząca do śmierci komórki, podczas gdy mutacja w każdym z genów z osobna nie powoduje tego efektu. W tym schemacie w komórce utrata genu uczestniczącego w ważnym dla tej komórki procesie metabolicznym, pozwalającym na jej przeżycie jest kompensowana przez działanie innego genu uczestniczącego w szlaku alternatywnym dla tego procesu. W komórce nowotworowej, gdzie utrata jednego z tych genów jest wielce prawdopodobna ze względu na ogrom różnego rodzaju rearanżacji i zmian w genomie tych komórek powoduje, że jej przeżycie zależy od tego alternatywnego genu. Wyłączenie alternatywnego genu przez zastosowanie np. inhibitora jest celem dla nowatorskich terapii przeciwnowotworowych. Najlepszym obiektem do manipulacji za pomocą syntetycznej letalności są białka naprawy DNA, które odpowiadają za ochronę informacji genetycznej w każdej komórce.

Celem niniejszej pracy było porównanie poziomu ekspresji genów naprawy pęknięć dwuniciowych pomiędzy tkanką prawidłową a linią czerniaka wyprowadzoną od pacjentów oraz sprawdzenie odpowiedzi komórek ludzkiej linii czerniaka DMBC11 po zastosowaniu inhibitorów BMN, VPA oraz związku alkilującego DTIC a także określenie zależności pomiędzy poziomem przeżywalności komórek czerniaka po zastosowaniu różnych kombinacji związków a otrzymanym profilem ekspresji genów naprawy DNA.

Na podstawie przeprowadzonych badań otrzymaliśmy wyniki świadczące o obniżonym w stosunku do komórek kontrolnych poziomie ekspresji genów naprawy pęknięć dwuniciowych. Po przeanalizowaniu przeżywalności komórek czerniaka po zastosowaniu inhibitorów i związku cytostatycznego, jaki stanowiła dakarbazyna, można wnioskować, że określony wzór poziomu ekspresji genów naprawy pęknięć dwuniciowych w linii komórkowej czerniaka był skorelowany osobniczo z syntetyczną letalnością wywołaną przez zastosowane związki chemiczne.

Słowa kluczowe: syntetyczna letalność, naprawa DNA, czerniak, terapia przeciwnowotworowa.

Zmiany w wybranych parametrach układu białokrwinkowego, a charakterystyka behawioralna zwierząt w szczurzym modelu sporadycznej postaci choroby Alzheimer

**Joanna Dunacka, Grzegorz Świątek, Justyna Marchewka, Marcin Wyroślak, Mariola
Gralek, Wojciech Glac, Paweł Matulewicz, Danuta Wrona**

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, ul. Wita Stwosza 59, 80-308
Gdańsk, Polska*

joanna.dunacka@phdstud.ug.edu.pl

Cel pracy. Ocena populacji i subpopulacji obwodowych leukocytów w 45 i 90 dniu po indukcji spontanicznej postaci choroby Alzheimer (sAD) u szczurów o zróżnicowanej wrażliwości na stres, mierzonej poziomem spontanicznej aktywności lokomotorycznej (wysoko- (HR) i nisko (LR) aktywne ruchowo).

Materiał i metody. Do badań wykorzystano samce stada niekrewniaczego szczurów Wistar (n=20), które przed rozpoczęciem eksperymentu były przyzwyczajane do obecności eksperymentatora przez 14 dni (handling). Następnie wykonano test nowości (aktometr, godz. 16-18), który pozwolił zróżnicować osobniki pod względem aktywności lokomotorycznej na bazie mediany dla ruchów horyzontalnych na wysoko-(HR) oraz nisko-aktywne ruchowo (LR). U zwierząt HR i LR indukowano poprzez dokomorową iniekcję streptozotocyny (i.c.v.-STZ) model sAD lub kontrolę (VEH). W 45 oraz 90 dniu po mikroiniekcji pobrano próbkę krwi obwodowej i określono liczbę leukocytów oraz ich subpopulacji.

Wyniki. Przy niezmienionej ogólnej liczbie leukocytów podczas rozwoju sAD, zaobserwowano limfopenię ($p<0,05$) w 90 dniu po indukcji sAD ($4280\pm1421,97$) w porównaniu do dnia 45 ($5850\pm1380,94$), przy czym efekt ten był widoczny szczególnie u zwierząt LR (dzień 90: 3450 ± 50 ; dzień 45: $5400\pm1442,22$, ($p<0,05$). Liczba monocytów w 45 dniu po podaniu STZ ($900\pm303,32$) była istotnie wyższa ($p<0,05$) w porównaniu do zwierząt z grupy VEH ($562,5\pm277,42$), zwłaszcza u zwierząt STZ LR (1300 ± 300) w porównaniu do VEH LR ($625\pm298,61$). W 45 dniu rozwoju sAD obserwowano istotny wpływ różnic behawioralnych na liczbę granulocytów, przejawiający się istotnie ($p<0,05$) wyższą liczbą tych komórek u zwierząt LR (1050 ± 150), w porównaniu do zwierząt HR (600 ± 200). W dniu 90 po indukcji sAD, u osobników HR zaobserwowano istotną ($p<0,05$) granulopenię (500 ± 100) w porównaniu do zwierząt kontrolnych (1400 ± 200). W 90 dniu po mikroiniekcji, szczury HR z grupy kontrolnej wykazywały wyższą ($p<0,05$) liczbę granulocytów (1400 ± 200) niż w dniu 45 ($850\pm173,21$), natomiast u osobników LR (400 ± 200) obserwowano obniżoną liczbę tych krwinek w porównaniu z 45 dniem (775 ± 150). W dniu 90 notowano istotny wpływ HR vs. LR w grupie VEH, z istotnie wyższą liczbą granulocytów u osobników HR w odniesieniu do zwierząt LR (HR: 1400 ± 200 ; LR: 400 ± 200).

Wnioski. Zmiany w dystrybucji subpopulacji obwodowych leukocytów zależą od czasu rozwoju choroby: w porównaniu z dniem 45 od indukcji modelu sAD, w 90 dniu obserwuje się limfopenię, zwłaszcza u zwierząt LR, granulopenię u zwierząt HR oraz monocytosę u zwierząt LR. Wpływ zróżnicowania behawioralnego (HR vs. LR) w modelu sAD przejawia się istotnie niższą liczbą obwodowych granulocytów u zwierząt HR w porównaniu z LR, w 45 dniu po indukcji choroby.

Słowa kluczowe: choroba Alzheimer, streptozotocyna, leukocyty, szczury.

Wpływ amfetaminy na układ odpornościowy

Arkadiusz Działoszewski, Karolina Krajewska, Wojciech Glac

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka ul. Wita Stwosza 59,
80-308 Gdańsk*

arkadiusz.dzialoszewski@phdstud.ug.edu.pl

Przesłanki: Mimo rosnącej liczby prac na temat wpływu amfetaminy (AMPH) na odporność, mechanizm tego oddziaływania nie został dotychczas zbadany. Jedną z możliwości przybliżenia tego mechanizmu wydaje się być zbadanie wpływu AMPH na wybrane parametry układu odpornościowego.

Cel: Głównym celem niniejszej pracy była ocena wpływu jednorazowej iniekcji AMPH na produkcję cytokin prozapalnych (IFN- γ) oraz przeciwzapalnych (IL-4) przez limfocyty śledziony u szczurów. Dodatkowo oceniano wpływ AMPH na liczbę komórek poszczególnych populacji i subpopulacji limfocytów w śledzionie, a także aktywności cytotoksycznej komórek NK (ACNK) w celu powiązania tych zmian ze zmianami produkcji cytokin.

Metodyka i układ doświadczeń: Doświadczenie zostało przeprowadzone na 15 szczurach, samcach szczepu Wistar, które zostały losowo podzielone na dwie grupy: (1) szczury otrzymujące jednorazową iniekcję AMPH w dawce 1 mg/ml/kg m.c. oraz (2) szczury otrzymujące jednorazową iniekcję soli fizjologicznej w objętości 1 ml/kg m.c. Godzinę po ostatniej iniekcji została pobrana śledziona oraz krew przez punkcje serca. W każdej próbie oznaczono ogólną liczbę leukocytów i liczbę limfocytów, granulocytów i monocytów (analyzer hematologiczny) oraz liczbę limfocytów T, limfocytów B i komórek NK oraz limfocytów Th i Tc (cytometria przepływowa), a także aktywność cytotoksyczną komórek NK (ACNK) (test cytotoksyczności z użyciem ^{51}Cr). Przy pomocy testu ELISA zostały oznaczone stężenia IFN- γ i IL-4 produkowanych przez limfocyty śledziony aktywowane konkanawaliną A. Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o jednoczynnikową analizę wariancji.

Główne wyniki: W grupie zwierząt otrzymujących AMPH produkcja IFN- γ przez aktywowane limfocyty śledziony uległa istotnemu obniżeniu w porównaniu do grupy zwierząt, która otrzymywała SAL, natomiast w przypadku IL-4 odnotowano istotny wzrost produkcji. Jednorazowa iniekcja AMPH wywołała efekty zarówno immunosupresyjne, jak i immunostymulacyjne. We krwi obwodowej szczurów otrzymujących AMPH zaobserwowano istotne statystycznie obniżenie ogólnej liczby leukocytów i limfocytów oraz obniżenie liczby limfocytów T i limfocytów Th. Z drugiej strony obserwowano istotny wzrost liczby monocytów, a także ACNK.

Wnioski: (1) AMPH wywołuje supresję produkcji cytokiny prozapalnej (IFN- γ) z jednoczesnym pobudzeniem produkcji cytokiny przeciwzapalnej (IL-4) przez aktywowane mitogenem limfocyty śledziony. (2) AMPH wywołuje efekty immunosupresyjne (obniżenie liczby leukocytów, ogólnej liczby limfocytów oraz limfocytów T, w tym Th) efekty immunostymulacyjne (wzrost liczby i ACNK).

Słowa kluczowe: szczury, amfetamina, układ odpornościowy, cytokiny.

Wykorzystanie modelu komórkowego *in vitro* do oceny neurobiologicznych mechanizmów działania leku blokującego receptory adrenergiczne i serotoninergiczne (NaSSA)

Joanna Fraczek, Jennifer Mytych, Marek Koziorowski, Przemysław Solek*

Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biotechnologii, Katedra Fizjologii i Rozrodu Zwierząt
al. Rejtana 16c, 35-959 Rzeszów

pp.solek@gmail.com

Depresja jest coraz większym problem zdrowotnym występującym na świecie. Szacuje się, że z powodów zaburzeń depresyjnych cierpi około 350 milionów osób. Choroba związana jest z zaburzeniami nastroju, które wymagają odpowiedniego leczenia. W przypadku jego braku lub niewłaściwego podejścia terapeutycznego często może prowadzić nawet do śmierci osoby chorującej. Depresja związana jest z nieprawidłowym stężeniem neuroprzekaźników odpowiedzialnych za prawidłowe funkcjonowanie mózgu. Czynniki neurotroficzne są ważną grupą białek regulujących powstawanie i śmierć neuronów. Obecnie w terapii stosuje się leki przeciwdepresyjne o mechanizmach działania powodujących przywrócenie prawidłowego stężenia neurotrofin w mózgu.

Zasadniczym celem naukowym niniejszej pracy była ocena zmian ekspresji oraz syntezy czynników neurotroficznych BDNF, MANF i CDFN na skutek podawania nowoczesnego leku przeciwdepresyjnego mirtazapiny. Materiał doświadczalny stanowiła hodowla *in vitro* mysich neuronów hipokampa HT-22 oraz ludzka linia komórkowa glejaka U-87 MG.

Prowadzone badania obejmowały ocenę morfologiczną komórek traktowanych lekiem, test MTT określający odpowiednie stężenie użyte do dalszych badań, analizę ekspresji genów na poziomie mRNA techniką real-time PCR oraz analizę białek metodą Western blot. Pierwsze doświadczenia miały na celu wybór odpowiedniej dawki leku do dalszych badań. W tym celu wykonano test MTT, który wykazał że wraz ze wzrostem stężenia mirtazapiny zmniejsza się aktywność metaboliczna komórek. Do dalszych części eksperymentu użyto lek o stężeniach 1 μM oraz 5 μM, ponieważ te stężenia wykazywały najmniejszą toksyczność względem komórek. Podczas oceny ekspresji genów czynników neurotroficznych zaobserwowaliśmy,

że poziom ekspresji badanych genów jest obniżony w stosunku do kontroli w przypadku linii komórkowej HT-22 w badanych stężeniach roboczych. Z kolei w przypadku linii U-87 MG ekspresja białka BDNF była niewiele mniejsza w porównaniu do grupy kontrolnej. Odnotowaliśmy również obniżenie poziomu syntezy dwóch pozostałych czynników neurotroficznych CDFN i MANF we wszystkich układach eksperymentalnych.

Podsumowując, uzyskane wyniki umożliwiają lepsze zrozumienie patofizjologii depresji oraz neuromechanizmów działania leków przeciwdepresyjnych. Opracowanie nowych podejść terapeutycznych ukierunkowanych na zwiększenie skuteczności lub tolerancji już istniejących cząstek jest bardzo istotne w terapii chorób afektywnych umożliwiając rozwój produktów leczniczych o skuteczniejszym profilu działania.

Słowa kluczowe: depresja , terapia antydepresyjna, mirtazapina, *in vitro*, czynniki neurotroficzne.

Stanowisko storczykowatych w Polsce Północnej we wczesnym holocenie

Ewa Gołaszewska¹, Joanna Gadziszewska^{1,2}, Małgorzata Latalowa¹

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ekologii Roślin, Pracownia Paleoekologii i Archeobotaniki, ul. Wita Stwosza 59 80-308 Gdańsk

²Akademia Pomorska w Słupsku, Zakład Geoekologii i Geoinformacji, ul. Partyzantów 27, 76-200 Słupsk

ewa.golaszewska@ug.edu.pl

Droga i tempo rozprzestrzeniania się wielu gatunków roślin z ich refugium glacialnych po okresie ostatniego zlodowacenia jest jednym z dynamicznie rozwijających się kierunków badań w fitogeografii. W badaniach tych wykorzystuje się szereg metod dostarczających argumenty pośrednie do budowania hipotez w tym zakresie. Hipotezy te są najpełniej weryfikowane przez znaleziska szczątków kopalnych. Jednak w przypadku wielu grup roślin dane paleobotaniczne są zbyt fragmentaryczne lub brak ich zupełnie. Należy do nich rodzina Orchidaceae. Dotychczas sporadycznie był notowany pyłek, natomiast brak było bezspornych znalezisk nasion storczykowatych. Tym bardziej interesująca jest liczna reprezentacja dobrze zachowanych nasion *Epipactis palustris* i *Dactylorhiza* spp. we wczesnoholoceńskich osadach na stanowisku Wrześnica w dolinie Wieprzy, w północnej Polsce.

Celem pracy było scharakteryzowanie lokalnych ekosystemów wodno-bagiennych w okresie występowania populacji storczykowatych na badanym stanowisku oraz wskazanie czynników, które umożliwiły akumulację i fosylizację ich nasion w osadach limnicznych. Podjęto również próbę wyjaśnienia dotychczasowego braku nasion Orchidaceae w stanie kopalnym oraz wskazano na potencjalne możliwości odnalezienia ich na kolejnych stanowiskach.

Miejsce badań położone jest w dolinie Wieprzy, na Pomorzu Środkowym. Przedmiotem analiz jest fragment osadów biogenicznych (773-574 cm) datowanych na okres ok. 11 200 – 8000 lat temu. Materiał został przebadany metodami paleobotanicznymi – wykonano analizę makroszczątków, analizę palinologiczną obejmującą również mikrofosylia pozapyłkowe (NPP's) oraz analizę osadów pod kątem strat na prażeniu (LOI). Wyniki tych analiz zostały wsparte metodami numerycznymi (PCA). Oznaczenia taksonomiczne oparto na podstawie kluczy i atlasów oraz materiałów porównawczych zgromadzonych w kolekcji karpologicznej w Pracowni Paleoekologii i Archeobotaniki UG. W oznaczeniach nasion Orchidaceae brano pod uwagę zarówno cechy makro- jak i mikromorfologiczne.

Liczne nasiona *Epipactis palustris* i *Dactylorhiza* spp. (kompleks *D. incarnata/maculata*) dokumentują funkcjonowanie dużej i stabilnej populacji w obrębie stanowiska przez minimum 2000 lat. Na badanym stanowisku nasiona storczyków współwystępowały ze szczątkami innych organizmów, których cechy morfologiczne i anatomiczne umożliwiają unoszenie się ich na powierzchni wody. To sugeruje, że prawdopodobnym czynnikiem, który doprowadził do uformowania się takiego zespołu szczątków kopalnych były sezonowe podtopienia doliny rzecznej.

Słowa kluczowe: *Epipactis palustris*, kompleks *Dactylorhiza incarnata/maculata*, paleoekologia, wczesny holocen, Orchidaceae.

Ocena zdolności dekoloryzacji barwników przemysłowych przez grzyb strzępkowy *Myrothecium* sp. IM 6443

Aleksandra Góralczyk-Bińkowska, Anna Jasińska, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-231 Łódź

aleksandra.goralczyk@biol.uni.lodz.pl

Z uwagi na powszechne wykorzystanie barwników w przemyśle, dostawać się one mogą do środowiska, co toksycznie oddziałuje na ludzi i organizmy wodne. Szereg barwników przemysłowych eliminowany jest efektywnie przy udziale drobnoustrojowych enzymów utleniająco-redukujących takich jak lakazy, peroksydazy czy reduktazy.

Celem niniejszej pracy była ocena zdolności grzyba strzępkowego *Myrothecium* sp. IM 6443 do wzrostu w obecności barwników przemysłowych i ich dekoloryzacji.

W tym celu do płynnego podłoża Sabouraud, zaszczerpionego 10% inokulum, dodawano oddzielne roztwory barwników: Indigo Carmine, Sunset Yellow FCF, Reactive Orange 16 i Acid Red 27 (Sigma-Aldrich) w stężeniu końcowym 20 mg/L. Próby inkubowano na wytrząsarce obrotowej (120 rpm) w temperaturze 28°C. W określonych odstępach czasu oznaczano spektrofotometrycznie poziom dekoloryzacji barwników oraz aktywność zewnątrzkomórkowej lakazy w płynie pochowalnym wobec ABTS. Ponadto ustalono kinetykę wzrostu grzybnicy oraz wpływ dodatku mediatorów na stopień dekoloryzacji.

Badany drobnoustrój wykazywał zdolność do wzrostu w obecności wszystkich wykorzystanych w pracy barwników oraz produkcji lakazy. W 96 godzinie hodowli odnotowano 30% dekoloryzację Indigo Carmine. Co więcej suplementacja mediatorami zwiększyła efektywność dekoloryzacji, gdyż w wyniku dodatku kwasu kofeinowego (100 µM) już po 24 godzinach hodowli zaobserwowano 40% dekoloryzację IC. Ponadto wykazano, iż oprócz lakaz, w procesy dekoloryzacji zaangażowane mogą być również monoksygenazy cytochromu P-450.

Uzyskane wyniki podkreślają potencjał grzyba strzępkowego *Myrothecium* sp. IM 6443 do dekoloryzacji barwników przemysłowych. Kolejne etapy badań obejmować będą ustalenie szlaków biodegradacji barwników oraz ocenę toksyczności produktów ich rozkładu.

Słowa kluczowe: barwniki, dekoloryzacja, lakaza, *Myrothecium*.

Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki w Krakowie przyznanych na podstawie umowy nr UMO 2017/27/N/NZ9/02160.

Genom *Nostoc edaphicum* CCNP1411 – analiza z wykorzystaniem metod metagenomicznych.

**Michał Grabski¹, Sylwia Bloch¹, Bożena Nejman-Faleńczyk¹, Anna Toruńska-Sitarz²,
Hanna Mazur-Marzec², Grzegorz Węgrzyn¹**

¹Wydział Biologii Molekularnej, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

²Zakład Biotechnologii Morskiej, Uniwersytet Gdański, Al. Marszałka Józefa Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

michal.grabski@phdstud.ug.edu.pl

Cyjanobakterie z rodzaju *Nostoc* są w stanie wchodzić w interakcję z różnorodnymi organizmami. Ta zdolność stanowi poważne ograniczenie dla biochemicznej, jak również genetycznej charakterystyki poszczególnych szczepów należących do wyżej wymienionego rodzaju. Symbionty, którymi dla cyjanobakterii są między innymi bakterie i archeony, są w stanie warunkować poprawny rozwój hodowli, stanowiąc tym samym przeszkodę dla uzyskania akseniczniczych kultur.

Na przestrzeni lat przedstawiono szerokie spektrum metod oczyszczania kultur cyjanobakterii. *Nostoc edaphicum* CCNP1411 wyizolowany z przybrzeżnych wód zatoki Gdańskiej, okazał się oporny na szereg obranych strategii mających na celu rozdział „zanieczyszczenia” od celowanego szczepu. Brak możliwości uzyskania aksenicznej hodowli nie pozwolił na przeprowadzenie badań nad genomem tego szczepu. Jednakże ze względu na zidentyfikowane w ekstrakcie związki należące do nostocyklopeptydów oraz cyjanopeptolin, podjęto próbę opisanie metagenomu współtworzonego przez analizowany szczep. Częsteczki te są syntetyzowane poza rybosomami przez duże wielomodułowe systemy enzymatyczne występujące u cyjanobakterii. Zaangażowane w szlak biosyntezy nierybosomalne syntetazy peptydowe (NRPS), bądź łączone systemy poliketydowe (PKS)-NRPS, produkują peptydy o unikatowych kombinacjach aminokwasów, specyficzne dla danego rodzaju, gatunku a nawet szczepu. Te unikatowe strukturalnie, aktywne biologicznie cząsteczki prezentują wysoki potencjał farmakologiczny, ukazując cyjanobakterie jako potencjalny rezerwuuar naturalnych związków służących bezpośrednio jako leki, bądź pośrednio jako podstawa do syntezy bioaktywnych cząsteczek.

Metabolity wtórne produkowane przez *Nostoc edaphicum* CCNP1411, skłoniły nas do poznania klastrów genów zaangażowanych w ich syntezę. Nasze badania ze względu na wysoce problematyczny w hodowli szczep, skupiają się na inkorporacji metod metagenomicznych, celem manualnego odtworzenia poszczególnych składowych z sekwencjonowania NGS nie aksenicznej hodowli cyjanobakterii. Prowadzona analiza pozwoliła nam na wyselekcjonowanie i złożenie sekwencji *de novo*. W celu najwierniejszego odtworzenia genomów zawartych w próbce, przeprowadzono hybrydowe złożenie łącząc krótkie odczyty pochodzące z platformy Illumina z długimi odczytami uzyskanymi metodami sekwencjonowania trzeciej generacji. Składanie i selekcja kolejnych frakcji łączących się kontigów pozwala na uzyskanie obrazu organizmów wchodzących w skład analizowanego metagenomu.

Słowa kluczowe: metagenomika, cyjanobakterie, sekwencjonowanie.

Zwiększenie cytotoksycznego działania olaparibu przez inhibitory kinazy ATR i CHK1

Patrycja Gralewska, Arkadiusz Gajek, Agnieszka Marczak, Aneta Rogalska

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Medycznej, ul. Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

patrycja.gralewska@unilodz.eu

Rak jajnika charakteryzuje się najwyższą śmiertelnością spośród wszystkich nowotworów ginekologicznych. U większości pacjentek diagnozowany jest w późnych stadiach zaawansowania klinicznego. Chemioterapia oparta na karboplatynie i taksanach jest powszechnie stosowana, jednak częste nawroty choroby i wciąż wysoka śmiertelność wśród pacjentek wymusza potrzebę poszukiwania kolejnych skutecznych terapii. Inhibitor polimerazy poli (ADP-rybozy), (PARPi, AZD2281, olaparib), hamując aktywność PARP, pozwala na akumulację pęknięć jednoniciowych w DNA, co sprzyja powstawaniu uszkodzeń dwuniciowych. Główną rolę w aktywacji szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA, który prowadzi do uruchomienia punktów kontroli cyklu komórkowego i zatrzymania podziałów, odgrywa należąca do rodziny PIKK (ang. phosphatidylinositol 3-kinase-related kinase) kinaza ATR (Ataxia Telangiectasia and Rad3-related protein), która następnie aktywuje kinazę CHK1 (checkpoint kinase 1). Dodatkowo, kinaza ATR odpowiedzialna jest za fosforylację m.in. histonu H2AX, a także białek: BRCA1 i BRCA2 (breast cancer susceptibility gene 1 and 2).

Celem badań było określenie cytotoksyczności inhibitorów kinazy ATR (AZD6738) i CHK1 (MK8776) w skojarzeniu z inhibitorem PARP. Badania prowadzone były na linii SKOV3 (human ovarian adenocarcinoma, II stopień zaawansowania klinicznego) i OV90 (human ovarian papillary serous adenocarcinoma, III stopień zaawansowania klinicznego). Cytotoksyczność badanych związków została oznaczona testem MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide).

Inhibitor białka PARP był bardziej cytotoksyczny względem komórek linii SKOV-3 niż komórek linii OV-90. Natomiast odwrotną zależność obserwowano po działaniu AZD6738 i MK8776. Wstępne badania sugerują, że jednoczesne podanie PARPi z ATRi lub CHK1i może mieć silne działanie obniżające przeżywalność komórek raka jajnika. Obserwowano synergistyczne działanie związków. Jednoczesne podanie badanych związków w tych samych dawkach, skutkowało znaczącym wzrostem cytotoksyczności (30-40%) wobec komórek raka jajnika, w porównaniu do efektu obserwowanego dla inhibitorów podawanych pojedynczo.

Słowa kluczowe: cytotoksyczność, rak jajnika, olaparib, inhibitor kinazy ATR, inhibitor kinazy CHK1.

Wpływ zasolenia na rozwój jaj, sukces wylęgu, szybkość wzrostu i śmiertelność larw szczupaka (*Esox lucius*)

Martyna Greszkiewicz^{1,2}, Dariusz P. Fey², Michał Zimak³

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Instytut Oceanografii,
al. Marszałka Józefa Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

²Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Oceanografii Rybackiej i Ekologii Morza,
ul. Kollątaja 1, 81-332 Gdynia

³Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Logistyki i Monitoringu,
ul. Kollątaja 1, 81-332 Gdynia

mgreszkiewicz@mir.gdynia.pl

Szczupak (*Esox lucius*) jest jednym z najcenniejszych gatunków ryb drapieżnych w gospodarce rybacko-wędkarskiej. Dotyczy to zarówno jezior, rzek, jak i strefy przybrzeżnej Morza Bałtyckiego. Ponadto szczupak pełni ważną rolę ekologiczną w regulacji liczebności populacji mniejszych gatunków ryb. Pomimo, że szczupak nadal jest obecny w wodach przybrzeżnych Morza Bałtyckiego, jego liczebność od lat 90-tych drastycznie spadła. Naturalne populacje tego gatunku co roku są wspierane poprzez zarybianie niektórych akwenów narybkiem pochodzącym z wylęgarni. Pojawia się pytanie, czy może dojść do skutecznego rozrodu szczupaka w wodach słonawych, a także, jakie są szanse przetrwania oraz tempo wzrostu larw pochodzących z rozrodu w słodkich wodach ujść rzek, jednak imigrujących do przybrzeżnych wód słonawych. Nie mniej istotne jest pytanie o przeżywalność i tempo wzrostu pochodzących ze słodkowodnej wylęgarni larw wpuszczanych bezpośrednio do zasolonych wód przybrzeżnych. W prezentowanej pracy, w kontekście powyższych pytań, oceniano w warunkach eksperymentalnych wpływ zasolenia wody na rozwój jaj, sukces wylęgu, tempo wzrostu i śmiertelność larw szczupaków - zasolenie: 0, 4 i 7 PSU; temperatura była taka sama we wszystkich wariantach zasolenia: 8°C (podczas rozwoju jaj), 9-10°C (w fazie żółtka) i 11-15°C (po absorpcji woreczka żółtkowego). Zastosowano trzy powtórzenia dla każdego z testowanych wartości zasolenia, zarówno podczas badań stadiów embrionalnych jak i larwalnych. Stwierdzono, że główną przeszkodą dla rozwoju ikry szczupaka w wodzie słonej jest nieskuteczne zapłodnienie. Jeśli dojdzie do zapłodnienia (w wodzie słodkiej), dalszy rozwój ikry w wodzie słonej przebiega prawidłowo, zarówno w 4 jak i 7 PSU. Jednocześnie zaobserwowano negatywny wpływ zasolenia na przeżywalność larw oraz ich tempo wzrostu.

Słowa kluczowe: szczupak, zasolenie, wylęg, larwy ryb, tempo wzrostu.

Kanibalizm wczesnych stadiów rozwojowych szczupaka (*Esox lucius*)

Martyna Greszkiewicz^{1,2}, Dariusz P. Fey²

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Instytut Oceanografii,
al. Marszałka Józefa Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

²Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Oceanografii Rybackiej i Ekologii Morza,
ul. Kollątaja 1, 81-332 Gdynia

mgreszkiewicz@mir.gdynia.pl

Kanibalizm jest jednym z czynników determinujących śmiertelność w stadiach larwalnych i młodocianych u drapieżnych gatunków ryb. Wyniki badań prowadzonych w warunkach eksperymentalnych przez 45 dni po wykluciu (days post hatching, dph) (SL: 9–27 mm) potwierdziły, że kanibalizm może być istotnym czynnikiem ograniczającym przetrwanie wczesnych stadiów rozwojowych szczupaka *Esox lucius*. Czynnikiem ograniczającym kanibalizm u tego gatunku jest wielkość osobnika poniżej 13 mm (5 dph w 22°C), obecność woreczka żółtkowego i temperatura wody zbliżona do 10°C. Zjawiska kanibalizmu nie obserwowano u ryb hodowanych w temperaturze 10°C, mimo że ryby osiągnęły rozmiar przekraczający 18 mm. Stosunek liczby ofiar do wielkości drapieżnika wahał się od średnio 95% dla larw 13 mm do 80% dla larw 27 mm, przy średniej dla wszystkich osobników 87%. Najmniejsza różnica wielkości między drapieżnikiem a ofiarą wynosiła zaledwie 0,2 mm. Taka mała różnica (około 1,3%) była widoczna zarówno na początkowych etapach występowania zjawiska kanibalizmu (np. 5 dph, drapieżnik 13 mm), jak i na późniejszych etapach (np. 14 dph, drapieżnik 18,4 mm). Intensywność ataków kanibalistycznych zależała od temperatury (przy tym samym zagęszczeniu i dla tej samej wielkości larw) z najbardziej intensywnym kanibalizmem w 22°C, najmniej intensywnym w 15°C i brakiem kanibalizmu w 10°C. Tempo wzrostu larw w obrębie tej samej kohorty (tj. zbiornika) było znacznie wyższe w przypadku kanibali niż w przypadku ofiary: w 22°C (0,57 mm/d dla kanibali; 0,32 mm/d dla zdobyczy) i w 15°C (0,55 dla kanibali; 0,43 mm/d dla zdobyczy). Asymetria (ang. Fluctuating asymmetry) we wszystkich trzech analizowanych parametrach wielkości otolitu (powierzchnia, szerokość, długość) była wyższa u ofiar niż u kanibali. Różnice te były jednak nieistotne statystycznie.

Słowa kluczowe: kanibalizm, szczupak, larwy ryb, temperatura, otolity.

Dynamika populacji naparstnicy purpurowej (*Digitalis purpurea* L.) poza jej pierwotnym zasięgiem na przykładzie poręby w Nadleśnictwie Strzebielino (Polska Północna)

Anna Gruchała-Węsierska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Pracownia Geobotaniki i Ochrony Przyrody, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

amm.kuczynska@gamil.com

Naparstnica purpurowa (*Digitalis purpurea* L.) jest rośliną porębową, powszechnie uprawianą, która z łatwością dziczeje i rozprzestrzenia się. Pierwotny zasięg jej występowania obejmuje południowo-zachodnią i zachodnią Europę. Jednakże coraz częściej notowana jest z Środkowowschodniej Europy, w tym również w Polsce, gdzie uznawana jest za lokalnie inwazyjną. Jest to roślina dwuletnia, która w pierwszym roku wytwarza rozetę liściową, a w drugim zakwita i owocuje. Jednak w niesprzyjających warunkach, zwłaszcza w przypadku wystąpienia przymrozków lub suszy, może kolejne dwa, trzy lata przeczekać w postaci rozety, a następnie zakwitnąć. Przeciętnie okazy *D. purpurea* wytwarzają ok. 85 tys. bardzo drobnych nasion, które rozsiewane są przez wiatr. Odpowiednio do wielkości nasion, również siewki są bardzo małe, a ich początkowy rozwój jest stosunkowo powolny.

Celem niniejszych badań było określenie organizacji przestrzennej oraz dynamiki populacji naparstnicy purpurowej poza jej naturalnym zasięgiem. Badania prowadzone były na porębie w Nadleśnictwie Strzebielino, leśnictwie Godętowo w oddz. 186c. W areale występowania populacji *D. purpurea* wyznaczono losowo trzy stałe powierzchnie w kształcie kwadratów o boku 2m każda, które oznaczono jako P₁, P₂ i P₃. W obrębie powierzchni badawczych kartowano wszystkie osobniki naparstnicy purpurowej z rozróżnieniem ich stanów wiekowych (rozwojowych). Mapowanie osobników przeprowadzono przy użyciu karty o powierzchni 1m² podzielonej na mniejsze kwadraty (25 x 25 cm) oraz przy użyciu taśmy mierniczej. Lokalizację poszczególnych okazów naparstnicy purpurowej określano z dokładnością do 1cm. Zbiór danych na powierzchniach badawczych prowadzony był w trzech kolejnych sezonach wegetacyjnych (2017-2019) i obejmował trzy okresy (drugą połowę maja, drugą połowę lipca oraz koniec września). W programie CorelDRAW x7 sporządzono mapy organizacji przestrzennej *D. purpurea*.

Uzyskane wyniki wskazują, że osobniki naparstnicy purpurowej poza pierwotnym zasięgiem są na ogół dwuletnie, jednakże w postaci rozety mogą przetrwać dłuższy okres czasu. Ponadto kiełkowanie nasion *D. purpurea* następuje w dwóch kohortach jesiennej oraz wiosennej, jednakże śmiertelność siewek jest bardzo duża (na poziomie ok. 94%).

Słowa kluczowe: gatunek ekspansywny, kenofit, stałe powierzchnie, organizacja przestrzenna.

Stężenie wanadu (V) w łożysku, błonie płodowej i pępowinie pochodzących z ciąży pojedynczych

Konrad Grzeszczak¹, Karolina Kot¹, Patrycja Kupnicka², Karolina Rogulska³

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biochemii, al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

³ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

konrad.grzeszczak@pum.edu.pl

Wanad (V) występuje powszechnie w środowisku (glebie, wodzie i powietrzu). W organizmie człowieka pierwiastek ten występuje we wszystkich tkankach, szczególnie w kościach, płucach, wątrobie, śledzionie i nerkach. Całkowitą zawartość V szacuje się na około 1 mg, a dzienne zapotrzebowanie na ten pierwiastek wynosi około 10 µg. Głównym źródłem V są oleje roślinne, orzechy oraz pełnoziarniste pieczywo. Wanad bierze udział w przemianach lipidowych i cholesterolu. Dodatkowo uczestniczy on w utlenianiu glukozy i syntezie glikogenu w wątrobie, a także wpływa na powstawanie tkanki chrzęstnej oraz kostnej. Nadmiar V ma negatywny wpływ na rozrodczość, w tym na zmniejszoną płodność, a także może powodować wcześniactwo oraz działa teratogennie.

Celem badań było określenie stężenia V w popłodach, w tym łożysku, pępowinie i błonie płodowej pochodzących od kobiet z terenu centralnej i północno-zachodniej Polski. A także analiza zależności pomiędzy stężeniem V w popłodach, a parametrami morfometrycznymi noworodka.

Popłody, w tym błona płodowa (n=68), łożysko (n=84) i pępowina (n=23) pobrano od 179 pacjentek z województwa łódzkiego (Kutno) i zachodniopomorskiego (Gryfino), a następnie stężenie V oznaczono za pomocą spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem plazmowym (ICP-OES).

Średnie stężenie V w łożysku, błonach płodowych i pępowinie wyniosło odpowiednio 0,008, 0,008 i 0,010 mg/kg suchej masy (s.m.). Zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem V w łożysku, a wagą (g) łożyska. Nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem V w badanych tkankach, a wzrostem i masą noworodków oraz wiekiem matki.

Na podstawie przedstawionych badań stwierdzono, że stężenie wanadu w łożysku może mieć wpływ na jego wagę, a w dłuższej perspektywie na prawidłowy wzrost i wagę płodu. Wyniki badań wskazują, że łożysko, błona płodowa i pępowina mogą być źródłem informacji na temat kumulacji i działania różnych pierwiastków, które bezpośrednio wpływają na zdrowie i życie matki i płodu.

Słowa kluczowe: wanad, ciąża pojedyncza, ICP-OES, popłody.

Interakcje między stężeniem cynku (Zn) i wapnia (Ca) w łożysku, błonie płodowej i pępowinie

Konrad Grzeszczak¹, Karolina Kot¹, Patrycja Kupnicka², Karolina Rogulska³

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biochemii, al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

³ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

konrad.grzeszczak@pum.edu.pl

Wapń (Ca) jest makroelementem, którego około 99% znajduje się w kościach w formie związanej w postaci hydroksyapatytu. Wapń bierze udział w procesie mineralizacji kości, regulacji hormonalnej i motorycznej, a jego niedobór prowadzi do zmniejszenia masy kostnej oraz złamań osteoporotycznych. Cynk (Zn) wchodzi w skład ponad 200 enzymów, biorących udział w przemianach węglowodanowych, lipidowych, białkowych i energetycznych. Stabilizuje struktury DNA, RNA i rybosomów, dzięki czemu wpływa na rozwój i wzrost organizmów. Wpływa on na funkcjonowanie układu immunologicznego i transport tlenu. Niedobór Zn może prowadzić do karłowatości i wywołuje zaburzenia metaboliczne, w tym zaburzenia wchłaniania Cu, Ca, Fe oraz glukozy. Wapń i cynk według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) wpływają na przebieg ciąży. Badania jednoznacznie wskazują, że suplementacja Ca zmniejsza ryzyko wystąpienia przedwczesnego porodu oraz stanu przedrzucawkowego (preeklampsji). A przyjmowanie z dietą Zn minimalizuje wystąpienia niskiej masy urodzeniowej noworodka.

Celem badań była analiza stężenia Ca i Zn w popłodach (łożysko, pępowina i błona płodowa) pochodzących od kobiet z terenu centralnej i północno-zachodniej Polski. A także określenie zależności pomiędzy stężeniem Ca i Zn w popłodach, a parametrami biologicznymi noworodka. Popłody, w tym błona płodowa (n=68), łożysko (n=84) i pępowina (n=23) pobrano od 179 pacjentek z województwa łódzkiego (Kutno) i zachodniopomorskiego (Gryfino). Stężenie Zn i Ca oznaczono za pomocą spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem plazmowym (ICP-OES). Średnie stężenie Zn w łożysku, błonach płodowych i pępowinie wyniosło odpowiednio 66,45, 62,95 i 54,65 mg/kg suchej masy (s.m.). Analogicznie średnie stężenie Ca wyniosło 5,66 4,37 i 0,92 g/kg suchej masy (s.m.). Stwierdzono, że wraz z wiekiem matki, obniżało się stężenie Ca w łożysku. Zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem Zn, a stężeniem Ca w łożysku; stężeniem Zn w łożysku, a stężeniem Ca w błonie; stężeniem Zn w błonie płodowej, a stężeniem Zn w pępowinie; stężeniem Ca w łożysku, a stężeniem Ca w błonie płodowej; stężeniem Zn w błonie a stężeniem Ca w błonie płodowej. Nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem Zn i Ca w badanych tkankach, a wzrostem, masą noworodków, wagą łożyska i tygodniem ciąży.

Na podstawie przedstawionych badań stwierdzono, że wiek kobiety może wpływać na stężenie wapnia. Badanie łożyska, błon płodowych i pępowiny może dostarczyć informacji dotyczących wpływu różnymi pierwiastkami na organizm matki i dziecka.

Słowa kluczowe: wapń, cynk, ciąża pojedyncza, ICP-OES, popłody.

Problem krążenia wód podziemnych na obszarze Wzniesień Łódzkich

Sylwia Grzędzińska

Uniwersytet Łódzki, Instytut Nauk o Ziemi

s.grzedzinska@gmail.com

Wzniesienia Łódzkie są obszarem szczególnego zainteresowania geografów z ośrodka łódzkiego. Jako najdalej ku północy sięgająca kontynuacja pasa wyżynnego stanowią krawędź oddziaływania zlodowacenia Warty. Transgredujący lądolód nasuwał się na teren, w którego podłożu tkwił garb mezozoiczny. Impuls do przekroczenia przeszkody wcześniej hamującej ruch mogły dawać wezbrania zachodzące w jego marginalnej części. Przyczyniło się to do powstania trzech stopni krawędziowych (Klatkova 1972, Petera 1996). Najwyższy stopień krawędziowy - smardzewski odwadniany jest przez liczne ciek, do których należą Moszczenica, Mrożyca oraz Mroga. Górne odcinki tych rzek mają równoleżnikowy kierunek odpływu wód zgodny z budową geologiczną utworów podczwartorzędowych, co było spowodowane utrudnieniami w odpływie wód lodowcowych z przed jego czoła (Kuydowicz-Turkowska 1975, Turkowska 1988, Klajnert i Wasiak 1989). Na obszarze tym występują również liczne zaburzenia glacytektoniczne, które mogą zwiększać przepływ wód podziemnych ku strefom drenażu (Klatkova 1972, Petera 1996, Ziulkiewicz 2016).

Na obszarze Wzniesień Łódzkich krążenie wód podziemnych pod koniec zlodowacenia Warty było hamowane przez występowanie wieloletniej zmarzliny (Różański, Zuber 2000). Dopiero jej zanik podczas ocieplenia eemskiego spowodował pierwszy kontakt hydrauliczny głębokich poziomów wodonośnych z korytami rzecznyymi w wyniku i ich wgłębnej alimentacji. Zmarzłość odtworzyła się podczas nasunięcia lądolodu zlodowacenia Wisły. Następowwały wtedy intensywne procesy stokowe, jak kongeliflukcja, soliflukcja i spłukiwanie. Jej ponowny zanik związany był już z ociepleniem późnego vistulianu. W wyniku wzmożonego zasilania doszło wtedy do podniesienia poziomu wód podziemnych, który był napotykaną przez intensywnie wcinające się w podłoże parowy, stanowiące zwieńczenie dolin denudacyjnych (Klajnert 1997, Turkowska 1997).

Na terenie niecki łódzkiej wody głębokich słodkowodnych systemów krążenia obejmują utwory wodonośne górnej i dolnej kredy. Głębiej (jura) występują wody zawierające w sobie istotną domieszkę wód reliktowych-paleoinfiltacyjnych. Wody z górnej kredy są datowane na 8000 - 9000 lat BP, a z dolnej kredy na 300 – 2000 lat (Ziulkiewicz 2003). Najstarszym świadectwem funkcjonowania samowypływów wód podziemnych w obrębie Wzniesień Łódzkich są kopuły torfowiskowo-martwicowe w Wardzynie. Najstarsze źródłiskowe osady organiczne zostały tam wydutowane na 4600 lat BP (Dobrowolski i in. 2017). Odtworzenie (odczytanie) zapisu krenologicznego z osadów nisz źródłiskowych i ewolucji form erozyjnych może znacząco przyczynić się do rekonstrukcji paleohydrogeologicznej regionu i uzyskaniu obrazu (od)tworzenia się systemu krążenia wód podziemnych na przełomie plejstocenu i holocenu.

Słowa kluczowe: holocen, wody podziemne, torfowiska źródłiskowe, Wzniesienia Łódzkie.

System reprodukcyjny *Epipactis palustris* (L.) Crantz (Orchidaceae)

Patrycja Guzanek, Joanna Rojek, Agnieszka K. Kowalkowska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Cytologii i Embriologii Roślin, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

patrycja.guzanek@phdstud.ug.edu.pl

Epipactis palustris (kruszczyk błotny) występuje na terenie całego kraju, rośnie na podmokłych łąkach i torfowiskach, rzadko na obrzeżach wilgotnych lasów, na glebach żyznych, zasobnych w węglan wapnia. Osobniki mogą różnić się ubarwieniem. Poza czerwono-brązowymi spotyka się także kwiaty całkowicie zielone. Według dostępnych badań ekologicznych i (mikro-)morfologicznych gatunek ten jest zdolny do rozmnażania w wyniku allogamii, jak i autogamii (Tałałaj i Brzosko 2008, Kowalkowska i in. 2015). Dane cyto-embriologiczne są jednak skąpe (Fredrikson 1992).

Niniejsza praca dotyczyła ustalenia embriologii i systemu reprodukcyjnego pomorskiej populacji *Epipactis palustris*. Analizy cyto-embriologiczne wykonano na kwiatach zapylanych ręcznie (indukowana allo-, auto- i geitonogamia), kwiatach odizolowanych od potencjalnego zapylenia (autogamia *sensu stricto*) oraz kwiatach pozostawionych dla wolnego zapylenia.

Wykazano, że megasporogeneza u tego gatunku rozpoczyna się po zapyleniu, jest monosporowa i kończy się utworzeniem triad lub T-tetrad. Rozwój gametofitu przebiega według typu *Polygonum*. Zapłodnienie i embriogeneza następują ok. 16 dnia od zapylenia. Badania również potwierdziły, że pomorski *E. palustris* nie ma barier prezygotycznych, co umożliwia powstawanie autogamicznych nasion. Test TTC wykazał podobną żywotność nasion powstałych w wyniku autogamii i allogamii.

Słowa kluczowe: *Epipactis palustris*, autogamia, embriologia *Epipactis*, zalążek, test TTC.

Bibliografia:

- Fredrikson M. 2011. the Development of the Female Gametophyte of *Epipactis* (Orchidaceae) and its inference for reproductive ecology. *American Journal of Botany* 79: 63–68.
- Tałałaj I, Brzosko E. 2008. Selfing potential in *Epipactis palustris*, *E. helleborine* and *E. atrorubens* (Orchidaceae). *Plant Systematic and Evolution* 276:21-29.
- Kowalkowska AK, Kostecka J, Bohdanowicz J et al. 2015. Studies on floral nectary, tepals' structure, and gynostemium morphology of *Epipactis palustris* (L.) Crantz (Orchidaceae) *Protoplasma* 252: 321-333.

Różnorodność funkcjonalna roślin wodnych jezior Pomorza

Marianna Harlak, Krzysztof Banaś

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ekologii Roślin, Pracownia Ekologii Wód Słodkich,
Wita Stwosza 59, 80-809 Gdańsk*

marianna.harlak@phdstud.ug.edu.pl

Powszechnie uważa się, że różnorodność biologiczna jest ważna dla stabilności i właściwego funkcjonowania ekosystemów. W latach 90. XX wieku globalne zmniejszenie bioróżnorodności stało się ważnym problemem w ekologii. W trakcie badań ekologicznych powstało wiele teorii wykazujących, że funkcjonalne zróżnicowanie w zbiorowiskach jest ważniejsze niż sama różnorodność gatunkowa. Dlatego też powstał termin różnorodność funkcjonalna – FD ang. *functional diversity* – jest miarą zawierającą cechy gatunków oraz ich obfitość w zbiorowisku lub całym ekosystemie. Cechy funkcjonalne roślin wywodzą się spośród ich cech morfologicznych, anatomicznych, fizjologicznych lub fenologicznych. Ekologia funkcjonalna może odegrać istotną rolę w zrozumieniu funkcjonowania ekosystemów dzięki lepszemu analizie form, funkcji oraz oddziaływań roślina-środowisko. Zróżnicowanie cech i różnorodność funkcjonalna roślin wodnych są bardzo słabo poznane. Badania przeprowadzono w 43 jeziorach województwa Pomorskiego w latach 2014-2017 metodą prac terenowych i laboratoryjnych. Każdy zbiornik został przydzielony do jednej z kategorii: jeziora miękkowodne lub twardowodne. Próbkę roślin oraz wody pobrano techniką nurkowania przy użyciu odpowiedniego sprzętu. Do badań zebrano rośliny 38 gatunków, każdy został przydzielony do odpowiednich kategorii: forma wzrostu, typ rozmieszczenia liści na pędzie itp. Warunki środowiskowe zostały ustalone na podstawie chemicznych oraz fizycznych cech wody. Indeks różnorodności funkcjonalnej (FD_Q) został obliczony według formuły Rao. Analizy statystyczne przeprowadzono w programach Excel oraz Statistica 12.5. Pomimo tego, że dwie grupy jezior, zarówno pod względem hydrochemii jak i zbadanych cechy roślin (sucha masa liścia, jego powierzchnia, długość, szerokość, owalność oraz wskaźnik SLA) wykazały różnice istotnie statystyczne, to wskaźnik różnorodności funkcjonalnej nie wykazywał zróżnicowania. Takie wyniki sugerują, że w obrębie tych odmiennych grup jezior (międko- i twardowodnych) występują mechanizmy, które utrzymują względnie stałą różnorodność funkcjonalną.

Słowa kluczowe: różnorodność funkcjonalna, rośliny wodne, SLA.

Potencjał błony mitochondrialnej jako wskaźnik toksyczności diklofenaku względem jednokomórkowej zielenicy *Chlamydomonas reinhardtii*

Darya Harshkova, Elżbieta Zielińska, Anna Aksmann

Uniwersytet Gdański, Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

darya.harshkova@phdstud.ug.edu.pl

Przemysł farmaceutyczny od lat należy do najlepiej rozwijających się gałęzi gospodarki. Dane statystyczne wskazują, że jedna czwarta obecnego rynku farmaceutycznego została wygenerowana na przestrzeni ostatnich 5 lat, a niesteroidowe leki przeciwzapalne, takie jak diklofenak (DF), należą do najczęściej stosowanych leków. Niestety, obecnie DF staje się powszechnym zanieczyszczeniem akwenów wodnych, w których żyją organizmy niebędące bezpośrednim „celem” jego działania, w tym rośliny wyższe oraz glony.

Potencjał błony mitochondrialnej (*mitochondrial membrane potential*, MMP) jest jednym z podstawowych wskaźników stosowanych do oceny cytotoksyczności związków chemicznych względem komórek zwierzęcych. Aby monitorować zmiany MMP, stosuje się barwniki fluorescencyjne, takie jak JC-1. Obecnie dostępnych jest wiele protokołów opisujących możliwości wykorzystania JC-1 w eksperymentach prowadzonych na komórkach zwierzęcych, ale zastosowanie tego barwnika do monitorowania MMP komórek roślinnych musi uwzględniać potencjalne trudności wynikające z obecności (a) ściany komórkowej, która może być barierą dla cząsteczek JC-1 oraz (b) chlorofilu, który wykazuje autofluorescencję.

Celem naszych badań była optymalizacja metody pomiaru zmian MMP w komórkach modelowych zielenic *Chlamydomonas reinhardtii* poddanych stresowi indukowanemu przez diklofenak. Ustalono najbardziej korzystne warunki inkubacji komórek z JC-1 i przeanalizowano charakterystyki wzbudzenia-emisji barwnika w celu optymalizacji pomiarów zawiesiny komórek w czytniku mikropłytek. Do wizualizacji sygnału fluorescencyjnego JC-1 w komórkach glonów zastosowano mikroskopię epifluorescencyjną.

Analiza danych wykazała, że opracowany protokół może być stosowany do oceny zmian MMP w komórkach *Chlamydomonas reinhardtii*, pozwalając uzyskać wiarygodne i powtarzalne wyniki. Spadek wartości MMP w komórkach traktowanych diklofenakiem wskazuje, że jedną z przyczyn cytotoksyczności tego związku są zaburzenia funkcjonowania mitochondriów. Badania nasze sugerują zatem, że analiza zmian MMP jest cennym narzędziem do oceny wpływu niesteroidowych leków przeciwzapalnych na komórki glonowe.

Podziękowania

Dziękujemy Pani dr Małgorzacie Kapuście z Katedry Cytologii i Embriologii Roślin UG za wykonanie zdjęć epifluorescencyjnych komórek glonów.

Badania finansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki, UMO-2016/23/B/NZ9/00963.

Słowa kluczowe: *Chlamydomonas, diklofenak, potencjał błony mitochondrialnej.*

Ocena wpływu toksyny T-2 na generowanie wolnych rodników przez komórki ludzkich fibroblastów linii Hs68

Edyta Janik¹, Michał Ceremuga², Michał Bijak¹

¹Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Instytut Biochemii, Katedra Biochemii Ogólnej, ul. Pomorska 141/143, 90-136 Łódź

²Wojskowy Instytut Chemii i Radiometrii, Zakład Rozpoznania i Likwidacji Skaż., al. Gen Antoniego Chruściela „Montera” 105, 00-910 Warszawa

edyta.janik@unilodz.eu

Wstęp

Toksyna T-2 należy do trichotecenów, czyli metabolitów wytwarzanych przez grzyby z rodzaju *Fusarium*. Grzyby te występują najczęściej w zbożach takich jak owies, jęczmień i pszenica. Toksyna T-2 to niskocząsteczkowy związek o budowie pierścieniowej, który posiada właściwości zbliżone do broni chemicznej. Cechą charakterystyczną tej mykotoksyny jest działanie silnie drażniące na skórę, co wyróżnia ją spośród toksyn biologicznych, do których zaliczyć można toksynę botulinową, rycynę czy abrynę. Ze względu na swoje właściwości, toksyna T-2 może zostać także wykorzystana jako potencjalna broń biologiczna. Została ona już wykorzystana w latach 70-tych w konflikcie zbrojnym w Laosie, gdzie została rozpylona w formie żółtych kropel. Wydarzenie to zostało później określone przez świadków jako „żółty deszcz”.

Cel pracy

Celem badań była ocena generowania wolnych rodników przez komórki linii Hs68 traktowanych toksyną T-2.

Materiały i metody

Materiał badawczy stanowiły komórki ludzkich prawidłowych fibroblastów linii Hs68 (ATCC® CRL-1635™) traktowane toksyną T-2 w zakresie stężeń 1nM - 100μM. Oceny produkcji wolnych rodników dokonywano po 24 i 48 godzinach od potraktowania komórek toksyną T-2 z wykorzystaniem czytnika płytek Bio-Tech Syneq HT Microplate Reader z użyciem filtrów 485 nm/528 nm stosując metodę z wykorzystaniem sondy fluorescencyjnej H2DCFDA.

Wyniki i podsumowanie

Wyniki badań wykazały, że toksyna T-2 wykazuje zależny od stężenia wzrost generowania wolnych rodników przez komórki linii Hs68. Może to świadczyć o zaburzeniu mechanizmów utrzymujących homeostazę w warunkach prawidłowych.

Słowa kluczowe: wolne rodniki, toksyna T-2, fibroblasty, fluorescencja.

Morfologia jako wyznacznik rozdziału nisz u kryptycznych gatunków nietoperzy

Martyna Jankowska-Jarek

Uniwersytet Gdański, Katedra Ekologii i Zoologii Kręgowców, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

martyna.jankowskajarek@gmail.com

Gatunek jest podstawową jednostką różnorodności biologicznej, która ewoluuje w oddzieleniu od innych gatunków zachowując własną odrębność i tendencje ewolucyjne. Dotyczy to również gatunków kryptycznych, które są bardzo trudne do rozróżnienia morfologiczne, jednak odrębne genetycznie. Brak lub niewielkie zróżnicowanie morfologiczne, przy jednoczesnym występowaniu sympatrycznym, jest uważane za „ewolucyjny fenomen” ponieważ nisze ekologiczne mogą się nakładać tylko do pewnego stopnia (*limiting similarity theory*). Adaptacje do różnych nisz powinny różnicować morfologię, a zazwyczaj najsilniejszym czynnikiem różnicującym jest pożywienie. Można się więc spodziewać, że adaptacje związanych ze zdobywaniem pokarmu powinny być najbardziej widoczne. Stąd też gatunki kryptyczne są często organizmami modelowymi w badaniach morfologii funkcjonalnej – przy swym podobieństwie nawet niewielkie różnice w budowie mogą świadczyć o przystosowaniu do różnych nisz. U nietoperzy przystosowanie do lotu wymusiło szereg wyjątkowych adaptacji: pokarm może być zdobywany w locie, jednak chwytywany jest zazwyczaj początkowo w błonę ogonową (*aerial hawkers*). Pozostawia to niewielkie możliwości dla losowych modyfikacji – zmiany kształtu skrzydła czy błony ogonowej powinny być przystosowaniem do konkretnego typu lotu i chwytania określonego pokarmu.

Różnice w budowie aparatu lotnego oraz uropatagium badano w grupie gatunków kryptycznych *Myotis mystacinus complex*: nocek wąsatek-nocek Brandta-nocek Alkatoe. Są to gatunki o dobrze udokumentowanym pokrewieństwie, znanym zasięgu geograficznym i występujące na tych samych obszarach na terenie kraju, lokalnie występujące w stosunkowo dużej liczebności. U odłowionych nietoperzy mierzono długość przedramienia oraz wykonywano zdjęcia biometryczne, na podstawie których wykonywano dalsze pomiary. Wstępne wyniki pokazują zróżnicowanie w kształcie skrzydła oraz budowie uropatagium pomiędzy badanymi gatunkami.

Słowa kluczowe: morfologia funkcjonalna, nisze ekologiczne, *Myotis mystacinus complex*.

Różnorodność taksonomiczna i znaczenie roślin w kulturze funeralnej na przykładzie nowożytnych pochówków kryptowych z Byszewa

Marta Jarosińska

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ekologii Roślin, Pracownia Paleobotaniki i Archeobotaniki,
ul. Wita Stwosza 59 80-308 Gdańsk*

marta.jarosinska@phdstud.ug.edu.pl

Archeologia funeralna zajmuje się badaniem kultury pogrzebowej w oparciu o zachowane źródła materialne. Szczególnym aspektem tego zagadnienia są rośliny, których szczątki znajdowane są w obrębie pochówków. Stąd też konieczność ścisłej współpracy archeologa z archeobotanikiem.

Kwiaty i zioła stanowiły element samej ceremonii, jak i wyposażenia grobowego. Pełniły w nim aspekt estetyczny, ale też praktyczny – miały nie tylko ładnie wyglądać, ale również spowalniać rozkład zwłok i maskować ich zapach. Umieszczanie ich w trumnach miało niekiedy charakter symboliczny. Rodzaj i ilość wkładanych do trumny roślin zależał od pory roku i od zamożności rodziny. Wiosną i latem zbierano świeże kwiaty z pól, łąk i ogrodów, zaś jesienią i zimą posilkowano się suszonymi kwiatami lub pleciono je z materiału.

Prace archeologiczne prowadzone w Byszewie (pow. bydgoski) pod kościołem Św. Trójcy odsłoniły dwie krypty – północną i południową. Sama świątynia powstała w XIII w. wraz z przybyciem do Byszewa zakonu cystersów. Obecny budynek postawiono na zgliszczach kościoła w XVII w., a niecałe 100 lat później dobudowano kaplicę, pod którymi znajdują się krypty. W krypcie południowej zainwentaryzowano ponad 90 pochówków datowanych na przełom XVIII i XIX w. Były to głównie szczątki dzieci, prawdopodobnie bogatych chłopów. Bardzo dobry stan zachowania zarówno szczątków ludzkich, jak i roślinnych, umożliwia prowadzenie szeroko zakrojonych badań w tym analiz archeobotanicznych. Ich głównym celem jest określenie miejsca i roli w praktykach funeralnych w Byszewie.

Materiał roślinny zachował się głównie w postaci wypełnienia trumien, materacy i poduszek. W szczególnych przypadkach znajdowano całe bukiety lub pozostałości po wiankach. Metodyka prac terenowych obejmuje inwentaryzację krypt i pochówków wraz z ich opisem oraz zbiór materiałów. Część laboratoryjna składa się z analizy palinologicznej i analizy szczątków makroskopowych roślin. Zachowały się zarówno części wegetatywne, takie jak fragmenty okwiatu i liście, oraz generatywne, np. znamiona słupka, owoce i nasiona. Wynikiem prac będą listy taksonów, które – zestawione z danymi archeologicznymi i etnobotanicznymi umożliwią określenie zależności między składem gatunkowym a statusem społecznym, wiekiem i płcią zmarłych oraz pozwolą na interpretację doboru gatunków pod kątem ich właściwości.

Słowa kluczowe: *archeobotanika, rośliny funeralne, krypty, nowożytność.*

Akustyczne przejawy występowania metanu w formie gazowej w powierzchniowej warstwie osadów Zatoki Gdańskiej

**Damian Jaśniewicz¹, Jakub Idczak², Zygmunt Klusek¹, Aleksandra Brodecka-Goluch²,
Natalia Gorska², Patryk Pezacki², Jerzy Bolalek²**

¹Instytut Oceanologii PAN, Powstańców Warszawy 55, 81-712 Sopot

²Instytut Oceanografii, Uniwersytet Gdański, Al. Marszałka Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

djasniewicz@iopan.pl

Osady płytkich mórz szelfów kontynentalnych stanowią istotny komponent globalnego budżetu metanu w środowisku morskim. Z uwagi na słabą rozpuszczalność w wodzie, metan może występować w osadach w formie gazowej, co umożliwia zastosowanie metod hydroakustycznych do jego detekcji. Zostało to potwierdzone wcześniejszymi badaniami przeprowadzonymi na obszarze Morza Bałtyckiego, które to wykazały istnienie rozległych obszarów osadów zawierających płytko zalegający gaz.

W niniejszej pracy zastosowano metodologię badawczą opartą na syntezie i re-analizie danych archiwalnych w połączeniu z analizą nowych danych hydroakustycznych zebranych z zastosowaniem echosond jednowiązkowej oraz wielowiązkowej, echosondy typu split-beam oraz sonaru bocznego.

Wyniki analizy sondowań akustycznych wskazują na istotne geomorfologiczne różnice w formach występowania gazowego metanu w płytkich osadach Zatoki Gdańskiej. Na podstawie bazy danych hydroakustycznych wydzielono trzy obszary o odmiennej charakterystyce geomorfologicznej oraz przedstawiono właściwości rozpraszania wstecznego i tłumienia sygnału akustycznego przez znajdujący się w osadzie gaz. Na dwóch z tych obszarów zarejestrowano migrację gazu z osadu do toni wodnej w postaci pęcherzyków gazowych, które ulegają rozpuszczeniu podczas unoszenia się w kierunku powierzchni morza. Oszacowana łączna powierzchnia osadów zawierających metan w formie gazowej na obszarze Zatoki Gdańskiej wynosi około 380 km². Tak znaczny obszar osadów zawierających metan w formie gazowej oraz jego wydostawanie się do toni wodnej mogą w istotny sposób wpływać na procesy biogeochemiczne i funkcjonowanie ekosystemów przydennych na obszarze Zatoki Gdańskiej.

Badania zostały przeprowadzone w ramach projektu sfinansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki, nr. projektu UMO-2016/21/B/ST10/02369 oraz środków na statutowe zadania badawcze Instytutu Oceanologii Polskiej Akademii Nauk.

Słowa kluczowe: metan, osady morskie, hydroakustyka, Zatoka Gdańska.

Wykorzystanie nanocząstek srebra i miedzi w środkach do przedudowej i poudowej dezynfekcji wymienia krów mlecznych rasy HF

Aleksandra Kalińska, Marcin Gołębiowski, Mateusz Wierzbicki, Sławomir Jaworski, Brygida Kruzińska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Zwierzętach, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Zakład Hodowli Bydła, ul. Ciszewskiego 8 02-786 Warszawa

aleksandra_kalinska@sggw.pl

W przeszłości nadmierne wykorzystywanie antybiotyków do leczenia zapaleń wymień (mastitis) wpłynęło na powstanie licznych szczepów bakterii opornych na konwencjonalne metody leczenia. Sytuacja ta zmusza naukowców do szukania innych, alternatywnych substancji, które mogłyby zostać wykorzystane w prewencji i leczeniu mastitis. Jedną z potencjalnych alternatyw mogą stać się nanocząstki metali, których mechanizm działania nie powoduje wykształcania odpornych na nie szczepów bakterii.

Celem analiz *in vitro* była ocena przeżywalności *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* po inkubacji w mieszankach do pre-dippingu (P1, P2) i dippingu (D1, D2) zawierających dostępne komercyjnie substraty kosmetyczne oraz dodatek nanocząstek srebra (AgNPs) i miedzi (CuNPs).

W ramach eksperymentu przygotowano szklane kolby zawierające bulion odżywczy (Biomaxima, Polska), które następnie autoklawowano (Classic 2100, Prestige Medical). Do przygotowanych kolb dodano zależnie od grupy: substraty kosmetyczne i nanocząstki lub sam dodatek kompleksu srebro-miedź (AgCuNPs), AgNPs, CuNPs. Przygotowane grupy oznaczono jako P1, P2, D1, D2 lub grupy zawierające jedynie dodatek nanocząstek. Grupy kontrolne (K) stanowił bulion odżywczy bez dodatków. W analizach wykorzystano dwa gatunki bakterii wyizolowane z mleka mastitowego: *S. aureus* i *E. coli*. Bakterie dodano do przygotowanych kolb z dodatkami lub bulionem odżywczym. Kolby inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C i 5% CO₂. Każdą grupę przygotowano w trzech powtórzeniach. Następnie wykonano pomiar absorbancji przy długości fali 450 nm po zastosowaniu odczynnika XTT zgodnie z zaleceniami producenta (Cell Proliferation Kit II) (Merck, Polska). Uzyskane dane przedstawiono jako procent przeżywalności komórek bakterii w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Uzyskane wyniki wskazują, że przeżywalność komórek *S. aureus* w grupach D1 i D2 wyniosła odpowiednio 47,23% and 44,31%. Podobne wyniki otrzymano dla *E. coli* (D1=51,43% and D2=57,86%). W przypadku mieszanek do pre-dippingu dla *S. aureus* przeżywalności wyniosły 90,64% i 91,41%, odpowiednio dla grup P1 i P2. Wyniki dla bakterii *E. coli* były następujące: P1=48,13% and P2=42,50%. Przeżywalność bakterii *E. coli* w grupach wyłącznie z dodatkiem nanocząstek wynosiła: 67,35%, 57,38%, 49,90%, odpowiednio dla grup AgNPs, CuNPs i AgCuNPs. Natomiast w grupie *S. aureus* przeżywalność w grupach AgNPs, CuNPs i AgCuNPs wyniosła odpowiednio 30,51%, 28,14% i 26,75%.

Otrzymane wyniki sugerują, że przygotowane mieszanki do pre-dippingu i dippingu mogłyby być przydatne w prewencji mastitis. Jednakże, wpływ nanocząstek srebra i miedzi na przeżywalność różnych gatunków patogenów wymaga dalszych badań.

Badania finansowane z program LIDER przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Słowa kluczowe: nanocząstki, srebro, miedź, dezynfekcja, wymię.

Ocena frekwencji występowania patogenów mastitowych w mleku ćwiartkowym krów mlecznych utrzymywanych w gospodarstwach specjalizujących się w produkcji mleka

Aleksandra Kalińska, Marcin Gołębiewski, Jan Słószarz, Brygida Kruzińska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Zwierzętach, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Zakład Hodowli Bydła, ul. Ciszewskiego 8 02-786 Warszawa

aleksandra_kalinska@sggw.pl

Zapalenia wymienia (mastitis) to jedna z najczęstszych chorób występujących w gospodarstwach utrzymujących bydło mleczne. Generuje ona znaczne straty dla producentów mleka, ponieważ wpływa m. in. na skład mleka, dobrostan zwierząt czy koszty weterynaryjne. Obecnie jednym z głównych problemów jest oporność bakterii na antybiotyki, a ponad 90% przypadków mastitis to zakażenia bakteryjne.

Celem badań była aktualizacja stanu wiedzy na temat frekwencji patogenów mastitowych występujących w małych stadach krów mlecznych w Polsce.

Próbki mleka (n=646) pobrano w stadach znajdujących się na terenie województwa lubelskiego (n=23), w których występowały przypadki mastitis. Mleko pobierano do sterylnych pojemników w czasie wieczornego doju i przechowywano przez 12 godzin w lodówce w temperaturze 4°C. Następnie wykonano analizy mikrobiologiczne. Wykorzystano specjalistyczne, selektywne podłoża mikrobiologiczne w celu diagnostyki patogenów bakteryjnych i grzybów. Wykonane posiewy przechowywano przez 24-48 godzin (37°C, 5% CO₂).

W ponad 90% próbek zdiagnozowano przynajmniej jeden gatunek patogenów. Najczęściej izolowanymi patogenami były: *Escherichia coli* (76,61%), *Staphylococcus aureus* (41,29%), *Streptococcus dysgalactiae* (40,81%), *Enterococcus* sp. (40,57%). W ok. 8% próbek były zdiagnozowane grzyby (w tym drożdże).

Uzyskane wyniki sugerują, że gronkowce i paciorkowce są główną przyczyną zapaleń wymienia u krów mlecznych. Jednakże, duża częstotliwość bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* może być przyczyną złych warunków środowiskowych w stadach w których pobierano próbki mleka.

Badania finansowane ze środków SGGW jako grant wewnętrzny dla doktorantów.

Słowa kluczowe: krowy mleczne, mastitis, patogeny mastitowe, mleko ćwiartkowe.

Wpływ nanocząstek srebra i miedzi na przeżywalność komórek gruczołu mlekowego linii HMEC i BME-UV1

Aleksandra Kalińska, Marcin Gołębiewski, Mateusz Wierzbicki, Sławomir Jaworski, Brygida Kruzińska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Zwierzętach, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Zakład Hodowli Bydła, ul. Ciszewskiego 8 02-786 Warszawa

aleksandra_kalinska@sggw.pl

Nanotechnologia to jedna z najszybciej rozwijających się dziedzin nauki i techniki. Jednymi z najbardziej obiecujących materiałów są nanocząstki metali. Liczne źródła literatury sugerują, że nanocząstki srebra i miedzi mają silne właściwości antybakteryjne i przeciwwgrzybicze. Jednak dane oceniające toksyczność nanocząstek srebra i miedzi są sprzeczne.

Celem badań było sprawdzenie wpływu *in vitro* nanocząstek srebra i miedzi na dwie dostępne komercyjnie linie komórkowe: HMEC (Human Mammary Epithelial Cells) oraz BME-UV1 (Bovine Mammary Epithelial Cells).

Hodowle komórkowe prowadzono zgodnie z zaleceniami producenta z wykorzystaniem specjalistycznych pożywek i dodatków. Komórki były przechowywane standardowych warunkach (37°C, 5% CO₂). W doświadczeniu użyto następujących stężeń nanocząstek srebra, miedzi i kompleksu srebro-miedź: 0,1 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 2,5 mg/l. Grupy kontrolne nie zawierały dodatku nanocząstek. Po dodaniu nanocząstek komórki inkubowano przez 24 godziny. Następnie wykonano test Presto Blue (ThermoFisher Scientific) w celu oceny przeżywalności komórek wybranych linii. Oceniono również integralność błon komórkowych komórek HMEC i BME-UV1 poprzez sprawdzenie poziomu dehydrogenazy mleczanowej (LDH). Analizy te wykonano z wykorzystaniem zestawu LDH Cytotoxicity Assay Kit (ThermoFisher Scientific).

Uzyskane wyniki sugerują, że nanocząstki srebra i miedzi oraz ich kompleks nie są toksyczne dla gruczołu mlekowego ludzi i bydła.

Badania finansowane z program LIDER przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Słowa kluczowe: nanocząstki, srebro, miedź, gruczoł mlekowy.

Ekspresja receptora estrogenowego α w glejaku wielopostaciowym

**Patrycja Kapczuk¹, Donata Simńska¹, Patrycja Kupnicka¹, Emilia Metryka¹,
Mateusz Bosiacki²**

¹*Zakład Biochemii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin*

²*Zakład Diagnostyki Funkcjonalnej i Medycyny Fizykalnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Żołnierska 54, 71-210 Szczecin*

patrycja2510@o2.pl

Wstęp: Glejak stanowi około 26,5 % wszystkich guzów ośrodkowego układu nerwowego, z czego 47 % to glejak wielopostaciowy. Pacjenci z rozpoznaniem glejakiem wielopostaciowym w 94,5 % nie przeżywają 5 lat po diagnozie. Raporty statystyczne zgodnie potwierdzają fakt częstego chorowania mężczyzn niż kobiet, a za wiek zwiększonego ryzyka uznaje się przedział 75-84 lat. Badacze donoszą również o wzroście zachorowalności na glejak kobiet w wieku po menopauzalnym w stosunku do kobiet w wieku przed menopauzalnym. Rola estrogenów będących hormonami płciowymi przykuwa uwagę naukowców od lat. Opublikowano wiele prac porównujących ekspresję receptorów estrogenowych pomiędzy sobą czy w stosunku do guzów o różnym stopniu złośliwości. Nie ma natomiast w dostępnej literaturze informacji o ekspresji receptora estrogenowego α w poszczególnych strukturach guza.

Cel: Celem pracy była analiza ekspresji mRNA receptorów estrogenowych α w otoczeniu, korze i centrum guza o etiologii glejaka wielopostaciowego.

Materiały i metody: Próbkę glejaka wielopostaciowego uzyskane od pacjentów pochodził z trzech struktur w guzie: centrum, kory i otoczenia. Z fragmentów tkanki o wymiarze 1 cm³ wyizolowano mRNA. Wyizolowane mRNA przepisano na cDNA przy użyciu RT-PCR. Następnie cDNA poddane zostały metodzie Real-Time PCR w celu sprawdzenia ekspresji badanych genów.

Wyniki: Ekspresja mRNA receptora estrogenowego α w stosunku do genu BMG była najwyższa w centrum guza, natomiast w stosunku do genu GAPDH nie zaobserwowano różnic. Różnica ekspresji mRNA receptora estrogenowego α w stosunku do genu BMG była największa między centrum i otoczeniem, natomiast w stosunku do genu GAPDH była największa między korą i centrum. Jednak wszystkie zaobserwowane wyniki nie były istotne statystycznie.

Wnioski: Ekspresja mRNA receptora estrogenowego α występuje nie w wszystkich badanych próbkach. Ekspresja mRNA receptora estrogenowego α nie różni się między strukturami guza.

Słowa kluczowe: glejak, receptor estrogenowy α , glejak wielopostaciowy, estrogen, receptory jądrowe.

Dlaczego tak ważne jest odpowiednie dobranie metod i narzędzi w celu oszacowania spoczynkowej przemiany materii u młodych osób zdrowych?

Aleksandra Karczemna, Ewa Lange, Hubert Dobrowolski

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Katedra Dietetyki, Zakład Dietetyki, ul. Nowoursynowska
159, 02-787 Warszawa*

aleksandra.karczemna@gmail.com

Precyzyjne oszacowanie potrzeb energetycznych organizmu człowieka stanowi niezwykle ważny aspekt praktyki klinicznej dietetyka. Metoda kalorymetrii pośredniej (indirect calorimetry, IC) to jedna z najdokładniejszych, nieinwazyjnych metod, wykorzystywana do ich wyznaczania. Niestety metoda ta nie cieszy się dużą popularnością wśród środowiska medycznego ze względu na wysoki koszt sprzętu, stąd jako powszechną alternatywę wykorzystuje się wzory predykcyjne, oparte na takich parametrach jak wysokość i masa ciała, wiek, płeć czy beztłuszczowa masa ciała pacjenta.

Celem badania było zwrócenie uwagi na potencjalne konsekwencje zdrowotne powstałe na skutek stosowania wzorów predykcyjnych jako alternatywy metod kalorymetrycznych.

Badaniem objęto 16 mężczyzn i 22 kobiety w wieku 19-29 lat. Do oszacowania spoczynkowej przemiany materii zastosowano metodę kalorymetrii pośredniej (model Fitmate GS – canopy firmy COSMED). Otrzymane wyniki porównano z najpowszechniej stosowanymi w praktyce wzorami predykcyjnymi.

W grupie badanej średnia wartość spoczynkowej przemiany materii uzyskana metodą IC wynosiła 1423,2 kcal na dobę (± 320 kcal/d). Średnie wyniki uzyskane poprzez wykorzystanie równań predykcyjnych były większe nawet o +21% (339 kcal). Najmniejsze odchylenie od IC zaobserwowano w przypadku wzoru Owen et al. (+4,4%).

Przeprowadzone badanie wykazało, iż wzory predykcyjne Owena et. al. mogłyby stanowić najlepszą alternatywę w przypadku niemożności zastosowania u młodych osób zdrowych złotego standardu - kalorymetrii pośredniej. Pozostałe równania predykcyjne wykazywały charakter przeszacowujący. Ich użycie mogłyby wiązać się ze zwiększeniem masy ciała w bardzo krótkim okresie czasu, co mogłoby mieć negatywne skutki zdrowotne i prowadzić do rozwoju chorób dietozależnych. Dlatego aspekt umiejętnego stosowania właściwych, sprawdzonych metod i narzędzi do wyznaczania spoczynkowej przemiany materii jest tak ważny.

Słowa kluczowe: spoczynkowa przemiana materii, metoda kalorymetrii pośredniej, wzory predykcyjne, przyrost masy ciała.

Chiralne kompleksy dioksomolibdenu(VI) z zasadami Schiffa, pochodnymi R(-)-2-amino-1-propanolu - synteza, struktura i aktywność katalityczna

Marta Karman, Grzegorz Romanowski, Jaromir Kira, Zofia Cebula, Grzegorz Skowierzak, Wioleta Anna Białobrzaska

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

marta.karman@phdstud.ug.edu.pl

Molibden to pierwiastek z grupy metali przejściowych, który jest niezbędny w ponad 40 naturalnie występujących enzymach katalizujących wiele reakcji redoks w różnych organizmach. Molibden jest potrzebny we wzroście roślin umożliwiając wiązanie azotu atmosferycznego przez nitrogenazę bakteryjną oraz asymilację azotu przez reduktazę azotanową [1]. Moco, czyli kofaktor molibdenowy jest obecny w dehydrogenazie ksantynowej, oksydazie ksantynowej i oksydoreduktazie ksantynowej, które katalizują przekształcenie hipoksantyny w ksantynę, ksantyny w kwas moczowy i uczestniczy w metabolizmie puryn [2]. Ponadto w oksydazie siarczynowej katalizuje utlenianie szkodliwego siarczynu(IV) do siarczynu(VI) [3].

Na posterze pokazana zostanie synteza, struktura oraz aktywność katalityczna nowych katalizatorów, czyli chiralnych kompleksów cis-dioksodomolibdenu(VI) z trójkleszczowymi zasadami Schiffa zsyntezowanych poprzez monokondensację R(-)-2-amino-1-propanolu z aldehydem salicylowym i jego pochodnymi.

Zaprezentowana zostanie również struktura cząsteczkowo ustalona na podstawie rentgenograficznej analizy monokryształu R(-)-2-[(1-oksopropyl)imino-metylo]-4-metylofenolanu- $\kappa^3\text{N,O,O'}$ dioksomolibdenu(VI), która wykazała geometrię sfery koordynacyjnej zniekształconego oktaedru z koordynującą cząsteczką metanolu.

Na podstawie otrzymanych wyników omówione również zostaną właściwości katalityczne tych kompleksów. Po optymalizacji warunków reakcji zbadano aktywność katalityczną w reakcjach utleniania styrenu przy użyciu jako utleniacza 30% wodnego roztworu H_2O_2 i 5,5M roztworu wodoronadtlenku tert-butyłu (TBHP) w dekanie. Wykazano również, że otrzymane katalizatory mają zdolność do enancjoselektywnego katalizowania reakcji utleniania siarczków

do sulfotlenków, co pokazano na przykładzie tioanizolu.

Słowa kluczowe: olibden, kataliza, katalizatory, zasady Schiffa.

Literatura:

[1] R.R. Mendel, R. Hänsch, J. Exp. Bot. 53 (2002) 1689.

[2] R.R. Mendel, G. Schwarz, Coord. Chem. Rev. 255 (2011) 1145.

[3] R. Hille, T. Nishino, F. Bittner, Coord. Chem. Rev. 255 (2011) 1179.

Zastosowanie metody pogłębionego utleniania do redukcji zawartości antyutleniaczy w ściekach z przemysłu spożywczego

Magdalena Karnas^{1,2}, Katarzyna Styszko¹, Stanisław Zawadzki²

Uczelnia, Wydział/Instytut, Katedra, Pracownia/Zakład, adres

¹AGH Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Energetyki i Paliw, Katedra Chemii Węgla i Nauk o Środowisku, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

²AquaBlue Sp. z o. o., ul. Józefa Dietla 50, 31-039 Kraków

mkarnas@agh.edu.pl

Wolne rodniki, to związki o silnym potencjale utleniającym, działającym niszcząco na komórki i tkanki, odpowiedzialne za powstawanie tzw. stresu oksydacyjnego. W walce ze stresem oksydacyjnym nieprzecenioną rolę odgrywają antyutleniacze zawarte w owocach i warzywach. Ścieki charakteryzujące się wysokim poziomem stężeń antyutleniaczy, pochodzące z produkcji spożywczej nie podlegają oczyszczaniu biologicznemu, wręcz są szkodliwe dla osadu czynnego. Występuje konflikt pomiędzy antyutleniaczami, a bakteriami osadu czynnego w procesie oczyszczania biologicznego¹. Przykładem są ścieki z produkcji/przetwórstwa kiszonej kapusty oraz wiśni.

Celem przeprowadzonych badań było opracowanie technologii wstępnego oczyszczania polegającej na redukcji zawartości antyutleniaczy w ściekach co pozwoliłoby na ich dalsze włączenie do oczyszczania biologicznego. W tym celu zastosowano metodę pogłębionego utleniania. Proces ten opiera się na wykorzystaniu rodników hydroksylowych OH* uwalnianych z aktywowanego promieniowaniem UV, 30% roztworu nadtlenu wodoru. Badania przeprowadzano na instalacji podczyszczania ścieków, pochodzących z przetwórstwa kiszonej kapusty o przepływie dobowym $Q = 1 \text{ m}^3/\text{d}$.

Ocenę efektywności procesu dokonano poprzez monitorowanie zmian podstawowych wskaźników ścieków (ChZT, zawiesiny, pH), przed i po procesie neutralizacji. Wartość ChZT ścieków surowych wynosiła 7978 mg O₂/l, zawiesiny ogólnej – 255 mg/l, pH – 3,73.

Zastosowany proces pogłębionego utleniania pozwolił na obniżenie ładunku zanieczyszczeń w oczyszczanych ściekach i mogły być włączone do dalszych etapów oczyszczania, między innymi oczyszczania biologicznego. Po procesie neutralizacji uzyskano następujące parametry: ChZT – 327 mg O₂/l, zawiesina ogólna – 130, pH – 8,0. mg/l.

Słowa kluczowe: antyutleniacze, ścieki, reakcja Fentona, H₂O₂/UV.

¹ Piorunek E., Satora S., Satora P. Odcieki z kwaszenia kapusty jako czynnik zagrożenia środowiska przyrodniczego. Infrastruktura i ekologia terenów wiejskich, Nr 7/2011, s. 189 – 198, 2011.

Zastosowanie metod bio-printingu magnetycznego 3D w badaniu toksyczności chemioterapii na ludzki płód

Łukasz Kaźmierski, Paulina Modrakowska, Klaudia Bonowicz, Krzysztof Roszkowski, Anna Bajek

Collegium Medicum Bydgoszcz UMK, Wydział lekarski, Katedra Urologii, Zakład Inżynierii Tkankowej,
Karłowicza 24 85-323 Bydgoszcz

kazmierski.lkk@gmail.com

Płyn owodniowy jest atrakcyjnym źródłem komórek macierzystych (AFSC), które mogą stanowić wiarygodny, etyczny model potencjalnie reprezentując ludzki płód. Standardowy model 2D jest stosowany do rutynowych testów cytotoxyczności, ale nie oddaje takich parametrów jak penetracja leku lub hipoksyjny charakter niektórych tkanek. Ze względu na długie czasy podwajania populacji izolowanych AFSC, starzenie się i możliwość niepowodzenia izolacji, standardowe podejście do tworzenia kultury 3D – sferoidów, byłoby trudne i nieefektywne. Zastosowanie nowatorskiego podejścia do bio-druku 3D z zastosowaniem magnetycznych nanocząsteczek jest wygodną alternatywą na uzyskiwanie powtarzalnych wyników w testach cytotoxyczności i charakteryzuje się wyższym wskaźnikiem sukcesu niż hodowla sferoidów metodami klasycznymi.

AFSC izolowano z płynu owodniowego kobiet w ciąży poddawanych planowanym zabiegom amniopunkcji. Komórki izolowano, stosując wirowanie 350xg, a następnie hodowano przy użyciu DMEM / F12 z dodatkiem 20% FBS, 5 µg/ml amfoterycyny B, 100 µg/ml penicyliny/streptomycyny, 10ng/ml bFGF w warunkach 37°C, 5% CO₂, 99% wilgotność. W celu uzyskania sferoidów inkubowano AFSC w obecności magnetycznych nanocząsteczek przez 24h, po czym przeprowadzano standardowy pasaż komórkowy. Sferoidy formowano z użyciem dedykowanych magnesów neodymowych umieszczanych pod dołkami 96-dołkowych płytek hodowlanych o powierzchni ultra-low-attachment na okres nieprzekraczający 1h. Po uzyskaniu sferoidów oceniano cytotoxyczność karboplatyny przy użyciu zestawu live/dead (Sciencell California) i metody MTT.

Oceniono iż optymalna gęstość komórek dla tworzenia sferoidów wynosi pomiędzy 2500 a 5000 komórek/dołek hodowlanej płytki 96-dołkowej. Optymalne stężenie nanocząstek było ustalone na poziomie 3,3 µl/10000 komórek. Cytotoxyczność karboplatyny była zależna od dawki, najwyższy poziom toksyczności uzyskano stosując stężenie 100 µM dla obu modeli 3D i 2D.

Sferoidy AFSC uzyskane metodą bio-printingu magnetycznego są atrakcyjną alternatywą dla standardowej hodowli komórek 2D, metoda wykorzystująca nanocząsteczki magnetyczne dała lepsze i bardziej powtarzalne rezultaty niż klasyczne metody uzyskiwania sferoidów. Uzyskane wyniki sugerują, odmienną intensywność działania chemioterapeutyków na AFSC w hodowli 2D jak i 3D.

Słowa kluczowe: chemioterapia, AFSC, bio-printing, sferoidy, hodowla 3D.

Przykład wykorzystania zobrazowań Sentinel-2B do oceny skutków powodzi

Barbara Kęsicka

*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Inżynierii Środowiska i Gospodarki Przestrzennej,
Instytut Melioracji, Kształtowania Środowiska i Geodezji, Pracownia Geoinformacji i Hydrologii,
ul. Piątkowska 94 60-649 Poznań,*

barbara.kesicka@up.poznan.pl

Powódź jest jedną z wielu klęsk żywiołowych, która może spowodować olbrzymie straty i zniszczenia na powierzchni ziemi. W przypadku powodzi istotne jest szybkie działanie, pozwalające na ocenę skutków wystąpienia zjawiska. W takich sytuacjach skutecznym instrumentem mogą być metody teledetekcyjne.

W ramach pracy wykonano ocenę zasięgu wystąpienia powodzi i oceniono jej skutki na wybranym obszarze na podstawie zdjęć satelitarnych. Obszar badań objętych analizą obejmował teren niedaleko miasta Houton w stanie Teksas, w Stanach Zjednoczonych. Występująca powódź była konsekwencją przejścia huraganu Harvey w sierpniu 2017 r., któremu towarzyszyły ponad 1000 mm opady atmosferyczne.

W tym celu zastosowano kilka metod teledetekcyjnych do określenia zmian spowodowanych powodzią m.in. analizę wizualną w barwach rzeczywistych i fałszywych, indeksy NDWI i NDVI, analizę PCA oraz klasyfikację nienadzorowaną i nadzorowaną. Analizy wykonano na fragmentach zobrazowań satelitarnych pozyskanych z misji satelitarnej Sentinel-2B dla dnia 21 lipca i 30 sierpnia 2017 r.

Opisane metody pozwalają w szybki sposób pozyskać informację o wystąpieniu powodzi oraz przeprowadzić analizę zmian zjawiska na zobrazowaniach.

Słowa kluczowe: powódź, teledetekcyjne metody, indeks NDVI, Sentinel-2B.

Nowa metoda pomiaru optycznie stymulowanej luminescencji

Kieszkowski Rafał, Mandowski Arkadiusz

*Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Instytut Fizyki, Katedra Luminescencji i Biofotoniki,
42-200 Częstochowa, Al. Armii Krajowej 13/15*

rafal.kieszkowski@ujd.edu.pl

Luminescencją nazywamy emisję światła (w zakresie UV-VIS-NIR) przez materiał, zwany luminoforem, o ile emisja ta przewyższa promieniowanie ciała doskonale czarnego w danej temperaturze.

Optycznie stymulowana luminescencja (OSL) jest jedną z metod luminescencji używanych między innymi do datowania obiektów. Zachodzi ona w dwóch etapach, które dzielić może czas rzędu nawet tysięcy lat. Najpierw stany pułapkowe, pod wpływem działania promieniowania jonizującego, zostają wypełnione nośnikami ładunku elektrycznego. W drugim etapie, pod wpływem działania czynnika stymulującego, którym może być światło widzialne, następuje rekombinacja nośników, której towarzyszy emisja fotonów. Zwykle badana próbka jest oświetlana światłem z zakresu bliskiego zakresowi długości fal światła widzialnego, sama natomiast emituje światło o długościach krótszych niż długość fali stymulującej. Natężenie obserwowanej luminescencji jest zazwyczaj proporcjonalne do zaabsorbowanej dawki promieniowania jonizującego.

Harmonicznie modulowana - optycznie stymulowana luminescencja (HM-OSL) jest nową metodą badania luminoforów, która dzięki wyznaczaniu przesunięcia fazowego pomiędzy krzywą stymulacji, a odpowiedzią luminescencyjną detektora, pozwala określić między innymi czas życia nośnika na poziomie wzbudzonego oraz zależną od niego koncentrację aktywnych centrów rekombinacji.

Metoda HM-OSL została zaimplementowana w czytniku Helios X1. Podczas tego pomiaru oświetlamy próbkę światłem o stałej długości fali lecz zmiennym w czasie natężeniu (krzywa harmoniczna). Odpowiedź luminoforu jest złożeniem krzywej zaniku oraz krzywej harmonicznej. Dzięki wykonaniu autorskiego oprogramowania obliczeniowego jesteśmy w stanie wyznaczać parametry tak złożonych krzywych oraz powiązać je z różnymi modelami rekombinacji promienistej w luminoforach.

Słowa kluczowe: luminescencja, optycznie stymulowana luminescencja (OSL), dozymetria luminescencyjna, pułapki nośników ładunku, centra rekombinacji.

Bisfenol A w próbkach moczu kobiet poddających się procedurze zapłodnienia *in-vitro* – ocena narażenia i poszukiwanie predyktorów

Anna Klimowska, Małgorzata Buczkowska, Joanna Jurewicz, Michał Radwan, Paweł Radwan, Wojciech Hanke, Bartosz Wielgomas

*Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z OML, Katedra i Zakład Toksykologii,
Al. gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

anna.klimowska@gumed.edu.pl

Bisfenol A (BPA) jest plastyfikatorem powszechnie wykorzystywanym do produkcji plastikowych opakowań do żywności, papieru termicznego, a także żywicy epoksydowej, pokrywającej wewnętrzną powierzchnię metalowych puszek. Ze względu na swoje właściwości może być wmywany z tych produktów i przenikać do żywności, a w konsekwencji stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi. BPA został sklasyfikowany przez WHO jako *endocrine disrupting compound* (EDC), czyli związek zaburzający gospodarkę endokrynną. Liczne badania donoszą, że środowiskowe narażenie na niskie dawki BPA może wiązać się z zaburzeniem funkcjonowania układu rozrodczego u kobiet, zaburzeniami hormonalnymi, czy zaburzeniami metabolicznymi.

Analizie poddano 497 próbek moczu pochodzących od kobiet będących pacjentkami kliniki leczenia niepłodności, poddających się procedurze zapłodnienia *in-vitro*. BPA został wykryty w 95,2% próbek. Średnie geometryczne stężenie wyniosło 1,121 ng/ml, a maksymalne stężenie 61,7 ng/ml. Wyższe stężenia BPA wykryto w próbkach zbieranych w miesiącach wiosenno–letnich niż jesienno-zimowych. Dla stężeń skorygowanych o zawartość kreatyniny w moczu wykryto istotną zależność pomiędzy zawartością BPA a wskaźnikiem masy ciała (BMI) oraz spożywaniem kawy, czarnej herbaty i napojów energetyzujących.

Wysoki procent detekcji BPA w badanych próbkach moczu wskazuje na powszechną ekspozycję na ten związek. Ze względu na dużą liczbę źródeł narażenia na BPA trudne jest poszukiwanie predyktorów, które mogą być charakterystyczne dla danej populacji. BPA jest wszechobecnym zanieczyszczeniem środowiskowym, mogącym mieć negatywny wpływ na zdrowie ludzi, dlatego ocena wielkości ekspozycji w różnych populacjach jest przedmiotem badań epidemiologicznych na całym świecie.

Słowa kluczowe: Bisfenol A, narażenie środowiskowe, predyktory narażenia.

Acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfatydyloetanolamina (LPEATy) nasion *Camelina sativa* oraz akumulacja acylolipidów w tych nasionach

**Sylwia Klińska, Katarzyna Jasieniecka-Gazarkiewicz, Kamil Demski, Anna Łosiewska
Antoni Banaś**

*Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego,
Katedra Biotechnologii, Pracownia Biochemii Roślin, ul. Abrahama 58, 80-307 Gdańsk*

sylwia.klinska@phdstud.ug.edu.pl

Acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfatydyloetanolamina (LPEATy) należą do grupy enzymów biorących udział w biosyntezie fosfatydyloetanolaminy (PE). Enzymy te przenoszą grupy acylowe z puli acylo-CoA na lizofosfatydyloetanolaminę syntetyzując PE. LPEATy katalizują nie tylko reakcje typu „forward”, ale również typu „reverse”, podczas których kwasy tłuszczowe są odłączane z pozycji *sn*-2 PE i przenoszone do puli cytoplazmatycznego acylo-CoA. Oba typy reakcji biorą znaczący udział w remodelowaniu składu kwasów tłuszczowych obecnych w fosfolipidach. Jak dotąd, enzymy typu LPEAT, występujące w *Camelina sativa* (lnicznik siewny), nie zostały scharakteryzowane ani pod względem specyficzności substratowej, ani pod względem ich aktywności w różnych tkankach i okresach rozwojowych tej rośliny. Lnicznik jest rośliną oleistą wzbudzającą coraz większe zainteresowanie ze względu na swe unikalne właściwości. Możliwość realnego wykorzystania olei lnicznika zarówno w przemyśle spożywczym, jak i chemicznym oraz bliskie pokrewieństwo z rośliną modelową *Arabidopsis thaliana* sprawia, że *C. sativa* staje się coraz ważniejszym podmiotem badań biotechnologicznych.

Celem wykonanych badań było określenie aktywności i specyficzności substratowej enzymów typu LPEAT w rozwijających się nasionach lnicznika. Do badań wykorzystywano frakcje mikrosomalne pochodzące z trzech stadiów rozwojowych nasion. W testach wykorzystano egzogenne, znakowane węglem C14 donory kwasów tłuszczowych tj. [¹⁴C]acylo-CoA oraz nieznakowaną lizofosfatydyloetanolaminę. Przed rozpoczęciem głównych badań, warunki testów poddano optymalizacji w celu określenia najlepszych parametrów dla reakcji enzymatycznych *in vitro*. Wykonane zostały również badania dotyczące akumulacji acylolipidów w rozwijających się nasionach, podczas których określano zmiany w poszczególnych klasach acylolipidów oraz zmiany w składzie ich kwasów tłuszczowych w trakcie całego rozwoju nasion lnicznika.

Wyniki badań wykazały, że nasiona *C. sativa* posiadają wysoką zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych, które głównie akumulowane są, jako komponent puli triacylogliceroli między 17 a 31 dniem od zakwitnięcia. Analiza enzymów typu LPEAT wykazała, że w poszczególnych stadiach rozwojowych nasion, wykazują one różną aktywność i charakteryzują się różną specyficznością w stosunku do testowanych acylo-CoA. Spośród wszystkich testowanych acylo-CoA, LPEATy wykazywały najwyższą aktywność w stosunku do kwasu stearynowego oraz 18-węglowych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Podczas optymalizacji parametrów reakcji enzymatycznych *in vitro*, ustalone zostały optymalne wartości pH, temperatury, czasu, ilości mikrosomów oraz zbadano wpływ poszczególnych jonów na aktywność LPEATów nasion lnicznika.

Przeprowadzone badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki, numer projektu: UMO 2017/25/B/NZ3/00721.

Słowa kluczowe: acylotransferaza acylo-CoA:lizofosfatydyloetanolamina, *Camelina sativa*, fosfatydyloetanolamina, LPEAT, lipidy.

Polichlorowane dibenzo-*p*-dioksyny i dibenzofurany i ich prekursory w osadach dennych Antarktyki i Arktyki – lodowce istotnym źródłem wtórnym?

Marta Ewelina Kobusińska¹, Krzysztof Konrad Lewandowski¹, Anna Panasiuk², Leszek Łęczyński³, Magdalena Urbaniak⁴, Elżbieta Niemirycz⁵

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Zakład Chemii Morza i Ochrony Środowiska Morskiego,

²Zakład Badań Planktonu Morskiego, ³Zakład Geologii Morza, al. Marsz. Piłsudskiego 46, Gdynia

⁴Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii PAN, ul. Tylna 3, Łódź

⁵Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, ul. Wita Stwosza 63, Gdańsk

marta.kobusinska@ug.edu.pl

Ekosystemy Oceanu Południowego i Arktycznego charakteryzuje duża wrażliwość na oddziaływanie czynników zewnętrznych, w tym na obserwowane w ostatnich latach zmiany klimatyczne. Zorganizowanie ekspedycji badawczych na oba bieguny, w tym samym czasie, umożliwiło uzyskanie unikatowych próbek osadów dennych do porównania zmian zachodzących w obszarach polarnych i odniesienie ich do strefy umiarkowanej.

W rozważaniach nad globalnym transportem zanieczyszczeń, szczególnie istotne są substancje, których emisja w zindustrializowanej strefie umiarkowanej jest nieintencjonalna, czyli nie będąca efektem celowej produkcji. Należą do nich polichlorowane dibenzo-*p*-dioksyny i dibenzofurany (PCDD/F), których aktywność genotoksyczna, mutagenna i endokrynnie czynna została potwierdzona *in vitro* i *in vivo*. Właściwości PCDD/F ułatwiają transport *via* atmosfera na osi północ-południe i ich depozycję w strefach polarnych (tzw. *efekt konika polnego*). Nadzwyczajna trwałość tych związków i niska temperatura odpowiadają za ich magazynowanie w osadach dennych i lodowcach Antarktyki i Arktyki. Zmiany klimatyczne będące wynikiem antropopresji skutkują wzmożoną ablacją lodowców, która może powodować wtórne zanieczyszczenia środowiska.

W celu oceny stopnia zanieczyszczenia osadów dennych PCDD/F i ich prekursorami – pentachlorofenolem (PCP) i triklosanem (TCS), przeprowadzono analizy chemiczne z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (PCP, TCS) oraz przesiewowy test immunoenzymatyczny ELISA (PCDD/F). Obszar badań obejmował Zatokę Suszczewskiego przy Lodowcu Ekologii, Halfmoon i Herve Cove (Antarktyka) oraz Zatokę Skodde u podnóża Lodowca Torella, Nottingham i Isbjorn (Arktyka). Osady denne pobrane zostały podczas wypraw naukowych Centrum Studiów Polarnych KNOW (Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego) organizowanych przez Instytut Geofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie (Arktyka) oraz Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk (Antarktyka). Uzyskane, wstępne wyniki wydają się być alarmujące w kontekście postępujących zmian klimatycznych i wymagają wnikliwej identyfikacji źródeł z wykorzystaniem technik *in silico*, w oparciu o teorię profili kongenerów.

Badania prowadzone w ramach projektu NCN nr 2016/23/N/ST10/01376.

Słowa kluczowe: rejon polarny, zmiany klimatyczne, PCDD/F, ELISA, pentachlorofenol, triklosan.

Dynamika rodzaju i poziomu inwazji pasożytniczych u żubra (*Bison bonasus* L.) w Bieszczadach w latach 2017-2019

Barbara Kołodko, Anna Sobieraj, Katarzyna Konefał

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Zwierzętach,
Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa*

barbara_kolodko@sggw.pl

Bieszczady wchodzą w skład masywu górskiego Karpat Wschodnich. Duża różnorodność wśród roślinności oraz liczne doliny stanowią doskonałą bazę żerową dla największego ssaka Europy. Dodatkowo poszczególne pasma wzniesień są połączone łagodnymi przełęczami, dzięki czemu zwierzęta mogą swobodnie migrować.

Na terenie Polski południowo-wschodniej, na granicy z Ukrainą i Słowacją, w dniu 4 maja 1964 roku zostały wypuszczone na wolność pierwsze żubry, zamieszkujące wówczas zagrodę aklimatyzacyjną. Grupa założycielska w liczbie 19 osobników została przywieziona z Pszczyny i Niepołomic, zaś w dalszych latach kolejne osobniki. Do 1980 roku introdukowano 45 zwierząt oraz przetrzymywano 5 w zagrodzie aklimatyzacyjnej. Dalej dowieziono kolejne 10 osobników, które razem z rezydentami zagrody wypuszczono w tym samym roku. Dwa lata później dowieziono dwa samce ze Smardzewic. Do dnia dzisiejszego Bieszczady są jedynym miejscem w Polsce, gdzie bytują żubry z linii białowiesko-kaukaskiej. Obecnie na danym terenie funkcjonują dwie populacje: wschodnia i zachodnia, które nie kontaktują się ze sobą. Według Księgi Rodowodowej Żubrów 2017 na danym terenie przebywało 487 osobników. Rosnąca populacja bieszczadzkich żubrów jest obiektem wielokierunkowych badań i opracowań naukowych.

Jednym z obecnie istniejących zagrożeń dla żubrów bytujących w Bieszczadach są pasożyty wewnętrzne. Celem prowadzenia monitoringu jest identyfikacja gatunków oraz określenie liczby jaj, larw oraz kokcydiów. Próby koproskopowe były zbierane w okresie wiosennym oraz jesiennym w latach 2017-2019. Kolejno zostały poddane badaniom metodami flotacji, dekantacji oraz metody Baermanna. Liczbę jaj, larw i kokcydiów ustalono w 3 gramach kału. Łącznie przeanalizowano ponad 400 prób, co pozwoliło na określenie składu gatunkowego pasożytów oraz analizę statystyczną ich liczebności.

Słowa kluczowe: *Bison bonasus*, Bieszczady, pasożyty.

Oddziaływanie daptomycyny z biomimetyczną błoną lipidową reprezentatywną dla bakterii Gram-dodatniej

Dorota Konarzewska¹, Sławomir Sęk¹, Robert Lasek², Dariusz Bartosik²

¹Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego, ul. Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warszawa

²Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

dkonarzewska@chem.uw.edu.pl

W dzisiejszych czasach coraz więcej szczepów bakteryjnych wykazuje wzrastającą oporność na dostępne antybiotyki. Dlatego też poszukuje się nowych substancji, które będą w stanie podjąć się wyzwania i zniszczyć komórki zmieniono chorobowo, nie oddziałując przy tym na komórki zdrowe. Wśród wielu potencjalnych kandydatów, które mogą stanąć do walki z różnymi drobnoustrojami, wyróżnia się lipopeptydy.

Lipopeptydy to związki o charakterze afilmowym – wyróżnia się zarówno część hydrofilową jak i hydrofobową – w których jeden lub więcej łańcuchów lipidowych przyłączony jest do głównej grupy peptydu. Wyróżnia się lipopeptydy pochodzenia bakteryjnego (z cyklicznym peptydem jako grupa główna) lub liniowe lipopeptydy syntezowane w laboratorium w oparciu o sekwencje aminokwasowe występujące naturalnie w przyrodzie. Do pierwszej grupy wymienionych związków należy daptomycyna [1]. Lipopeptyd ten składa się z 13 reszt aminokwasowych i łańcucha n-dekanoilowego przyłączonego do tryptofanu stanowiącego grupę główną. Według danych literaturowych daptomycyna wykazuje silne działanie jedynie wobec błony lipidowej bakterii Gram-dodatnich, jednakże tylko w obecności jonów wapnia. Dokładny mechanizm działania daptomycyny jest ciągłym tematem badań.

Celem badań było m.in. sprawdzenie jak daptomycyna wpływa na organizację molekularną biometrycznej modelowej błony lipidowej bakterii Gram-dodatnich. Doświadczenia prowadzone były na granicy faz powietrze-woda (metoda Langmuira [2]). Dzięki współpracy z Zakładem Genetyki Bakterii Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego udało się wyznaczyć również minimalne stężenie inhibitorowe wobec różnych szczepów bakterii oraz wyznaczyć zmiany gęstości optycznej przy 600 nm kultur bakterii w funkcji czasu przy różnych stężeniach daptomycyny.

Słowa kluczowe: lipopeptydy, daptomycyna, błona lipidowa, bakterie.

[1] I. Hamley, *Chem. Commun.* 2015, 51, 8574-8583.

[2] C. Stefaniu et. al., *Advances in Colloid and Interface Science.* 2014, 208, 197-213.

Wpływ preparatu MycotrexTM na wzrost oraz wybrane parametry biochemiczne siewek pszenicy traktowanej kadmem

Patrycja Kopa, Aleksandra Witusińska, Ewa Gajewska

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin,
90-237, Łódź, ul. Banacha 12/16*

patrycja.kopa@unilodz.eu

Kadm (Cd) to jeden z najbardziej toksycznych metali ciężkich obecnych w glebach. Ze względu na wysoką mobilność w środowisku jest on łatwo absorbowany przez rośliny. Może on wywołać u nich efekt toksyczny, powodując szereg zmian fizjologicznych oraz doprowadzić do uszkodzenia struktur komórkowych. Nasilenie stresu wywołanego tym czynnikiem można ocenić na podstawie aktywności enzymów biorących udział w detoksykacji. Do tych markerów zaliczane są: transferaza S-glutationowa, katalizująca sprzężanie glutationu z hydrofobowymi związkami organicznymi oraz peroksydazy, które katalizują redukcję nadtlenu wodoru, kosztem utleniania różnych substratów m. in. fenoli. Traktowanie roślin metalami ciężkimi powoduje u nich aktywację mechanizmów obronnych np. zwiększoną produkcję niebiałkowych związków tiolowych (NZT), które chelatują te pierwiastki,

co umożliwia ich późniejsze zdeponowanie w wakuoli. Zważając na liczne doniesienia dotyczące łagodzenia stresu środowiskowego na rośliny uprawne, za pomocą określonych mikroorganizmów postanowiono ocenić wpływ preparatu MycotrexTM na siewki pszenicy traktowane kadmem. Preparat ten jest mieszaniną dziewięciu gatunków grzybów z rodzaju *Glomus* spp., naturalnie zasiedlających glebę. Wzmaga on wzrost roślin poprzez zwiększenie poboru wody i składników mineralnych.

Celem badań była ocena wpływu preparatu MycotrexTM na wzrost, aktywność wybranych enzymów detoksykacyjnych oraz stężenia NZT w siewkach pszenicy uprawianej w warunkach stresu wywołanego obecnością kadmu.

Materiał do badań stanowiły siewki pszenicy uprawiane przez 10 dni w glebie z dodatkiem kadmu (200 mg/l gleby) i preparatu MycotrexTM (3 g/l gleby) stosowanych osobno lub równocześnie. Wzrost rośliny oceniono poprzez pomiar świeżej masy pędów oraz korzeni. Aktywność peroksydazy (POX), transferazy S-glutationowej (GST) oraz zawartość NZT w korzeniach i pędach pszenicy oznaczono metodami spektrofotometrycznymi.

Kadm istotnie zmniejszył biomasę pędów i korzeni, odpowiednio o 45 i 55%, natomiast w wariancie mieszanym o 33 i 48%. Traktowanie tym metalem spowodowało znaczny wzrost aktywności GST w korzeniach oraz POX w pędach. Metal ten spowodował ponad 30-krotny wzrost zawartości NZT w korzeniu względem kontroli. W wariancie mieszanym zaobserwowano 15% spadek ich stężenia w porównaniu do siewek poddanych działaniu jedynie kadmu.

Równoległe zastosowanie preparatu MycotrexTM i kadmu spowodowało złagodzenie toksyczności tego pierwiastka na siewki pszenicy o czym świadczy niewielki przyrost ich masy. Korzystne działanie może wiązać się ze zmniejszonym pobieraniem Cd przez siewki, na co wskazuje mniejsza akumulacja NZT w korzeniach. Wzrost aktywności GST w korzeniach pszenicy traktowanych kadmem powiązana ze znacznym spadkiem ich masy, sugeruje

iż enzym ten jest dobrym markerem stresu wywołanego obecnością tego pierwiastka.

Słowa kluczowe: pszenica, kadm, biopreparaty, enzymy detoksykacyjne.

Genomy chloroplastowe *Dactylorhiza majalis* i *Platanthera chlorantha* (Orchidaceae)

Félix Lallemand¹, Joanna Korybut-Orłowska², Michał May², Anna Ihnatowicz³, Marcin Jąkałski²

¹ Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité (ISYEB), Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, Sorbonne Université, EPHE, CP 39, 57 rue Cuvier, 75005 Paryż, Francja

² Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

³ Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Abrahama 58, 80-307 Gdańsk, Poland

joanna.korybut.orlowska@gmail.com

Storczykowate są jedną z największych i najbardziej zróżnicowanych rodzin roślin okrytozalążkowych (Chase 2005). Ze względu na dużą zmienność oraz wiele wykształconych adaptacji m. in. do środowiska, czy zapylania stanowią ważny temat badań ewolucyjnych i ekologicznych (Selosse 2014).

Celem pracy było uzyskanie i scharakteryzowanie kompletnego genomu chloroplastowego dwóch gatunków storczykowatych: *Dactylorhiza majalis* (kukulka szerokolistna) i *Platanthera chlorantha* (podkolan biały).

W tym celu dokonano izolacji całkowitego genomowego DNA obu gatunków, wygenerowano bibliotekę sekwencjonowania za pomocą zestawu bibliotek Accel-NGS® 1S Plus DNA Library (Swift Biosciences Inc., USA) oraz zsekwencjonowano DNA przy użyciu platformy Illumina HiSeq 4000. Następnie za pomocą algorytmu Geneious dokonano złożenia oraz adnotacji plastomów.

Oba gatunki posiadają plastom o kolistej budowie, kolejno 154 260 pz oraz 154 108 pz. Składają się one z kilku obszarów typowych dla genomu chloroplastowego roślin lądowych: długiego fragmentu jednokopijnego (LCS), krótkiego fragmentu jednokopijnego (SSC) oraz dwóch rozdzielających je odwróconych powtórzeń (IRa, IRb). Oba genomy kodują po 134 geny, w tym 113 unikalnych (są to geny kodujące rRNA, tRNA i białka – w różnej liczbie, w zależności od gatunku). Ogólna zawartość GC w obu przypadkach wynosi ok. 37%.

Przedstawione sekwencje genomu chloroplastowego stanowią cenne źródło do analizy różnorodności genetycznej *Orchidaceae*, pomoc w rozwiązywaniu problemów filogenetycznych (szczególnie w linii matczynej) oraz badaniem populacji gatunków tej rodziny.

Słowa kluczowe: plastom, sekwencjonowanie nowej generacji, kukulka szerokolistna, podkolan zielonawy, storczykowate.

Chase M. W. 2005. Classification of Orchidaceae in the age of DNA data. *Curtis's Botanical Magazine*, 22(1), 2-7.

Selosse M. A. 2014. The latest news from biological interactions in orchids: in love, head to toe. *New Phytologist*, 202(2), 337-340.

Fotobionty z rodziny Trentepohliaceae (Ulvophyceae) w symbiozie porostowej

Magdalena Kosecka, Agnieszka Jabłońska, Adam Flakus, Pamela Rodriguez-Flakus, Martin Kukwa, Beata Guzew-Krzemińska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

Magdalena.Kosecka@phdstud.ug.edu.pl

Porosty stanowią jeden z najbardziej niezwykłych przykładów symbioz grzybowych. Składają się one z co najmniej jednego partnera grzybowego zwanego mykobiontem, który może należeć do gromady Ascomycota lub Basidiomycota oraz jednego lub kilku partnerów fotosyntetycznych - fotobiontów. Wśród fotobiontów odlaleźć można około 40 różnych rodzajów glonów eukariotycznych i cyjanobakterii prokariotycznych, a około 20% grzybów tworzących porosty jest związanych z fotobiontami z rodziny Trentepohliaceae.

Głównym celem tej pracy była ocena filogenetycznych związków fotobiontów z rodziny Trentepohliaceae regionu Neotropikalnego, występujących głównie w sterylnych porostach zebranych w Boliwii. Ponadto poddano ocenie różnorodność genetyczną, specyficzność w stosunku do gospodarza i wpływ czynników siedliskowych na występowanie Trentepohliaceae.

Na podstawie analizy markera *rbcL* skonstruowano drzewo filogenetyczne z 6 głównymi kładami Trentepohliaceae, w których gatunki wolno żyjące mieszają się z gatunkami zlichenizowanymi. Analizy wykazały, że badane fotobionty są rozproszone na drzewie filogenetycznym, a glony z regionów umiarkowanych i tropikalnych nie tworzą grup monofiletycznych, z wyjątkiem jednego subkladu, który wydaje się być ograniczony do regionu tropikalnego. Nie wykazano wzoru występowania zlichenizowanych Trentepohliaceae na określonym podłożu, z wyjątkiem *Cephaleuros* spp. i *Phycopeltis* spp., które są gatunkami nalistnymi. Niektóre klady zlichenizowanych przedstawicieli Trentepohliaceae grupują gatunki występujące wyłącznie na korze drzew, jednak wymaga to dalszych analiz. Znalezione dwa wzorce skojarzeń fotobiontów z mykobiontami: 1. blisko spokrewnione gatunki Trentepohliaceae mogą oddziaływać z daleko spokrewnionymi mykobiontami; 2. Niektóre linie filogenetyczne Trentepohliaceae mogą oddziaływać z wybranymi rodzinami grzybów lichenizujących, np. Arthoniaceae, Rocellaceae lub Graphidaceae. Wykazano również, że niektóre linie fotobiontów wykazują wyższą selektywność i tworzą plechy wyłącznie z jednym gatunkiem mykobionta (np. *Dichosporidium nigrocinctum*, *Graphis scripta*) lub z blisko spokrewnionymi grzybami lichenizującymi (*Herpothallon* spp.). Podsumowując, stwierdzono, że występowanie niektórych fotobiontów z rodziny Trentepohliaceae może korelować z konkretnym typem mykobionta.

Badania przeprowadzono w ramach projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (nr 2015/17/B/NZ8/02441).

Słowa kluczowe: grzyby lichenizujące, fotobionty, *rbcL*, symbioza, Trentepohliaceae.

Analiza porównawcza nieprogramowanego poślizgu transkrypcji bakteryjnej i fagowej polimerazy RNA

Dawid Kościelniak, Ewa Wons, Monika Szadkowska, Ewelina Sobisz, Marian Sętkas

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii, Wita Stwosza 59, 80-809 Gdańsk, Polska

dawid.koscielniak@phdstud.ug.edu.pl

Podczas transkrypcji w rejonach sekwencji homopolimerycznych (zwykle sekwencji typu poli(A) i poli(T)) mogą pojawiać się błędy delecji lub insercji nukleotydu/ów dokonywane przez polimerazę RNA. Efekt ten zachodzi poprzez przesunięcie się w przód lub w tył polimerazy RNA (etap wydłużania) wzdłuż matrycowego DNA w procesie zwanym poślizgiem transkrypcji. Powoduje to powstawanie puli heterogennej mRNA zawierającego zmienioną pierwotną ramkę odczytu (ang. InDel frameshift). W konsekwencji prowadzi to do tworzenia mieszaniny różnych wariantów białek, w tym również epigenetycznego odtworzenia się białka dzikiego typu z wariantów mutacyjnych badanych genów.

W pracy wykonano analizę efektywności poślizgu transkrypcji w pochodnych z mutacjami InDel, w zależności od rodzaju polimerazy RNA (bakteriofagowa/bakteryjna) oraz struktury rejonu homopolimerycznego. Do tego celu wykorzystano serie genów reporterowych opartych na białku zielonej fluorescencji GFP w fuzji z sekwencjami homopolimerycznymi typu poli(A) i poli(T). W badaniach zaobserwowano m.in. że polimeraza *E. coli* będąc podatną na efekt polarności transkrypcji, rzadko osiąga swoje maksima poślizgu w warunkach *in vivo*, w odróżnieniu od polimerazy T7, która jest niepodatna na efekt zahamowania transkrypcji z powodu powstawania przedwczesnego kodonu stop translacji, wygenerowanego przez obecność błędu typu InDel. W takiej sytuacji rzeczywista różnica w epigenetycznym odtwarzaniu właściwej ramki odczytu może być nawet kilkukrotnie wyższa na korzyść polimerazy bakteriofagowej.

Słowa kluczowe: polimeraza, GFP, poślizg, transkrypcja.

Barkoding DNA - wszechstronne narzędzie stosowane w nauce i przemyśle

Zuzanna Kowalska, Filip Pniewski, Adam Latała

*Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii, Pracownia Ekofizjologii Roślin Morskich
al. Marszałka Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia*

zuzannakowalska0@gmail.com

Ze względu na ograniczenia wynikające z morfologicznego podejścia do identyfikacji szczególnie drobnych organizmów, naukowcy opracowali inne metody oparte na DNA. Idea gatunku molekularnego wydaje się często lepszym oraz skuteczniejszym podejściem do diagnostyki taksonomicznej organizmów. Barkoding DNA jest wykorzystywany jako jedna z technik molekularnych do oznaczania gatunków. Każdy organizm posiada w swoim genomie informację genetyczną, która może zostać wykorzystana jako jego znacznik ułatwiający identyfikację. Barkod DNA to krótka sekwencja lub kilka sekwencji w danym locus lub kilku loci, która umożliwia ustalenie tożsamości badanego organizmu w krótkim czasie, a otrzymane wyniki będą wiarygodne i dostępne w skali globalnej.

Barkoding DNA odgrywa ważną rolę w badaniach naukowych zajmujących się między innymi: monitoringiem i oceną różnorodności biologicznej, a także charakterystyką ekosystemów oraz umożliwia badanie sieci pokarmowych i ich dynamiki. Jest to metoda tańsza i szybsza od tradycyjnego oznaczania gatunków w danym ekosystemie. Metoda ta umożliwia ocenę bioróżnorodności oraz preferencji pokarmowych organizmów w próbkach środowiskowych (osady, gleba czy woda) przez identyfikację taksonów na podstawie obecnych w nich śladów DNA.

Narzędzie to ma szerokie zastosowania praktyczne. Jest przydatne w naukach medycznych w oznaczaniu alergenów u ludzi oraz organizmów wywołujących zatrucia pokarmowe (grzyby, rośliny, zwierzęta). Barkody DNA można także wykorzystać w badaniach służących określeniu pokrewieństwa lub rodzicielstwa. Metoda molekularna oparta o barkody DNA, może identyfikować próbki biologiczne i służy do oceny zarówno surowców, jak i przetworzonej żywności. Posiada ona również duże zastosowanie w identyfikacji nadużyć handlowych. Wykorzystanie analizy DNA w dochodzeniach sądowych dotyczących przemocy wobec zwierząt i ochrony różnorodności biologicznej jest obecnie coraz bardziej powszechne, a przestępstwa, takie jak nielegalny przemyt, kłusownictwo i bezprawny handel chronionymi gatunkami, są coraz częściej badane za pomocą dowodów opartych na analizie DNA. Ponadto, barkody DNA znajdują zastosowanie w entomologii sądowej. Dlatego też celem niniejszej pracy jest przedstawienie szerokiej możliwości zastosowania barkodingu DNA w różnego rodzaju badaniach naukowych oraz wielu gałęziach przemysłu i instytucjach państwowych, gdzie szybka, niedroga i wiarygodna identyfikacja organizmów ma kluczowe znaczenie.

Słowa kluczowe: barkoding DNA, identyfikacja, taksonomia

Udział białka NtMTP2 w homeostazie metali w tytoniu

Katarzyna Kozak, Anna Papierniak, Małgorzata Palusińska i Danuta Maria Antosiewicz

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

katarzyna.kozak@biol.uw.edu.pl

Białka MTP tworzą jedną z najważniejszych rodzin transporterów metali. Zazwyczaj zlokalizowane są w tonopląście, gdzie uczestniczą w załadunku metali do wakuoli, albo w błonie komórkowej, partycypując w usuwaniu ich poza komórkę. Białka z rodziny MTP zwykle biorą udział w przenoszeniu Mn^{2+} i Zn^{2+} , wobec których wykazują najwyższe powinowactwo, ale mogą transportować także inne metale - Fe^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} czy też Cu^{2+} . Wcześniejsze badania wykazały, iż białko tytoniu NtMTP2 zlokalizowane jest w tonopląście i uczestniczy w przenoszeniu metali do wakuoli. Testy wzrostu drożdży wskazały natomiast kobalt i nikiel jako potencjalne substraty transportowane przez badane białko.

Celem badań było określenie zmian poziomu ekspresji *NtMTP2* w zależności od stężenia kobaltu i niklu w pożywce. Badania były prowadzone na roślinach tytoniu (*Nicotiana tabacum* var. Xanthi) uprawianych w warunkach hydroponicznych. Określono poziom ekspresji *NtMTP2* w liściach oraz w częściach apikalnych i nasadowych korzenia. W analizach wykorzystano metodę real-time qPCR. Porównano poziom ekspresji *NtMTP2* w tkankach roślin rosnących w warunkach kontrolnych oraz poddanych działaniu 20 μM $CoCl_2$ albo 30 μM $NiCl_2$. Dodatkowo sprawdzono jak wprowadzenie deficytu kobaltu wpływa na poziom transkryptu *NtMTP2*.

Uzyskane wyniki wskazują na udział *NtMTP2* w homeostazie kobaltu i niklu w tytoniu. Wzrost stężenia kobaltu w pożywce indukuje jego gromadzenie w liściach, co prawdopodobnie ma na celu ochronę pozostałych części rośliny przed nadmiarem tego metalu. Poddanie roślin działaniu wysokiego stężenia niklu, którego nadmiar jest toksyczny, skutkuje obniżeniem poziomu ekspresji *NtMTP2* w liściach, dzięki czemu metal ten nie jest najprawdopodobniej w nich akumulowany w nadmiarze. W korzeniach poziom transgeny był niski we wszystkich wariantach doświadczalnych, co może wskazywać na fakt, iż ekspresja *NtMTP2* jest organowo-specyficzna i charakterystyczna dla liści.

Słowa kluczowe: kobalt, nikiel, *NtMTP2*, tytoń.

Badania były realizowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu HARMONIA (NZ3/00527).

Brokuły w natarciu: rzecz o wykorzystaniu izotiocyjanianów w kontroli wirulencji *Vibrio cholerae*

Klaudyna Krause, Dariusz Nowicki, Agnieszka Szalewska-Palasz

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

klaudyna.krause@phdstud.ug.edu.pl

Wstęp: Bakteria *Vibrio cholerae* jest Gram- ujemnym patogenem wodnym odpowiedzialnym za chorobę układu pokarmowego - cholere. Głównym celem pracy jest zbadanie antybakteryjnego efektu związków pochodzenia roślinnego - izotiocyjanianów (ITC) na *Vibrio cholerae*. Mechanizmy działania pochodnych glukozynolanów nie są w pełni poznane, jednakże niedawne badania wykazały, że ITC są obiecującymi substancjami przeciwbakteryjnymi wobec enterokrwotocznych szczepów *Escherichia coli* niosących toksyny Shiga kodowane w genomie bakteriofagów.

Metody: Mechanizm antybakteryjnego działania ITC został przetestowany zgodnie ze standardami CLSI. Krzywe wzrostu i przeżywania ustalono z wykorzystaniem spektrofotometru bądź badając wzrost bakterii na podłożu stałym, w obecności określonych stężeń ITC: sulforafanu (SFN) i izotiocyjanianu fenetylu (PEITC). W kolejnym etapie określono w jaki sposób izotiocyjaniany wpływają na wzrost i żywotność biofilmu, jak również czy indukują odpowiedź ścisłą. Dodatkowo, sprawdzono wpływ związków na replikację DNA i RNA oraz ekspresję genów związanych z wirulencją *V. cholerae* po traktowaniu hodowli bakteryjnej SFN i PEITC, jak również cytotoksyczność ITC przeciwko liniom komórkowym HeLa i Vero.

Wyniki: Ustalono wartości minimalnych stężeń hamujących wzrost bakterii i minimalne stężenia bakteriobójcze. Stwierdzono, że ITC hamują wzrost bakterii. Ponadto, synteza kwasów nukleinowych DNA i RNA została zahamowana po dodaniu każdego z izotiocyjanianów. Zastosowanie ITC prowadziło do indukcji odpowiedzi ścisłej i akumulacji alarmonu tej odpowiedzi, czterofosforanu guanozyny. Wszystkie badane związki skutecznie redukowały biomasę biofilmu i zmniejszały aktywność metaboliczną komórek. Dodatkowo, analiza wyników uzyskanych w reakcji qPCR wskazuje, że SFN i PEITC efektywnie hamują transkrypcję genów wirulencji, a stopień zmniejszenia ekspresji genów związany jest z zastosowanym stężeniem. Cytotoksyczność lizatów bakteryjnych uzyskiwanych w obecności PEITC i SFN wobec komórek eukariotycznych zmniejszyła się.

Wniosek: Badane izotiocyjaniany, SFN i PEITC, wykazują znaczące działanie antybakteryjne wobec *V. cholerae*, co wskazuje na potencjalne szanse ich zastosowania w terapii zakażeń tą patogenną bakterią.

Słowa kluczowe: *Vibrio cholerae*, izotiocyjaniany, sulforafan, izotiocyjanian fenetylu.

Zmiany w zawartości barwników roślinnych w liściach dębu w następstwie formowania galasów indukowanych przez pokolenie jednopłciowe galasówki jagodek (*Neuroterus quercusbaccarum* L.)

Magdalena Kryska

Uniwersytet Przyrodniczo-humanistyczny w Siedlcach, Wydział Przyrodniczy, Instytut Biologii, Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, 08-110 Siedlce, ul. B. Prusa 14

Magda.kryska123@gmail.com

Proces tworzenia galasów jest efektem specyficznych interakcji zachodzących między owadem, a jego rośliną żywicielską. Wiele gatunków owadów tworzących galasy jest zdolna do przeprogramowania metabolizmu roślin w kierunku dla siebie korzystnym. W efekcie takich zmian w tkankach galasów wzrasta ilość substancji odżywczych i spada zawartość wtórnych metabolitów obronnych. Z drugiej strony proces ten może indukować odpowiedzi obronne roślin. Celem podjętej pracy było określenie zmian w zawartości chlorofili, antocyjanów, karotenoidów i flawonoidów w galasach indukowanych przez pokolenie płciowe galasówki jagodek na liściach dębu, w liściach z galasami oraz w zdrowych liściach. Otrzymane wyniki wykazały, że najniższą zawartością antocyjanów charakteryzowały się galasy po wylocie osobników dorosłych, a najwyższą krótkopędy liści z galasami. W galasach opuszczonych przez osobniki dorosłe galasówki jagódek stwierdzono ponadto 7-krotny wzrost zawartości karotenoidów. Wysoką zawartością chlorofili charakteryzowały się tkanki liści zdrowych, liści z galasami oraz galasów przed wylotem owadów, podczas gdy galasy po wylocie *N. quercusbaccarum* odznaczały się niskim stężeniem tych barwników. Flawonoidy występowały w największych ilościach w tkankach liści, natomiast galasy zawierały ich śladowe ilości.

Słowa kluczowe: galasy, antocyjany, chlorofile, karotenoidy, flawonoidy.

Cyklodekstryna jako nośnik leku przeciwnowotworowego - temozolomidu

Agata Krzak¹, Maciej Majdecki², Renata Bilewicz¹

¹Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii, ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa.

²Polska Akademia Nauk, Instytut Chemii Organicznej; ul. Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa.

agata.krzak@chem.uw.edu.pl

Glejak (GBM) jest najbardziej śmiertelnością postacią guza mózgu ze średnim czasem przeżycia poniżej jednego roku od momentu rozpoznania. Obecne standardowe leczenie glejaka rozpoczyna się od maksymalnej bezpiecznej resekcji chirurgicznej, po której następuje połączona radioterapia i chemioterapia [1]. Temozolomid (TMZ) jest jednym z najskuteczniejszych środków chemioterapeutycznych w leczeniu glejaka wielopostaciowego. Badania wykazały, że temozolomid jest związkiem alkilującym. W fizjologicznym pH TMZ jest metabolizowany do aktywnego metabolitu 5-(3-metylo-1-triazenylo)imidazolo-4-karboksyamidu (MTIC) [2]. Ze względu na krótki okres półtrwania temozolomidu wymagane jest podawanie dużych dawek leku, co prowadzi do kilku efektów ubocznych ograniczających dawkę [3]. Aby poprawić skuteczność TMZ i zmniejszyć ryzyko skutków ubocznych, proponuje się stosowanie nośników leków, takich jak cyklodekstryny.

Cyklodekstryny (CD) są cyklicznymi oligosacharydami zbudowanymi z jednostek glukopiranozowych, połączonych ze sobą mostkami tlenowymi α -(1,4). Ich struktura przypomina kształt ściętego stożka z hydrofobową wnęką i hydrofilową powierzchnią zewnętrzną. Cyklodekstryny są w stanie tworzyć kompleksy inkluzyjne typu gość-gospodarz, gdzie gościem jest hydrofobowa cząsteczka [4].

Celem niniejszej pracy było zbadanie tworzenia kompleksów między temozolomidem, a wybranymi pochodnymi cyklodekstryny. Stosując metody elektrochemiczne i spektroskopowe określono stałą trwałości kompleksu TMZ-CD w fizjologicznym pH 7,4 oraz pH 5,5 - charakterystycznym dla komórek nowotworowych.

Słowa kluczowe: temozolomid, cyklodektryny, stałe trwałości kompleksów.

[1] D.T. Nagasawa, F. Chow, A. Yew, W. Kim, N. Cremer, I. Yang, *Neurosurg. Clin. N. Am.* 23 (2012) 307–322, ix.

[2] R.P. Thomas, L. Recht, S. Nagpal, *Clin. Pharmacol.* 5 (2013) 1–9.

[3] M.J. Payne, S.E. Pratap, M.R. Middleton, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 53 (2005) 241–252.

[4] E.M. Martin Del Valle, *Process Biochemistry* 39 (2004) 1033–1046.

The role of *Escherichia coli* protein Hfq in the replication of ColE1 plasmids

Krzysztof Kubiak

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii Molekularnej, Wita Stwosza 59, 80-809 Gdańsk

krzypl@gmail.com

W organizmach bakteryjnych poza podstawową cząsteczką DNA zwaną chromosomem wyróżnia się również cząsteczki replikujące się niezależnie od chromosomu zwane plazmidami. Nie są one niezbędne bakteriom do przetrwania, ponieważ nie kodują one elementów podstawowych szlaków metabolicznych. Mogą jednak ułatwiać komórkom dostawanie się do zmiennych warunków środowiskowych. Są one nośnikami genów kodujących różne bakteryjne czynniki wirulencji jak również genów determinujących oporność na antybiotyki. Dodatkowo, jako relatywnie niewielkie nośniki informacji genetycznej, są one powszechnie używane, jakowektorami w inżynierii genetycznej. Rola jaką plazmidy odrywają w różnych aspektach życia człowieka powoduje, że zrozumienie mechanizmów ich replikacji i biologii jest niewątpliwie kluczowe nie tylko dla nauki, lecz również dla rozwoju technologii poprawiającej ludzkie życie. Plazmidy z grupy ColE1 należą do najpowszechniej występujących w przyrodzie oraz do najczęściej badanych pozachromosomowych elementów genetycznych. Jednak pomimo wieloletnich badań nad nimi wciąż odkrywane są nieznane aspekty replikacji tych plazmidów. Wyniki niedawnych badań wskazały, że białko Hfq, które do tej pory znane było, jako modulator oddziaływań między cząsteczkami RNA, zdolne jest również do oddziaływać z DNA oraz ma wpływ na replikację plazmidów z grupy ColE1. Ta nowo poznana zdolność tego białka do oddziaływania z kwasami nukleinowymi stawia dodatkowe pytania dotyczące potencjalnych mechanizmów regulacji replikacji plazmidów typu ColE1. Kilka hipotez dotyczących tego zjawiska zakłada, iż białko Hfq może: regulować oddziaływanie między RNA zaangażowanymi w inicjację replikacji plazmidu, wpływać na konformację DNA ułatwiając bądź utrudniając procesy związane z syntezą nowej nici, czy wreszcie poprzez wiązanie się do plazmidu utrudniać działalność polimerazy DNA. Badania z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych wskazują, iż słabo dotąd poznana domena C-terminalna białka Hfq odgrywa kluczową rolę w zmianie struktury DNA przez tą cząsteczkę. Obiektem zainteresowań naszego zespołu, jest zbadanie alternatywnych systemów regulacji replikacji plazmidu ColE1 oraz ustalenie roli, jaką oddziaływanie białka Hfq z DNA może odgrywać w funkcjonowaniu organizmów bakteryjnych. Dotychczasowe badania przeprowadzone w celu odpowiedzi na to pytanie miały na skupiały się na określeniu wpływu domen białka Hfq na jego zdolność do oddziaływania z DNA, jak i znaczenie tych właściwości na proces replikacji plazmidu pBR322 (ColE1 origin) in vivo. Dodatkowo we współpracy z zespołem francuskim pod przewodnictwem Veronique Arluison udało się uzyskać dodatkowe informacje na temat domeny C-terminalnej i jej roli w procesach związanych z oddziaływaniem Hfq-DNA. Dotychczasowe informacje na temat udziału białka Hfq w regulacji replikacji plazmidów wskazuje, że białko to może odgrywać rolę w większej liczbie procesów niż wcześniej sugerowano. Rzuca to nowe światło na procesy regulacyjne zachodzące w komórkach bakteryjnych.

Słowa kluczowe: Hfq, ColE1, replikacja, *Escherichia coli*.

Dynamika wiązków (*Ulmus* spp.) na powierzchni grądowej *Tilio - Carpinetum* w Białowieskim Parku Narodowym

Katarzyna Kubicka¹, Dorota Czeszczewik¹, Ziemowit Kosiński², Wioleta Puła¹, Wiesław Walankiewicz¹

¹ Uniwersytet Przyrodniczo – Humanistyczny w Siedlcach, Wydział Przyrodniczy, Instytut Biologii, Katedra Zoologii, ul. Prusa 14, 08–110 Siedlce

² Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Umultowska 89, 61-614 Poznań

katarzynakubicka@gmail.com

Występowanie wiązków *Ulmus* spp. ogranicza się głównie do stref umiarkowanych półkuli północnej. Na świecie opisano około 30 gatunków z rodzaju *Ulmus*, z czego w Polsce możemy spotkać trzy: wiąz górski *Ulmus glabra*, wiąz pospolity *U. minor* i wiąz szypułkowy *U. laevis*. W ostatnim stuleciu dwie niezwykle niszczące pandemie holenderskiej choroby wiązków (inaczej grafioza, ang. Dutch Elm Disease) spowodowały śmierć większości dojrzałych wiązków na rozległych obszarach półkuli północnej. Celem pracy była analiza intensywności procesu obumierania i regeneracji populacji wiązków w drzewostanie grądowym o pierwotnym pochodzeniu. Badania przeprowadzono w Białowieskim Parku Narodowym (BNP), położonym w Puszczy Białowieskiej. Powierzchnia badawcza (25,5 ha) znajdowała się na skraju BNP. Dominowały na niej drzewostany grądowo-lipowe z domieszką świerka pospolitego *Picea abies*, wiązków *Ulmus* spp., jesionu wyniosłego *Fraxinus excelsior*, topoli osiki *Populus termula* i klonu zwyczajnego *Acer platanoides*. W latach: 1997, 2003, 2009 i 2015 na tych samych 24 losowo wybranych kwadratowych powierzchniach o boku 50 m zmierzono pierśnice wszystkich wiązków. Żywe drzewa zidentyfikowano do gatunku, drzewa martwe stojące i leżące kłody rozpoznano do rodzaju. Liczba żywych wiązków zmniejszyła się znacząco między 1997 a 2009 rokiem ($P < 0,001$), następnie ustabilizowała się w roku 2015. Najistotniejsze różnice wykazano dla drzew o pierśnicach od 1 do 40 cm, podczas gdy liczba o większych pierśnicach była stabilna. Liczba martwych drzew w poszczególnych latach badań nie zmieniała się znacząco. Nie było również różnic w przekroju poprzecznym żywych i martwych drzew. Wyniki z ostatniego roku badań wskazują na zahamowanie choroby i wymierania wiązków.

Słowa kluczowe: grafioza, dynamika drzewostanów, Białowieski Park Narodowy, *Ulmus* spp., grąd *Tilio-Carpinetum*.

Zróżnicowanie helmintofauny *Halichoerus grypus* (Carnivora, Phocidae) z Morza Bałtyckiego

**Tytus Kuczkowski¹, Leszek Rolbiecki¹, Joanna Dzido², Joanna N. Izdebska¹,
Sławomira Fryderyk¹, Iwona Pawliczka²**

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk; ²Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii, Stacja Morska im. Profesora Krzysztofa Skóry, ul. Morska 2, 84-150 Hel

tytus.kuczkowski@phdstud.ug.edu.pl

Halichoerus grypus (Fabricius, 1791) jest jedynym z trzech gatunków bałtyckich fok stale występującym w rejonie południowego Bałtyku. Populacja tego gatunku została silnie zredukowana na początku XX wieku, jednak powoli zaczyna się odradzać.

Helmintofauna fok jest poznana słabo i nierównomiernie. Szczególnie dotyczy to fok z rejonu Morza Bałtyckiego (Skrzypczak i wsp. 2014, Rolbiecki i wsp. 2017). Badania obejmowały pojedyncze osobniki i zwykle tylko niektóre grupy pasożytów, głównie pobierane z przewodu pokarmowego, i to często tylko z wybranych jego odcinków.

Obecnie przeprowadzono badania wstępne, w których wykorzystano materiał pobrany od 18 fok pochodzących z przypadkowych przyłówów lub znalezionych martwych na brzegu morza. Foki poddano szczegółowym sekcjom parazytologicznym obejmującym m.in. wszystkie narządy wewnętrzne i układy, z uwzględnieniem podziału przewodu pokarmowego na poszczególne odcinki, dla analizy preferencji żywiczych. Zebrane pasożyty utrwalono i konserwowano w 70% roztworze etanolu, po czym w zależności od grupy systematycznej, odpowiednio preparowano w celu identyfikacji.

Łącznie zebrano około 20 000 helmintów spośród nicieni z rodzaju *Contracaecum*, kolcogłowów *Corynosoma* oraz tasiemców *Diphyllbothrium*=*Pyramicocephalus*. Ekstensywność zarażenia fok helmintami wyniosła 83%, przy zakresie intensywności dochodzącym do blisko 11 000 pasożytów w jednym zarażonym żywicielu.

Ze wstępnych analiz wynika, że foki z Bałtyku wykazują wysokie parametry zarażenia. Ponadto helmintofauna *H. grypus* zdominowana jest przez nicienie z rodziny Anisakidae oraz kolcogłowy z rodzaju *Corynosoma*, co ma szczególnie istotne znaczenie tak w kontekście zagrożeń dla populacji bałtyckich fok, a dodatkowo z zoonotycznego punktu widzenia. Bowiem pasożyty te mogą stanowić zagrożenie dla nietypowych żywicieli jakim jest człowiek, u którego powodują choroby określane odpowiednio jako anisakidoza i korynosomoza. Wysokie zarażenie typowych żywicieli ostatecznych (fok) wskazuje, że stadia inwazyjne żyjące u ryb muszą też być tu pospolite, co po części potwierdzają dotychczasowe badania parazytfauny bałtyckich ryb (np. Pojmańska i wsp. Rolbiecki 2003). Przy czym zarówno foki jak i człowiek zarażają się Anisakidae i *Corynosoma* za pośrednictwem ryb.

Słowa kluczowe: *Halichoerus grypus*, helmintofauna, Morze Bałtyckie.

Geneza metanu obecnego w toni wodnej i osadach powierzchniowych Morza Galilejskiego

Klaudia Kusek¹, Ilia Ostrovsky², Jarosław Tęgowski¹

¹ Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii, Zakład Geologii Morza, Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

² Israel Oceanographic and Limnological Research, Kinneret Limnological Laboratory, P.O.B 447, 14950 Migdal, Israel

klaudia.kusek@phdstud.ug.edu.pl

Morze Galilejskie (Jezioro Tyberiadzkie, Kinneret) jest specyficznym subtropikalnym jeziorem słodkowodnym w północnej części Izraela, położonym na obszarze struktury tektonicznej nazywanej Rowem Jordanu. Wysokość lustra wody tego zbiornika wodnego ulega okresowym zmianom, osiągając wartości od 209 do 214,5 m p.p.m. Warunki środowiskowe panujące w jeziorze Kinneret – stosunkowo wysoka temperatura wody, intensywna produkcja biomasy przez fitoplankton, a następnie rozkład materii organicznej – powodują powstawanie znaczących ilości gazu biogenicznego, którego głównym składnikiem w tym przypadku jest metan. Jego obecność często objawia się w formie pióropuszy gazowych, widocznych przy powierzchni dna i w toni wodnej. Badania tego zjawiska prowadzone były przy użyciu echosondy jednowiązkowej o częstotliwości 120 kHz. Przy ekstremalnie niskim poziomie wody następuje uwalnianie metanu również do atmosfery. Większość dotychczasowych badań skupia się na podkreślaniu, iż zaobserwowane w opisywanej lokalizacji wypływy gazu mają pochodzenie niemal wyłącznie biogeniczne. W rzeczywistości jednak mogą one powstawać również w wyniku działania procesów geotermalnych u wybrzeży Tyberiady (południowo-zachodnia część jeziora) oraz podczas uwalniania metanu z głębokich złóż gazu ziemnego wzdłuż geologicznych powierzchni nieciągłości, zwłaszcza na północnym wschodzie badanego obszaru. Celem jest zatem określenie różnic pomiędzy wypływami metanu o pochodzeniu głównie biogenicznym a przypuszczalnie termogenicznym. Przedstawiona zostanie charakterystyka porównawcza echosondaży oraz analiz energii echa odbitego od dna Jeziora Kinneret w części południowo-zachodniej, centralnej, a także wschodniej i północno-wschodniej.

Słowa kluczowe: emisja metanu, jezioro subtropikalne, echosonda jednowiązkowa, metody zdalne.

Studium porównawcze wrażliwości na nikotynę stadiów rozwojowych *Drosophila melanogaster* i *D. suzukii*

Anetta Lewandowska-Wosik, Ewa Chudzińska

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej,
Zakład Genetyki, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań

anelew@amu.edu.pl

Od szeregu lat *Drosophila melanogaster* jest jednym z najpowszechniej wykorzystywanych organizmów modelowych w szeroko rozumianych badaniach biologicznych. Za tę popularność odpowiadają m.in. krótki cykl rozwojowy, duża płodność, stosunkowo łatwa hodowla czy poznany genom. Hodowla *D. melanogaster* (linii dzikiej oraz mutantów) prowadzona jest z powodzeniem w Zakładzie Genetyki UAM już od przeszło trzydziestu lat. Postanowiliśmy wykorzystać ten gatunek oraz gatunek bardzo blisko z nim spokrewniony a będący zarazem niebezpiecznym, inwazyjnym szkodnikiem owoców - *Drosophila suzukii*, do zbadania, w jaki sposób różne stężenia nikotyny wpływają na kolejne stadia rozwojowe owadów: jaja, larwy, poczwarki, imago. Czy dochodzi do zaburzeń cyklu rozwojowego? Które stadia są najbardziej podatne na szkodliwe działanie nikotyny? Czy bliskie pokrewieństwo oznacza też podobną wrażliwość na alkaloid? Nikotyna to niebezpieczna neurotoksyna, wykorzystywana jako silnie działający insektycyd. Mimo zakazu stosowania jej w rolnictwie czy ogrodnictwie, nadal stanowi bardzo popularną używkę, szkodliwie wpływającą na zdrowie człowieka. Przykład owadów doskonale pokazuje jak niekorzystna jest ekspozycja na ten alkaloid w całym okresie rozwojowym. Okazuje się również, że bliskie pokrewieństwo nie musi oznaczać takiej samej reakcji na czynnik stresogenny.

Słowa kluczowe: *Drosophila melanogaster*, *Drosophila suzukii*, nikotyna, stadia rozwojowe.

Biodegradowalne polimery dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii

Kamila Lewicka, Diana Rogacz, Piotr Rychter, Piotr Dobrzyński

Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie,
Instytut Chemii, Nauk o Zdrowiu i Żywności, Katedra Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii,
Al. Armii Krajowej 13/15, 42-201 Częstochowa

lewickakamilla@gmail.com

Zintensyfikowana produkcja roślinna wiąże się z często nadmiernym stosowaniem środków ochrony roślin, które poza pożądanym efektem, stanowią źródło zagrożenia dla środowiska i zdrowia. Klasyczne formułacje pestycydów w postaci m.in. zawiesin lub emulsji przyczyniają się do gromadzenia toksycznych substancji w środowisku. W związku z tym istnieje uzasadniona potrzeba opracowania metod umożliwiających obniżenie ilości stosowanych chemikaliów przy jednoczesnym utrzymaniu pożądanego efektu działania środka czynnego. Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie systemów kontrolowanego uwalniania agrochemikaliów formowanych z wykorzystaniem polimerów szybko degradujących w glebie jako nośników.

Takimi materiałami przydatnymi do tego celu są syntezowane terpolimery blokowe poli(L-laktyd-ko-glikolid)-poli(tlenek etylenu) otrzymywane w wyniku polimeryzacji z otwarciem pierścienia (ROP) cyklicznych diestrów L-laktydu i glikolidu w obecności poli(tlenku etylenu), pełniącego rolę inicjatora reakcji. Otrzymane materiały, różniące się składem, mikrostrukturą łańcucha poddawane są szczegółowej charakterystyce ich własności. Badanie mechanizmu degradacji enzymatycznej i/lub hydrolitycznej folii polimerowych, prowadzone jest w warunkach modelowych z zastosowaniem zróżnicowanych mediów takich jak: gleba, woda oraz osad czynny. Poza pomiarami zmian w chłonności wody i spadku masy degradowanych próbek, analizowane są zmiany składu terpolimerów, właściwości termiczne, oraz zmiany masy cząsteczkowej w zależności od czasu (bio)degradacji. Z pomocą analizy zmian powierzchni degradowanych folii ocenia się postępy w erozji powierzchni nośników i procesu wymywania czynnika aktywnego. Równocześnie, dokonywany jest pomiar wielkości dawek uwalnianych herbicydów.

Na podstawie otrzymanych danych wyznacza się profile degradacji terpolimerów oraz profile uwalniania pestycydów w wodzie i glebie, które pozwolą na dobranie optymalnego składu biodegradowalnego nośnika polimerowego planowanych systemów, w taki sposób, aby herbicyd uwalniał się w optymalnych ilościach niezbędnych do jego prawidłowego działania w czasie wegetacji uprawianych roślin.

W celu zwiększenia powierzchni właściwej matrycy, a tym samym efektywniejszego przebiegu uwalniania herbicydu i mechanizmu degradacji formowane są preparaty polimerowo-herbicydowe w postaci mikrosfer, a następnie dokonywana jest wstępna ocena skuteczności działania immobilizowanych herbicydów na wybranych gatunkach niepożądanych w uprawach roślin takich jak *Chenopodium album* (komosa biała), *Galinsoga parviflora* Cav. (żółtlica drobnokwiatowa) oraz *Rumex acetosella* L. (szczaw polny).

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer UMO-2017/25/N/ST5/01794.

Słowa kluczowe: agrochemikalia, polimery biodegradowalne, systemy kontrolowanego uwalniania, pestycydy.

Badania nad podplemieniem Maxillariinae: przegląd i perspektywy

Monika M. Lipińska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Pracownia Taksonomii Roślin, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

monika.lipinska@biol.ug.edu.pl

Neotropikalne podplemie Maxillariinae Benth. jest jednym z najliczniejszych w gatunki w obrębie rodziny Orchidaceae Juss.. Rodzaj *Maxillaria sensu lato*, stanowiący jego rdzeń, cechuje się niezwykle zmiennością morfologiczną. Z jednej strony w jego poczet wchodzi gatunki o bardzo niewielkich rozmiarach, jak na przykład osiągająca kilka centymetrów *Maxillaria liliputana* D. E. Benn. & Christenson. Z drugiej zaś- taksony dorastające nawet do trzech metrów wysokości, czego przykładem może być *Maxillaria gigantea* (Lindl.) Dods. Organy wegetatywne charakteryzują się ogromną różnorodnością budowy, czego efektem jest powstawanie licznych kombinacji cech wegetatywnych i generatywnych u poszczególnych grup gatunków.

Brak jasno zdefiniowanych granic *Maxillaria* zaowocował zaproponowaniem w przeciągu minionych 150 lat kilkunastu ujęć taksonomicznych podplemienia Maxillariinae. Taksonomowie prezentują przy tym dwa bardzo odmienne stanowiska. Pierwszą grupę stanowią badacze opowiadający się za jego szerokim rozumieniem. Według nich podział na mniejsze jednostki powinien odbywać się dopiero na poziomie podrodzajów lub nawet sekcji. Najwyraźniej pogląd ten rysuje się w klasyfikacji Christensona (2002). Badacze reprezentujący drugą grupę skłaniają się do wąskiego ujęcia taksonomicznego rodzaju. W ich publikacjach podkreślany jest pogląd, jakoby efektem obecnego podziału Maxillariinae była znaczna liczba taksonów polifiletycznych. Przykładem takiego ujęcia jest klasyfikacja zaproponowana przez Szlachetko i współautorów (2012). W obrębie omawianego podplemienia wyróżnili oni aż 36 rodzajów.

Niezwykle interesująca jest również biologia zapylania omawianego taksonu. Szacuje się, że aż 56% przedstawicieli podplemienia wabi swoich zapylaczy za pomocą „pustych obietnic”, czyli kombinacji bodźców wizualnych, dotykowych i zapachowych (Davies et al. 2005). Wśród gatunków, które oferują nagrodę występują jej trzy rodzaje: nektar, pseudopyłek i substancje woskopodobne (Davies i wsp. 2003). Głównymi zapylaczami Maxillariinae są pszczoły bezżądłowe (Meliponini). Obserwowano również wizyty pszczół z podplemienia Euglossini, mrówek z podrodziny Ponerinae (Roubik 2000) oraz kolibrów (Lipinska et al., obs. wł).

Prowadzone intensywnie w ostatnich latach badania taksonomiczne, mikromorfologiczne, anatomiczne oraz chemiczne, w połączeniu z obserwacjami poczynionymi w warunkach *in situ*, pozwoliły na poznanie i udokumentowanie nieznanych dotąd aspektów biologii i ekologii wielu przedstawicieli Maxillariinae.

Słowa kluczowe: *Maxillaria*, taksonomia, storczykowate, Ameryka Południowa, flora neotropikalna.

Badanie wpływu pyretroidów na żywotność i osłony komórkowe *B. bassiana*

Litwin Anna, Nykiel-Szymańska Justyna, Bernat Przemysław, Różalska Sylwia

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i
Biotechnologii, Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

annalitwin@biol.uni.lodz.pl

Do grzybów entomopatogennych zaliczamy gatunki zdolne do atakowania stawonogów, wywoływania u nich stanów chorobowych oraz w efekcie uśmiercania ich. Grzyby te znalazły zastosowanie w rolnictwie jako biopestycydy i choć występują we wszystkich klasach, to najpowszechniej spotykane są gatunki zaliczane do *Ascomycota* i *Entomophthoromycota*.

Stosowanie syntetycznych insektycydów niesie spore zagrożenie dla środowiska naturalnego, ponieważ zaburza naturalną równowagę a także jest bardzo szkodliwe dla organizmów żywych. Wyróżniamy pięć podstawowych klas syntetycznych insektycydów: pyretroidy, neonicotynoidy, karbaminiany, związki chloro- i fosforoorganiczne.

W pierwszym etapie badań, określano zdolność do wzrostu trzynastu szczepów grzybów entomopatogennych w obecności syntetycznych substancji owadobójczych. W tym celu zastosowano zaadaptowaną metodę EUCAST. Przebadano trzy syntetyczne substancje o właściwościach owadobójczych: λ -cyhalotrynę, α -cypermetrynę oraz deltametrynę w stężeniu 5 mg/L. Na podstawie otrzymanych wyników do dalszych badań wybrano grzyb *Beauveria bassiana*.

Wykazano, że u *B. bassiana* wszystkie pyretroidy wywołują stres oksydacyjny oraz powodują zmiany w przepuszczalności osłon komórkowych. Przeprowadzone badania lipidomiczne wykazały zmiany w stosunkach PC/PE (fosfatydylocholiny, odpowiedzialnej za stabilizację błony oraz fosfatydyloetanoloaminy, która warunkuje płynność błon). Oznacza to, iż dodatek testowanych insektycydów wpływa na skład błon komórkowych szczepu *B. bassiana*.

Badania zostały sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki w Krakowie o numerze UMO-2016/23/B /NZ9/00840.

Słowa kluczowe: grzyby entomopatogenne, insektycydy, pyretroidy.

Zawartość składników mineralnych w ziarnie pszenżyta jarego oraz nasionach bobiku w zależności od metody regulacji zachwaszczenia mieszanki

Agnieszka Łagocka

*Instytut Agroekologii i Produkcji Roślinnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 24A,
53-363 Wrocław*

agnieszka.lagocka@upwr.edu.pl

Mieszanki strączkowo-zbożowe w ostatnich latach zyskują na coraz większym znaczeniu, zarówno, jako rośliny pozostawiające dobre stanowiska pod kolejne zasiewy oraz jako pasze o wysokiej zawartości białka dla zwierząt gospodarskich. Stosując mieszanki strączkowo-zbożowe można przerwać szkodliwość następstwa uprawy po sobie zbóż. Natomiast działanie fitosanitarne elementu strączkowego pozwala uwolnić pole od różnych glebowych patogenów wywołujących choroby. Pasje uzyskiwane z mieszanek oprócz wysokiej zawartości białka są bogate w wiele składników mineralnych, w tym fosfor i potas, które są niezbędne do życia oraz prawidłowego funkcjonowania organizmów zwierząt hodowlanych.

Niestety problemem, który może pojawiać się w uprawie mieszanek jest obecność chwastów. Obecnie nie ma na rynku zarejestrowanych środków zwalczających chwasty, które dopuszczone są do stosowania zarówno w uprawie roślin strączkowych jak i zbożowych, np. bobiku i pszenżyta jarego. Równocześnie obowiązujące zrównoważone systemy gospodarowania wymagają, aby stosowanie środków chemicznych nie było jedyną wykorzystywaną metodą regulacji zachwaszczenia w uprawach. Dzięki czemu możliwe jest ograniczenie przenikania substancji chemicznych do środowiska. Z tych powodów podstawowym zabiegiem regulacji zachwaszczenia w mieszankach jest bronowanie zasiewów z użyciem brony chwastownik. Zabieg ten wykonany w odpowiedniej fazie wzrostu mieszanki skutecznie niszczy siewki chwastów, które mogłyby w późniejszym etapie konkurować z roślinami uprawnymi o składniki mineralne w glebie. Mogłoby to skutkować obniżeniem plonu oraz uzyskania paszy o mniejszej wartości odżywczej.

W doświadczeniu badano wpływ bronowania na zachwaszczenie w mieszance bobiku z pszenżytem jarym. Zbadano, w jaki sposób regulacja zachwaszczenia wpływa na koncentracje potasu oraz fosforu w zebranych plonie. Poczynione obserwacje wykazały, że skład chemiczny nasion oraz ziaren pod wpływem zabiegów mechanicznych ulega zmianie. Ograniczenie występowania chwastów i tym samym zmniejszenie ich szkodliwego wpływu na uprawiane rośliny pozwoliło na uzyskanie istotnie wyższej zawartości potasu w przypadku obu komponentów mieszanki. Nie wykazano statystycznie potwierdzonych różnic zawartości fosforu w plonie. Zawartość tego składnika utrzymywała się na zbliżonym poziomie we wszystkich zbadanych obiektach.

Słowa kluczowe: mieszanka strączkowo-zbożowa, pszenżyto jare, bobik, fosfor, potas.

Nadekspresja enzymu PDAT w *Arabidopsis thaliana* powoduje przyspieszony wzrost i zwiększenie zawartości triacylogliceroli w liściach rośliny

A. Losiewska, K. Demski, M. Wróblewski, K. Jasieniecka-Gazarkiewicz, S. Klińska, A. Banaś

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii, UG & GUM, Gdańsk, Polska

anna.losiewska@phdstud.ug.edu.pl

Triacyloglicerole (TAG) to potrójnie acylowane pochodne glicerolu. Jako główne lipidy magazynowe stanowią podstawowy rezerwuár energetyczny roślin. Są wykorzystywane w przemyśle spożywczym i w produkcji przemysłowej. Szczegółowe zrozumienie procesu syntezy TAG ma istotne znaczenie dla uzyskania roślin o zwiększonej zawartości tej grupy lipidów.

TAG są wytwarzane w tzw. szlaku Kennedy'ego, w którego ostatnim etapie następuje przeniesienie grupy acylowej z acylo-CoA do pozycji *sn*-3 diacyloglicerolu (DAG). Ta reakcja jest katalizowana przez enzym typu DGAT. Istnieje jednak alternatywny sposób syntezy cząsteczki, katalizowany przez enzym zwany PDAT (acylotransferaza fosfolipid: diacyloglicerolu), który przenosi grupę acylową nie z acylo-CoA, a z pozycji *sn*-2 fosfolipidu. W prezentowanym badaniu wykorzystaliśmy dwie transgeniczne linie *Arabidopsis thaliana*, posiadające nadekspresję genu kodującego AtPDAT. Analizę prowadziliśmy pod kątem zmian morfologii, tempa wzrostu, masy (zarówno suchej i świeżej) oraz składu i zawartości kwasów tłuszczowych w liściach roślin transgenicznych w porównaniu z linią *A. thaliana* typu dzikiego.

Odnotowaliśmy blisko 150% większą masę roślin transgenicznych w porównaniu do typu dzikiego. Następnie wykonaliśmy analizę lipidów liści w celu zbadania składu i całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych poszczególnych klas lipidów.

Całkowita zawartość kwasów tłuszczowych w badanych frakcjach DAG linii transgenicznych była 50% większa w porównaniu do kontroli. Dominowały w nich nasycone kwasy tłuszczowe. Frakcje wolnych kwasów tłuszczowych nadekspresorów zawierały mniej kwasów tłuszczowych niż kontrola. Występowały tu głównie kwasy nasycone. Natomiast zawartość kwasów wielonienasyconych była tu nawet trzykrotnie większa niż w kontroli. Co więcej, w nadekspresorach frakcja TAG wzrosła dwukrotnie w porównaniu do kontroli i występowała tu głównie zwiększona ilość kwasów jednonienasyconych.

Nasze badania pokazują, że nadekspresja PDAT wpływa na wzrost masy roślin oraz na zwiększenie ilości triacylogliceroli w liściach, zwiększając ich znaczenie dla celów spożywczych i przemysłowych.

Praca została sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki numer projektu: UMO-2017/25/B/NZ3/00721.

Słowa kluczowe: TAG, nadekspresja PDAT, kwasy tłuszczowe, metabolizm roślin.

Czy cykloheksymid zaburza procesy fotosyntetyczne i oddychowe w komórkach *Chlamydomonas reinhardtii*?

Monika Majewska, Anna Aksmann

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin
ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

monika.majewska@phdstud.ug.edu.pl

Cykloheksymid (CHX) jest inhibitorem translacji białek, zachodzącej w cytoplazmie komórek eukariotycznych. Stosuje się go powszechnie w celu zatrzymania cyklu komórkowego komórek zwierzęcych i roślinnych. Mechanizm oddziaływania CHX z rybosomami jest dobrze poznany, natomiast jego wpływ na „niedocelowe” procesy fizjologiczne i biochemiczne, takie jak fotosynteza lub oddychanie, jest rzadko uwzględniany w literaturze. Procesy translacji w chloroplastach i mitochondriach nie są blokowane przez CHX, jednak oba te organella nie są w pełni autonomiczne: większość białek obecnych w chloroplastach i mitochondriach jest kodowana przez genom jądrowy, syntetyzowana w cytoplazmie i transportowana do właściwego organellum. Ze względu na zastosowanie CHX jako swoistego inhibitora translacji w badaniach komórek roślinnych, należy mieć na uwadze możliwość jego niespecyficznego oddziaływania na różnorodne parametry fizjologiczne i biochemiczne badanych komórek. Celem prezentowanych tu badań była ocena wpływu CHX na przebieg procesów fotosyntezy i oddychania modelowego organizmu – zielenicy planktonowej *Chlamydomonas reinhardtii*.

Chlamydomonas reinhardtii CC-1690 (*Chlamydomonas* Resource Center, USA) hodowano w pożywce mineralnej (HSM) w ciągłym świetle fluorescencyjnym $\approx 125 \mu\text{mol fotonów/m}^2 \text{ s}^{-1}$, w temperaturze 30°C , przy stałym dopływie mieszaniny powietrza i 2,5% (v/v) CO_2 . Komórki ekspozowano na różne stężenia CHX przez 24 godziny i oszacowano wartości toksykologiczne EC (*effective concentration*) na podstawie hamowania wzrostu populacji. Następnie badano wpływ CHX ($\text{EC}_{50} = 0,169 \text{ mg/L}$) na parametry fotosyntetyczne i oddychowe, w tym zawartość barwników fotosyntetycznych (chlorofil *a*, *b*; karotenoidy), fluorescencję chlorofilu *a in vivo*, wydzielanie tlenu (intensywność fotosyntezy) oraz konsumpcję tlenu (intensywność oddychania ciemniowego).

Wykazano, że CHX hamował namnażanie komórek, ale nie ich wzrost – komórki traktowane CHX były o ok. 30% większe niż komórki kontrolne. Z tego względu wartości parametrów fizjologicznych przeliczono na jednostkę objętości komórki, unikając możliwości przeszacowania/nieoszacowania wartości uzyskanych dla kontroli i komórek traktowanych. Stwierdzono, że CHX nie hamuje ani fotosyntezy, ani oddychania. Przeciwnie, wydzielanie tlenu fotosyntetycznego i intensywność oddychania ciemniowego wzrosły w komórkach traktowanych CHX o około 50% w stosunku do kontroli. Ponadto wydajność kwantowa fotosyntezy była wyższa (o 10-15%) w komórkach traktowanych CHX, a zawartość w nich chlorofilu *a* i karotenoidów przewyższała wartości kontrolne o ok. 20%. Dokładne przyczyny stymulującego działania CHX na parametry fizjologiczne komórek nie są jasne. Nieliczne dane literaturowe opisujące wpływ CHX na fotosyntezę lub oddychanie wskazują zarówno na efekty hamujące, jak i stymulujące. Z powodu tak niejednoznacznych wyników planowane są dalsze badania wpływu CHX na komórki *C. reinhardtii*.

Wsparcie finansowe: Narodowe Centrum Nauki, UMO-2016/23/B/NZ9/00963.

Słowa kluczowe: *Chlamydomonas reinhardtii*, cykloheksymid, fotosynteza, oddychanie ciemniowe, fitotoksyczność

Zjawisko interferencji transkrypcji w układach promotorów genów konwergentnych w *Escherichia coli*

Aleksandra Małachowska¹, Paweł Olszewski², Grzegorz Węgrzyn³

¹ Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Genetyki i Biosystematyki, Wita Stwosza 59, Gdańsk

² Gdański Uniwersytet Medyczny, Międzynarodowa Agenda Badawcza, Dębinki 7, Gdańsk

³ Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii Molekularnej, Wita Stwosza 59, Gdańsk

aleksandra.malachowska@phdstud.ug.edu.pl

Proces transkrypcji jest jednym z kluczowych etapów przepływu informacji genetycznej w systemach biologicznych. Jest to proces złożony, na którym każdym etapie może dojść do zaburzenia zdarzenia transkrypcyjnego. Jednym z takich zaburzeń jest zjawisko interferencji transkrypcji (TI, ang. Transcriptional Interference). Jest to hamujący wpływ, bezpośrednio lub *in cis*, jednego zdarzenia transkrypcyjnego na drugie wydarzenie zachodzącego w jego pobliżu i często wynika z asymetrii pod względem siły pary promotorowej. Pomimo iż jest to zjawisko powszechne, nadal nie został poznany dokładny mechanizm oraz jego znaczenie w procesie regulacji ekspresji genów na skalę całego genomu bakteryjnego.

Celem pracy jest próba odnalezienia odpowiedzi na pytanie jak często dochodzi do interferencji transkrypcji oraz czy proces ten jest celowy i może wpływać na regulację ekspresji genów w układach promotorów konwergentnych.

Analiza dostępnych sekwencji promotorowych (Regulon DB) oraz metaanaliza danych z eksperymentów dRNA Seq pozwoliły w oparciu o matematyczny model TI na wybranie odpowiednich układów promotorów konwergentnych pochodzących z genomu *Escherichia coli*. Stworzone zostały również sztuczne układy promotorów konwergentnych w oparciu o model TI. W tym celu wykorzystane zostały znane sekwencje promotorowe: pR, *rrnB* P1 oraz *lacZ*, a także różne długości sekwencji oddzielającej w układzie promotorów. Dla takich układów przeprowadzone zostały analizy fluorescencji *in vivo* w wektorze plazmidowym z dwoma genami o przeciwnej orientacji kodującymi białka reporterowe (EGFP – mCherry). Wybrane na tej podstawie układy promotorów zostały poddane dalszej analizie w celu określenia wielkości otrzymywanych transkryptów w układach interferujących poprzez zastosowanie techniki hybrydyzacji Northern blotting z wykorzystaniem sond oligonukleotydowych znakowanych fluorescencyjnie (Cy5). Dodatkowo, wybrane układy zostały sprawdzone w szczepach *knock – out* wybranych 5' → 3' egzorybonukleaz: *Δpnp*, *Δrnab* i *Δrnr* w celu określenia czy nowo powstające krótkie transkrypcji nie ulegają degradacji przez komórkowe systemy kontroli RNA.

Otrzymane wyniki wstępnie sugerują, iż zjawisko interferencji transkrypcji może być powszechnym mechanizmem oraz może być związane z powstawaniem krótkich, niekodujących transkryptów RNA w rejonach startu transkrypcji (TSS).

Słowa kluczowe: transkrypcja, interferencja transkrypcji, promotory konwergentne, tssRNA.

Badanie immunomodulacyjnych właściwości białek szoku termicznego Hsp70 na przykładzie mysiego modelu łuszczycy

Jagoda Mantej¹, Michał Sobala², Katarzyna Potrykus², Stefan Tukaj¹

¹ Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii Molekularnej, ul. Wita Stwosza 59 80-308 Gdańsk, Polska

² Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii, ul. Wita Stwosza 59 80-308 Gdańsk, Polska

stefan.tukaj@biol.ug.edu.pl

Łuszczyca jest przewlekłą, nieuleczalną, hiperproliferacyjną chorobą zapalną skóry o podłożu autoimmunologicznym. Ponieważ zaburzone mechanizmy odpowiedzi nabytej - manifestujące się m.in. niedostateczną liczbą limfocytów T regulatorowych (Treg) - odgrywają istotną rolę w immunopatogenezie łuszczycy, strategie terapeutyczne ukierunkowane na tę populację komórek są uzasadnione. Białka szoku termicznego (ang. *heat shock proteins*, HSP) są jednym z potencjalnych kandydatów, ponieważ ich immunosupresyjna aktywność została potwierdzona w zwierzęcych modelach chorób zapalnych stawów, a także u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów. Przedstawione badania dotyczą wpływu terapii z wykorzystaniem oczyszczonych białek Hsp70 (*Nicotiana tabacum* i *Mus musculus*) na rozwój eksperymentalnych modeli łuszczycy. Z naszych obserwacji wynika, że zewnątrzkomórkowe białka Hsp70 hamują proliferację ludzkich keratynocytów w hodowli in vitro. Natomiast badania z wykorzystaniem mysiego modelu łuszczycy indukowanego naskórną aplikacją imikwimodu (IMQ) pokazały, że immunizacja zwierząt białkiem Hsp70 *Nicotiana tabacum* znacząco poprawia ocenę kliniczną choroby, co jest zarazem skojarzone ze wzrostem liczby populacji limfocytów Treg. Nasze wstępne wyniki potwierdzają immunosupresyjne właściwości białek Hsp70 i jednocześnie torują drogę do opracowania nowej terapii łuszczycy.

Słowa kluczowe: łuszczyca, terapia, Hsp70, Treg.

Konsekwencje wyciszenia *NtZIP4* dla translokacji Zn i Cd do pędu u tytoniu

Karolina Maślińska, Anna Barabasz, Danuta Maria Antosiewicz

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Ilii Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

k.maslinska@student.uw.edu.pl; dma@biol.uw.edu.pl

Homeostaza Zn jest ściśle związana z pobieraniem, transportem i akumulacją innych metali w roślinach. Nasze dotychczasowe badania na tytoniu (*Nicotiana tabacum*) wykazały, że translokacja cynku do pędów była stymulowana w obecności kadmu w pożywce. Towarzyszyła temu zróżnicowana ekspresja transportera z rodziny ZIP (ZRT-IRT-like Proteins) - *NtZIP4* [1]. Jest to białko obecne w błonie komórkowej, odpowiedzialne za transport Zn i Cd z apoplastu do cytoplazmy [2].

Celem niniejszych badań był wkład do zrozumienia roli białka *NtZIP4* w zjawisku zależnej od Cd translokacji Zn do pędów u tytoniu. W tym celu wytworzono rośliny RNAi o obniżonym poziomie mRNA *NtZIP4*. Rośliny transgeniczne i typu dzikiego hodowano przez 17 dni na pożywce ¼ Knopa zawierającej a) 0 μ M Zn + 0 μ M Cd, b) 0 μ M Zn + 0,25 μ M Cd. Umożliwiło to określenie czy obniżony poziom ekspresji *NtZIP4* wpływa na wydajność translokacji Zn pod wpływem kadmu. Pod koniec eksperymentu zebrano całe korzenie oraz pędy i zmierzono w nich stężenia obu metali za pomocą metody ASA.

W roślinach narażonych na obecność 0,25 μ M Cd: (i) stężenie Zn wzrosło (w porównaniu z roślinami hodowanymi bez dodatku Cd w pożywce), (ii) w roślinach transgenicznych stosunek stężenia Cd w pędach do stężenia w korzeniach zmniejszył się o ~50% (w porównaniu z roślinami typu dzikiego). Otrzymane wyniki sugerują, iż translokacja Zn do pędów w tytoniu jest stymulowana przez Cd, a także, że transporter *NtZIP4* uczestniczy w regulacji translokacji Zn i Cd z korzenia do pędu.

Słowa kluczowe: cynk, kadm, translokacja, *NtZIP4*, tytoń.

Finansowanie: projekt OPUS-8 nr. 2014/15 / B / NZ9 / 02303 wspierany finansowo przez Narodowe Centrum Nauki, Polska.

Literatura:

1. Barabasz A. i inni, Journal of Experimental Botany, 2016, 67, 6201–6214.
2. Barabasz A. i inni, Frontiers in Plant Science, 2019, 9, 1-18.

Analiza porównawcza transkryptomów bezzieleniowych storczyków mykoheterotroficznych *Epipogium aphyllum* Sw. i *Neottia nidus-avis* (L.) L. C. Rich

Michał May, Marcin Jąkałski, Etienne Delannoy, Julita Minasiewicz, Marc-André Selosse

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Pracownia Symbioz Roślinnych

michal.may@phdstud.ug.edu.pl

Storczykowate są jedną z najliczniejszych (28 000 gatunków) i najbardziej zróżnicowanych rodzin w świecie roślin. Ich drobne, niemal zupełnie pozbawione substancji zapasowych nasiona kiełkują tylko dzięki symbiozie z odpowiednim grzybem mykoryzowym, który dostarcza im substancji pokarmowych oraz wody z solami mineralnymi. Taki sposób odżywiania nazywany jest mykoheterotrofią (MH). Niektóre gatunki storczyków kontynuują taki sposób odżywiania również jako osobniki dorosłe, nie podejmując fotosyntezy. Ta strategia ewolucyjna w świecie roślin powstawała wielokrotnie w niezależnych linach ewolucyjnych, ale to wśród storczykowatych znajduje się najwięcej jej przedstawicieli. Wiele aspektów biologii roślin MH, w tym procesy fizjologiczne leżące u podstaw ich funkcjonowania, jest słabo poznanych. Celem naszych badań była analiza porównawcza metabolizmu w różnych organach (mykoryzowe korzenie, pędy oraz kwiaty) u dwóch europejskich gatunków MH: *Epipogium aphyllum* Sw. oraz *Neottia nidus-avis* (L.) L.C. Rich. Próby do badań zebrano w naturalnych populacjach, gdyż hodowla gatunków MH w warunkach *in vitro* jest niemożliwa. Takie podejście umożliwia zarazem uzyskanie bardziej realistycznego obrazu procesów zachodzących w naturze.

Wykonaliśmy sekwencjonowanie całkowitego RNA dla *E. aphyllum* i *N. nidus-avis* w dwóch replikatach biologicznych, przy zastosowaniu platformy Illumina. Przeprowadziliśmy assembling transkryptomów przy użyciu pakietu oprogramowania Trinity oraz szczegółową adnotację (funkcjonalną, uwzględniającą przynależność do szlaków metabolicznych i homologię do znanych sekwencji). Uzyskane transkryptomy przefiltrowane zostały pod kątem wyeliminowania sekwencji nie pochodzących od badanych roślin (należące do bakterii i grzybów endofitycznych i patogennych). Wg. przeprowadzonych analiz BUSCO, transkryptomy wykazały odpowiednio 69,5% i 76,2% kompletności. Wartości te są najprawdopodobniej zaniżone ze względu na brak ekspresji genów wchodzących w skład szlaków związanych z fotosyntezą. Otrzymane dane posłużyły do wykonania analizy różnicowej ekspresji genów i porównania ich poziomów ekspresji, zarówno pomiędzy różnymi organami w obrębie każdego z badanych gatunków, jak i pomiędzy nimi.

Słowa kluczowe: mykoheterotrofia, transkryptomika, *Epipogium aphyllum*, *Neottia nidus-avis*, RNA-seq.

System CRISPR/Cas9 w transgenezie dużych zwierząt modelowych

Natalia Mazurkiewicz

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Katedra Biochemii
i Biotechnologii, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

nmmazurkiewicz@gmail.com

Problemem współczesnej transplantologii jest przede wszystkim brak wystarczającej ilości narządów do przeszczepów. Aby rozwiązać ten problem, zaczęto rozważać wykorzystanie zwierząt jako potencjalnych dawców narządów, tkanek i komórek dla ludzi. Przeszczepy pomiędzy osobnikami należącymi do różnych gatunków nazywane są ksenotransplantacjami. Zwierzęciem, które najlepiej spełnia kryteria przydatności do ksenotransplantacji jest świnia domowa (*Sus scrofa domestica*). Mimo dużego oddalenia filogenetycznego świnia i człowiek mają narządy podobnej wielkości, a ich metabolizm wykazuje wiele podobieństw. Jednak występuje duża niezgodność immunologiczna związana z różnicami, między innymi w układach zgodności tkankowej świni oraz człowieka, która uniemożliwia bezpośrednie przeszczepy ksenogeniczne w układzie świnia - człowiek. Aby wyeliminować barierę immunologiczną stosowane są różne procedury inżynierii genetycznej.

Jest wiele metod użytecznych w modyfikowaniu genomu zwierząt. W 2012 roku odkryto nowe zastosowanie bakteryjnego systemu CRISPR/Cas9. System CRISPR/Cas9 umożliwia przecięcie specyficznej sekwencji i jej naprawę według dwóch schematów. Jeden z nich – niehomologiczna naprawa poprzez połączenie końców nici DNA (z ang. non-homologous end joining, NHEJ) powoduje przypadkowe delecje i insercje. Natomiast drugi -naprawa homologiczna (z ang. homology-directed repair) - umożliwia wprowadzenie dodatkowego materiału genetycznego i jego wbudowanie w miejsce przecięcia na zasadzie rekombinacji homologicznej. Tego typu modyfikacje wprowadza się do genomu świni, aby te były użyteczne do celów ksenotransplantacji.

Celem badań było otrzymanie konstrukcji genetycznych wprowadzających modyfikacje w obrębie genów świni, w systemie CRISPR/Cas9 na podstawie analizy bioinformatycznej. Ponadto przeprowadzona została ocena skuteczności otrzymywania celowanych modyfikacji przez zastosowanie różnych konstrukcji genetycznych w pierwszej i trzeciej generacji systemu CRISPR/Cas9 wytypowanych w wyniku analizy bioinformatycznej. Wprowadzone modyfikacje powinny pozwolić zahamować odpowiedź immunologiczną na ksenoprzeszczep, co zostanie zweryfikowane poprzez otrzymanie zwierząt transgenicznnych i dalsze badania.

Słowa kluczowe: ksenotransplantacje, modyfikacje genetyczne, nukleaza Cas9.

Wpływ środowiskowych stężeń ołowiu na żywotność komórek THP-1

Emilia Metryka, Patrycja Kupnicka, Patrycja Kapczuk, Donata Simińska

Zakład Biochemii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

emilia_metryka@o2.pl

Zanieczyszczenie środowiska jest poważnym problemem współczesnego świata. Bardzo duże niebezpieczeństwo w przyrodzie stanowią metale ciężkie, gdyż zanieczyszczenia nimi spowodowane mają charakter trwały, a oddziaływanie na organizmy żywe jest najczęściej przewlekłe. Pomimo powszechnie znanego szkodliwego działania oraz prowadzenia w ostatnich latach licznych działań prewencyjnych, ołowiu (Pb) uważany jest nadal za jedną z głównych substancji stanowiących największe potencjalne zagrożenie dla zdrowia człowieka. Ostre zatrucie Pb stało się rzadkością, ale przewlekłe narażenie na niski poziom metalu jest nadal problemem zdrowia publicznego, zwłaszcza w wielkich aglomeracjach i obszarach przemysłowych. Ciągła ekspozycja na zwykle subkliniczne stężenia Pb, jest dominującą formą skażenia środowiska. Stała obecność związków Pb w najbliższym otoczeniu człowieka stwarza konieczność badania ich wpływu na funkcje organizmu. Komórki odpornościowe, tj. monocyty i makrofagi, stanowią bardzo ważny element sprawnie funkcjonującego układu odpornościowego. Wydaje się słusznym sprawdzenie jak na ich funkcje wpływa ekspozycja na Pb.

Celem naszego badania było sprawdzenie jak Pb w stężeniach środowiskowych wpływa na żywotność komórek linii THP-1.

Badania przeprowadzono na komórkach linii THP-1. Komórki hodowano w pożywce RPMI 1640. W celu zróżnicowania monocytów w makrofagi komórki hodowano przez 24 godziny z dodatkiem 100 nM PMA. Następnie komórki poddano 48 godzinnej inkubacji z octanem ołowiu (PbAc) o końcowym stężeniu Pb: 1,25 µg/dL; 2,5 µg/dL; 5µg/dL; 10µg/dL. Grupę kontrolną hodowano bez dodatku czynnika drażniącego. Żywotność oraz stopień apoptozy oceniono przy użyciu cytometrii przepływowej przy użyciu barwienia FITC Annexin V w połączeniu z propidium iodide (PI).

Oceniając wyniki stwierdzono, że żywotność zarówno monocytów jak i makrofagów zmniejszała się wraz ze wzrostem zastosowanego stężenia Pb. Żywotność makrofagów była istotnie niższa w hodowlach, w których zastosowano Pb w stężeniach 2,5µg/dL; 5µg/dL oraz 10µg/dL w porównaniu do monocytów. Zauważono wzrost odsetka komórek wcześniej apoptotycznych (FITC+, PI-) w każdym z badanych stężeń Pb w porównaniu do kontroli. Zastosowanie wyników wykazało, że każde z badanych stężeń Pb powodowało powstanie wyższego odsetka komórek wcześniej apoptotycznych wśród monocytów w stosunku do makrofagów narażonych na te same stężenia Pb. 48-godzinna inkubacja spowodowała znaczny wzrost odsetka komórek późno apoptotycznych/nekrotycznych (FITC +, PI +) we wszystkich badanych stężeniach w porównaniu z kontrolą. Zauważono istotny wzrost odsetka komórek późno apoptotycznych/nekrotycznych makrofagów w stosunku do monocytów w każdym z zastosowanych stężeń Pb.

Badania ukazują, że Pb nawet w bardzo niskich środowiskowych stężeniach jest toksyczny dla komórek linii THP-1.

Słowa kluczowe: ołów (Pb), komórki THP-1, żywotność, apoptoza.

Wpływ atrazyny na błony biologiczne *Metarhizium robertsii*

Julia Mironenka, Przemysław Bernat, Sylwia Różalska, Rafał Szewczyk

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii
Przemysłowej, Łódź, ul. Banacha 12/16 90-237

yuliya.datskova@unilodz.eu

Atrazyna (2-chloro-4-etyloamino-6-izopropylamino-s-triazyna) jest powszechnie stosowanym herbicydem, który skutecznie zwiększa produkcję rolną, jednocześnie wywołując poważne problemy środowiskowe. Herbicyd ten nie ulega łatwo biodegradacji i jego pozostałości zanieczyszczają środowisko glebowe i przedostają się do wody. Stwierdzono że okres pół rozkładu atrazyny może trwać od 4 do 57 tygodni, a główny metabolit - hydroksyatrazyna pozostaje w glebie przez 121 dni. Opisano negatywne skutki obecności atrazyny dla mikroorganizmów, zwierząt i ludzi. Herbicyd jest uważany za substancję zaburzającą funkcjonowanie układu hormonalnego i jest potencjalnie rakotwórczy. Z racji swojej lipofilności może oddziaływać na błony biologiczne.

Większość danych literaturowych opisujących biodegradację atrazyny, dotyczy bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Bacillus* i *Variovarax*, natomiast doniesienia informujące o degradacji tego pestycydu poprzez grzyby są nieliczne.

Przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu atrazyny na przepuszczalność błony biologicznej *Metarhizium robertsii* oraz ocenę zmian w profilu lipidowym błony komórkowej. Wybrany do badań szczep był zdolny do rozkładu związków cynoorganicznych, wykorzystywanych jako biocydy. Grzyby z tego rodzaju są powszechnie występującymi w glebie i są stosowanym biologicznym środkiem do zwalczania owadów.

Zbadano wpływ pestycydu na wzrost badanego szczepu. Przeprowadzono analizę zmian w profilu lipidowym *Metarhizium* oraz przepuszczalności błony komórkowej pod wpływem atrazyny. Badania wykonano z wykorzystaniem HPLC (*High-performance liquid chromatography*) sprzężnego z tandemową spektrometrią mas oraz pomiarów fluorescencyjnych.

Obecność atrazyny w układzie hodowlanym *M. robertsii*, nie spowodowała zahamowania wzrostu. Błona komórkowa grzybów hodowanych w obecności atrazyny charakteryzowała się wyższym poziomem kwasu fosfatydowego (PA), fosfatydyloinozytolu (PI) i fosfatydyloseryny (PS) oraz niższym poziomem fosfatydyloetanolaminy (PE) w porównaniu do kontroli. Atrazyna wpływa na zwiększenie przepuszczalności błon badanego szczepu.

Pomimo zaobserwowanych zmian w budowie błon biologicznych drobnoustroju, nie stwierdzono negatywnego wpływu atrazyny na wzrost grzyba, co może świadczyć o dużych zdolnościach adaptacyjnych *M. robertsii*.

Słowa kluczowe: atrazyna, bioinsektycyd, *Metarhizium robertsii*.

The interaction between replication factor DiaA and primary metabolite sedoheptulose-7-phosphate directly regulates DNA replication in *Escherichia coli*

Joanna Morcinek-Orłowska¹, Aleksandra Bebel^{1,2}, Justyna Galińska¹, Torsten Waldminghaus³, Anna Zawilak-Pawlik⁴ and Monika Glinkowska¹

¹ Department of Bacterial Molecular Genetics, University of Gdansk, Gdansk, Poland

² Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Chicago, USA

³ LOEWE Center for Synthetic Microbiology-SYNMIKRO, Philipps-Universität Marburg, Germany

⁴ Hirschfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland

joanna.morcinek@gmail.com; monika.glinkowska@biol.ug.edu.pl

Replication, as a key step of bacterial cell cycle generating copies of genome, has to be tightly controlled to provide its stability and integrity. In bacterial model *Escherichia coli* biochemical mechanisms regulating activity of the replication initiator DnaA are well characterized. However, it remains elusive how bacteria correlate changes in growth rate with the replication and the following cell cycle steps.

Among several factors that regulate initiation of replication, the DiaA protein plays a dual role: promoting the oligomerization of DnaA on replication origin and preventing helicase loading on ssDNA. Besides, DiaA possesses a sugar isomerase (SIS) domain, however its function in this protein has not been identified so far.

Here, we present evidence that a primary metabolite sedoheptulose 7-phosphate (S7P) binds to replication factor DiaA via the SIS domain and regulates its activity in promoting oligomerization of the DnaA initiator protein. Furthermore, the ability of DiaA to interact with the metabolite influences DNA replication *in vivo*. S7P is an intermediate in the pentose phosphate pathway, providing building blocks for synthesis of nucleotides and a starting point for production of the outer membrane components. We show that changes in the S7P cellular level affect replication timing in cell cycle and that this effect could be DiaA-dependent. We propose the interaction between DiaA and S7P links DNA replication with cell growth through primary metabolism.

Charakterystyka enzymów litycznych z bakterii z rodzaju *Clostridium* wykazujących podobieństwo do eukariotycznych białek rozpoznających peptydoglikan

Agnieszka Morzywólek, Magdalena Plotka, Anna-Karina Kaczorowska, Tadeusz Kaczorowski

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

agnieszka.morzywolek@phdstud.ug.edu.pl

Najczęstszym sposobem leczenia infekcji bakteryjnych jest antybiotykoterapia. W ostatnich latach obserwuje się jednak wzrost infekcji wywołanych przez wielolekooporne szczepy bakterii. Wywołuje to obawę o dostępność skutecznych terapii antybiotykowych w przyszłości. Rozwiązaniem tej trudnej sytuacji jest prowadzenie badań mających na celu poszukiwanie nowych czynników o aktywności przeciwbakteryjnej. Alternatywnym sposobem walki z infekcjami bakteryjnymi są m. in. bakteriocyny, drapieżne bakterie, terapia fagowa oraz enzymy lityczne. Te ostatnie są przedmiotem badań niniejszego projektu.

Enzymy lityczne będące w obszarze naszych zainteresowań wykazują podobieństwo na poziomie sekwencji aminokwasowej do eukariotycznych białek rozpoznających peptydoglikan (PGRPs). W szerszym ujęciu celem naszych badań jest lepsze zrozumienie czynników antybakteryjnych o dużej efektywności skierowanych przeciwko groźnym patogenom bakteryjnym. Badane białka pochodzą z dwóch bakterii chorobotwórczych: *C. botulinum* oraz *C. perfringens*. W pierwszym etapie badań zoptymalizowano nadprodukcję, oczyszczono białka LysB, LysP i LysPS oraz określono ich optymalne warunki aktywności. Wykazano, że przedmiotowe białka posiadają aktywność antybakteryjną w stosunku do bakterii z rodzaju *Clostridium* oraz bakterii *B. cereus* i *S. aureus*. Posługując się mikroskopią elektronową stwierdzono zmiany w morfologii komórek *C. sporogenes* poddanych działaniu białka LysB. Zaobserwowano przerwanie ciągłości ściany komórkowej, wpływ treści komórkowej i w efekcie lizę komórek bakteryjnych. Charakterystyka biochemiczna wykazała, że białko LysB występuje w roztworze w formie homodimeru. W dalszych badaniach wyodrębniono motyw katalityczny w strukturze białek LysB, LysP i LysPS oraz potwierdzono istotność reszt aminokwasowych wchodzących w jego skład w aktywności litycznej.

Słowa kluczowe: enzymy lityczne, endolizyny, *Clostridium*.

Quo vadis antybiotykoterapia?

Potencjał bakteriofaga vB_Eco4M-7 w zwalczaniu patogennych *Escherichia coli* o serotypie O157:H7

Necel Agnieszka¹, Bloch Sylwia¹, Topka Gracja¹, Dydecka Aleksandra¹, Nejman-Faleńczyk Bożena¹, Agata Jurczak-Kurek², Tomasz Gąsior³, Michał Grabski¹, Węgrzyn Alicja³, Węgrzyn Grzegorz¹

¹Katedra Biologii Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

²Katedra Ewolucji Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

³Instytut Biochemii i Biofizyki, Polska Akademia Nauk, Kładki 24, 80-822 Gdańsk, Polska

agnieszka.necel@phdstud.ug.edu.pl

Antybiotykoterapia jest obecnie najczęściej stosowaną formą walki z patogennymi bakteriami. Jednak rosnąca liczba szczepów bakteryjnych opornych na działanie antybiotyków zmusza do poszukiwania alternatywnej formy leczenia. Dodatkowo duża część chorobotwórczych bakterii posiada zdolność do formowania biofilmu zarówno na powierzchniach biotycznych jak i abiotycznych, który jest niewrażliwy na działanie tych środków. W przypadku zwalczania Enterokrwotocznych szczepów *Escherichia coli* (EHEC), takich jak *E. coli* O157:H7, stosowanie antybiotyków może doprowadzić do pogorszenia stanu zdrowia osoby zakażonej. Bakterie te wywołują zatrucie pokarmowe, któremu towarzyszy krwawa biegunka. Zakażenia tymi patogenami mogą także prowadzić do rozwoju powikłań takich jak zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS) czy trombocytopenia. Głównym czynnikiem patogennym bakterii z grypy EHEC jest zdolność do produkcji toksyn Shiga, których geny (*stx*) kodowane są w genomie bakteriofagów *Stx* występujących w chromosomie bakteryjnym w formie profaga. Do produkcji tych toksyn dochodzi wyłącznie po indukcji profaga i rozpoczęciu cyklu litycznego, co może zostać wywołane między innymi poprzez zastosowanie antybiotyków. Powszechność występowania tych bakterii, których głównym rezerwuarem jest bydło, prowadzi również do wielu epidemii na całym świecie, jak w Niemczech w 2011 roku gdzie zanotowano 54 przypadki śmiertelne. W związku z powyższymi faktami, doskonałą alternatywą mogą okazać się bakteriofagi, które w latach 20' - 40' XX wieku stosowano komercyjnie w zwalczaniu infekcji bakteryjnych. W ramach badań nad bioróżnorodnością bakteriofagów wyizolowaliśmy faga vB_Eco4M-7, który jest zdolny do lizy wyłącznie szczepów o serotypie O157:H7. Analiza genomu tego faga wykazała podobieństwo sekwencji do genomu faga ECML-117, który jest składnikiem koktajlu fagowego EcoShield™, stosowanego w Stanach zjednoczonych do zwalczania *Escherichia Coli* O157:H7. Przedstawione badania ukazują podobieństwa i różnice w morfologii, rozwoju i działaniu obu fagów na komórki szczepu *E.coli* O157:H7(ST2-8624), które wskazują na wysoki potencjał zastosowania faga vB_Eco4M-7 w zwalczaniu bakterii *Escherichia coli* O157:H7.

Słowa kluczowe: EHEC, bakteriofagi, antybiotyki, biofilm.

Wpływ acetamiprydu na produkcję destruksyn u *Metarhizium* sp.

Monika Nowak, Sylwia Różalska

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

monika.nowak@unilodz.eu

Grzyby entomopatogenne powszechnie występują w środowisku naturalnym regulując populacje stawonogów. Głównym reprezentantem tej grupy są grzyby z rodzaju *Metarhizium*. Ich siedliskiem jest gleba, gdzie są narażone na kontakt z zalegającymi tam substancjami toksycznymi, między innymi powszechnie stosowanymi insektycydami chemicznymi. Spośród nich, liczną grupę stanowią neonikotynoidy, których przedstawicielem jest acetamipryd. Podczas infekowania owadów *Metarhizium* sp. wydzielają szereg substancji biorących czynny udział w tym procesie, między innymi destruksyny. Destruksyny to cykliczne heksadepsipeptydy z resztą α -hydroksykwasu i pięcioma aminokwasami. Spośród siedmiu grup najbardziej aktywny udział w patogenezie biorą destruksyny A, B oraz E [1,2]. W literaturze dość dobrze opisano mechanizmy odpowiadające za infekcyjność entomopatogenów, natomiast brak jest informacji na temat ich oddziaływania z toksycznymi substancjami zalegającymi w środowisku.

Celem podjętych badań było określenie wpływu acetamiprydu na metabolizm wtórny grzybów entomopatogennych. Stosując technikę chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS/MS) oznaczono około 20 typów destruksyn wśród pięciu szczepów należących do rodzaju *Metarhizium*. W przeprowadzonych badaniach zastosowano trzy dawki acetamiprydu: 5, 25 i 50 mg/L. Wykazano, że pomimo braku zahamowania wzrostu w obecności toksycznej substancji, acetamipryd spowodował obniżenie ilości produkowanych destruksyn wprost proporcjonalnie do zastosowanego stężenia. Acetamipryd w stężeniu 50 mg/L spowodował zahamowanie produkcji destruksyn A i B odpowiednio o 90,99% i 82,53% u *M. robertsii* ARSEF727 oraz o 88,01% i 85,42% u *M. brunneum* ARSEF2107. Mniej wrażliwe okazały się szczepy *M. anisopliae* ARSEF7487 oraz *M. robertsii* IM2358, u których zahamowanie produkcji wyniosło około 40%.

Słowa kluczowe: destruksyny, metabolity wtórne, *Metarhizium* sp., acetamipryd, LC-MS/MS.

Praca była finansowana z grantu z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie (Polska), nr umowy UMO-2016/23/B/NZ9/00840.

- [1] N. Arroyo-Manzanares, J. Diana Di Mavungu, I. Garrido-Jurado, L. Arce, L. Vanhaecke, E. Quesada-Moraga, S. De Saeger, Analytical strategy for determination of known and unknown destruxins using hybrid quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (2017) 3347–3357. doi:10.1007/s00216-017-0276-z.
- [2] A. Ríos-Moreno, A. Carpio, I. Garrido-Jurado, N. Arroyo-Manzanares, M.D. Lozano-Tovar, L. Arce, L. Gámiz-Gracia, A.M. García-Campaña, E. Quesada-Moraga,

Rola białek EDEM w transporcie substratów systemu degradacji białek związanego z retikulum endoplazmatycznym (ERAD)

Jowita Nowakowska-Golacka, Justyna Czapiewska, Monika Słomińska-Wojewódzka

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii i Genetyki Medycznej, Pracownia Sygnalizacji Międzykomórkowej, Wita Stwosza Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

jowita.nowakowska@phdstud.ug.edu.pl

Białka sekrecyjne, lizosomalne oraz integralne składniki błon komórkowych są syntezowane na rybosomach związanych z retikulum endoplazmatycznym (ER). Powstające białka muszą być prawidłowo sfałdowane. Jeśli białka dojrzewające w ER nie osiągną prawidłowej konformacji, są rozpoznawane przez lektyny z rodziny EDEM (ang. ER degradation-enhancing α -mannosidase-like proteins): EDEM1, EDEM2 i EDEM3. Nieprawidłowo sfałdowane białka są wówczas transportowane do cytozolu, gdzie poddawane są ubikwityno-zależnej degradacji przez proteasomy. Proces rozpoznawania białek, kierowania ich do kanałów obecnych w błonie i degradacji związanej z retikulum endoplazmatycznym nosi nazwę ERAD (ang. ER-associated degradation). Oprócz białek nieprawidłowo sfałdowanych, ilość niektórych prawidłowych białek retikularnych może być regulowana poprzez ich kontrolowaną degradację. Zaburzenia procesu degradacji białek są związane z rozwojem chorób neurodegeneracyjnych, cukrzycy oraz niektórych nowotworów. Jedną z takich chorób jest Choroba Alzheimerera (AD, ang. Alzheimer's disease), w wyniku której dochodzi do stopniowego pogorszenia funkcji poznawczych takich jak pamięć oraz myślenie abstrakcyjne. Za degenerację komórek nerwowych odpowiadają, kumulujące się w mózgu chorego, toksyczne złogi białek. Głównym składnikiem złogów jest β -amyloid ($A\beta$), którego postacią prekursorową jest transmembranowe białko APP (ang. amyloid precursor protein). Po syntezie, białko APP ulega potranslacyjnym modyfikacjom w ER (m.in. N-glikozylacji) oraz w aparacie Golgiego (m.in. O-glikozylacji), skąd możliwy jest jego transport do błony komórkowej. Białko APP może ulegać obróbce proteolitycznej w ER, aparacie Golgiego oraz w błonie komórkowej. Forma $A\beta$ produkowana jest głównie w ER. Z ER białko APP jak i postać $A\beta$ może ulec retrotranslokacji do cytozolu w procesie ERAD.

Celem pracy było zdefiniowanie roli białek z rodziny EDEM w regulacji transportu białka APP do cytozolu.

W badaniach wykazano istotną rolę białek EDEM1, EDEM2 oraz EDEM3 w regulacji ilości białka APP w komórkach HEK293 (Human embryonic kidney). Obniżenie ilości białka APP potwierdzono testami Western-blot oraz ELISA. Doświadczenia, w których badano transport APP z ER do cytozolu wykazały, że białka EDEM zwiększają retrotranslokację białka APP do cytozolu. Ponadto doświadczenia z użyciem inhibitora proteasomu potwierdziły istotną rolę procesu ERAD w regulacji ilości tego białka w komórce. Wykonane testy koimmunoprecypitacji białek oraz mikroskopii konfokalnej wskazują na oddziaływania pomiędzy białkami EDEM a APP.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wykazały, że białka z rodziny EDEM mogą regulować ilość białka APP w komórkach HEK293, poprzez zwiększenie jego retrotranslokacji z ER do cytozolu.

Słowa kluczowe: APP, Choroba Alzheimerera, ERAD, EDEM1, EDEM2, EDEM3.

Trietyloborowodorek sodu jako katalizator reakcji hydrosililowania – kwantowochemiczne badania wybranych mechanizmów

Mateusz Nowicki¹, Maciej Zaranek², Piotr Pawluć², Marcin Hoffmann¹

¹Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, Pracownia Chemii Kwantowej,
Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

²Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, Zakład Chemii Metaloorganicznej,
Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

nowickim94@gmail.com

Hydrosililowanie – reakcja addycji wiązania Si–H do wiązania wielokrotnego – jest jedną z najważniejszych metod otrzymywania związków krzemooorganicznych. Tradycyjne katalizatory tej reakcji oparte są na kompleksach metali szlachetnych i innych pierwiastków bloku d, jednak z uwagi na jej znaczenie przemysłowe nie ustają prace mające na celu zaprojektowanie prostszych i tańszych związków zdolnych katalizować proces hydrosililowania. W ostatnich latach wzrastającym zainteresowaniem cieszą związki boroorganiczne[1,2].

W ramach prezentowanej pracy przeprowadzono badania mechanizmów niektórych reakcji hydrosililowania przy wykorzystaniu metod obliczeniowych chemii kwantowej. Reakcje styrenu z szeregiem związków krzemooorganicznych, m.in. fenylosilanem, 1,1,3,3-tetrametylosiloksanem, w obecności trietyloborowodoru sodu, prowadzące do produktów zgodnych z regułą Markownikowa, jak i stojących z nią w sprzeczności, badane były z zastosowaniem metod obliczeniowych chemii kwantowej opartych o teorię funkcjonału gęstości. Wykorzystano funkcjonał hybrydowy M06-2X w bazie funkcyjnej 6-31++G(d,p).

W rezultacie przeprowadzonych prac określono strukturę geometryczną i elektronową substratów, produktów, produktów pośrednich i stanów przejściowych, a w efekcie zaproponowano szereg nowych, dotąd nieopisywanych w literaturze mechanizmów wybranych reakcji hydrosililowania styrenu, pozostających w pełnej zgodności z obserwacjami doświadczalnymi[3]. Wyjaśniono regioselektywność reakcji oraz tworzenie się niespodziewanego produktu reakcji styrenu z 1,1,3,3-tetrametylosiloksanem, a także wytłumaczono zależność konwersji styrenu od zawartości trietyloborowodoru sodu w mieszaninie reakcyjnej oraz fiasko reakcji styrenu z heksametylodisiloksanem.

Słowa kluczowe: M06-2X, 6-31++G(d,p), NaBH₄, hydrosililowanie, TMDSO.

[1] K. Sakata, H. Fujimoto, J. Org. Chem. 2013, 78 (24), 12505–12512.

[2] M. Zaranek, S. Witomska, V. Patroniak, P. Pawluć, Chem. Commun. 2017, 53 (39), 5404–5407.

[3] M. Zaranek, P. Pawluć, Komunikat prywatny.

Udział cyklofilin we wzroście i rozwoju roślin

Przemysław Olejnik

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Katedra Biochemii i Biotechnologii,
ul. Dojazd 11 60-631 Poznań

przemyslaw.olejnik.92@gmail.com

Cyklofiliny stanowią konserwatywną rodzinę białek należących do immunofilin, której przedstawicieli dotychczas zidentyfikowano w komórkach organizmów należących do niemal wszystkich królestw świata ożywionego poczynając od roślin i zwierząt a skończywszy na grzybach i bakteriach. U organizmów eukariotycznych wykazano ich obecność w cytoplazmie, jądrze komórkowym, mitochondriach, chloroplastach i siateczce śródplazmatycznej.

W każdym z tych przedziałów komórkowych cyklofiliny pełnią zróżnicowane funkcje biorąc udział w takich procesach jak transport białek, stabilizacja receptorów, dojrzewanie mRNA czy apoptoza. Białka należące do cyklofilin, dzięki posiadaniu aktywności izomerazy peptydyloprolilowej, katalizują reakcję izomeryzacji wiązania peptydowego pomiędzy proliną a dowolnym, poprzedzającym ją w łańcuchu peptydowym aminokwasem (Xaa-Pro). Reakcja izomeryzacji *cis/trans* przebiega w organizmach żywych powoli i jest czynnikiem limitującym wydajność nabywania przez białka struktury natywnej, która jest warunkiem pełnienia określonych funkcji w komórce. Proces ten jest jednocześnie bardzo istotny, ponieważ około 90% białek posiada wiązanie peptydowe w konformacji *trans*.

Rzodkiewnik pospolity (*Arabidopsis thaliana*) to niewielka roślina, która aktualnie jest jednym z najczęściej wykorzystywanych gatunków w badaniach dotyczących genetyki, procesów ewolucyjnych, wzrostu i rozwoju roślin oraz biologii molekularnej. Pomimo tego, że *A. thaliana* nie jest gatunkiem o dużym znaczeniu agronomicznym, jest uznanym modelem w badaniach nad procesami zachodzącymi w organizmach roślin uprawnych.

W tkankach *Arabidopsis thaliana* zidentyfikowano 29 białek należących do cyklofilin, które zlokalizowane są w różnych przedziałach komórkowych i biorą udział w licznych procesach. Duże zróżnicowanie funkcji przy równoczesnym wysokim stopniu podobieństwa sekwencji aminokwasowej cyklofilin występujących u różnych gatunków wskazuje na uniwersalność mechanizmów regulacyjnych, w których biorą udział. Poznanie i zrozumienie funkcjonowania cyklofilin w komórkach organizmów modelowych może w znacznym stopniu ułatwić zrozumienie roli omawianych białek w formowaniu interesujących z agronomicznego punktu widzenia cech. Celem niniejszej pracy jest zaprezentowanie funkcji wybranych cyklofilin w procesach wzrostu i rozwoju *A. thaliana*.

Słowa kluczowe: cyklofiliny, izomerazy peptydyloprolilowe, *Arabidopsis thaliana*, ekspresja genów, immunofiliny.

Starzenie ludzkich oraz mysich komórek nowotworowych indukowane leczeniem cisplatyną, winorelbina i docetakselem w warunkach hipoksji i normoksji

Aleksandra Olszewska^{1,2}, Claudine Kieda¹, Halina Waś¹

¹ Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa,

² Studium Medycyny Molekularnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa,

hwas@wim.mil.pl

Pięcioletni wskaźnik przeżycia w raku płuca wynosi tylko 15%, co wynika głównie z późnej diagnozy oraz szybkiego rozwoju choroby odpornej na leczenie. Chemioterapia powoduje śmierć komórek nowotworowych, jednak może również prowadzić do ich starzenia (TIS, ang. Therapy Induced Senescence). Chociaż uważa się, że starzenie jest związane z nieodwracalnym zatrzymaniem wzrostu, komórki TIS mogą ulegać nietypowym podziałom i w ten sposób potencjalnie przyczyniać się do wznowy nowotworu. Charakterystyczną cechą guzów litych jest niedotlenienie (hipoksja), które jest znaczące dla odpowiedzi na chemioterapię. Badania wskazują na kluczową rolę hipoksji w selekcji nowotworowych komórek macierzystych, uważanych jako odpowiedzialne za wzrost guza i oporność na terapię. Celem badania jest ustalenie, czy chemioterapeutyki stosowane w leczeniu pacjentów z rakiem płuca mogą powodować starzenie się komórek nowotworowych, które będą wykazywały jednocześnie cechy komórek macierzystych także w warunkach hipoksji. Aby to ocenić, przeprowadziliśmy badania na komórkach ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuca linii A549 oraz na mysiej linii raka płuca- LLC1. Dla określenia zmian w aktywności metabolicznej oraz proliferacyjnej użyto odpowiednio testu MTT oraz BrdU. W celu oceny aktywności SA-β-galaktozydazy (ang. Senescent Associated-β-galactosidase, SA-β-gal), enzymu lizosomalnego, charakterystycznego dla komórek starych, wykonane zostało barwienie cytochemiczne. Badania wykonano w warunkach hipoksji (1% O₂) i normoksji (21% O₂). W odpowiedzi na cisplatynę i winorelbina aktywność metaboliczna komórek A549 była zmniejszona w sposób zależny od dawki. Niedotlenienie zdaje się nie wpływać na żywotność komórek ludzkich. Jednak w przypadku linii LLC1, zaobserwowano istotny wpływ hipoksji na obniżenie żywotności komórek oraz gwałtowny spadek aktywności metabolicznej po przekroczeniu pewnej dawki. Na podstawie testu MTT do dalszych badań wybrano dawki leków nie wykazujące toksyczności. Prolifерacja komórek ludzkiego raka płuc była hamowana po leczeniu obydwoma badanymi chemioterapeutykami. Ponownie nie było efektu niedotlenienia. Spadek proliferacji w komórkach A549 korelował z rozwojem fenotypu charakterystycznego dla starzejących się komórek, np. zwiększona aktywność SA-β-gal. Co ciekawe, barwienie SA-β-gal wydaje się słabsze w niedotlenieniu niż w normoksji, jednak w obu warunkach obserwowano cechy fenotypu starzenia, w tym: powiększony rozmiar, zwiększoną ziarnistość i poliploidalność. W przypadku linii mysiej, również wystąpiły komórki SA-β-gal- pozytywne oraz ze zmienioną morfologią. Nasze wyniki sugerują, że chemioterapeutyki wywołują zmiany morfologii zarówno w normoksji, jak i hipoksji, jednakże barwienie SA-β-gal wydaje się słabsze w niedotlenieniu niż w normoksji. Aby wyjaśnić otrzymane wyniki, zostaną przeprowadzone dodatkowe testy na zwierzętach i próbkach klinicznych. Wierzimy, że nasze badania pomogą ustalić, czy TIS może mieć kluczowe znaczenie w nawrocie choroby nowotworowej odpornej na chemioterapię. Badania realizowane w ramach projektu nr 2017/26/E/NZ3/00434 przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki w Polsce.

Słowa kluczowe: rak płuca, starzenie, hipoksja, chemooporność

Rola cykliny Y w komórkach zdrowych i zmienionych nowotworowo.

**Aleksandra Opacka, Klaudia Mikołajczyk, Wioletta Zielińska, Adrian Krajewski,
Agnieszka Żuryń, Alina Grzanka**

*Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu Collegium Medium
im. L. Rydygiera w Bydgoszczy*

aleksandra.opacka.ao@gmail.com

Wstęp: Cykliny należą do grupy białek, które biorą udział w regulacji cyklu komórkowego poprzez aktywację kinaz zależnych od cyklin (CDKs). Na podstawie ich najważniejszych funkcji, wyróżnia się głównie dwie klasy cyklin: regulujące cykl komórkowy i regulujące proces transkrypcji. Prawidłowa ekspresja cyklin odgrywa istotną rolę w procesach takich jak: transkrypcja, naprawa DNA, różnicowanie i proliferacja komórek. Natomiast rozregulowanie ekspresji jest jednym z ważniejszych zaburzeń prowadzących do rozwoju nowotworów. Cyklina Y w komórkach zdrowych wraz z Cdk 14 wpływa na transdukcję szlaku Wnt poprzez fosforylację LRP6, natomiast w kompleksie z Cdk 16 bierze udział w spermatogenezie, a także odgrywa istotną rolę w kontroli funkcji neuronalnej. Ekspresja cykliny Y odgrywa kluczową rolę w procesach nowotworzenia. Nadekspresję cykliny Y wykazano w wielu rodzajach nowotworów m. in. w: niedrobnokomórkowym raku płuca, raku jajnika, raku krtani, glejaku, a także w raku wątroby.

Cel pracy: W niniejszej pracy przedstawiono aktualną wiedzę na temat roli cykliny Y w komórkach zdrowych i zmienionych nowotworowo.

Materiały i metody: Praca została przygotowana w oparciu o analizę publicznie dostępnych danych pochodzących z bazy NCBI PubMed.

Wnioski: W komórkach zdrowych cyklina Y odgrywa istotną rolę w regulacji wielu procesów, natomiast nieprawidłowa ekspresja cyklin Y przyczynia się do powstawania nowotworów różnych typów. Dlatego zrozumienie mechanizmów molekularnych deregulacji progresji cyklu komórkowego w raku może dostarczyć ważnych informacji na temat jak prawidłowe komórki stają się nowotworowymi, a także w jaki sposób można zaprojektować nowe strategie leczenia. W związku z powyższym widoczne jest, że badanie poziomu ekspresji cykliny Y może stanowić cel w terapii chorób nowotworowych. Monitorowanie ekspresji może pomóc w oszacowaniu ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej i pozwolić na szybkie jej zdiagnozowanie.

Słowa kluczowe: cyklina Y, transkrypcja, komórki zdrowe, nowotwór.

Działanie przeciwdrobnoustrojowe ekstraktów z roślin owadożernych – metodologia

Zuzanna Orwat, Małgorzata Nabrdalik, Agnieszka Dolhańczuk-Śródka

Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, Instytut Biotechnologii, 45-040 Opole, pl, Kopernika 11a

zuzannaorwat@wp.pl

Aktualne doniesienia naukowe mówią o szerokim działaniu przeciwdrobnoustrojowym roślin owadożernych, jednak wykorzystywano je już w medycynie ludowej. Zalecano ich stosowanie jako leku przeciwalergicznego, poprawiającego odporność, przeciwzakrzepowego oraz łagodzącego objawy astmy.

Jako materiał badawczy posłużyło pięciu przedstawicieli roślin owadożernych (*Dionaea muscipula Regular form*, *Dionaea muscipula Red green*, *Drosacea capensis*, *Nepenthes Rebecca Soper*, *Sarracenia Tygo*). Ekstrakty roślinne przygotowywano stosując różny czas ich sonifikacji (2, 4 i 6 minut) oraz różne temperatury i czas przechowywania. Badania obejmowały również analizy mikrobiologiczne ekstraktów, gdzie wykorzystano cztery szczepy referencyjne (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, wykorzystując metodę dyfuzyjno-krażkową na podłożu Mueller-Hinton oraz YPD.

Słowa kluczowe: rośliny owadożerne, działanie przeciwdrobnoustrojowe, sonifikacja, ekstrakty roślinne.

Rola białka NtZIP5 w transporcie Zn u tytoniu (*Nicotiana tabacum*)

Małgorzata Palusińska, Anna Barabasz i Danuta Maria Antosiewicz

Uniwersytet Warszawski, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

m.palusinska@biol.uw.edu.pl

Poznanie regulacji translokacji metali z korzeni do pędów na poziomie molekularnym jest kluczowe dla zrozumienia mechanizmów odpowiedzialnych za przystosowanie roślin do zmiennych warunków składu mineralnego podłoża. Wiedzę tę można wykorzystać także w celu modyfikacji poziomu akumulacji metali w pędach, co determinuje wydajność fitoremediacji zanieczyszczonych gleb. Wstępne badania wykazały iż u tytoniu w obecności kadmu (Cd) zachodzi stymulacja translokacji cynku (Zn) z korzenia do pędu czemu towarzyszy zróżnicowana ekspresja genu *NtZIP5* (ZRT-, IRT-like Proteins) w korzeniach. Dlatego celem głównym projektu było sklonowanie genu *NtZIP5*, charakterystyka i określenie udziału w translokacji Zn i Cd z korzenia do pędu roślin tytoniu.

Jednym z podstawowych zadań badawczych było określenie, w której błonie biologicznej białko NtZIP5 pełni swoją funkcję, jakie metale transportuje przez błony oraz jak regulowana jest jego ekspresja w roślinach tytoniu.

Doświadczenia z wykorzystaniem systemów drożdżowych oraz ekspresja przejściowa w liściach tytoniu białka fuzyjnego *NtZIP5-GFP* wykazały, iż NtZIP5 jest zlokalizowane w błonie komórkowej komórek tytoniu i transportuje do cytoplazmy Zn oraz Cd. Analiza ekspresji genu *NtZIP5* (metodą qRT-PCR) w roślinach poddanych ekspozycji na wysokie i niskie stężenia Zn wykazała, iż jest ona regulowana deficytem Zn. Analiza tkankowo-specyficznej ekspresji *NtZIP5* z wykorzystaniem genu reporterowego GUS (koduje β -glukuronidazę) wykazała brak ekspresji w warunkach kontrolnych (1/4 Knopa), natomiast wysoki poziom w warunkach deficytu Zn, we wszystkich tkankach w częściach apikalnych korzenia- odpowiedzialnych za pobieranie składników mineralnych w tym Zn. W środkowej części korzenia poziom transkryptu *NtZIP5* malał i stopniowo zanikał blisko nasady. W częściach nadziemnych tytoniu ekspresja *NtZIP5* była najniższa.

Podwyższona ekspresja genu *NtZIP5* w warunkach deficytu Zn świadczy o jego specyficznej roli w dostarczaniu do komórek korzeni tytoniu tego niezbędnego mikroelementu przy niskich stężeniach tego metalu w podłożu. Być może nadekspresja genu *NtZIP5* w tytoniu pozwoli na uzyskanie roślin zdolnych do rozwoju na glebach ubogich w ten pierwiastek.

Słowa kluczowe: *NtZIP5*, cynk, kadm, β -glukuronidaza.

Badania wykonano w ramach grantu OPUS 2014/15/B/NZ9/02303

Fotokatalityczne usuwanie zanieczyszczeń w obecność molibdenianu bizmutu modyfikowanego lantanowcami

Patrycja Parnicka, Adriana Zaleska-Medynska

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Technologii Środowiska, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

patrycja.parnicka@phdstud.ug.edu.pl

W ostatnich latach dużą uwagę poświęca się poszukiwaniu metod usuwania zanieczyszczeń w oparciu o technologie przyjazne środowisku. Molibdenian bizmutu (Bi_2MoO_6) jest najprostszym związkiem typu Aurivillius'a, charakteryzującym się przerwą wzbronioną $\sim 2,7$ eV. W związku z tym półprzewodnik ten może być stosowany z dużym powodzeniem do oczyszczania wody, usuwania zanieczyszczeń ze ścieków, i lotnych substancji z atmosfery przy wykorzystaniu odnawianego źródła energii, jakim jest promieniowanie słoneczne [1]. Niemniej jednak, ograniczenie zastosowania Bi_2MoO_6 wynikają z szybkiej rekombinacji nośników ładunku e^-/h^+ . Dotychczas przeprowadzono wiele badań mających na celu wykorzystanie unikalnych właściwości lantanowców w procesie fotokatalizy [2,3]. Badania własne obejmowały otrzymanie Bi_2MoO_6 trójmodyfikowanego Yb^{3+} , Er^{3+} oraz Gd^{3+} za pomocą metody hydrotermalnej. Zbadano wpływ domieszki na właściwości powierzchniowe oraz aktywność fotokatalityczną w procesie degradacji fenolu pod wpływem promieniowania z zakresu ultrafioletowego i widzialnego ($\lambda > 350$ nm). W celu określenia przebiegu procesu degradacji zanieczyszczeń przeprowadzono test w obecności zmiataczy reaktywnych indywiduum. Fotokatalizator potrójnie modyfikowany wykazał znacznie podwyższoną aktywność fotokatalityczną niż pojedynczo oraz podwójnie modyfikowane próbki. W jego obecności stopień degradacji fenolu po 90 min naświetlania wyniósł 96%. Zwiększoną aktywność fotokatalityczną przypisuje się synergicznemu działaniu jonów Yb^{3+} , Er^{3+} oraz Gd^{3+} – przesunięcia krzywej absorpcji w kierunku długości fal o większej wartości oraz zahamowania procesu rekombinacji par elektron dziura, co wiąże się ze zwiększeniem wydajności kwantowej reakcji.

Słowa kluczowe: fotokataliza, molibdenian bizmutu, lantanowce.

Badania były finansowane z projektu Badań Młodych Naukowców (538-8620-B297-18).

Literatura:

- [1] K. Jing, W. Ma, Y. Ren, J. Xiong, B. Guo, Y. Song, S. Liang, L. Wu, Appl. Catal. B Environ. 243 (2019) 10–18.
- [2] H. Li, W. Li, F. Wang, X. Liu, C. Ren, Appl. Catal. B Environ. 217 (2017) 378–387.
- [3] W. Dai, X. Hu, T. Wang, W. Xiong, X. Luo, J. Zou, Appl. Surf. Sci. 434 (2018) 481–491.

Przeciwootyłościowa aktywność związków fenolowych owoców *Viburnum opulus*

Nina Pawlik, Anna Podsędek, Małgorzata Zakłos-Szyda

*Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Biochemii Technicznej, ul.
Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź*

nina.pawlik@edu.p.lodz.pl

Dane epidemiologiczne wskazują, iż otyłość oraz nadwaga należą obecnie do głównych problemów zdrowotnych współczesnego świata. Jednak duża ilość efektów ubocznych stosowania syntetycznych preparatów farmakologicznych spowodowała zwiększenie zainteresowania w aktywnością przeciwootyłościową związków pochodzenia roślinnego, a szczególnie polifenoli i terpenoidów. Ich działanie polega m.in. na hamowaniu aktywności enzymów trawiennych oraz enzymów metabolizujących węglowodany i lipidy, hamowaniu adipogenezy i jej regulatorów oraz zmniejszaniu apetytu. Wśród roślin wykazujących wysoką zawartość, a także szeroki zakres związków polifenolowych można wyróżnić kalinę koralową (*Viburnum opulus* L.). Prozdrowotne właściwości soku z owoców kaliny koralowej są znane już od dawna m.in. w Turcji, gdzie występuje on pod postacią handlową jako gilaburu.

Wyniki najnowszych badań wskazują, że istotne znaczenie w regulacji procesów komórkowych prowadzących do nadwagi i otyłości mają receptory jądrowe aktywowane przez proliferatory peroksysomów (peroxisome-proliferator-activated receptor, PPAR), a szczególnie jego izoforma PPAR- γ . Obok PPAR- α równie istotnymi w procesie formowania nowych komórek tłuszczowych są m.in. czynniki transkrypcyjne: RxR α oraz SREBP-1, a także koaktywatory receptorów PPAR - CBP, PGC-1 α .

Podczas prezentacji zostaną przedstawione założenia projektu badawczego, jak również sposób pozyskania ekstraktów z owoców *V. opulus*. Udało uzyskać 4 ekstrakty (ekstrakt metanolowo-acetonowy - MAE, acetonowy - AE, oczyszczony metodą SPE - PRE oraz odwirowany sok - FJ). Skład ilościowy i jakościowy owoców *V. opulus* wyznaczono przy użyciu chromatografii UPLC, co wskazało na różnorodność profilu polifenolowego badanych ekstraktów. Wykazana wysoka zawartość polifenoli ogółem przekłada się na wysoką zdolność antyoksydacyjną (określoną metodą ORAC) również w układzie biologicznym (test CAA), który stanowiły linie komórkowe HepG2 i 3T3L1. Wstępne wyniki aktywności białek metodą Western blott na linii komórkowej 3T3L1 wykazały, że badane ekstrakty owoców *V. opulus* wpływają na aktywność białek zaangażowanych w procesy lipogenezy i adipogenezy, co potwierdza słuszność ich wykorzystania w prewencji oraz leczeniu otyłości.

Przedstawione wyniki badań zostały wykonane i finansowane w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki 2016/23/B/N29/03629.

Słowa kluczowe: otyłość, kalina koralowa, polifenole, potencjał antyoksydacyjny, receptory PPAR.

Kompozycja krajobrazu determinuje rozmieszczenie i sukces lęgowy bociana białego na obszarze Natura 2000 „Ostoja Warmińska”

Zuzanna Pestka, Dariusz Jakubas

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ekologii i Zoologii Kręgowców, Pracownia Etologii i Ekologii Kręgowców, ul Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

zuz.pestka@gmail.com

Ostoja Warmińska jest jednym z kluczowym obszarów dla populacji bociana białego, zarówno w skali europejskiej, jak i całym areale lęgowym. Gniazduje tu ok. 2 % populacji krajowej oraz notowane są najwyższe jej zagęszczenia. Kolejną unikalną cechą tego obszaru jest wyjątkowo częste i liczne gniazdowanie skupiskowe (kolonijne), będące słabo zbadanym aspektem ekologii tego gatunku. Od lat obserwowany jest jednak spadek liczebności populacji, co może mieć związek z wielokierunkowymi zmianami w krajobrazie rolniczym.

Wykonane analizy miały na celu określenie zależności między rozmieszczeniem i parametrami reprodukcyjnymi populacji a strukturą krajobrazu. W analizie uwzględniono:

- typ gniazdowania (pojedynczo lub skupiskowo),
- zajęcie gniazda (zajęte lub niezajęte),
- udatność lęgów (wystąpienie lub brak sukcesu lęgowego),
- liczba wychowanych młodych (zdolnych do wylotu).

Dodatkowo zbadano tzw. efekt przestrzenny (ang. *spatial effect*). Sprawdzone, czy na badanym terenie występuje gradient przestrzenny w rozmieszczeniu poszczególnych typów pokrycia oraz w jakim stopniu preferencje siedliskowe gatunku zależą od rozmieszczenia par lęgowych w przestrzeni geograficznej. Uzyskane wyniki pozwalają na określenie wybiórczości siedliskowej badanej populacji oraz wyznaczenie najważniejszych typów pokrycia z punktu widzenia ochrony gatunku. Dodatkowo wyniki analizy gradientu przestrzennego dają podstawę do bardziej szczegółowych badań nad preferencjami siedliskowymi z uwzględnieniem lokalnej charakterystyki krajobrazu.

W przeprowadzonych analizach wykorzystane zostały wysokiej jakości dane przestrzenne o rozmieszczeniu gniazd i par lęgowych oraz o pokryciu terenu na terenie Ostoi Warmińskiej w 2012 roku. Dane o pokryciu terenu pochodziły z trzech baz o różnej dostępności oraz szczegółowości (bazy europejskiej, ogólnopolskiej oraz lokalnej). Dla ponad 800 gniazd bocianów określono udział typów pokrycia terenu w dwóch skalach przestrzennych - strefach buforowych o promieniu 500 m oraz 1000 m, wyznaczonych wokół gniazd. Analizy przestrzenne wykonano w programie środowiska GIS (ang. *Geographic Information System*), a uzyskane dane przeanalizowano statystycznie za pomocą metod wielowymiarowych ze względu na rozbudowany charakter bazy danych i znaczną współzależność danych przestrzennych.

Wykazano, że typ gniazdowania zależy od pokrycia terenu w obu skalach przestrzennych. Gniazdowanie kolonijne związane jest z większą powierzchnią wsi, trwałych użytków zielonych i oczek wodnych oraz znaczną odległością od terenów leśnych. O zajęciu gniazda przez parę lęgową decyduje struktura krajobrazu w odległości do 1000 m, natomiast na osiągnięcie sukcesu lęgowego pozytywnie wpływa bliskość pól uprawnych w promieniu 500 m. Nie stwierdzono zależności liczby młodych od analizowanych czynników, co sugeruje wpływ innych, nieuwzględnionych w niniejszej analizie czynników, związanych prawdopodobnie z kondycją osobników dorosłych czy warunkami pogodowymi. Wykazano ponadto istnienie gradientu w pokryciu terenu w Ostoi Warmińskiej oraz istotną zależność preferencji siedliskowych badanej populacji od lokalnej charakterystyki krajobrazu.

Słowa kluczowe: krajobraz, pokrycie terenu, gradient przestrzenny.

Ewolucja hematofagii wśród muchówek z rodziny kuczmanów (Diptera: Ceratopogonidae) w świetle badań paleontologicznych i neontologicznych

Agata Pielowska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii, Pracownia Entomologii Ewolucyjnej i Muzeum Inkluzji w Bursztynie, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

agata.pielowska@phdstud.ug.edu.pl

Hematofagia pojawiała się wielokrotnie i niezależnie w wielu taksonach (pierścienice, nicienie, stawonogi, ssaki), wśród których największe znaczenie ma u owadów. Kuczmany (Diptera: Ceratopogonidae), których znaczna część znana jest jako pasożyty odżywiające się krwią kręgowców i wektory różnych patogenów, geochronologicznie sięgają okresu barremu, przypadającego na wczesną kredę. Najstarsze taksony znane są z bursztynu libańskiego liczącego ok. 130 milionów lat. 1704 gatunki spośród 6267 współcześnie żyjących (ponad 27%) i 112 spośród 283 kopalnych (prawie 40%) znanych jest z hematofagicznego sposobu odżywiania. Uważa się, że hematofagia u Ceratopogonidae nie jest cechą progresywną a ancestralną, gdzie podstawowe linie rozwojowe reprezentowały pasożyty odżywiające się krwią. Pozostałe sposoby odżywiania wyewoluowały później – w czasie górnej kredy hemolimfofagia i drapieżnictwo oraz w trakcie paleogenu – pyłko- i nektarofagia, a w tym samym czasie w podrodzaju reprezentowanym dotychczas wyłącznie przez drapieżniki prawdopodobnie hematofagia pojawiła się ponownie.

Słowa kluczowe: bursztyn, Ceratopogonidae, krwiopijność.

Wpływ genisteiny na behavior oraz wybrane elementy morfologiczne krwi obwodowej u myszy R6/1 stanowiących genetycznie modyfikowany model choroby Huntingтона

**Karolina Pierzynowska¹, Magdalena Podlacha¹, Estera Rintz¹, Lidia Gaffke¹,
Dorota Myślińska², Grzegorz Węgrzyn¹**

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii Molekularnej, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

²Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka,
ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

karolina.pierzynowska@biol.ug.edu.pl

Choroba Huntingтона (HD) jest jednym z genetycznych schorzeń neurodegeneracyjnych spowodowanym mutacją w genie *IT15* polegającą na ekspansji trójki nukleotydów CAG. Ekspansja ta prowadzi do wystąpienia długiego ciągu reszt poliglutaminy (region poliQ) w sekwencji aminokwasowej białka zwanego huntingtyną. Zmutowana postać huntingtyny wykazuje tendencję do tworzenia agregatów, które kumulując się w komórkach nerwowych upośledzają prawidłowe ich funkcjonowanie. Jedną z najbardziej obiecujących strategii leczenia HD jest stymulacja degradacji zmutowanej formy huntingtyny, a procesem który mógłby posłużyć do tego celu jest autofagia czyli lizosomalna degradacja makrocząsteczek. Genisteina, jeden z flawonoidów, charakteryzuje się nie tylko zdolnością do indukcji procesu autofagii ale także bezpieczeństwem w długoterminowym stosowaniu i przekraczaniem bariery krew-mózg. Poprzednie badania zespołu wskazały na negatywny wpływ genisteiny na poziom agregatów zmutowanej formy huntingtyny w modelach komórkowych ukazując genisteinę jako jeden z potencjalnych terapeutów. Naturalnie, kolejnym etapem badań są próby przedkliniczne prowadzące do opracowania eksperymentalnej terapii. W związku z tym celem tej pracy było zbadanie wpływu genisteiny na mysim model HD ze szczególnym naciskiem na zmiany behawioralne oraz elementy morfologiczne krwi obwodowej. Badania prowadzono na mysim, genetycznie modyfikowanym modelu R6/1 charakteryzującym się ekspresją ludzkiego 1 eksonu genu *IT15* ze 115-150 powtórzeń CAG. Zwierzęta podzielono na 4 grupy: 2 grupy zwierząt zdrowych oraz 2 grupy zwierząt R6/1, którym podawano genisteinę lub wodę (kontrola) od momentu pojawienia się oznak choroby (ok. 15 tydzień życia). Testy behawioralne oraz analiza morfologiczna krwi przeprowadzana była wraz z pierwszym dniem podawania genisteiny/wody i powtarzana co 1,5 miesiąca w celu określenia zmian w postępie choroby. Przeprowadzone analizy behawioralne (testy zachowań lękowych i aktywności motorycznej, podobnie jak liczba ruchów w poszczególnych płaszczyznach), a także analiza morfologii krwi obwodowej wskazały, że już po 1,5 miesiąca stosowania genisteina znacząco koryguje behavior i parametry krwi obwodowej myszy R6/1, natomiast po 3 miesiącach stosowania – myszy te stają się nierozróżnialne od myszy całkowicie zdrowych. Podsumowując, eksperymentalna terapia z użyciem genisteiny w modelu zwierzęcym dowodzi zupełnie nowych efektów pozytywnego wpływu genisteiny w modelu HD wskazując na słuszność tezy, że izoflawon ten ma szansę stać się lekiem wymienioną chorobę.

Słowa kluczowe: choroba Huntingтона, genisteina, myszy R6/1, behavior, morfologia krwi.

Zapylacze z nadrodziny *Apoidea* , a infestacja pasożytami z rodzaju *Nosema* - czy choroba sporowcowa może stanowić poważne zagrożenie dla dzikich zapylaczy?

Natalia Piotrowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauk o Środowisku, ul. M. Oczapowskiego 5; 10-719 Olsztyn

nat.pio2@wp.pl

Nosemoza, czyli choroba sporowcowa, wywoływana jest przez jednokomórkowe organizmy zaliczane obecnie do grzybów - *Microsporidia*. Pasożyty te atakują wiele gatunków owadów z różnych taksonów, w tym liczne błonkoskrzydłe z nadrodziny *Apoidea*.

Infestacja tym drobnoustrojem doprowadza do zmian na terenie układu pokarmowego - u pszczoły miodnej *Apis mellifera* rozwój spor przebiega w komórkach jelita środkowego, co prowadzi do ich nieodwracalnego uszkodzenia i obumarcia. Objawem choroby jest brak trawienia pokarmu, manifestowany wydzielaniem dużych ilości wodnistego, słodkawego „kału”, zawierającego zarodniki pasożyta. Następstwem jest niedorozwój gruczołów gardzielowych u pszczół robotnic, prowadzący do zaburzeń w produkcji mleczka pszczelego, będącego podstawowym pożywieniem dla matki i czerwia, a w efekcie osłabienie, a czasem wymieranie całych rodzin. „Kał” wydalany jest nie tylko w ulu, ale również do źródeł wody, czy, jeśli inwazja jest intensywna, podczas oblotów na pożytkach. Jest on materiałem wysoce zakaźnym - spory w nim zawarte w warunkach glebowych zachowują inwazyjność nawet do 70 dni. (Sokół, Michalczyk 2012)

Gatunkami sporowca niebezpiecznymi dla pszczoły miodnej *A. mellifera* są *Nosema apis* i *Nosema ceranae*, będąca pierwotnie pasożytem pszczoły azjatyckiej *Apis cerana*. U trzmieli i trzmielców obserwuje się infestację *N. ceranae* i *Nosema bombi*. Dotychczasowo w naszym kraju nie przeprowadzono badań w populacji dzikich pszczołowatych z innych rodzin, takich jak *Megachilidae* czy *Andrenidae*. Zastanawiającym jest fakt, czy mogą być one atakowane przez pasożyty z rodzaju *Nosema*, a jeśli tak, to czy korzystanie ze wspólnej bazy pożytkowej z pszczołą miodną, zwłaszcza z pasiek wędrownych, może stanowić realne zagrożenie dla dzikich zapylaczy.

Słowa kluczowe: nosemoza, dzikie zapylacze, pszczoły, trzmiele.

Wpływ aktywacji i blokady cholinergicznej VTA na hipokampalny rytm *theta*

Aleksandra Piwka¹, Karolina Szewczyk¹, Jolanta Orzeł-Gyglewska¹

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka,
ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

aleksandra.piwka@phdstud.ug.edu.pl

Wstęp: Fale mózgowe to cykle aktywności bioelektrycznej mózgu. Rytm *theta* jest aktywnością o częstotliwości od 3 do 6 Hz (u szczurów), występuje zarówno w trakcie czuwania jak i we śnie. Ma kluczowe znaczenie w procesach poznawczych tj.: zapamiętywanie i uczenie się. System indukcji i regulacji rytmu *theta* składa się głównie z pnia mózgu, przegrody przyśrodkowej i formacji hipokampa – stanowią one razem „system synchronizacji rytmu *theta*”. Badania wskazują, że system ten obejmuje również brzuszne pole nakrywki śródmózgowia (VTA). Czy włókna cholinergiczne docierające do VTA wpływają na komórki dopaminy (DA) w tej strukturze? Czy manipulacja cholinergiczną VTA zmieni parametry rytmu *theta* w hipokampie ?

Celem doświadczenia było zbadanie efektów inaktywacji i aktywacji receptorów cholinergicznym w VTA na aktywność elektryczną hipokampa u szczurów w narkozie uretanowej.

Metodyka: Samce szczurów Wistar (n = 15) podzielono na grupy, z których każdy otrzymał mikroiniekcję do VTA: rozpuszczalnika (*aqua pro injection* - 0,5 µl), agonisty receptorów cholinergicznym - karbacholu (3 µg/0,5 µl), antagonisty receptora nikotynowego - mekamylaminy (10 µg/0,5 µl) lub antagonisty receptora muskarynowego - atropiny (25 µg/0,5 µl). Zmiany potencjału polowego oceniano na podstawie mocy szczytowej (%P_{max}) dla pasm *delta* (0,5–3 Hz) i *theta* (3–6 Hz) z użyciem programu *Spike*.

Wyniki: Podanie karbacholu sprawiło, że w zapisie hipokampalnego EEG w paśmie 0-3 Hz ($F_{(8,788)}=12,34$, $p \leq 0,001$) jak i w paśmie 3-6 Hz ($F_{(8,793)}=11,19$, $p \leq 0,001$), zaszła istotna zmiana wartości mocy maksymalnej w porównaniu do zapisu po podaniu rozpuszczalnika. Zaobserwowano przesunięcie maksymalnych wartości mocy z pasma *delta* w stronę pasma *theta*. Po iniekcji antagonistów receptorów cholinergicznym – zarówno atropiny jak i mekamylaminy – zaobserwowano istotną zmianę wartości mocy maksymalnej w porównaniu do zapisu kontrolnego w paśmie 0-3 Hz (atropina - $F_{(8,788)}=11$, $p \leq 0,001$; mekamylamina - $F_{(8,793)}=11,4$, $p \leq 0,001$) jak i w paśmie 3-6 Hz (atropina - $F_{(8,788)}=12,82$, $p \leq 0,001$; mekamylamina - $F_{(8,793)}=11,14$, $p \leq 0,001$). Podania antagonistów spowodowały czasowy wzrost w zakresie częstotliwości fal *delta*.

Wnioski i podsumowanie: Iniekcja karbacholu do VTA indukuje hipokampalny rytm *theta*. Cholinergiczna aktywacja VTA powoduje wzrost mocy maksymalnej w paśmie 3-6 Hz. Cholinergiczna blokada (podanie atropiny/mekamylaminy) do VTA wywołało wzrost mocy maksymalnej w paśmie 0-3 Hz.

Otrzymane wyniki wskazują, że cholinergiczne pobudzenie i blokada VTA ma znaczący wpływ na elektryczną czynność hipokampa. W warunkach fizjologicznych taka aktywacja najprawdopodobniej pochodzi z cholinergicznym komórek zlokalizowanych w jądrze konarowo-mostowym.

Słowa kluczowe: VTA, *theta*, atropina, karbachol, mekamylamina.

Analiza organelli należących do przedziału endosomalno-lizosomalnego w hodowli linii keratynocytów HaCaT, mimikujących łuszczycowy stan zapalny

**Joanna Pleńkowska¹, Katarzyna Bocheńska¹, Marta Moskot^{1,2},
Magdalena Gabig-Cimińska^{1,2}**

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii i Genetyki Medycznej, Wita Stwosza 59,
80-308 Gdańsk, Polska

²Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Pracownia Biologii Molekularnej w Gdańsku, ul. Kładki 24,
80-822 Gdańsk, Polska

joanna.plenkowska@phdstud.ug.edu.pl

Na łuszczycę cierpi ok. 3% światowej populacji. W związku z tym, że liczba chorych wciąż rośnie, istotne jest poznanie dokładnego mechanizmu molekularnego leżącego u podstaw tej choroby. Łuszczyca charakteryzuje się rozrostem oraz nieprawidłowym różnicowaniem naskórka, a także występowaniem nacieków zapalnych. Możemy wyróżnić 3 formy choroby: łagodną, umiarkowaną oraz ciężką. Leczenie łuszczycy o przebiegu łagodnym i umiarkowanym polega na zastosowaniu terapii miejscowej (kortykosteroidy, analogi witaminy D). Forma ciężka wymaga leczenia wspomagającego w postaci fototerapii lub leków układowych.

W ostatnim czasie coraz częściej zwraca się uwagę na rolę kwaśnych organelli przedziału endosomalno-lizosomalnego w chorobach autoimmunologicznych, czyli także w łuszczycy. Działanie tych struktur komórkowych wciąż jest słabo poznane, podejmowane są jednak próby w celu wyjaśnienia ich powiązań z występowaniem łuszczycy. Prowadzone analizy mogą okazać się przełomem w badaniach nad mechanizmem molekularnym tej choroby.

Celem badań było opracowanie komórkowego modelu *in vitro* mimikującego łuszczycowy stan zapalny oraz oznaczenie ilości kwaśnych organelli przedziału endosomalno-lizosomalnego (tj. późnych endosomów i lizosomów) w prowadzonych hodowlach. Do analiz wykorzystano linię HaCaT (unieśmiertelniona linia komórkowa keratynocytów ludzkich, *ang. Ha = Human adult, Ca = Calcium, T = Temperature*). Hodowlę kontrolną prowadzono w medium zawierającym podwyższone stężenie jonów wapnia (2 mM), aby odzwierciedlić warunki zdrowego, różnicującego się naskórka. W hodowli keratynocytów o fenotypie łuszczycowym, oprócz dodatku cytokin (IL-1 α , IL-17A, IL-22, OSM i TNF α), zastosowano także obniżony poziom jonów wapnia ($\leq 0,1$ mM), w celu zapewnienia warunków zbliżonych do środowiska obecnego w naskórku osób chorych. Odpowiednio w hodowlach analizowano aktywności genów (*IVL*, *LOR*, *S100A7* i *S100A9*) kodujących markery łuszczycowe.

Otrzymane wyniki z zastosowaniem mikroskopii fluorescencyjnej (wykonanej z użyciem markera późnych endosomów i lizosomów – LAMP1), wskazują na podwyższenie liczby kwaśnych organelli w komórkach o fenotypie łuszczycowym, w porównaniu do komórek zdrowych. Lizosomy pełnią istotną funkcję podczas różnicowania naskórka, dlatego przypuszczalnie więcej tych struktur powinniśmy zaobserwować w naskórku osoby zdrowej – z takimi danymi literaturowymi można spotkać się najczęściej. W przypadku przeprowadzonych analiz mamy jednak do czynienia z odmienną sytuacją. Jest to zatem sygnał do przeprowadzenia dalszych badań z wykorzystaniem innych modeli komórkowych (współhodowli komórek; łuszczycowych modeli 3D), jeszcze ściślej odzwierciedlających chorobowo zmienioną tkankę.

Słowa kluczowe: łuszczyca, HaCaT, wapń, cytokiny, lizosomy.

Spektroskopia fluorescencyjna w analizie oddziaływań niesteroidowych leków przeciwzapalnych z albuminą surowicy krwi ludzkiej

Anna Ploch-Jankowska^{1,2}, Danuta Pentak¹, Lidia Szymczak-Mazur¹, Małgorzata Maciążek-Jurczyk¹, Sławomir Wilczyński²

¹*Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec*

²*Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Biomedycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Kasztanowa 3, 41-200 Sosnowiec*

aniaploch@op.pl

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) to grupa leków o właściwościach przeciwzapalnych, przeciwbólowych, przeciwgorączkowych oraz hamujących agregację płytek krwi. Szeroki zakres działania NLPZ oraz możliwość zakupu większości preparatów z tej grupy bez recepty sprawia, że pacjenci chętnie je zażywają. Podstawą mechanizmu działania niesteroidowych leków przeciwzapalnych jest hamowanie aktywności cyklooksygenazy – enzymu biorącego udział w syntezie prostaglandyn z lipidów błon komórkowych.

Celem pracy była spektroskopowa analiza oddziaływania albuminy surowicy krwi ludzkiej (HSA) z niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym - ibuprofenem (IBU).

Albumina surowicy krwi ludzkiej (HSA) jest najważniejszym i najpowszechniej występującym białkiem w osoczu krwi ludzkiej. Składa się z 585 reszt aminokwasowych, które tworzą 9 pętli i 3 domeny. HSA pełni kluczowe funkcje w utrzymaniu homeostazy ustroju. Ponadto wykazuje zdolność do wiązania wielu endo- i egzogennych ligandów, m.in. leków, substancji lekopochodnych i ich metabolitów, kwasów tłuszczowych, kwasów żółciowych, hormonów, barwników, aminokwasów, metali oraz toksycznych metabolitów.

Zastosowanie spektroskopii fluorescencyjnej pozwoliło na zarejestrowanie emisyjnych widm fluorescencji HSA (o stężeniu $5 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³) bez i w obecności ibuprofenu (o stężeniu $1 \cdot 10^{-5}$ ÷ $1 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³) w temperaturze 35°C, 37°C, 39°C, 41°C i pH równym 7.4 oraz 6.5. Fluorescencję układu wzbudzano promieniowaniem o długości fali λ_{ex} 275 nm i λ_{ex} 295 nm.

Uzyskane dane wykazały znaczący wpływ temperatury i pH roztworu albuminy surowicy krwi ludzkiej na siłę i sposób oddziaływania ibuprofenu przez albuminę surowicy krwi ludzkiej.

Praca zrealizowana w ramach umowy o realizację pracy naukowo-badawczej przez doktoranta nr KNW-2-040/D/8/N.

Słowa kluczowe: niesteroidowe leki przeciwzapalne, ibuprofen, albumina surowicy krwi ludzkiej, spektroskopia fluorescencyjna.

Mrokawkowate (Diptera: Nycteribiidae) nietoperzy z rodziny mroczkowatych (Chiroptera, Vespertilionidae) z północnej Polski

Anna Plotka, Joanna N. Izdebska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

a.e.plotka@gmail.com

Mrokawkowate Nycteribiidae to silnie wyspecjalizowane, bezskrzydłe, hematofagiczne muchówki pasożytujące na nietoperzach; są słabo poznane - dotychczas opisano ponad 270 gatunków. Także w Polsce stopień ich poznania jest fragmentaryczny i niewystarczający, przy czym większość danych pochodzi z Dolnego Śląska. Wykazano u nas tylko 9 gatunków, z czego występowanie trzech jest niepewne i wymaga potwierdzenia.

Celem obecnych badań było zatem poznanie fauny Nycteribiidae u mroczkowatych z północnej Polski. Monitoring przeprowadzono w latach 2016–2017, na 11 stanowiskach w obrębie 3 województw, tj. podlaskiego (1 stanowisko), pomorskiego (2 stanowiska), kujawsko-pomorskiego (8 stanowisk). Zbadano łącznie 164 nietoperze z 12 gatunków należących do mroczkowatych, odławiane przy użyciu standardowych metod chiropterologicznych. Stwierdzono 50 muchówek z rodziny mrokawkowatych u 2 gatunków nietoperzy, w tym *Nycteribia kolenatii* (46) i *Penicilidia monoceros* (4). Przy czym *P. monoceros* odnotowano jedynie na nokcu łydkowłosym *Myotis dasycneme*, odłowionym z kolonii rozrodczej w Filipowie (woj. podlaskie), podczas gdy *Nycteribia kolenatii* na nokcu rudym *Myotis daubentonii*. Najwięcej *N. kolenatii* (33) stwierdzono na nokcu rudym w Moście na rzece Orla w Krajeńskim Parku Krajobrazowym (woj. kujawsko-pomorskie).

Słowa kluczowe: Nycteribiidae, mrokawkowate, Chiroptera, mroczkowate.

Właściwości genotoksyczne i proapoptotyczne nowych pochodnych kladrybiny

Anastazja Pocza¹, Aneta Rogalska¹, Małgorzata Łukawska², Agnieszka Marczak¹

¹Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Medycznej, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Polska

²Sieć Badawcza ŁUKASIEWICZ - Instytut Biotechnologii i Antybiotyków- Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej, ul. Starościńska 5, 02-516 Warszawa, Polska

anapocza5@gmail.com

Nowotwory układu krwiotwórczego są obecnie jedną z najczęstszych przyczyn zgonów wśród pacjentów w różnym przedziale wiekowym. Lekiem stosowany w leczeniu nowotworów złośliwych tkanki limfatycznej jest kladrybina. Związek ten jest analogiem nukleozydu purynowego zawierającym w pozycji 2 pierścienia purynowego atom chloru zamiast atomu wodoru. Pomimo skuteczności tego leku, nadal poszukiwane są nowe, chemioterapeutyki o wyższej selektywności i specyficzności działania względem komórek nowotworowych.

Celem badań była ocena właściwości genotoksycznych i proapoptotycznych nowych pochodnych kladrybiny w komórkach ostrej białaczki monocytowej i limfoblastycznej.

Wszystkie badane związki (CLA, CLA-FMOR, CLA-FPIP, CLA-FPIR) zostały zsyntetyzowane w Sieci Badawczej ŁUKASIEWICZ -Instytucie Biotechnologii i Antybiotyków w Warszawie. Zastosowane modyfikacje cząsteczki kladrybiny polegały na zamianie grupy aminowej w pozycji 6 na grupę amidynową. Badania prowadzono na modelu ostrej białaczki monocytowej (THP-1) oraz limfoblastycznej (MOLT-4). Oznaczono cytotoksyczność badanych związków oraz inhibitora kinazy ATR (VE-821) testem XTT. Oceniono zdolność nowych pochodnych kladrybiny do aktywacji kaspazy-3 i -7 za pomocą testu CellEvent™ Caspase-3/7 Green Detection Reagent, następnie przy użyciu zestawu In-Cell ELISA oceniano poziom fosforylowanego białka H2AX. Część badanych prób była preinkubowana z selektywnym inhibitorem kinazy ATR (VE-821).

Wszystkie badane związki wykazywały wysoką cytotoksyczność względem komórek białaczkowych. Zaobserwowano, że inhibitor kinazy ATR zmniejsza cytotoksyczność wszystkich analizowanych związków. Nowe pochodne kladrybiny powodują wzrost aktywności kaspazy-3 i -7. W komórkach linii MOLT-4 wzrost tej proteazy cysteinowej nastąpił po inkubacji z pochodną CLA-FMOR, natomiast w przypadku komórek linii THP-1 po inkubacji z pochodną CLA-FMOR oraz CLA-FPIR. Badane związki powodowały wzrost poziomu γ H2AX, markera podwójnych pęknięć DNA.

Nowe pochodne kladrybiny charakteryzowały się zwiększoną aktywnością cytotoksyczną w porównaniu z macierzystym lekiem wykazując właściwości genotoksyczne i proapoptotyczne.

Słowa kluczowe: apoptoza, genotoksyczność, kinaza ATR, kladrybina.

Role of the DsbA protein in the virulence process of *Dickeya solani*, a serious potato pathogen

Tomasz Przepióra, Donata Figaj, Joanna Skórko-Głonek

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej,
Pracownia Biochemii Białek i Kwasów Nukleinowych, Gdańsk, ul. Wita Stwosza 59*

tomasz.przepiora@phdstud.ug.edu.pl

Dickeya solani is a pectinolytic bacterium that infects potatoes, as well as several species of vegetables and ornamentals. It causes serious losses in potato crops in Europe, Israel, and Turkey. The effect of *D. solani* infection is black leg (rotting stems) and wet rot of tubers. The infection spreads mainly via contaminated agricultural tools, but also during vegetation from plant to plant - the bacterium is motile and able to survive for a short time outside of the host in soil and water. For efficient infection, *D. solani* secretes several virulence factors, for example plant cell wall degrading enzymes (PSWDE) (pectinases, cellulases, and proteases) and siderophores (to supply bacterial cell with iron ions).

DsbA protein is the disulfide oxidoreductase responsible for introduction of disulfide bonds in the periplasmic, membrane or exported proteins. The S-S bonds are crucial for proper folding of numerous proteins, including virulence factors and a lack of the functional Dsb system may lead to attenuation. Frequently observed phenotype of the *dsbA* mutants is decreased motility.

The role of DsbA has not been studied in *D. solani*, yet. To expand our knowledge in this field, we performed a set of experiments to learn how a lack of DsbA affects activity of secreted virulence factors, such as cellulases, pectinases, proteases, siderophores. We have also checked motility of the *dsbA* mutant strain. We found significant differences in activities of PSWDE between *D. solani dsbA::cm* mutant and the wild type parental strains. Also, the production of siderophores and the ability to swim were impaired in the *dsbA* strain. The observed deficiency in production of active virulence factors by the mutant bacteria correlated well with their reduced ability to infect plant tissues.

The research was supported by the grant NCN OPUS-7 UMO-2014/13/B/ NZ9/02021.

Keywords: *Dickeya solani*, DsbA, wet rot, potato pathogen.

Wpływ czynników stresogennych na poziom polifenoli w ziarnie pszenicy uprawianej w Polsce w latach 2016-2018

Anna Przybylska-Balcerek

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Technologii DREWNA, Katedra Chemii

ania_przybylska18@wp.pl

Zboża drobnoziarniste podczas wegetacji narażone są m.in. na występowanie tzw. abiotycznych (zmienne warunki atmosferyczne, nieprzewidywalna temperatura powietrza, długotrwałe susze, nagłe ulewy, niewłaściwe nawożenie) i biotycznych czynników stresogennych (patogenne mikroorganizmy), przyczyniających się do nasilenia skutków stresu oksydacyjnego. Komórki roślinne narażone są na degradację na skutek obecności wolnych rodników. Wówczas uruchamiane są mechanizmy obronne i produkowane przeciwutleniacze wychwytyjące wolne rodniki. Wśród związków hamujących reakcje wolnorodnikowe znajdują się m.in: kwasy fenolowe (galusowy, 2,5-hydroksybenzoesowy, 4-hydroksybenzoesowy, kawowy, wanilinowy, p-kumarowy, syryngowy, chlorogenowy, protokatechowy oraz ferulowy) i flawonoidy (naringenina, witeksyna, rutyna, kwercetyna, apigenina, kampferol oraz luteolina). Stężenie związków przeciwutleniających występujących w zbożach, zależy przede wszystkim od gatunku, odmiany, czynników środowiskowych oraz działania patogenów chorobotwórczych.

W ramach niniejszej pracy podjęto badania nad wyznaczeniem profilu ilościowego i jakościowego wybranych związków bioaktywnych w ziarnie pszenicy uprawianej w latach 2016-2018.

Materiał do badań stanowiło 150 prób ziarna pszenicy uprawianej w latach 2016-2018 w Polsce.

Analizę jakościową i ilościową związków biologicznie czynnych przeprowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu ciekowego z detektorem absorbcyjometrycznym (UPLC-PDA).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że ziarno pszenicy uprawianej w Polsce jest bogatym źródłem związków bioaktywnych. Stężenie antyoksydantów zależy przede wszystkim od czynników środowiskowych – panujących warunków atmosferycznych w okresie kiełkowania, wzrostu i dojrzewania rośliny (wysokości opadów, temperatury powietrza) a także aktywności patogennych mikroorganizmów.

Słowa kluczowe: ziarno pszenicy, przeciwutleniacze, polifenole

Związki bioaktywne obecne w ziarnie zbóż drobnoziarnistych

Anna Przybylska-Balcerek

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Technologii DREWNA, Katedra Chemii

ania_przybylska18@wp.pl

W Polsce najczęściej uprawianymi zbożami są m.in. pszenica, jęczmień, żyto oraz owies. Wysokość plonów uzależniona jest od kilku istotnych czynników tj. cechy gatunkowe i odmianowe oraz czynniki abiotyczne i biotyczne, przyczyniające się do wywołania reakcji stresowych w komórce roślinnej, a tym samym nasilenia objawów chorób grzybowych, bakteryjnych oraz wirusowych. W wyniku stresu oksydacyjnego, uruchomione zostają systemy obronne, wśród nich proces antyoksydacji, polegający na biosyntezie związków wychwytyjących wolne rodniki. Ziarno zbóż drobnoziarnistych uprawianych w Polsce jest bogatym źródłem związków biologicznie aktywnych. Związki te w zależności od ich struktury chemicznej wykazują różną aktywność przeciwutleniającą, a co za tym idzie działają przeciwdrobnoustrojowo na roślinę w której komórkach są produkowane, ale również wykazują właściwości prozdrowotne dla konsumenta. Do najważniejszych związków bioaktywnych w ziarnie zbóż należą polifenole. Wykazują one działanie przeciwutleniające i przeciwdrobnoustrojowe, stanowiące naturalną formę obrony przed patogenami.

Celem pracy było przedstawienie właściwości fizykochemicznych wybranych przeciwutleniaczy oraz ich zawartość w ziarnie zbóż drobnoziarnistych.

Materiałem badanym było ziarno: pszenicy, pszenżyta, żyta, owsa i jęczmienia.

Analizę jakościową i ilościową związków biologicznie czynnych przeprowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu ciekłego z detektorem absorbcyjometrycznym (UPLC-PDA).

W wyniku przeprowadzonych badań scharakteryzowano związki fenolowe, w tym fenolokwasy i flawonoidy a także fitosterole. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że wśród analizowanych związków bioaktywnych zawartość kwasu 2,5-hydroksybenzoesowego, ferulowego, p-kumarowego, synapowego, syringowego oraz witeksyny będącej flawonoidem różnicowała badane gatunki zbóż w sposób istotny. Dominującym pod względem ilości fenolokwasem w każdej próbie był kwas ferulowy. W przypadku flawonoidów stwierdzono najwyższe stężenie naringeniny w ziarnie jęczmienia jarego, natomiast witeksyny w przypadku analizy pozostałych gatunków zbóż.

Słowa kluczowe: polifenole, kwasy fenolowe, flawonoidy, ziarno zbóż, przeciwutleniacze.

Zróżnicowane struktury morfologiczne w diagnostyce ochotkowatych (Diptera: Chironomidae)

Mateusz Puchalski

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii
Pracownia Zoologii Systematycznej, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk*

mateusz.puchalski@phdstud.ug.edu.pl

Ochotkowate (Chironomidae) to największa rodzina owadów wodnych, włączająca ponad 7 500 nazw gatunkowych w ponad 550 rodzajach. Na świecie corocznie opisuje się około 100 gatunków Chironomidae nieznanymi nauce, włączając w to gatunki fosylne oraz współczesne. Dynamiczny rozwój wiedzy o tych muchówkach skutkuje doskonaleniem koncepcji ich relacji filogenetycznych i podziału systematycznego. Mimo coraz bardziej powszechnego stosowania metod molekularnych podstawą do określenia pozycji taksonomicznej w dalszym ciągu pozostaje analiza kladystyczna wszystkich stadiów rozwojowych, głównie dorosłych samców oparta na morfologii lub metodach zintegrowanych.

Cechy diagnostyczne stanowią struktury morfologiczne różnych części ciała i są wyrażane kształtem, barwą, mogą również przyjmować wartości liczbowe – metryczne i merystyczne. Strukturami/cechami o największym znaczeniu w diagnozowaniu i klasyfikowaniu taksonów wśród Chironomidae, są:

- barwa ciała – od czarnej, przez brązową, żółtą do zielonej
- głowa – kształt oczu i brodawek czołowych, liczba szczecin nadustka, długość i proporcje poszczególnych członów głaszczki szczękowego i czułka
- skrzydło – kształt, wzór użyłkowania i chetotaksja
- tułów – chetotaksja
- nogi – długość i proporcje poszczególnych członów, uzbrojenie goleni
- hypopygium (aparat genitalny) – liczba i kształt poszczególnych przydatków (wolselli) oraz innych struktur współtworzących aparat

W niniejszej pracy zaprezentowano zróżnicowanie struktur diagnostycznych na przykładzie taksonów z różnych podrodzin Chironomidae.

Słowa kluczowe: Chironomidae, taksonomia, morfologia, diagnostyka.

Oznaczanie zawartości krzemu we włosach metodą ICP-OES

Paulina Putko, Mirosław Kwaśny

Wojskowa Akademia Techniczna, Instytut Optoelektroniki, ul. Gen. Sylwestra Kaliskiego 2, 00-908 Warszawa

paulina.putko@wat.edu.pl

Krzem jest jednym z najważniejszych mikroelementów w ludzkim organizmie. Jego zawartość wynosi od 6 do 7g i spada wraz z wiekiem. Największa jego koncentracja znajduje się w ścianach naczyń krwionośnych, ścięgnach, nerkach, skórze, włosach oraz paznokciach. Jest niezbędnym pierwiastkiem do prawidłowego rozwoju organizmu, procesu regeneracji, a także utrzymania równowagi gospodarki mineralnej. Krzem zapobiega absorpcji glinu w przewodzie pokarmowym, a także ułatwia jego wydalanie z moczem. Jest to o tyle ważne, gdyż akumulacja tego metalu w organizmie może być jedną z przyczyn m.in. choroby Alzheimera i stwardnienia rozsianego.

Atomowa spektroskopia emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie (ICP-AES) pozwala na jednoczesne oznaczenie wielu pierwiastków nawet przy małych ilościach. Metoda analizy ilościowej opiera się na założeniu liniowej zależności pomiędzy natężeniem linii emisyjnej, a stężeniem danego pierwiastka w badanym materiale.

Do badań pobrano po ok. 0,2 g niepoddanych zabiegom stylizacyjnym włosów od osób w wieku od 20 do 80 lat. W rezultacie oznaczenia krzemu we włosach badanych zauważono, że najwyższe średnie stężenie oznaczanego biopierwiastka występuje u osób w grupie 20-30 lat (41,1 µg/g), a najmniejsze w grupie 61-80 lat (24,6 µg/g). Badania potwierdziły spadek zawartości krzemu wraz z wiekiem, a największy spadek obserwowany jest po 40 roku życia. Oszacowano również średnią zawartość krzemu w organizmie ludzkim, która wyniosła 33,8 µg/g.

Słowa kluczowe: krzem, pierwiastek śladowy, spektroskopia, ICP-OES.

Zróżnicowanie fotobiontów u porostów z rodzaju *Lepraria* w różnych warunkach środowiskowych – wstępne wyniki

Małgorzata Pyrcha, Martin Kukwa, Beata Guzow-Krzemińska

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

malgorzata.pyrcha@phdstud.ug.edu.pl

Porosty z rodzaju *Lepraria* są zawsze sterylne i występują prawie na wszystkich typach podłoża, a niektóre gatunki mają szeroką amplitudę siedliskową. Zdolność pewnych mykobiontów do występowania w tak szerokich amplitudach ekologicznych spowodowana jest zdolnością niektórych gatunków do tworzenia symbiozy z szeregiem parterów fotosyntezujących zwiększających potencjał adaptacyjny. Fotobiontem u rodzaju *Lepraria* są zielenice z rodzaju *Asterochloris*.

Niewiele jest prac dotyczących fotobionta u *Lepraria*. Badania odnoszące się do partnera fotosyntetycznego u tego rodzaju prowadzone były jedynie przez Nelsena i Gargas w 2007 oraz Pekse i Skalouda w 2011 roku, jednak brakuje danych o zmienności fotobiontów w różnych siedliskach. W związku ze słabym stopniem zbadania zróżnicowania fotobiontów u rodzaju *Lepraria*, konieczne jest przeprowadzenie takich badań z wykorzystaniem technik molekularnych.

Celem projektu jest zbadanie różnorodności fotobiontów sterylnych porostów skorupiastych z rodzaju *Lepraria*, występujących w różnych środowiskach, a także analiza filogenetyczna fotobiontów w oparciu o markery molekularne. Ponadto celem projektu jest zbadanie relacji pomiędzy fotobiontami u gatunków *Lepraria* a warunkami środowiskowymi, a także zbadanie czy różne gatunki porostów z rodzaju *Lepraria* w tych samych siedliskach posiadają ten sam fotobionta i czy potencjalnie może dochodzić do wymiany poziomej pomiędzy gatunkami.

Materiał badawczy stanowią okazy *Lepraria* zebrane z różnych regionów Polski. Opis struktur morfologicznych został przeprowadzony w oparciu o badania pod mikroskopem stereoskopowym. Skład wtórnych metabolitów porostowych sprawdzony został przy użyciu chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Pierwszym etapem analizy molekularnej była izolacja genomowego DNA metodą CTAB. Następnie przeprowadzona została amplifikacja DNA metodą PCR. W reakcji tej użyto następujących odcinków starterowych: nrSSU-1780-5 oraz ITS4. Kolejnym etapem badań było sekwencjonowanie DNA. Następnie otrzymane sekwencje zostały odczytane i uporządkowane. Ostatnim krokiem było stworzenie drzewa filogenetycznego (MrBayes) oraz sieci haplotypów w programie PopArt.

Stwierdzono dużą różnorodność fotobiontów u porostów z rodzaju *Lepraria*. Wykazano, że jeden gatunek porostu może łączyć się z różnymi fotobiontami. Zauważono, że *L. finkii* wykazuje dużą specyficzność w stosunku do fotobionta. Odnotowano, że okazy z Sycylii grupują się w jednym kładzie, z *Asterochloris mediterranea*.

Słowa kluczowe: *Lepraria*, *Asterochloris*, fotobiont, DNA.

Ocena struktury gleby poziomów podornych w warunkach terenowych (na przykładzie kateny erozyjnej obszaru młodoglacjalnego)

Hanna Radziuk, Marcin Świtoniak

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Nauk o Ziemi, Katedra Gleboznawstwa i Kształtowania Krajobrazu,
Lwowska, 1, 87-100 Toruń*

anka.radziuk@gmail.com

Obszary młodoglacjalne północnej części Polski charakteryzują się znaczną różnorodnością gleb wynikającą w znacznej mierze z przekształceń erozyjnych pokrywy glebowej. Szczególnie podatne na wpływ procesów stokowych są wysoczyzny morenowe faliste i pagórkowate gdzie powstanie kompleksu gleb zerodowanych i deluwialnych związane jest zarówno z przyczynami naturalnymi (intensywna rzeźba terenu, znaczna ilość opadów) jak i antropogenicznymi (wysoki stopień rolniczego użytkowania gleb).

Celem badania struktury materiału glebowego poziomów podornych w warunkach terenowych było określenie jej jakości pod kątem możliwości rozwoju mikroorganizmów i warunków rozwoju roślin. Obszar badań znajduje się w powiecie Wąbrzeźno, gmina Ryńsk. Ocena struktury gleby prowadzona była zgodnie z metodyką B.C. Balla (2015). Metodyka przewiduje ocenę poziomu podornego w skali od 1 do 5 (gdzie 1 jest wskaźnikiem najbardziej korzystnych warunków, a 5 – najbardziej niekorzystnych). Przy ocenie tej brano pod uwagę kilka parametrów: oglejenie, zwięźłość, porowatość, korzenie, wielkość i kształt agregatów (ich zewnętrzną formę).

Badania terenowe przeprowadzono wzdłuż 4 katen erozyjnych, w miejscach reprezentujących gleby: 1) słabo ukształtowaną erozyjną (z przeorywaną skałą macierzystą), 2) płową zerodowaną (z ekshumowanym poziomem Bt), 3) płową z materiałem deluwialnym w poziomie próchnicznym, 4) deluwialną próchniczną. Zwięźłość gleby we wszystkich wypadkach w poziomie podornym osiągała wartości krytyczne (do 4, a nawet 5 zgodnie ze skałą). Związana ze zwięźłością porowatość była najwyższa w glebie płowej z materiałem deluwialnym w poziomie próchnicznym (3-4). Natomiast w glebach z wysoką zawartością próchnicy (deluwialna próchniczna) w poziomie podornym wyraźnie widoczne były pojedyncze duże pory (o średnicy 2-3 mm) i odchody dżdżownicy, czego nie obserwowano w wypadkach gleb zerodowanych. Ogólną cechą struktury gleby poziomu podornego na terenie badań jest dominacja subangulanej i angulanej średnio trwałej struktury. Gleba płowa zerodowana natomiast najczęściej miała strukturę angularną mocno trwałą.

Wyniki wstępnych badań terenowych gleb wysoczyzn morenowych obszaru młodoglacjalnego pokazują znaczny stopień degradacji struktury poziomu podornego z ogólnymi niekorzystnymi warunkami zrostu roślin.

Słowa kluczowe: gleby, struktura gleby, agregaty, podorny poziom, badania terenowe.

Ball B.C., Batey T., Munkholm L.J., Guimarães R.M.L., Boizard H., McKenzie D.C., Peigné J., Tormena C.A., Hargreaves P. The numeric visual evaluation of subsoil structure (SubVESS) under agricultural production / Soil & Tillage Research 148 (2015) 85–96.

Porównanie właściwości wybranych biosurfaktantów i surfaktantów klasycznych

Edyta Rekiel

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Plac Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

edyta.rekiel@poczta.umcs.lublin.pl

Związki powierzchniowo czynne towarzyszą człowiekowi właściwie w każdym aspekcie życia. Ich duże ilości wykorzystuje się między innymi w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, farmaceutycznym oraz tekstylnym. Charakterystyczną cechą wszystkich surfaktantów jest ich zdolność do adsorpcji i odpowiedniej orientacji na różnych granicach faz. Aby wykazać takie właściwości, surfaktant musi posiadać odpowiednią budowę, którą określa się jako amfifilową – posiada w swojej cząsteczce hydrofilową „głowę” i hydrofobowy „ogon”. Niektóre surfaktanty występują naturalnie w przyrodzie. Produkowane są one przez różnego rodzaju szczepy bakterii, komórki drożdży oraz pleśnie. Związki takie nazywane są biosurfaktantami i stanowią alternatywę dla surfaktantów syntetycznych.

Kolejną ważną cechą każdego związku powierzchniowo czynnego (zarówno syntetycznego jako i naturalnego) są właściwości samoorganizujące – monomery danego związku przy stężeniu zwanym krytycznym stężeniem micelizacji (CMC) tworzą agregaty nazywane micelami. Obecność micel odgrywa ważną rolę w takich procesach jak solubilizacja substancji trudno rozpuszczalnych, detergencja czy kataliza micelarna. Mogą one również wpływać na lepkość danego medium [1].

Obecnie, w dobie zielonej chemii i świadomości proekologicznej, przychylniej patrzy się na zastosowanie biodegradowalnych i biokompatybilnych biosurfaktantów oraz zastępowanie przez nie surfaktantów klasycznych [2]. Stąd też interesującym wydaje się porównanie właściwości wybranych klasycznych surfaktantów syntetycznych powszechnie stosowanych zarówno w procesach przemysłowych jak i życiu codziennym z właściwościami surfaktantów pochodzenia drobnoustrojowego ze szczególnym uwzględnieniem micelizacji, adsorpcji oraz zwilżalności.

Słowa kluczowe: micelizacja, surfaktanty, biosurfaktanty, napięcie powierzchniowe.

[1] Bergh M, Allergenic oxidation products in ethoxylated non-ionic surfactants. Chemical characterization and studies on allergenic activity and physicochemical behavior, Acta Derm Venereol Suppl (Stockh), 1999, 205: 1-26.

[2] Michocka K, Otrzymywanie i właściwości użytkowe nowych surfaktantów z ugrupowaniem cukrowym, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Poznań, 2012.

Rola wyspecjalizowanego białka kontrolującego w regulacji ekspresji systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego Csp231I z *Citrobacter* sp.

Monika Rezulak, Iwona Mruk

Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59

monika.rezulak@phdstud.ug.edu.pl

Systemy restrykcyjno-modyfikacyjne (R-M) są niezwykle powszechne wśród *Bacteria* i *Archaea*. Ich częste występowanie na mobilnych elementach genetycznych takich jak plazmidy, transpozony przyczynia się do ich rozprzestrzeniania się pomiędzy bakteriami poprzez horyzontalny transfer genów. Główną funkcją systemów R-M jest ochrona komórki gospodarza przed infekcją inwazyjnym DNA np. bakteriofagowym.

Systemy R-M typu II składają się z dwóch niezależnych aktywności enzymatycznych: endonukleazy restrykcyjnej (R) oraz metylotransferazy DNA (M). Oba enzymy rozpoznają identyczną, palindromową 6 nukleotydową, specyficzną sekwencję DNA, w której endonukleaza restrykcyjna dokonuje cięcia, zaś metylotransferaza modyfikacji chroniącej przed działaniem pokrewnej endonukleazy.

Powszechna mobilność systemów R-M pomimo swojego toksycznego charakteru, świadczy o występowaniu skomplikowanych mechanizmów kontroli ekspresji ich genów. Zrównoważenie aktywności enzymatycznych metylotransferazy (antytoksyna) i endonukleazy restrykcyjnej (toksyna) jest kluczowa dla komórki bakteryjnej, gdyż konsekwencją nieprawidłowej regulacji genów systemu R-M jest śmierć gospodarza.

Celem moich badań jest poznanie i zrozumienie mechanizmów regulujących ekspresję genów systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego Csp231I oraz ich wpływ na funkcję ochronną wobec komórek gospodarza. W systemie R-M Csp231I zaobserwowano skomplikowaną sieć sprzężeń zwrotnych z udziałem wyspecjalizowanego białka regulatorowego C, które należy do nowej niebadanej szerzej rodziny białek regulatorowych. Ekspresja toksycznej endonukleazy restrykcyjnej kontrolowana jest zarówno przez białko C, jak i oddzielny promotor genu, co jest niestandardowe w dotąd badanych systemach z białkiem C, ponadto białko C wykazuje pośredni wpływ na produkcję antytoksyny. Zaobserwowano również w obrębie systemu Csp231I, dodatkowe regiony genetyczne w postaci antysensownych promotorów, które mogą wpływać na zachowanie równowagi ekspresji wszystkich genów systemu Csp231I.

Badania tego typu mogą przyczyniać się do poszerzenia wiedzy na temat ogólnych mechanizmów kontrolowania ekspresji toksycznych genów, interakcji molekularnych pomiędzy czynnikami regulatorowymi i antysensownym RNA, a także mogą stanowić bazę wyjściową do dalszych badań nad procesami wpływającymi na regulację genów związaną np. z czynnikami wirulencji u bakterii patogennych.

Słowa kluczowe: system restrykcyjno-modyfikacyjny, białko regulatorowe C, system R-M Csp231I.

Nowosyntezowane pochodne glifosatu, jako alternatywa dla współczesnych środków ochrony roślin

Diana Rogacz, Piotr Rychter, Kamila Lewicka, Jarosław Lewkowski, Dariusz Cał

Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie, Al. Armii Krajowej 13/15,
42-200 Częstochowa.

diana.rogacz@ajd.czyst.pl

Aktualnie rosnące zapotrzebowanie na produkty rolne o wysokiej jakości, wymusza stosowanie różnych agrochemikaliów, często działających szkodliwie na środowisko naturalne. Przykładem substancji, powszechnie stosowanej w herbicydach jest *N*-fosfonometyloglicyna. Związek ten, znany jako glifosat to składnik czynny większości nieselektywnych, stosowanych na świecie środków ochrony roślin. Nadmierne jego zużycie i ostatnie doniesienia o szkodliwości w stosunku do środowiska i organizmów żywych oraz niepewne miejsce na liście dostępnych handlowo środków ochrony roślin przyczyniły się do badań w tym temacie.

W związku z tym, głównym celem prowadzonych badań była synteza nowych arylo- oraz heteroarylopochodnych glifosatu z różnie podstawionymi ugrupowaniami na drodze reakcji aza-Pudovika z koniecznymi modyfikacjami i wstępna ocena ich ekotoksycznego wpływu na poszczególne etapy sieci troficznej.

Testy ekotoksykologiczne powstałych aminofosfonianów, obejmowały badania fitotoksyczności z wykorzystaniem dwóch gatunków roślin: jednoliściennego owsa zwyczajnego i dwuliścienną rzodkiewkę- gdzie substancje podawano dogłębowo. Oceniono także wpływ badanych związków na chwasty: komosę białą i żóltlicę drobnokwiatową - aminofosfoniany podano jako oprysk dolistny. Do badań ekotoksykologicznych wykorzystano również: analizator Microtox i test Ostracodtoxkit. Aspekt ekotoksykologiczny uwzględnił wszystkie etapy sieci troficznej: producentami były użyte rośliny, konsumentami- skorupiaki *Heterocypris incroguens* (test Ostracodtoxkit), a destruentami- bakterie morskie *Aliivibrio fischeri* (Microtox).

Na podstawie wstępnych badań stwierdzono, że niektóre pochodne glifosatu charakteryzuje wysoka selektywność w stosunku do roślin dwuliściennych, a zarazem niższa toksyczność w stosunku do użytych w toku badań skorupiaków i bakterii luminescencyjnych, wskazując na potencjalną możliwość zastosowania tych pochodnych jako herbicydów, bez negatywnego wpływu na środowisko.

Praca finansowana przez NCN (2017/27/N/NZ9/02221).

Słowa kluczowe: *N*-fosfonometyloglicyna, fitotoksyczność, Microtox, Ostracodtoxkit.

Biomarkery odrzucania przeszczepu nerki

**Karolina Rogulska¹, Konrad Grzeszczak², Patrycja Kapczuk³,
Iwona Wojciechowska-Kosko¹, Barbara Dołęgowska¹**

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

³ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biochemii, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

karolina.rogulska@pum.edu.pl

W ciągu ostatnich lat prężnie rozwijającą się gałęzią medycyny jest transplantologia. Z roku na rok zwiększa się liczba przeszczepianych narządów w skali globalnej. Podobny trend można zaobserwować w przypadku przeszczepów nerki. Dzięki tym zabiegom komfort życia wielu ludzi uległ znacznej poprawie ze względu na brak konieczności wykonywania dializ po otrzymaniu narządu. W procesie transplantacji nerek, przeszczep allogeniczny jest częstym czynnikiem wyzwalającym mechanizmy odpornościowe. Są one spowodowane różnicami genetycznymi występującymi między biorcą a dawcą w układzie zgodności tkankowej HLA, kiedy to komórki układu odpornościowego biorecy rozpoznają antygeny dawcy jako obce i uruchamiają proces mający na celu ich zniszczenie. Typy odrzucania graftu podzielone są w zależności od czasu, w jakim pojawiła się niewydolność narządu. Wyróżnia się odrzucanie nadostre, ostre przyspieszone, ostre i przewlekłe.

Mechanizm odrzucania narządów jest jednym z największych problemów współczesnej transplantologii. Sięga on blisko 50% przeszczepów allogenicznych nerek. Dla oceny procesu odrzucania przeszczepionej nerki „złotym standardem” pozostaje biopsja tego narządu. Ze względu na dużą inwazyjność tego zabiegu poszukuje się alternatywnych metod diagnozowania. Najczęściej badanym wskaźnikiem do oceny funkcji nerek jest kreatynina, która w przypadku alloprzeszczepu nie jest wystarczająco czuła i specyficzna. Obecnie podejmuje się próby minimalizowania liczby odrzuconych przeszczepów nerki poprzez monitorowanie przeciwciał anty-HLA, a także szeregu innych markerów, których pojawienie się zwiastuje zapoczątkowanie tego negatywnego procesu. Obecnie najlepiej poznanymi markerami są NGAL oraz IP-10. NGAL to białko, którego ilość rośnie w przypadku uszkodzenia nerki. Natomiast IP-10 to chemokina będąca mediatorem stanu zapalnego, która jest produkowana w ostrym odrzucaniu. Badacze odnotowali istotny wzrost stężenia NGAL oraz IP-10 w pierwszym dniu po przeszczepie wśród pacjentów, u których nastąpiło odrzucenie narządu w ciągu miesiąca. Obecnie w trakcie analizy biomarkerów próbuje także powiązać się ich występowanie z występowaniem konkretnego typu odrzucania przeszczepu. Przykładem jest osteopontyna – cytokina prozapalna. Wykazano, że ocena stężenia tego biomarkera w płynach ustrojowych, szczególnie w osoczu pozwala przewidzieć ostre odrzucanie komórkowe i ocenić jego ciężkość. Wyniki badań diagnostycznych pokrywały się ze zmianami widocznymi w obrazie biopsji pobranej w tym samym czasie. Podobną zależność stwierdzono dla chemokiny CXCL10.

Wśród badaczy na całym świecie wciąż trwają poszukiwania jak najbardziej swoistych i czułych markerów odrzucania przeszczepu nerki. Dzięki nim, w znacznym stopniu zostanie skrócony czas diagnostyki odrzutu, co pozwoli na szybsze zareagowanie i zapobiegnięcie ewentualnym skutkom tego mechanizmu.

Słowa kluczowe: biomarker, przeszczep allogeniczny, NGAL, IP-10, osteopontyna.

Borelioza – problem nadal aktualny

**Karolina Rogulska¹, Justyna Działik¹, Konrad Grzeszczak²,
Iwona Wojciechowska-Koszek¹, Barbara Dołęgowska¹**

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

karolina.rogulska@pum.edu.pl

Borelioza jest wielonarządową chorobą, której czynnikiem etiologicznym jest krętek należący do rodzaju *Borrelia*. Na obszarze europejskim zakażenie wywołują głównie genogatunki tj.: *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricte* i *B. afzelii*. Rezerwuarem krętków *Borrelia* jest zwierzyna łowna oraz zwierzęta domowe. Przenoszą je kleszcze, w Polsce głównie *Ixodes ricinus*. U człowieka, który jest przypadkowym żywicielem kleszczy do infekcji dochodzi poprzez jego ukłucie - krętki obecne są w jego ślinie. Każda z trzech form rozwojowych kleszcza: larwa, nimfa oraz postać dorosła może być odpowiedzialna za zakażenie. Prawdopodobieństwo zakażenia jest tym większe, im dłużej kleszcz jest przytwierdzony do skóry. W Polsce w roku 2018 na boreliozę zachorowało ponad 20 tysięcy osób. Najwięcej w województwie małopolskim, a najmniej w kujawsko – pomorskim. Hospitalizacji wymagało 2120 osób, co stanowiło 10,5% wszystkich zachorowań. Wzrost zachorowań obserwuje się zwłaszcza w okresie kwiecień-maj oraz wrzesień-październik, choć w ciągu ostatnich kilku lat ze względu na łagodne zimy narażenie na ukłucie przez kleszcza występuje przez cały rok. Borelioza stanowi duży problem epidemiologiczny, ponieważ z roku na rok rośnie liczba osób chorych. Borelioza jest chorobą postępującą, w której wyodrębnia się trzy stadia. Dwa pierwsze stadia: okres wczesny zlokalizowany oraz rozsiany rozwijają się od kilku dni do kilku miesięcy od momentu zakażenia. Okres trzeci określany jest jako późna faza choroby. U pacjentów może wystąpić tylko jedno stadium lub mogą się one na siebie nakładać. W pierwszym stadium objawem charakterystycznym tzw. rumień wędrujący – *Erythema migrans*. W drugim etapie choroby może dojść do wystąpienia objawów ze strony układu nerwowego i układu krążenia. W późnym okresie choroby u części chorych występuje zapalenie stawów, które dotyczy najczęściej stawów kolanowych i ma charakter nawracający. Charakterystyczne są też zmiany dotyczące skóry – przewlekłe zanikowe zapalenie skóry. Wielopostaciowość boreliozy bardzo często przyczynia się do występowania trudności w jej prawidłowym rozpoznaniu. Zapobieganie boreliozie opiera się na stosowaniu nieswoistych metod ochrony przed kleszczami podczas przebywania w miejscu ich występowania. Kleszcz, który żeruje w skórze może być słabo widoczny, co powoduje, że może pozostać długo niezauważony. Jeśli dojdzie do stwierdzenia obecności kleszcza w skórze należy nie tylko szybko, ale co najważniejsze prawidłowo usunąć kleszcza. Wprowadzenie do skóry bakterii *B. burgdorferi* następuje co najmniej po 24 godzinach żerowania, więc wczesne jego wyjęcie zapobiega zakażeniu. Profilaktyka czynna boreliozy nie jest aktualnie dostępna. W wyjątkowych sytuacjach można zastosować profilaktykę poekspozycyjną, polegającą na podaniu jednorazowej dawki doksycykliny.

Borelioza wciąż pozostaje groźną chorobą zakaźną, która sprawia duże problemy diagnostyczne ze względu na szereg różnych objawów. Ze względu na brak szczepionki należy stosować odpowiednie środki ochrony osobistej celem uniknięcia ukłucia przez kleszcza, będącego wektorem groźnych krętków *Borrelia*.

Słowa kluczowe: borelioza, kleszcze, rumień wędrujący, *Borrelia burgdorferi*.

Diagnostyka boreliozy – przegląd metod diagnostycznych

**Karolina Rogulska¹, Justyna Działik¹, Konrad Grzeszczak²,
Iwona Wojciechowska-Kosko¹, Barbara Dołęgowska¹**

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

karolina.rogulska@pum.edu.pl

Choroba z Lyme (LD) to zakaźna choroba bakteryjna. LD jest wielonarządową chorobą. Czynnikiem etiologicznym jest krętek należący do rodzaju *Borrelia*, którego przenosicielem są kleszcze z rodzaju *Ixodes*. Diagnostyka boreliozy z Lyme powinna być oparta na objawach klinicznych oraz na ocenie narażenia na ukłucie kleszcza. Jest to bardzo trudne, zwłaszcza wtedy, gdy nie stwierdza się rumienia wędrującego (EM) bądź w wywiadzie lekarskim brak jest informacji o ukąszeniu przez kleszcza.

W diagnostyce LD można zastosować hodowlę komórkową, metody genetyczne z wykorzystaniem PCR oraz testy serologiczne. Hodowla krętków *in vitro* jest metodą czasochłonną, ponieważ krętki rosną bardzo wolno. Czulość hodowli jest najwyższa dla biopłatów. Ten rodzaj metody jest złotym standardem mikrobiologicznym jednak nie ma on zastosowania w rutynowej diagnostyce. Metody genetyczne, które opierają się na klasycznej, jakościowej reakcji PCR wykrywają jedynie materiał genetyczny krętków. Nie dają to informacji o aktywności zakażenia, ponieważ wynik może być dodatni zarówno przy żywych jak i martwych krętkach. Uzyskuje się więc tylko informacje czy zakażenie miało miejsce. Obecnie diagnostyką z wyboru jest diagnostyka serologiczna, która bazuje na poszukiwaniu swoistych przeciwciał w klasach IgM oraz IgG w surowicy krwi i w płynie mózgowo – rdzeniowym (PMR). Rozpoznanie każdej postaci klinicznej LD (za wyjątkiem EM) wymaga dwuetapowego protokołu diagnostycznego, składającego się z testu przesiewowego oraz testu potwierdzenia. Oprócz wyżej opisanych metod diagnostyki boreliozy występują także nowe metody, które nie są stosowane w diagnostyce rutynowej. Test LTT borelioza jest testem, który polega na ocenie obecności pobudzonych limfocytów T. Ocenia się w nim *in vitro* odpowiedź limfocytów na antygeny krętkowe. Test LUAT pozwala na wykrycie antygenów krętka w moczu. Zasada tego testu opiera się na konkurencyjnym wiązaniu antygeny z moczu ze specyficznymi, wyznakowanymi przeciwciałami. Test C6 Lyme jest badaniem, które w swojej metodzie wykorzystuje syntetyczny peptyd reprezentujący najważniejsze fragmenty białka krętkowego VlsE odpowiedzialne za produkcję przeciwciał, szczególnie w klasie IgG. Test KKI jest testem, który opiera się na rozbiciu krążących kompleksów immunologicznych – przeciwciał IgM i IgG, które związane są z antygenem bakteryjnym. W surowicy izoluje się a następnie rozbija się krążące kompleksy immunologiczne. Uwolnione przeciwciała oznaczają się metodami serologicznymi. Test Optiplex *Borrelia* jest nowym półilościowym testem, który wykrywa przeciwciała klasy IgM i IgG w surowicy krwi oraz w PMR. Posiada on zestaw antygenów, który składa się z lizatu komórkowego oraz białek rekombinowanych. Takie połączenie według producenta testu ma zastąpić dwuetapową diagnostykę boreliozy.

Przegląd wymienionych testów wskazuje na to, że pomimo olbrzymiej różnorodności narzędzi diagnostycznych, w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej stosowane są głównie metody serologiczne. Dwuetapowa diagnostyka boreliozy ma obecnie największe znaczenie diagnostyczne w zakażeniach wywołanych krętkami *Borrelia*.

Słowa kluczowe: borelioza, metody diagnostyczne, hodowla komórkowa, PCR, testy serologiczne.

Dwuetapowa diagnostyka boreliozy – badanie wciąż aktualne?

**Karolina Rogulska¹, Justyna Działik¹, Konrad Grzeszczak²,
Iwona Wojciechowska-Koszek¹, Barbara Dołęgowska¹**

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

² Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

karolina.rogulska@pum.edu.pl

Choroba z Lyme (LD) to zakaźna choroba bakteryjna, która przenoszona jest na człowieka przez kleszcze z rodzaju *Ixodes*. LD jest wielonarządową chorobą, której czynnikiem etiologicznym jest Gram ujemny, mikroaerofilny, wewnątrzkomórkowy krętek należący do rodzaju *Borrelia*. Obraz kliniczny tej choroby oraz odpowiedź immunologiczna, które cechują się dużym zróżnicowaniem aktywowanych mechanizmów immunologicznych powodują trudności w rozpoznawaniu zakażenia. Obecnie diagnostyką z wyboru są testy serologiczne, które polegają na wykrywaniu przeciwciał anty – *Borrelia* w klasie IgM i IgG. Rozpoznanie LD wymaga dwuetapowego protokołu diagnostycznego (za wyjątkiem wystąpienia rumienia wędrującego). Pierwszy etap polega na przeprowadzeniu przesiewowego testu ELISA. Otrzymane wyniki graniczne bądź dodatnie w teście przesiewowym wymagają potwierdzenia w drugim etapie testem Immunoblot. Istnieją również nowe metody diagnostyki boreliozy, które nie są stosowane w rutynowej diagnostyce. Przykładem takiego testu jest test Optiplex, który w swym składzie posiada antygeny rekombinowane oraz lizat komórkowy. Takie połączenie według producenta testu ma zastąpić dwuetapową diagnostykę boreliozy.

Celem tego badania jest sprawdzenie, czy dwuetapowa diagnostyka boreliozy jest nadal słusznym i jedynym badaniem klinicznym.

W badaniu wzięło udział 80 pacjentów, którzy stanowili grupę badaną oraz 22 osoby zdrowe stanowiące grupę kontrolną. Wszystkie surowice zostały przebadane testem ELISA, Immunoblot i Optiplex w klasie IgM oraz IgG. Analiza statystyczna wyników została przeprowadzona w oparciu o test χ^2 .

W grupie badanej w teście przesiewowym ELISA w klasie IgM uzyskano 60 pozytywnych wyników, a w klasie IgG 44. W teście Optiplex w klasie IgM otrzymano 40 wyników dodatnich natomiast w klasie IgG 33. W teście potwierdzenia IB w klasie IgM uzyskano podobną liczbę wyników dodatnich jak w teście Optiplex, jednak różniła się ona znacznie z liczbą wyników dodatnich otrzymanych w teście ELISA – 39 natomiast w klasie IgG liczba wyników dodatnich w teście potwierdzenia była największa – 53. Rozpatrując wyniki testu ELISA i Optiplex oraz Immunoblot i Optiplex nie wykazały one istotności statystycznej

Wyniki sugerują, że skrining ELISA daje fałszywie dodatnie wyniki w klasie IgM, które zostały wychwycone zarówno w testach Immunoblott, jak i Optiplex, podczas gdy na podstawie wyników w klasie IgG można stwierdzić, że test przesiewowy generuje zarówno fałszywie dodatnie jak i wyniki fałszywie ujemne, wykazując w ten sposób niższą czułość w klasie IgG w porównaniu z klasą IgM. To samo dotyczy testu Optiplex, który również wykazywał wyniki fałszywie ujemne w klasie IgG. Przeprowadzone badania potwierdzają, że dwuetapowa diagnoza LD wydaje się obecnie najbardziej optymalną formą wykrywania zakażeń krętkami *Borrelia*.

Słowa kluczowe: borelioza, *Borrelia burgdorferi*, ELISA, Immunoblot, Optiplex.

Analiza wpływu kampferolu i jego pochodnych wyizolowanych z liści soczewicy na czasy krzepnięcia krwi

Agata Rolnik¹, Jerzy Żuchowski², Anna Stochmal², Beata Olas¹

¹Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki,
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

²Zakład Biochemii i Jakości Plonów, Instytut Upraw, Nawożenia i Gleboznawstwa, Państwowy Instytut
Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

agata.rolnik@unilodz.eu

Hemostaza to cykl procesów w organizmie zapewniających swobodny przepływ krwi oraz zapobiegających krwawieniu w przypadku uszkodzenia ściany naczynia. Patologię układu hemostazy prowadzą do wielu problemów zdrowotnych takich jak zakrzepice, czy skazy krwotoczne. Jedną z metod oceny prawidłowości procesu hemostazy są czasy krzepnięcia, mierzące czas od przerwania ściany naczynia do zahamowania krwawienia. Soczewica jadalna (*Lens culinaris*) to źródło wielu związków o charakterze polifenoli o właściwościach prozdrowotnych.

Celem pracy była ocena w warunkach *in vitro* wpływu kampferolu i jego pochodnych Kampferol 3-O-[(6-O-E-feruloyl)-β-D-glucosyl(1→2)]-β-D-galactoside-7-O-β-D-lucuronide, Kampferol 3-O-{[(6-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucosyl(1→2)]-α-L-rhamnosyl(1→6)}-β-D-galactoside-7-O-α-L-rhamnoside, Kampferol 3-O-[(6-O-E-caffeoyl)-β-D-glucosyl(1→2)]-β-D-galactoside-7-O-(2-O-E-caffeoyl)-β-D-glucuronide wyizolowanych z liści soczewicy na właściwości hemostatyczne osocza ludzkiego. W tym celu wykonano pomiary czasów krzepnięcia, czyli czasu protrombinowego, czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji i czasu trombinowego. W metodzie kagulometrycznej wykorzystano ekstrakty w stężeniach 1 µg/ml, 5 µg/ml, 50 µg/ml. Nie zaobserwowano istotnego wpływu na kampferolu i jego pochodnych na czasy krzepnięcia.

Słowa kluczowe: kampferol, hemostaza, soczewica.

Zagrożenia różnorodności gatunkowej roślin wodnych w jeziorach lobeliowych Pomorza

Rafał Ronowski

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ekologii Roślin, 80-308 Gdańsk, Wita Stwosza 59

rafal.ronowski@phdstud.ug.edu.pl

Na Pomorzu istotną część jezior stanowią miękkowodne (ubogie w sole wapnia i przez to kwaśne), wśród których przyrodniczo najcenniejszymi są lobeliowe. Z dotychczasowych badań naukowych wynika, że są one podatne na te rodzaje presji człowieka, które prowadzą do zmian struktury roślinności podwodnej. Stawiam hipotezę, że istotnym powodem destabilizacji ekosystemu jeziora lobeliowego jest transformacja funkcji jego roślinności. Poszukuję narzędzi badawczych, za pomocą których możliwe będzie określenie wpływu czynników naturalnych i antropogenicznych na stabilność takiego ekosystemu.

Struktura roślinności podwodnej jest określana metodą losowego poboru próbek i analizowana z użyciem metod analiz numerycznych (porządkujących i klasyfikacyjnych), natomiast warunki środowiska wodnego w jeziorach są ustalane za pomocą mierników nowej generacji. Duży nacisk jest położony na zastosowanie dokładnych metod analiz kartograficznych; przede wszystkim ilościową i jakościową (z podziałem na odpowiednie kategorie) ocenę form użytkowania i zagospodarowania zlewni jezior, na bazie map z Geoportalu oraz CORINE Land Cover z wykorzystaniem komputerowego programu ArcGIS. W badaniach uwzględnia się reprezentatywną dla Polski liczbę 90 jezior lobeliowych i ich zlewni. Próbkę roślinności podwodnej są pobierane metodami nieinwazyjnymi (techniką nurkowania, zapisy danych na tabliczce nurka), dzięki czemu zbiorowiska roślin podwodnych nie są niszczone. Analizy statystyczne (MDS, PCA, RDA, wskaźnik H' , test Kruskala-Wallisa, post-hoc Dunna, i inne) są wykonywane przy użyciu stosownych programów komputerowych. Połączenia różnych metod badawczych, zarówno z zakresu statystyki, kartografii oraz prac podwodnych, pozwoli na dokładne zbadanie wielowątkowego problemu, jakim jest wpływ działalności człowieka na strukturę i funkcję roślinności w ekosystemie jeziora lobeliowego.

Słowa kluczowe: jeziora lobeliowe, formy użytkowania zlewni, zagrożenia różnorodności.

Wpływ prebiotyków na zachowania socjalne i obraz białokrwinkowy u szczurów w warunkach długotrwałej elektrycznej stymulacji ciała migdałowatego

Jan Ruciński, Ewelina Kurowska, Magdalena Podlacha, Dorota Myślińska, Edyta Jurkowlaniec

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka
ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk*

jan.rucinski@phdstud.ug.edu.pl

W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się relacjom pomiędzy mikrobiomem jelitowym a funkcjonowaniem ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Mikrobiom wpływa na aktywację szlaków neuronalnych i tym samym przyczynia się do prawidłowego rozwoju mózgowia, reguluje reaktywność osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej (PPN), układu odpornościowego oraz oddziałuje na wyższe funkcje poznawcze. Z kolei nieprawidłowości w składzie mikrobioty jelitowej, oddziałując na funkcje fizjologiczne, mogą przyczyniać się do rozwoju wielu chorób, w tym także zaburzeń psychicznych. Galaktooligosacharydy (GOS) należą do prebiotyków - cukrów złożonych, które nie są trawione przez ludzki organizm, ale promują i stymulują wzrost probiotycznych bakterii jelitowych, o których wiadomo, że korzystnie oddziałują na funkcjonowanie OUN. Ciało migdałowe jest jedną z kluczowych struktur odbierających i integrujących sygnały z jelit oraz regulujących behavior socjalny, a jego hiperaktywność związana jest m.in. z agresją. Do powstania zaburzeń behavioru socjalnego istotnie przyczyniają się także nieprawidłowości w funkcjonowaniu osi PPN. Dodatkowo przewlekły stres wpływa niekorzystnie na układ odpornościowy, hamując odpowiedź immunologiczną organizmu.

Celem badań było określenie wpływu suplementacji GOS na behavior socjalny oraz liczbę wybranych populacji białych krwinek: limfocytów, monocytów i granulocytów w szczurzym modelu długotrwałej hiperaktywacji ciała migdałowatego.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono na 24 szczurach, samcach stada niekrewniaczego Wistar. Zwierzętom zaimplantowano elektrody stymulacyjne do CeA, a następnie, po okresie rekonwalescencji, podzielono je na 4 grupy: Stim+GOS (n=6) – szczury poddane 14-dniowej elektrycznej stymulacji CeA oraz 21-dniowej suplementacji GOS; Stim (n=6) – szczury poddane stymulacji, niesuplementowane; Sham+GOS (n=6) – zwierzęta poddane stymulacji pozornej, suplementowane GOS; Sham (n=6) - zwierzęta poddane stymulacji pozornej, niesuplementowane. W celu analizy behavioralnej przeprowadzono trójkomorowy test socjalny, zaś godzinę po ostatnim teście pobrano próbki krwi. Parametry układu białokrwinkowego określono przy pomocy analizatora hematologicznego.

Wyniki i wnioski: Suplementacja GOS przyczyniła się do poprawy funkcjonowania układu odpornościowego po zaburzeniach indukowanych chroniczną hiperaktywacją CeA, a także do złagodzenia objawów behavioralnych poprzez wzrost poziomu zachowań prosocjalnych. Wykazane właściwości tych prebiotyków wskazują na ich potencjał terapeutyczny w leczeniu zaburzeń OUN związanych ze stresem i behaviorem socjalnym.

Słowa kluczowe: prebiotyki, zachowania socjalne, immunologia, ciało migdałowe, stymulacja

Wpływ nawożenia biowęgłem na plonowanie, skład chemiczny i jakość ziarna kukurydzy

Hubert Rusecki, Sylwia Chojnacka, Piotr Kraska

*Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Katedra Herbologii i Techniki Uprawy Roślin,
Zakład Ekologii Rolniczej, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin*

hubert.rusecki@gmail.com

Biowęgiel jest substancją otrzymywaną w procesie pirolizy biomasy roślinnej oraz odpadów organicznych. Właściwości fizykochemiczne biowęgla różnią się od siebie nieznacznie w zależności od substratów użytych do jego uzyskania, jednak zawsze charakteryzuje się on znaczną zawartością węgla organicznego oraz posiada dużą powierzchnię właściwą oraz znaczną porowatość. Dzięki takim właściwościom jego zastosowanie w rolnictwie prowadzi przede wszystkim do zwiększenia pojemności wodnej gruntu poprzez zwiększenie zawartości węgla organicznego w glebie oraz może prowadzić do ograniczenia zużycia nawozów mineralnych ze względu na ograniczenie wymywania pierwiastków.

Kukurydza należy do najważniejszych roślin uprawianych na świecie i w Polsce, powierzchnia uprawy i wielkością zbiorów może konkurować z pszenicą czy ryżem na świecie i pozostałymi zbożami oraz rzepakiem w Polsce. Roślina ta pomimo dość niskiego współczynnika transpiracji zużywa ogromne ilości wody ze względu na ilość suchej masy jaką produkuje. Powoduje to dużą wrażliwość kukurydzy na warunki pogodowe, szczególnie opady, panujące w krytycznym okresie jej wzrostu. Zakumulowana przez biowęgiel woda w glebie oraz jej dostępność rozłożona w czasie może przełożyć się na utrzymanie plonów kukurydzy w suchych latach na średnim poziomie oraz zwiększenie ich w latach z korzystnym przebiegiem pogody.

Celem badań była ocena możliwości zastosowania biowęgla jako nawozu oraz określenie dawki optymalnej dla plonowania ilościowego i jakościowego kukurydzy. Oceniono również zawartości makroelementów oraz mikroelementów w ziarnie i w glebie, a także zawartość węgla organicznego w glebie.

Badania przeprowadzono w roku 2018 w Gospodarstwie Doświadczalnym w Czesławicach, należącym do Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Obiekty doświadczalne założono w układzie losowym w trzech powtórzeniach na glebie płowej wytworzonej z lessu, kompleksu glebowego pszennego dobrego, klasy bonitacyjnej II. Przed orką zastosowano 3 dawki biowęgla: 10 t·ha⁻¹, 20 t·ha⁻¹ oraz 30 t·ha⁻¹. Kukurydzę odmiany Tonacja (HR Smolice) wysiewano w I dekadzie maja. Zastosowana agrotechnika, nawożenie i zabiegi pielęgnacyjne były typowe dla kukurydzy uprawianej na ziarno.

Przeprowadzony eksperyment wykazał, że zastosowanie biowęgla ma istotny wpływ na badane cechy kukurydzy.

Słowa kluczowe: biowęgiel, kukurydza, gleba, makroelementy, mikroelementy.

Rekonstrukcja historycznego rozmieszczenia Pleurothallidinae (Orchidaceae)

Max Rykaczewski

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody

max.rykaczewski@gmail.com

Podplemię Pleurothallidinae z 5100 gatunkami jest najliczniejszą grupą wśród storczykowatych i stanowi prawie 1/5 wszystkich gatunków Orchidaceae (Karremans 2016). Przedstawiciele podplemienia występują od Florydy i Meksyku przez Kolumbię i Ekwador, aż do Argentyny na południu i Brazylii na wschodzie. Większość gatunków występuje w lasach pierwotnych jako epifity, rzadziej jako rośliny naziemne czy naskalne. Dane dotyczące współczesnego rozmieszczenia gatunków były poddane analizie w programie RASP w celu oszacowania historii rozmieszczenia rodzajów w przeszłości. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że: 1) w przeszłości występowała naprzemienna migracja gatunków Pleurothallidinae z Wyżyny Gujańskiej do terenu andyjskiego oraz z Andów na Wyżynę Gujańską; 2) ostatni wspólny przodek Pleurothallidinae miał pochodzenie andyjskie i wkrótce uległ specjacji dając początek pięciu głównym liniom filogenetycznym; 3) obecność przedstawicieli *Myoxanthus* w Andach jest wynikiem niedawnej migracji z Wyżyny Gujańskiej do Andów; 4) obecność przedstawicieli rodzaju *Pleurothallis* na terenie Wyżyny Gujańskiej jest wynikiem migracji z Karaibów.

Słowa kluczowe: *Pleurothallidinae, ancestral distribution, ITS.*

Cytotoksyczne właściwości pochodnych kwasu usninowego wobec komórek nowotworowych

Kamil Ryś, Anna Pawlik, Anna Herman-Antosiewicz

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii i Genetyki Medycznej,
ul. Wita Stwosza 59 Gdańsk 80-308*

kamil.rys@phdstud.ug.edu.pl

Nowotwory stanowią drugą co do częstości przyczynę zgonów w krajach rozwiniętych. Zachorowalność na nowotwory stale wzrasta, a w zaawansowanym stadium choroby współczesna medycyna nie oferuje terapii prowadzącej do całkowitego wyleczenia pacjenta. Dlatego też ciągle poszukuje się związków o działaniu chemoprewencyjnym lub antyproliferacyjnym, które skutecznie i selektywnie mogłyby hamować powstawanie i namnażanie komórek nowotworowych. Bogatym źródłem bioaktywnych związków są rośliny i grzyby. Jednym z takich związków jest kwas usninowy produkowany przez porosty z rodzaju *Usnea*, *Cladonia*, *Lecanora* i *Ramalina*. Wiadomo, że ma on działanie chemoprewencyjne, przeciwbakteryjne i przeciwzapalne oraz indukuje śmierć komórek nowotworowych. Wadą stosowania kwasu usninowego jest jego mała rozpuszczalność w wodzie oraz wysoka hepatotoksyczność, dlatego też trwają prace nad uzyskaniem pochodnych mających korzystniejsze od niego cechy fizyko-chemiczne i biologiczne.

W niniejszej pracy badano aktywność izooksazolowych i *N*-metylo pirazolowych pochodnych kwasu usninowego wobec komórek nowotworowych pochodzących z różnych narządów (piersi, szyjki macicy, płuca, wątroby, prostaty) oraz należących do różnych podtypów molekularnych danego nowotworu. Sprawdzono również, jak pochodne kwasu usninowego działają względem zdrowych ludzkich fibroblastów. Do badań wykorzystano przesiewowy test żywotności MTT oraz analizę mikroskopową komórek traktowanych badanymi związkami przez 24 lub 48 godzin.

Uzyskane wyniki wskazują, że żywotności badanych komórek nowotworowych spadają wraz ze wzrostem stężenia badanych związków oraz czasem ekspozycji na nie, przy czym izooksazolowe pochodne są aktywne wobec wszystkich badanych linii komórkowych, natomiast *N*-metylo pirazolowe pochodne - wybiórczo wobec linii HeLa. Ponadto, pochodne te działają efektywnie na komórki nowotworowe przy użyciu kilkukrotnie niższych stężeń niż związek wyjściowy. Co ważne, komórki prawidłowe są mniej wrażliwe na badane związki niż komórki nowotworowe. Komórki nowotworowe pod wpływem badanych związków przestają się dzielić i indukowana jest w nich apoptoza. Wyniki analizy mikroskopowej wskazują na silną wakuolizację komórek nowotworowych traktowanych analizowanymi pochodnymi.

Podsumowując, badane pochodne kwasu usninowego wykazują silniejsze niż związki wyjściowe działanie antyproliferacyjne oraz selektywność wobec komórek nowotworowych. W celu poznania molekularnego mechanizmu ich działania oraz skuteczności *in vivo* niezbędne są dalsze badania.

Słowa kluczowe: kwas usninowy, komórki nowotworowe, żywotność, wakuolizacja.

Analiza zależności tempa wzrostu, replikacji DNA, centralnego metabolizmu węgla oraz cyklu komórkowego u bakterii *Escherichia coli*

Marta Sadowska, Julia Schoenhoff, Monika Maciąg-Dorszyńska, Agnieszka Szalewska-Pałasz

Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii, Uniwersytet Gdański, Gdańsk

marta.sadowska@phdstud.ug.edu.pl

Zróżnicowanie i zmienność pod względem warunków fizyko-chemicznych środowiska życia bakterii wymogła wykształcenie szeregu mechanizmów umożliwiających przystosowanie ich fizjologii do ciągłych zmian. Podstawowymi i powiązanymi procesami w komórkach bakteryjnych są: replikacja DNA, centralny metabolizm węgla oraz cykl komórkowy. W celu przekazania materiału genetycznego komórce potomnej, musi on ulec powieleniu podczas replikacji DNA. Wierność i niezakłócony przebieg tego procesu jest kluczowy dla przetrwania komórki, dlatego też jest on ściśle regulowany oraz skoordynowany ze stanem metabolicznym komórki, który to zależny jest od warunków wzrostu. Warunki wzrostu, bogate lub ubogie w składniki odżywcze, indukują uruchamianie odpowiednich mechanizmów przystosowawczych. Połączenia pomiędzy wymienionymi procesami, mimo że oczywiste, nie są do końca poznane. Celem przedstawionej pracy jest poznanie sposobu, w jaki metaboliczne sygnały komórkowe, dostosowują wzajemną koordynację procesów regulacyjnych i replikacji DNA w komórkach Gram-ujemnej bakterii *Escherichia coli* w odpowiedzi na sygnały środowiskowe.

Pierwszym etapem badań jest analiza zmian w tempie wzrostu oraz replikacji w szczepach posiadających mutację w obrębie genów centralnego metabolizmu węgla: glikolizy, glukoneogenezy, szlaku pentozofosforanowego, cyklu kwasów trójkarboksylowych oraz szlaku redystrybucji reszt acetylowych. Analiza tempa wzrostu i replikacji zostanie zbadana w różnych warunkach środowiskowych, poprzez użycie pożywek z różną ilością składników odżywczych. Analizy przeprowadzane zostaną poprzez użycie metod qPCR oraz cytometrii przepływownej. Wyniki pozwolą na wybór szczepów do dalszych badań.

Poszukiwania fizjologicznych partnerów białka HtrA w komórce bakterii *Helicobacter pylori*

Małgorzata Sieradzka, Joanna Skórko-Głonek

Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-809 Gdańsk, Polska

malgorzata.sieradzka@phdstud.ug.edu.pl

Helicobacter pylori jest gram-ujemną, mikrotlenową bakterią infekującą około połowę światowej populacji ludzi. Zakażenie tą bakterią sprzyja powstawaniu wrzodów żołądka lub dwunastnicy, a u ok. 1% nosicieli może przyczynić się do rozwoju raka żołądka. Jednym z czynników wirulencji, jakie produkuje bakteria *H. pylori*, jest dobrze zachowana w ewolucji proteaza serynowa - HtrA (ang. *high temperature requirement*).

U bakterii *Escherichia coli* białko HtrA jest odpowiedzialne za usuwanie niewłaściwie sfałdowanych białek lub zapobieganiu powstawaniu ich toksycznych agregatów w periplazmie. U innych bakterii homologi HtrA mogą być zaangażowane w dojrzewanie i transport eksportowanych białek, w tym czynników wirulencji.

Wiadomym jest, że białko HtrA *Helicobacter pylori* wydzielane pozakomórkowo tnie E-kadherynę, klaudynę i okludynę (elementy połączeń komórek śródbłónka żołądka) oraz fibronektynę – glikoproteinę występującą w macierzy pozakomórkowej. Brak jest nadal informacji na temat fizjologicznych substratów lub partnerów białka HtrA_{Hp}, które mogą pomóc przewidzieć jego funkcję w komórce *H. pylori*.

Celem badań była identyfikacja potencjalnych partnerów białka HtrA z zastosowaniem metody pull-down wraz z identyfikacją za pomocą spektrometrii mas.

Przeprowadzono doświadczenia pull-down z wykorzystaniem oczyszczonego, uprzednio nadprodukowanego w systemie *E. coli*, rekombinowanego białka HtrAS221A (nieaktywnego proteolitycznie, ale zachowującego aktywność opiekuńczą) z dołączonym znacznikiem (Twin-Strep-tag®) na C-końcu, do którego dodano lizat bakteryjny szczepu *Helicobacter pylori* N6 pozbawionego genu *htrA*. Wykonano również kontrolę oczyszczanego HtrAS221A oraz niespecyficznego wiązania do złoża. Kolejno przeanalizowano próby za pomocą spektrometrii mas.

Analiza wykazała, że HtrA_{Hp} wiąże wiele białek. Wśród zidentyfikowanych białek znajduje się wiele takich, które są zaangażowane w kontrolę jakości białek: ClpX, ClpA, DcbC, GroEL, DnaK, GroS, DnaJ. Niezbędne są dalsze analizy w celu zweryfikowania istotności zaobserwowanych interakcji.

Badania finansowane są przez NCN OPUS - UMO-2016/21/B/NZ2/01775.

Słowa kluczowe: *Helicobacter pylori*, HtrA, białka opiekuńcze, pull-down, spektrometria mas.

Mikroprzepływy jako innowacyjne narzędzie do badania antybiotykooporności bakterii

Karolina Skłodowska-Jaros¹, Sławomir Jakiela²

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 166 02-787 Warszawa ¹Wydział Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu, Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin

²Wydział Technologii Drewna, Katedra Fizyki, Zakład Biofizyki

karolina_sklodowska@sggw.pl

Antybiotykooporność to zjawisko, które wciąż przybiera na sile. I choć nie jest ono nowe, nieustannie powraca w doniesieniach o coraz to kolejnych szczepach bakterii opornych na znane dotychczas antybiotyki. Proces nabywania oporności na substancje w środowisku jest naturalny i występuje od zawsze. Zwiększone, często nieprawidłowe i nieuzasadnione używanie antybiotyków na szeroką skalę sprawiło, że obecnie grozi nam koniec ery antybiotyków, co jest równoznaczne z końcem medycyny, jaką znamy. Dlatego niezwykle ważny jest rozwój badań, które pozwolą ograniczyć stosowanie antybiotyków, ułatwią dobór odpowiedniej substancji i dawki, ale też pomogą zrozumieć mechanizm ich działania. Platformą, która ma ogromny potencjał do wykorzystania w tej dziedzinie są mikroprzepływy.

Jest to prężnie rozwijająca się technologia umożliwiająca prowadzenie badań w niewielkich objętościach płynów. W układzie dwufazowym umożliwia wytworzenie w krótkim czasie nawet setek kropli pełniących rolę niezależnych bioreaktorów. Dzięki temu czas trwania wielu badań można znacznie skrócić. W przypadku zwalczania zakażeń bakteryjnych może to nawet uratować życie pacjenta. Układy do hodowania bakterii w mikrokroplach mają szansę wspomóc nie tylko lekarzy przy dobieraniu odpowiedniej substancji czy też kombinacji kilku różnych antybiotyków [1], ale mogą też przyczynić się do znalezienia odpowiedzi na pytania w jaki sposób bakterie walczą z antybiotykami [2] i jak przekazują sobie te umiejętności [3]. Ogromna różnorodność stosowanych rozwiązań stwarza wiele możliwości, ale jednocześnie może utrudniać wykorzystanie mikroprzepływów w rutynowej diagnostyce.

Walka z postępującą antybiotykoopornością wymaga współpracy wielu dziedzin nauki. Mikroprzepływy mogą stanowić przydatne narzędzie do badania tego zjawiska.

Słowa kluczowe: antybiotyki, mikroprzepływy, bakterie, oporność.

[1] Mohan, R. i wsp., 2013, "A Multiplexed Microfluidic Platform for Rapid Antibiotic Susceptibility Testing," *Biosens. Bioelectron.*, 49, 118–125.

[2] Aldridge, B. B. i wsp., 2012, "Asymmetry and Aging of Mycobacterial Cells Lead to Variable Growth and Antibiotic Susceptibility," *Science*, 335(6064), 100–104.

[3] Li, B., Qiu, Y. i wsp., 2018, "Real-Time Study of Rapid Spread of Antibiotic Resistance Plasmid in Biofilm Using Microfluidics," *Environ. Sci. Technol.*, 52(19), 11132–11141.

Porównanie obrazowanych mikrostruktur fragmentów organów generatywnych wybranych przedstawicieli Oncidiinae Benth. (Orchidaceae) przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego

Iwona Skorowska¹, Dorota Łuszczek²

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Pracownia Taksonomii Roślin, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

²Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Laboratorium Mikroskopii Elektronowej, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

iwona.skorowska@ug.edu.pl

Podplemię Oncidiinae Benth. występujące na terenie Ameryki Środkowej i Południowej należy do jednego z większych taksonów w obrębie Orchidaceae. W zależności od ujęcia klasyfikacyjnego, grupa ta liczy ponad 1000 gatunków, zgrupowanych w około 70 rodzajów. Po raz pierwszy został opisany w roku 1881 przez Georga Benthama. Mimo czasu który upłynął od tamtego momentu, klasyfikacja tej neotropikalnej grupy wciąż stanowi swoisty problem taksonomiczny. Dotychczas wyniki uzyskane z sekwencjonowania nie rozwiązywały jednoznacznie problemów taksonomicznych.

W związku z tym zaczęto wykorzystywać inne rodzaje danych uzyskane w drodze szybkiego postępu technologicznego ostatnich lat. Obrazowanie mikrostruktur tkanek roślinnych stało się możliwe dzięki skonstruowaniu skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Nowe dane mogą zostać wykorzystane podczas rozgraniczania taksonów czy też tworzenia innych systemów klasyfikacji.

W związku z powyższym głównym celem pracy była identyfikacja mikrostruktur przedstawicieli Oncidiinae, jej opis i analiza porównawcza wybranych przedstawicieli.

Materiał stanowiły generatywne elementy kwiatów wybranych przedstawicieli. Analizę wykonano zgodnie ze standardowym protokołem używanym podczas skaningowej mikroskopii elektronowej.

W niniejszej pracy skupiono się na analizie części generatywnych kwiatu tj. określone fragmenty warzki i prętosłupa, ze względu na ich znaczenie w procesie zapylania. Po analizie uzyskanych obrazów, opisano mikrostruktury i porównano pod tym kątem wybrane taksony. Obecne mikrostruktury np.: brodawki czy włoski mogą posiadać znaczenie podczas procesu zapylania. Analiza porównawcza wykazała różnice między badanymi gatunkami. Jednakże dalsze badania w tym kierunku są wymagane, aby móc potwierdzić tą hipotezę.

Słowa kluczowe: mikroskopia elektronowa, mikrostruktury, Oncidiinae, Orchidaceae.

Specyficzność rozpoznawania i transportu substratów systemu degradacji białek związanego z retikulum endoplazmatycznym (ERAD)

Hanna Sominka, Jowita Nowakowska-Gołacka, Natalia Sowa-Rogozińska, Monika Słomińska-Wojewódzka

Katedra Biologii i Genetyki Medycznej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-809 Gdańsk, Polska

Hanna.Sominka@phdstud.ug.edu.pl

ERAD (ER-associated degradation) jest częścią systemu kontroli jakości fałdowania białek zapewniającego prawidłowe funkcjonowanie komórek eukariotycznych. Nieprawidłowo zwinięte polipeptydy są specyficznie rozpoznawane m.in. przez lektyny z rodziny EDEM (EDEM1, EDEM2 i EDEM3), a następnie za pomocą kanałów błonowych ER transportowane są do cytozolu w celu proteolitycznej degradacji. Najlepiej dotąd poznanym translokonom jest Sec61, ale kanały błonowe ER mogą prawdopodobnie też tworzyć białka z rodziny Derlin. Toksyna pochodzenia roślinnego, rycyna, jest jednym z substratów procesu ERAD. W przeciwieństwie do typowych substratów tego procesu, ulega ona aktywacji, a nie degradacji w cytozolu. Rycyna jest heterodimerskim białkiem składającym się z aktywnej enzymatycznie podjednostki A (RTA), odpowiadającej za blokowanie syntezy białek połączonej za pomocą mostka disiarczkowego z podjednostką B (RTB), która wiąże się do receptorów błonowych. Ze względu na wysoką toksyczność, łatwość produkcji i szybkie działanie, rycyna uważana jest obecnie za jedną z najbardziej niebezpiecznych substancji i potencjalną broń biologiczną. Z drugiej strony toksyna ta może być wykorzystywana jako składnik nowoczesnych immunotoksyn oraz szczepionek. Rycyna dostaje się do komórki na drodze endocytozy i jest transportowana kolejno z wczesnych endosomów do aparatu Golgiego, a następnie do retikulum endoplazmatycznego (ER), gdzie dochodzi do redukcji wiązania disiarczkowego. Podjednostka A jest wówczas transportowana do cytozolu, gdzie hamuje działanie eukariotycznych rybosomów, blokując tym samym syntezę białek. RTA posiada na C-końcu wysoce hydrofobowy rejon. Substytucja proliny na alaninę w pozycji 250 (P250A) w tym rejonie skutkuje zmianą struktury II-rzędowej podjednostki A rycyny oraz zmniejsza jej cytotoksyczność.

Celem pracy jest zbadanie czy struktura substratów białkowych jest istotna w ich rozpoznawaniu oraz selekcji określonych kanałów błonowych ER podczas procesu ERAD.

Pierwszy etap doświadczeń zakładał zbadanie wpływu nadprodukcji białek EDEM3, Derlin-1 oraz Derlin-2 na retrotranslokację rycyny dzikiego typu oraz RTA P250A z ER do cytozolu. Błony cytoplazmatyczne komórek poddano permeabilizacji przy zastosowaniu detergentu-digitoniny w celu oddzielenia frakcji membranowej, zawierającej ER, od cytozolowej. Uzyskane wyniki sugerują, że wysoka ekspresja EDEM3, Derlin-1 i Derlin-2 wpływa na podwyższenie retrotranslokacji podjednostki RTA P250A rycyny do cytozolu. Co istotne nie zaobserwowano takich zależności dla rycyny dzikiego typu. Badano także cytotoksyczność rycyny P250A oraz dzikiego typu w komórkach z nadprodukcją białek EDEM3, Derlin-1 oraz Derlin-2. Stopień zahamowania syntezy białek określano przy zastosowaniu radioaktywnie znakowanej leucyny. Przeprowadzone eksperymenty potwierdzają rolę wspomnianych wyżej regulatorów procesu ERAD w transporcie RTA P250A z ER do cytozolu.

Przeprowadzone badania wskazują że struktura substratów białkowych jest prawdopodobnie istotna w ich rozpoznawaniu i transporcie z ER, podczas procesu ERAD.

Słowa kluczowe: ERAD, Rycyna, EDEM3, Derlin-1, Derlin-2.

2019! Rekordowy sezon pylenia olszy w Szczecinie

Alina Stacewicz, Małgorzata Puc

Uniwersytet Szczeciński, Wydział Biologii, Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody, ul. Zygmunta Felczaka 3c, 71-412

alina.stacewicz@gmail.com

Pyłek olszy (*Alnus* L.), jest bardzo częstą przyczyną alergii pyłkowej w Europie i na całym świecie. Ziarna pyłku pojawiają się w atmosferze najczęściej już w styczniu, gdy warunki pogodowe są bardzo niestabilne, dlatego daty początku sezonu pyłkowego i jego przebieg wykazują duże wahania w poszczególnych latach. Wystąpienie objawów alergicznych ma charakter sezonowy, a ich nasilenie jest ściśle związane z obecnością w powietrzu pyłku olszy, szczególnie, gdy jest on notowany w rekordowych stężeniach.

W pracy przedstawiono wynik analizy sezonu pyłkowego olszy w Szczecinie w rekordowym, 2019 roku. Pomiary stężenia pyłku prowadzono metodą objętościową, wykorzystując aparat typu Hirsta marki Burkard umieszczony w centrum miasta na wysokości 21m n.p.m. Czas trwania sezonu wyznaczono stosując metodę 95%. Sezonowy indeks pylenia obliczono jako sumę średnich dobowych stężeń pyłku w danym sezonie. Określono zagrożenie alergenami pyłku olszy w Szczecinie w 2019 roku, a bieżący sezon pylenia olszy porównano z danymi z lat poprzednich.

Sezon pyłkowy olszy w 2019 okazał się wyjątkowy pod wieloma względami. Rozpoczął się w połowie lutego, był najkrótszy- trwał 19 dni, a jednocześnie najbardziej intensywny- wartość współczynnika SPI- przekroczyła 15 tysięcy ziaren pyłku, co zdarzyło się po raz pierwszy w historii badań, stanowiąc nawet 10-krotność wartości odnotowanych w latach poprzednich (2018 rok – SPI 1653 ziarna). Również wartość maksymalnego stężenia dobowego pyłku olszy osiągnęła rekordową wartość- ponad 2000 ziaren/m³. Był to wyjątkowo trudny i niebezpieczny czas dla alergików. Przez cały czas trwania sezonu notowano stężenia, które u pacjentów z nadwrażliwością powodują wystąpienie nasilonych objawów alergii, w tym przez 30% czasu trwania sezonu stężenia przekraczały wartość 1200 ziaren/m³. W przypadku braku stosowania leków antyhistaminowych, ekspozycja chorych na tak wysokie stężenia powoduje ataki duszności, będące stanami bezpośredniego zagrożenia życia.

Słowa kluczowe: rośliny, olsza, pyłek, alergia, zdrowie.

Możliwości ko-aplikacyjne bakteriofagów litycznych i nanomateriałów

Xymena Stachurska, Paweł Nawrotek

*Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,
Katedra Immunologii, Mikrobiologii i Chemii Fizjologicznej, al. Piastów 45, 70-311 Szczecin*

xymena.stachurska@zut.edu.pl

Rozprzestrzeniająca się lekooporność patogenów bakteryjnych [1] oraz wejście w erę post-antybiotykową sprawia, że konwencjonalne metody terapii stają się niewystarczające. Z tego względu badacze coraz częściej interesują się bakteriofagami (fagami), które mogą być obiecującą alternatywą dla antybiotyków. Fagi są wirusami infekującymi bakterie, stanowiąc ich wewnątrzkomórkowe pasożyty. Ich cykl życiowy jest ściśle uzależniony od obecności gospodarza bakteryjnego, wobec którego fagi cechują się dużą specyficznością [2]. Najważniejszą cechą bakteriofagów litycznych jest ich zdolność do lizy, czyli eradykacji gospodarza bakteryjnego, w tym także niezwykle niebezpiecznych, antybiotykoopornych patogenów biofilmujących, co czyni fagi wyjątkowo cennym „narzędziem” antybakteryjnym [3]. Z uwagi na ich potencjał, należy poszukiwać także różnych możliwości ko-aplikacyjnych bakteriofagów. Bardzo cenne może okazać się podejście współstosowania wirusów litycznych z innymi czynnikami bakteriobójczymi. Nanomateriały i nanocząstki oparte na pierwiastkach chemicznych, wchodzące w skład zmodyfikowanych powierzchni, bio-rusztowań lub nośników leków [4], mogą stanowić jeden z takich czynników, z uwagi na ich specyficzne właściwości [5]. Ponadto, niektóre zespoły badawcze wykazały, że nanocząstki mogą albo wpływać na wirusy inaktywująco, albo odwrotnie wzmacniać ich aktywność, co jest zależne od typu użytych nanocząstek, ich wielkości, zadanego stężenia i czasu ekspozycji [6, 7]. Biorąc pod uwagę możliwość zaistnienia synergizmu lub antagonizmu działania fagów litycznych i nanocząstek, należałoby zbadać ich możliwe interakcje.

W niniejszej pracy wstępnie oszacowana została możliwość zastosowania bakteriofaga litycznego T4 o potencjale terapeutycznym wraz z siedmioma różnymi nanocząstkami, poprzez wykazanie synergii lub antagonizmu podczas ich ko-aplikacji.

Słowa kluczowe: bakteriofagi, nanomateriały, interakcje, ko-aplikacja, terapie mieszane.

Bibliografia:

- [1] Alanis, A. J. Archives of medical research, 2005, 36(6), 697-705.
- [2] Monk, A. B., Rees, C. D., Barrow, P., Hagens, S., & Harper, D. R. Letters in applied microbiology, 2010, 51(4), 363-369.
- [3] Azizian, R., Nasser, A., Askari, H., Kalani, M. T., Sadeghifard, N., Pakzad, I., Amini, R., Nejad, A. S. M., Jalilian, F. A. Biologicals, 2015, 43(4), 238-241.
- [4] Galdiero, S., Falanga, A., Vitiello, M., Cantisani, M., Marra, V., & Galdiero, M. Molecules, 2011, 16(10), 8894-8918.
- [5] Zhang, W., & Zhang, X. Water research, 2015, 69, 59-67.
- [6] Khandelwal, N., Kaur, G., Kumar, N., Tiwari, A. Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB), 2014, 9(1), 175-186.
- [7] You, J., Zhang, Y., Hu, Z. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011, 85(2), 161-167.

Wpływ izotiocyjanianów na wybrane parametry fizjologiczne i behawioralne *Drosophila melanogaster*

Natalia Stefanik^{1,2}, Olga Długosz – Grochowska², Kenji Yamada²

Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, ul. Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
Uniwersytet Jagielloński, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin,
ul. Gronostajowa 7A, 30-387 Kraków

natalia.stefanik@doctoral.uj.edu.pl

Kapustowate (*Brassicaceae*) rozwinęły wyrafinowany system obronny oparty na glukozynolanach, będących substratem dla enzymu zwanego myrozynazą. Mechanizm ten, zwany bombą gorczycową, zapewnia ochronę przed bakteriami, grzybami oraz roślinożernymi owadami. W chwili uszkodzenia rośliny glukozynolany pod wpływem myrozynazy, początkowo zlokalizowane w komórkach myrozynazowych i wakuolach, ulegają hydrolizie. Produktami tej reakcji są glukoza i, w zależności od warunków reakcji, wiele reaktywnych związków, np.: izotiocyjaniany (ang. isothiocyanates, ITCs), nitryle, tiocyjaniany.

Izotiocyjaniany są ważnymi związkami odpowiedzialnymi za ostry smak i zapach gorczycy, chrzanu i wasabi. Ale nie tylko smak i zapach tych substancji może być wykorzystywany do obrony przez rośliny. Jako związki charakteryzujące się bardzo dużą reaktywnością, zaraz po wnikięciu do komórek, mogą one wiązać się z białkami oraz lipidami, a tym samym mieć wpływ na metabolizm całej komórki.

W jelicie grubym człowieka izotiocyjaniany są absorbowane do komórek nabłonka dzięki lipofilnemu charakterowi. Natychmiast po wnikięciu wiążą się z glutationem (GSH), co jest charakterystyczne dla indukcji fazy II metabolizmu ksenobiotyków.

Wśród roślinożerców, opisane zostały specjalistyczne mechanizmy zmniejszające toksyczność produktów hydrolizy glukozynolanów. Jednym z przykładów jest białko nitrylospecyficzne (NSP) obecne w jelitach bielinków, które przekierowuje reakcję katalizowaną przez myrozynazę, w wyniku czego powstają mniej szkodliwe nitryle.

Niestety niewiele wiadomo co dzieje się w organizmach owadów, które nie posiadają wyspecjalizowanych mechanizmów zapobiegających toksyczności izotiocyjanianów. W naszych badaniach próbujemy odpowiedzieć na to pytanie, wykorzystując do badań organizm modelowy jakim jest *Drosophila melanogaster*. Zbadaliśmy toksyczność wybranych ITCs, preferencje żywieniowe oraz poziom zmian ekspresji genów związanych z syntezą glutationu.

Nasze badania pokazują, że testowane izotiocyjaniany w niskich stężeniach nie działają odstraszaюще na muszkę owocówkę. W wyższych stężeniach obserwowany jest wzrost śmiertelności, a także zaobserwowaliśmy nasilenie procesów melanizacji, prowadzący do powstania „czarnych punktów”.

Wszystkie te obserwacje wymagają dalszych badań, które pozwolą na lepsze zrozumienie mechanizmu działania izotiocyjanianów na owady, nieposiadające wyspecjalizowanych mechanizmów obronnych przeciw tej grupie związków.

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki (UMO-2016/23/B/NA1/01847).

Słowa kluczowe: *Drosophila melanogaster*, kapustowate, izotiocyjaniany, glutation.

Wykorzystanie markerów mikrosatelitarnych w identyfikacji mieszańców *Taxus baccata* i *Taxus cuspidata*

**Sara Stefanowska, Joanna Cichocka, Katarzyna Meyza, Grzegorz Iszkulo,
Igor Chybicki**

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Katedra Genetyki, ul. Aleja Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz

s.stefanowska94@gmail.com

Taxus baccata jest przedstawicielem rodziny *Taxaceae* naturalnie występującym głównie w Europie, ale również w Azji zachodniej oraz północnej Afryce. Jest on objęty ochroną gatunkową ze względu na swoją wartość historyczną, kulturową i genetyczną. Roślina ta jest bardzo popularna w nasadzeniach dekoracyjnych, np. w parkach czy cmentarzach. Obok, a w ostatnich latach coraz częściej zamiast rodzimego gatunku wykorzystywane są w tym celu sztucznie otrzymane mieszańce *Taxus baccata* x *T. cuspidata* (*T. x media*). Ich powszechna obecność w środowisku niesie realne zagrożenie dla puli genowej rodzimego gatunku, dlatego identyfikacja mieszańców oraz osobników powstałych w wyniku krzyżówek z udziałem *T. x media* stanowi ważny aspekt ochrony puli genowej. Ze względu na wysoką zmienność morfologiczną identyfikacja takich osobników jest utrudniona. Celem niniejszych badań było określenie możliwości użycia markerów molekularnych do identyfikacji przynależności taksonomicznej spokrewnionych gatunków z rodzaju *Taxus* (*T. baccata* i *T. cuspidata*) oraz ich mieszańców. W tym celu wykorzystano 18 markerów mikrosatelitarnych w układzie multipleks podzielonym na dwie reakcje. Jako populacje referencyjne wybrano po 2 losowe osobniki *T. baccata* z 10 lokalizacji na terenie Polski oraz 19 osobników *T. cuspidata* rosnących w Arboretum Kórnickim Instytutu Dendrologii PAN w Kórniku. Analizy danych genetycznych z zastosowaniem metody grupowania zaimplementowanej w programie STRUCTURE wykazały, że optymalna liczba grup genetycznych dla prób referencyjnych wynosi 2, a rozdział osobników do grup odzwierciedla przynależność gatunkową, przy czym każdy z osobników referencyjnych był przyporządkowany do jednej z dwóch grup z prawdopodobieństwem 100%. W celu określenia możliwości wykrycia mieszańców F1 przeprowadzono symulację komputerową, która jednoznacznie potwierdziła możliwość wykorzystania wybranego narzędzia do identyfikacji taksonomicznej hybryd międzygatunkowych. Metodę grupowania z udziałem prób referencyjnych zastosowano do określenia przynależności gatunkowej drzew zlokalizowanych w nasadzeniach parkowych w centrum Bydgoszczy. Analizy wykazały obecność 28 osobników *T. baccata* oraz jednego osobnika hybrydowego, dla którego prawdopodobieństwo przypisania do *T. baccata* i *T. cuspidata* wynosiło odpowiednio 41% i 59%, wskazując tym samym na jego mieszańcowy charakter (mieszaniec F1). Niniejsze badania dostarczają informacji na temat zróżnicowania genetycznego między gatunkami *T. baccata* i *T. cuspidata* i potwierdzają skuteczność sekwencji mikrosatelitarnych jako narzędzia do identyfikacji mieszańców *T. x media*.

Słowa kluczowe: markery mikrosatelitarne, *Taxus*, DNA, hybrydyzacja, ochrona zasobów genowych.

Bakterie kwasu mlekowego – przyjaciele biotechnologii białej

Edyta Strzelec

*Akademia Górniczo – Hutnicza, Wydział Energetyki i Paliw, Katedra Technologii Paliw,
al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków*

strzelec.edyta.aneta@gmail.com

Temat bakterii może wywoływać pozytywne i negatywne skojarzenia. Z jednej strony powodują one wiele niechcianych chorób, a ich działanie jest szkodliwe i niszczy zdrowe komórki organizmu ludzkiego.

Istnieje jednak więcej przykładów w których bakterie mają swój ogromny udział. Patrząc pod kątem czysto przemysłowym, właśnie w tym miejscu zawdzięcza się im działanie przyspieszające reakcję, pełniąc funkcje naturalnych katalizatorów.

Metabolity, które powstają w trakcie procesu, są odpadem z punktu widzenia bakterii, patrząc jednak z punktu widzenia procesu przemysłowego, są to produkty atrakcyjnie chemicznie, godne do wykorzystania jako surowce w dalszych procesach.

Dzięki zastosowaniu mikroorganizmów możliwa jest: produkcja wodoru, etanolu, czy też różnego rodzaju kwasów organicznych (propionowego, masłowego, mlekowego). Produkty te można uzyskać w procesie fermentacji z surowców odpadowych. Jedną z najważniejszych zalet otrzymywania tego typu związków jest ich późniejsze zastosowanie w jednej z gałęzi przemysłu chemicznego – tworzywach sztucznych. Biodegradowalność komponentów otrzymywanych na tej ścieżce biotechnologicznej wpływa na znaczące bezpieczeństwo procesowe, zmniejszenie kosztów a także poprawę ochrony środowiska przez minimalizację odpadów lub też ich zagospodarowanie.

Przykładem przemiany mikrobiologicznej, którą stara się obecnie zaimplementować do procesu ciągu technologicznego biodiesla, jest przeróbka gliceryny katalizowanej bakteriami, do kwasu mlekowego. Związek z dość dużymi ilościami powstającej gliceryny a bakteriami zdolnymi metabolizować ją do kwasu mlekowego, wręcz narzuca przemysłowi bardzo proste rozwiązanie. Nie skorzystanie z tego wyjścia byłoby nie do pogodzenia się z faktem dość dobrej współpracy mikroorganizmów z surowcem. Dlatego starania w tym temacie są właśnie celem dalszych eksperymentów i doświadczeń w dziedzinie nauki, jaką zajmuje się biotechnologia biała.

Słowa kluczowe: biotechnologia, mikroorganizmy, kwas mlekowy, fermentacja.

Aktywność lityczna oraz mechanizm działania nowego polikationowego peptydu antybakteryjnego Intestinaliny

**Monika Szadkowska¹, Barbara Cyran¹, Anna Kloska², Anna-Karina Kaczorowska³,
Tadeusz Kaczorowski¹, Magdalena Płotka¹**

¹Laboratorium Biologii Ekstremofilii, Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

²Katedra Biologii Medycznej i Genetyki, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

³Kolekcja plazmidów i mikroorganizmów, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

monika.szadkowska@phdstud.ug.edu.pl

Historyczne odkrycie penicyliny przez Alexandra Fleminga jako skutecznego naturalnego antybiotyku w rezultacie doprowadziło do opracowania na szeroką skalę pierwszych syntetycznych antybiotyków. W ciągu ostatnich lat skutecznie zwalczano drobnoustroje przy pomocy antybiotyków, niestety ze względu na ich nadużywanie, społeczeństwo staje przed poważnym problemem jakim jest wzrost oporności bakterii na dotychczas stosowane środki przeciwdrobnoustrojowe. Nową obiecującą alternatywą w stosunku do tradycyjnych antybiotyków stają się peptydy przeciwbakteryjne, które wytwarzane są przez większość organizmów przeciwko patogennym drobnoustrojom. Mimo dużego zróżnicowania peptydów często ich dokładne spektrum przeciwbakteryjne oraz mechanizm działania pozostają nieznane. Przypuszcza się, że zabijają drobnoustroje poprzez integrację z bakteryjnymi błonami komórkowymi powodując wypływ niezbędnych jonów i składników odżywczych.

Celem prezentowanej pracy jest poznanie aktywności i mechanizmu działania nowego peptydu antybakteryjnego Intestinaliny. W naturze, peptyd ten stanowi N-terminalną domenę białka litycznego LysC pochodzącego z bakterii *Clostridium intestinale* URNW. Zbadaliśmy działanie Intestinaliny przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym takim jak *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* oraz *Acinetobacter baumannii*. Dodatkowo przy użyciu testu kalorymetrycznego MTT wykluczaliśmy efekt cytotoksyczny tego peptydu w stosunku do ludzkiej linii keratynocytów HaCaT.

Chcąc poznać mechanizm działania Intestinaliny, w pierwszym etapie pracy przeanalizowaliśmy stan oligomeryczny peptydu z udziałem sączenia molekularnego SEC (ang. size exclusion chromatography). W kolejnym kroku zbadaliśmy strukturę drugorzędową z wykorzystaniem dichroizmu kołowego CD (ang. circular dichroism) przy braku lub w obecności detergentów takich jak DPC (n-dodecylofosfocholina) lub LDAO (N,N-dimetylododecyloamina) będących modelami błon komórkowych. W dalszych badaniach przeprowadzimy spektroskopię NMR (ang. nuclear magnetic resonance) w celu określenia struktury trzeciorzędowej Intestinaliny.

Słowa kluczowe: antybiotyki, antybiotykooporność, *Clostridium intestinale*, peptydy antybakteryjne.

Zapis kopalny gynandromorfii wśród ochotkowatych (Chironomidae)

Katarzyna Szczepaniak

PAN Muzeum Ziemi w Warszawie, Dział Bursztynu, Aleja Na Skarpie 26,27, 00-488 Warszawa

k_szczepaniak@student.uw.edu.pl

Gynandromorfizm to zjawisko anormalnego wymieszania cech płciowych żeńskich i męskich. Wyróżnić można trzy typy gynandromorfii:

- gynandromorfy przednio-tylne są to osobniki posiadające w przedniej części ciała cechy płci przeciwnej niż płeć, której cechy widoczne są w tylnej części ciała;
- gynandromorfy boczne – osobniki, które odznaczają się asymetrią ciała – strony lewa i prawa posiadają cechy odmiennych płci;
- gynandromorfy mozaikowe to osobniki posiadające kombinację cech obu płci – skrzydła i odnóża takich owadów można przypisać fenotypom różnych płci.

Czynniki wywołujące gynandromorfię to m.in. pasożyty z rodziny Mermithidae (Nematoda) oraz mutacje w genach regulujących mitozę. Dotychczas przypadki gynandromorfów odnotowywane były tylko wśród współczesnych Chironomidae. Pierwszy przypadek gynandromorfa w żywicy kopalnej został opisany z bursztynu ukraińskiego z kolekcji muchówek długoczułkich (Diptera Nematocera) ze zbiorów Instytutu Zoologii Narodowej Akademii Nauk Ukrainy im. I.I. Schmalhausena w Kijowie. Drugi przypadek kopalnego gynandromorfa w bursztynie został znaleziony w bryłce bursztynu bałtyckiego ze zbiorów PAN Muzeum Ziemi w Warszawie.

Słowa kluczowe: gynandromorfia, Chironomidae, żywice kopalne.

Bibliografia:

- Baranov V., Perkovsky E. 2014. *Chironomus Newsletter on Chironomidae Research*, Short Communications (27): 55-57
- Martin J. 1994. *A mutation of Chironomus tentans Fab. that leads to gynandromorph and mosaic formation* 55-60. [W:] P. Cranston (ed.): *Chironomids: from genes to ecosystems*, East Melbourne, CSIRO Publications, Melbourne, Australia, 1-482.
- Martin J., Lee B.T.O. 2000. *Sex determination in Chironomus and the Drosophila paradigm*. pp. 177-181, [W:] *Late 20th Century Research on Chironomidae*. O. Hoffrichter (ed.) Shaker Verlag, Aachen, Niemcy 1-66.

Interferencja dwóch czynników transkrypcyjnych w komórce jednego gospodarza - bakterii *Escherichia coli*

Aleksandra Szczuka¹, Alessandro Negri¹, Marcin Jąkałski², Iwona Mruk¹

¹ Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

² Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

shamrock127@hotmail.com

Ekspresja genów, czyli odczytywanie informacji biologicznej zapisanej w DNA u bakterii zawsze składa się z dwóch kolejnych związanych ze sobą etapów – transkrypcji i translacji. Transkrypcja to przepisywanie informacji genetycznej z DNA na RNA. Czynniki transkrypcyjne regulują ten proces aktywując lub hamując oddziaływanie zależne od DNA polimerazy RNA z regionami promotorów. Nasze badania obejmują regulację transkrypcji w operonach posiadających systemy restrykcyjno-modyfikacyjne (R-M) typu II, których rolą jest ochrona bakterii przed obcym DNA np. bakteriofagów. Na jego funkcję składa się aktywność dwóch niezależnych enzymów, które rozpoznają tę samą sekwencję specyficzną DNA: endonukleazy restrykcyjnej, która dokonuje cięcia obu nici DNA; oraz metylotransferazy DNA, która chroni specyficzne DNA poprzez przyłączanie grupy metylowej. W badanym przez nas systemie R-M Csp231I, który został wyizolowany z bakterii *Citrobacter* sp. znajduje się trzeci składnik – białko regulatorowe C (C-controller), które ma za zadanie precyzyjnie kontrolować ekspresję dwóch pozostałych genów. W toku badań odkryliśmy, że jeśli operon Csp231I razem z aktywnym białkiem C zostanie przeniesiony do komórek *E. coli* to wywołuje to globalny efekt manifestowany przez drastyczne wydłużanie się komórek tworząc tzw. „filamenty”. Badania transkryptomiczne wykazały, iż białko C może powodować wyciszenie czynnika transkrypcyjnego RacR występującego w genomie *E.coli*. RacR bierze udział w regulacji ekspresji genów rejonu kryptycznego faga *rac*. Locus *rac* zawiera geny o charakterze toksycznym między innymi: inhibitor podziałów komórkowych *kilR*, systemy toksyna-antytoksyna *ralRA*. Celem prezentowanego projektu jest wykazanie molekularnych podstaw mechanizmu interferencji obu czynników transkrypcyjnych i określenie ich efektu biologicznego.

Słowa kluczowe: Systemy restrykcyjno-modyfikacyjne, czynniki transkrypcyjne, filamentacja, odpowiedź SOS.

Dark recovery of photodegraded dissolved organic matter as a source of a protein-like fluorophore in natural waters

Grzybowski W., Szewczun A., Tarasiewicz P.

*Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii, Zakład Chemii Morza i Ochrony Środowiska Morskiego,
aleja Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia*

ocewg@ug.edu.pl

„Trójwymiarowa” spektroskopia fluorescencyjna jest obecnie popularną metodą pół-jakościowego charakteryzowania rozpuszczonej materii organicznej. Jej zastosowanie pozwala na wyodrębnienie dwóch podstawowych typów fluoroforów: substancji humusowych i tzw. protein-like fluorophores czyli substancji fluoryzujących tak, jak aminokwasy aromatyczne. Przyjmuje się, że ta druga grupa może być produktem aktywności mikrobiologicznej. W prezentowanej pracy wykazano, że może ona pojawić się w wodach naturalnych w wyniku procesów fotochemicznych. Przedmiotem eksperymentu były przefiltrowane próbki wody bałtyckiej i wiślanej. Poddano je działaniu radiacji nadfioletowej z zakresu promieniowania słonecznego. Porównano widma fluorescencyjne bezpośrednio po naświetlaniu oraz po 72 godzinach przechowywania w ciemności. Zaobserwowano częściową regenerację fluoroforów w całym zakresie widmowym, jednak największy (80%) wzrost fluorescencji wystąpił w grupie, której przypisuje się pochodzenie mikrobiologiczne.

Słowa kluczowe: rozpuszczona materia organiczna, fotodegradacja, protein-like fluorescence.

Rola receptorów nukleotydowych P2Y oraz AMPK w funkcjonowaniu kłębuszkowej bariery filtracyjnej

**Maria Szrejder, Patrycja Rachubik, Irena Audzeyenka, Dorota Rogacka, Stefan
Angielski, Agnieszka Piwkowska**

*Pracownia Molekularnej i Komórkowej Nefrologii, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN,
ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk*

mszrejder@imdik.pan.pl

Przez długie lata sądzono, że ATP pełni wyłącznie funkcje wewnątrzkomórkowego magazynu i nośnika energii. Dziś wiadomo, że ATP oraz inne nukleotydy i nukleozydy pełnią również funkcje zewnątrzkomórkowych cząsteczek sygnałowych oddziałujących na receptory nukleotydowe P2, wśród których wyodrębniono podgrupę receptorów metabotropowych P2Y sprzężonych z trójpodjednostkowymi białkami G. Obecność receptorów nukleotydowych wykazano na poszczególnych elementach bariery filtracyjnej m.in. podocytach, które odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu jej integralności. Dotychczasowe badania wskazują na potencjalną rolę receptorów nukleotydowych w rozwoju zaburzeń przepuszczalności filtru kłębuszkowego w przebiegu cukrzycy, w następstwie której dochodzi do uszkodzenia kłębuszków nerkowych [1]. W cukrzycy dochodzi również do zaburzenia homeostazy energetycznej, której głównym regulatorem jest kinaza białkowa AMP (AMPK) [2].

W niniejszych badaniach zbadano wpływ receptorów P2Y oraz AMPK na funkcję kłębuszkowej bariery filtracyjnej.

Doświadczenia przeprowadzono na kłębuszkach szczurów zdrowych (K) i szczurów z indukowaną farmakologicznie cukrzycą (STZ), którym podawano dootrzewnowo streptozotocynę (65 mg/kg m.c.). Drugim modelem badawczym była hodowla pierwotna szczurzych podocytów w warunkach standardowego stężenia D-glukozy (11,1 mM) (K), wysokiego stężenia D-glukozy (HG=30 mM) oraz z dodatkiem agonistów receptorów nukleotydowych P2Y: ATP (100 μM), ATP-γ-S, 2-MeS-ATP, MRS 2365, MRS 2768 (10 μM). Metodą Western blot sprawdzano ilości badanych białek, zarówno w kłębuszkach nerkowych, jak i podocytach, natomiast metodą immunofluorescencyjną oceniano wewnątrzkomórkową lokalizację białek w komórkach podocytarnych.

Badania wykazały zmniejszenie ilości białka AMPK u szczurów cukrzycowych w porównaniu do szczurów kontrolnych. Stwierdzono również spadek ilości białka receptorów purynowych P2Y w kłębuszkach cukrzycowych w stosunku do zdrowych: P2Y1 $K=0,42\pm0,05$; $STZ=0,11\pm0,03$ ($P<0,001$; $n=15$), P2Y2 $K=0,27\pm0,04$; $STZ=0,15\pm0,02$ ($P=0,018$; $n=12$) oraz P2Y4 $K=0,34\pm0,04$; $STZ=0,24\pm0,04$ ($n=12$). Ponadto wykazano zmniejszenie poziomu fosforylacji AMPK w podocytach hodowanych w warunkach wysokiego stężenia glukozy w porównaniu do warunków kontrolnych, a także znaczny wzrost fosforylacji w wyniku działania agonistów receptorów P2Y.

Otrzymane wyniki badań sugerują na powiązanie układu purynergicznego ze szlakiem komórkowym AMPK, których działanie ulega zaburzeniu w komórkach kłębuszka nerkowego, co może mieć kluczowe znaczenie w rozwoju glomerulopatii cukrzycowej.

Słowa kluczowe: AMPK, receptory nukleotydowe P2Y, kłębuszkowa bariera filtracyjna.

Piśmiennictwo:

[1] Kasztan M et al., Am J Physiol Renal Physiol. 2016, 311: F103-11

[2] Rogacka D et al., Int J Biochem Cell Biol. 2014, 51:120-30

Badania finansowane przez NCN (2014/14/E/NZ4/00358).

Rola kompleksu PRC1 w mechanizmie autofagii

Aleksandra Szustka, Agnieszka Zaczek, Anna Krześlak

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Cytobiochemii, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

aleksandra.szustka@biol.uni.lodz.pl

Autofagia jest mechanizmem degradacji wewnątrzkomórkowej, w którym składniki cytoplazmatyczne (np. uszkodzone lub przestarzałe organelle, pojedyncze białka lub agregaty) są degradowane przez lizosom. Produkty końcowe są wykorzystywane do produkcji energii lub syntezy nowych błon. Autofagia jest procesem czteroetapowym, na który składają się następujące fazy: (1) inicjacja i tworzenie fagoforu; (2) wydłużenie i zamknięcie fagoforu w celu utworzenia autofagosomu; (3) fuzja autofagosomu z lizosomem; (4) degradacja elementów komórkowych i recykling strawionych składników. Indukcja autofagii zależy od dostępności składników odżywczych (glukozy, aminokwasów), a także obecności insuliny lub czynników wzrostu.

Autofagia ma szczególne znaczenie w nowotworach, ale jej rola jest niejednoznaczna. Wykazano, że autofagia hamuje rozwój raka, szczególnie na wczesnych etapach inicjacji. Z drugiej strony, w późnych stadiach rozwoju nowotworu uważa się, że autofagia jest mechanizmem wspierającym jego progresję i przerzuty. W warunkach niedotlenienia autofagia przyczynia się do powstawania komórek nowotworowych o wysokim potencjale metastatycznym i opornych na terapie przeciwnowotworowe.

Ostatnie badania wskazują, że istotną rolę w regulacji procesu autofagii mogą odgrywać czynniki epigenetyczne, wpływające na ekspresję genów poprzez modyfikacje epigenetyczne histonów. Jednym z ważnych regulatorów epigenetycznych jest kompleks PRC1, odpowiedzialny za zahamowanie ekspresji wielu genów poprzez modyfikacje histonu H2A. W skład kompleksu PRC1 wchodzi: RING1B (RNF2), RING1A (RING1), BMI1, EDR1 (HPH1) i CBX4 (HPC2). RING1A, RING1B i BMI-1 są kluczowe dla funkcjonowania kompleksu PRC1.

Coraz więcej danych wskazuje, że nadekspresja BMI-1 w wielu ludzkich nowotworach koreluje z postępem choroby i niepowodzeniem terapii. Chociaż BMI1 odgrywa kluczową rolę w progresji nowotworowej, dokładny mechanizm molekularny, dzięki któremu przyczynia się do rozwoju raka i niepowodzenia terapii, pozostaje słabo poznany. Ostatnie badania sugerują, że BMI-1 może być zaangażowane w hamowanie autofagii w niektórych nowotworach. Poznanie mechanizmu epigenetycznej regulacji procesu autofagii może mieć istotną rolę w opracowaniu skuteczniejszych terapii antynowotworowych.

Słowa kluczowe: autofagia, epigenetyka, kompleks PRC1, BMI1, nowotwory.

Zmiany chemiczne zachodzące w pelargoniowych olejkach eterycznych pozyskanych z własnej uprawy *P. graveolens* w trakcie ich przechowywania

Adriana Szutt, Agnieszka Dolhańczuk-Śródka

Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, Instytut Biotechnologii, 45-040 Opole, pl. Kopernika 11a

adriana.szutt@uni.opole.pl

Gatunek *Pelargonium graveolens* należy do rodzaju *Pelargonium* wchodzącego w skład rodziny Geraniaceae. *P. graveolens* jest krzewem wywodzącym się z Południowej Afryki, sięgającym 1,3 m wysokości i 1,0 m szerokości. Jej głęboko powcinane, zielone liście są owłosione, miękkie w dotyku, a kwiaty małe, różowe, zebrane w baldachy. Gatunek ten jest uprawiany na szeroką skalę w wielu krajach świata, głównie w celu otrzymania olejku eterycznego, który powszechnie używany jest m.in. w aromaterapii, do produkcji perfum czy innych kosmetyków, a także w medycynie i farmacji. Olejki eteryczne wykorzystane w tych badaniach pozyskane były z liści jednorocznych pelargonii, które świeżo zebrane zostały rozdrobnione i bezzwłocznie przeniesione do aparatu Derynga, gdzie poddane zostały 3-godzinnej destylacji z parą wodną. Skład jakościowy i ilościowy otrzymanych substancji został zbadany za pomocą metody chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Przez okres kolejnych 9-ciu miesięcy skład ten był sprawdzany, a następnie przeanalizowany pod kątem zachodzących zmian w obrębie wykazanych związków chemicznych. Terpeny są najliczniejszą grupą związków produkowanych w roślinach, a w jej obrębie wyróżnić można m.in. monoterpeny i seskwiterpeny, na które to położono w tej pracy największy nacisk. Przeprowadzona analiza pokazała, że w trakcie przechowywania olejków eterycznych, ich skład zarówno jakościowy i ilościowy ulegał zmianie, co miało również wpływ na same walory zapachowe tych substancji, a co również, jak można przypuszczać, w końcowym efekcie przełoży się na zmianę innych właściwości olejków.

Słowa kluczowe: olejek eteryczny, *Pelargonium graveolens*, związki chemiczne, chromatografia gazowa.

Literatura:

1. Boukhris, M., Simmonds, M.S.J., Sayadi, S., Bouaziz, M. (2013). Chemical Composition and Biological Activities of Polar Extracts and Essential Oil of Rose-scented Geranium, *Pelargonium graveolens*. *Phytoth. Res.* 27: 1206–1213. doi: 10.1002/ptr.4853.
2. Verma, R.S., Verma, R. K., Yadav, A.K., Chauhan, A. (2010). Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Herit. ex Ait.) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand. *Ind. J. Nat. Prod. Res.* 1: 367-370.

Występowanie małżoraczków (Ostracoda) w okresowo wysychających wodach Prowincji Północno-Zachodniej RPA na tle czynników środowiskowych

Agata Szwarc, Malwina Sobisz, Tadeusz Namiotko

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Genetyki i Biosystematyki,
Pracownia Biosystematyki i Ekologii Bezkręgowców Wodnych, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

agata.szwarc@phdstud.ug.edu.pl

W Prowincji Północno-Zachodniej RPA Rezerwat Przyrody Barberspan jest jednym z najważniejszych obszarów cennych przyrodniczo objętym Konwencją Ramsarską. Samo jezioro Barberspan (zasadnicza część Rezerwatu), zasilane przez dopływ wód rzeki Harts, jest największym (wtórnie) stałym zbiornikiem wodnym (choć okresowo znacznie podsychającym) w tym półpustynnym regionie. Pomimo tego iż w okolicy nie występują stałe rzeki ani strumienie, Rezerwat otoczony jest setkami sezonowych zbiorników okresowo wysychających, niemal zupełnie nie poznanych pod względem zasiedlających je bezkręgowców.

Celem badań była ocena zależności pomiędzy składem gatunkowym i strukturą dominacyjną zgrupowań małżoraczków (Ostracoda) a warunkami środowiskowymi panującymi w jeziorze Barberspan i wodach okresowo wysychających w okolicach Rezerwatu.

Łącznie z 18 stanowisk badawczych zebrano 16 632 osobniki należące do 12 różnych gatunków. Najbardziej licznymi były *Heterocypris giesbrechti* (6 747 osobników – 41% całego materiału) oraz *Plesiocypridopsis newtoni* (4 458 osobników – 27%). Bazując na analizach zoocenologicznych wyróżniono na podstawie klasyfikacji UPGMA i skalowania wielowymiarowego MDS dwa główne zespoły słodkowodnych małżoraczków: zespół A na podstawie dominacji *Heterocypris giesbrechti* i *Plesiocypridopsis newtoni* (67%) oraz zespół B zdominowany przez *Potamocypris mastigophora* (21%). Analizy głównych składowych PCA i głównych współrzędnych PCO wykazały, iż struktura taksonomiczna zgrupowań była zależna głównie od konduktywności elektrycznej wody. *Heterocypris giesbrechti* i *Plesiocypridopsis newtoni* dominowały w zbiornikach bardziej zasolonych o wyższych wartościach konduktywności (1 101-16 760 $\mu\text{S}/\text{cm}$), podczas gdy w wodach o konduktywności poniżej 1 123 $\mu\text{S}/\text{cm}$ najbardziej pospolity był *Potamocypris mastigophora*. W badanym materiale odnaleziono prawdopodobnie nowe dla nauki gatunki małżoraczków.

Wody okresowo wysychające, pomimo swojego ogromnego znaczenia ekologicznego, są jednym z najbardziej zagrożonych i wciąż niewystarczająco poznanych ekosystemów, stąd badania tych wyjątkowo nieprzewidywalnych siedlisk są bardzo istotne.

Słowa kluczowe: małżoraczki, taksonomia, bioróżnorodność, Barberspan, wody okresowo wysychające.

Pozycja socjalna różnicuje spożycie sacharozy u szczurów z modelem sporadycznej postaci choroby Alzheimera

Grzegorz Świątek, Joanna Dunacka, Daria Łuniewska, Marcin Wyroślak, Justyna Marchewka, Mariola Gralek, Wojciech Glac, Paweł Matulewicz, Danuta Wrona

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Polska

grzegorz.swiatek@phdstud.ug.edu.pl

Cel pracy. Ocena preferencji sacharozy jako wyznacznika anhedonii w kontekście rozwoju zachowań depresyjnych po indukcji modelu sporadycznej postaci choroby Alzheimera (sAD) u szczurów o zróżnicowanej wrażliwości na stres, mierzonej pozycją socjalną – dominującą (D) lub submisywną (S).

Materiał i metody. W badaniu wykorzystano 20 samców niekrewniaczego stada Wistar. Po 14-dniowym procesie osuwania zwierząt (Handling), zostały poddane testowi interakcji socjalnych. W klatce domowej umieszczano 2 szczury, a następnie przez 20 minut obserwowano liczbę ofensywnych i defensywnych zachowań we wszystkich interakcjach. Na bazie współczynnika agresji (stosunek wszystkich zachowań ofensywnych do defensywnych) szczury rozdzielono na dominujące (D) lub submisywne (S). Test preferencji sacharozy (7 kolejnych dni) wykonano dwukrotnie: w warunkach bazalnych oraz w 45 dniu po indukcji modelu sAD, metodą dokomorowej mikroiniekcji streptozotocyny (i.c.v. – STZ). W klatkach domowych szczurów umieszczono butle z wodą, butle z 2% (pierwsze 3 dni) oraz 4% (4 następne dni) roztworem sacharozy, określając procentowy współczynnik spożycia sacharozy.

Wyniki. W 45 dniu od indukcji modelu choroby zaobserwowano istotnie statystycznie ($p \leq 0,05$) wyższe spożycie sacharozy u szczurów D STZ (D STZ 45) w dniach 1 ($96,7 \pm 1,6\%$), 4 ($95,9 \pm 3,13\%$), 5 ($97,03 \pm 2,03\%$) i 6 dniu testu ($93,67 \pm 2,53\%$) względem tożsamyh szczurów przed wywołaniem modelu sAD (D STZ 0). Podobną istotną statystycznie ($p \leq 0,05$) zależność zaobserwowano dla szczurów S STZ (S STZ 45) jedynie w 1 dniu ($94,3 \pm 1,64\%$) oraz 6 dniu testu ($91,06 \pm 2,75\%$). Ponadto, zanotowano istotne statystycznie różnice ($p \leq 0,05$) spożycia sacharozy u szczurów dominujących po 45 dniach od indukcji modelu sAD a kontrolą (VEH) w 1 dniu (D VEH 45: $82,8 \pm 7,38\%$), 2 dniu (D STZ 45: $92,28 \pm 1,93\%$; D VEH 45: $84,35 \pm 5,12\%$), 4 dniu (D STZ 45: $95,9 \pm 3,13\%$; D VEH 45: $89,8 \pm 11,84\%$), 5 dniu (D STZ 45: $97,03 \pm 2,03\%$; D VEH 45: $90,24 \pm 4,68\%$) i 6 dniu testu (D VEH 45: $86,78 \pm 5,29\%$). Podobną zależność ($p \leq 0,05$) u zwierząt submisywnych zaobserwowano jedynie w 1 dniu testu (S STZ 45: $94,3 \pm 2,09\%$; S VEH 45: $85,82 \pm 7,04\%$). Istotnie ($p \leq 0,05$) wyższą preferencję sacharozy notowano wśród szczurów dominujących grupy kontrolnej VEH (45) względem grupy tożsamej przed iniekcją buforu (VEH 0) w dniu 4 (D VEH 45: $89,8 \pm 11,84\%$; D VEH 0: $82,05 \pm 7,45\%$), 6 (D VEH 45: $86,78 \pm 5,29\%$; D VEH 0: $75,2 \pm 6,47\%$) i 7 dniu testu (D VEH 45: $92,4 \pm 3,69\%$; D VEH 0: $82,36 \pm 7,58\%$). Podobną relację ($p \leq 0,01$) obserwowano u szczurów submisywnych tylko w dniu 6 (S VEH 45: $90,65 \pm 1,85\%$; S VEH 0: $81,01 \pm 3,7\%$). Istotny wpływ ($p \leq 0,05$) różnic behawioralnych (D vs. S) obserwowano jedynie w 1 dniu testu w warunkach bazalnych, przed indukcją modelu sAD, gdzie wyższy współczynnik preferencji sacharozy wykazały szczury submisywne w porównaniu z grupą dominującą.

Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują, że zróżnicowanie behawioralne pod względem pozycji socjalnej różnicuje spożycie sacharozy – wskaźnika poziomu anhedonii: w 45 dniu od indukcji sAD szczury dominujące wykazują zwiększoną preferencję sacharozy, natomiast w warunkach bazalnych większą preferencję sacharozy wykazują szczury submisywne. Sugeruje to, że pozycja socjalna różnicuje poziom anhedonii u szczurów i może być markerem zaburzeń depresyjnych, obserwowanych w chorobie Alzheimera.

Słowa kluczowe: Choroba Alzheimera, Streptozotocyna, Anhedonia, Depresja.

Fitokumulacja metali ciężkich w ziołach

Małgorzata Rajfur, Paweł Świsłowski

*Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo - Techniczny, Instytut Biotechnologii, ul. Kardynała Kominka 6, 6a,
45-032 Opole*

swislowski@gmail.com

Celem przeprowadzonych badań była ocena fitokumulacji metali ciężkich w wybranych ziołach. W badaniach wykorzystano pięć gatunków ziół: *Mentha×piperita* L., *Thymus vulgaris* L., *Taraxacum officinale* F.H. Wigg., *Equisetum arvense* L. i *Urtica dioica* L., pobranych z miejsc narażonych na różny stopień antropopresji. Do badań pobrano także próbki gleby. W roślinach zielarskich po mineralizacji w mineralizatorze mikrofalowym oznaczono wybrane metale ciężkie: Ni, Cu, Zn, i Pb z wykorzystaniem aparatu do absorpcyjnej spektrometrii atomowej firmy Thermo Eceltron Corporation (USA), model iCE 3500. Wyniki przeprowadzonych badań zinterpretowano wykorzystując współczynnik fitokumulacji (WF). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono m.in., że rośliny zielarskie można zakwalifikować do dwóch grup pod względem podobieństwa akumulacji metali ciężkich. Dodatkowo, większość ziół wykazywała się średnim stopniem akumulacji analitów.

Słowa kluczowe: zioła, fitokumulacja, metale ciężkie.

Procedura oceny oddziaływania na środowisko „Drogi wodnej łączącej Zalew Wiślany z Zatoką Gdańską – lokalizacja Nowy Świat” (Przekop Mierzei Wiślanej) jako przykład wpływu autorytarnej władzy na etapie przygotowywania inwestycji o negatywnym oddziaływaniu na środowisko przyrodnicze

Szymon Świtajski

*Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii/Instytut Geografii, Katedra Gospodarki Przestrzennej,
ul. Bażyńskiego 4, 80-309 Gdańsk*

szymon.switajski@phdstud.ug.edu.pl

Procedura oceny oddziaływania na środowisko (OOS) jest jedyną procedurą administracyjną, w czasie której planowane przedsięwzięcie zostaje poddane ocenie pod kątem jego potencjalnego wpływu na środowisko przyrodnicze, oraz jedyną procedurą, w której może wziąć udział społeczeństwo i organizacje ekologiczne jako strony postępowania. Obowiązek przeprowadzenie tej procedury wynika z Dyrektyw UE, do których zastało przystosowane polskie prawo w zakresie przygotowywania inwestycji.

Procedura OOS planowanego przedsięwzięcia „Droga wodna łącząca Zalew Wiślany z Zatoką Gdańską – lokalizacja Nowy Świat” (Przekop Mierzei Wiślanej) związana z wnioskiem o uzyskanie decyzji o środowiskowych uwarunkowaniach jest przykładem wykorzystywania przepisów prawa ochrony środowiska w celu realizacji celów politycznych, bez uwzględnienia potencjalnych strat w środowisku przyrodniczym.

Najistotniejsze błędy i uchybienia w przeprowadzonym postępowaniu to:

- raport o oddziaływaniu na środowisko wykonany został błędnie lub wręcz z pominięciem wielu istotnych elementów środowiska przyrodniczego, na jego podstawie nie ma więc możliwości dokonania właściwej i rzetelnej oceny oddziaływania na środowisko, przede wszystkim brak oceny oddziaływania na ssaki: foki i morświny;
- niepełna i nierzetelna ocena oddziaływania na obszary Natura 2000, brak faktycznej oceny, a zawarta w Raporcie pozytywna ocena, uchyliła obowiązek wystąpienia o zgodę Komisji Europejskiej na przeprowadzenie negatywnie oddziałującej inwestycji na obszarze Natura 2000;
- nierzetelnie i nieskutecznie przeprowadzone konsultacje społeczne, brak jest uwzględnienia większości kluczowych wniosków i opinii ze strony społeczeństwa i organizacji ekologicznych, popartych opiniami naukowymi.

Przedstawione powyżej wybrane elementy postępowania OOS, potwierdzają, że zgodnie z ogólnie przyjętym schematem postępowania, który wynika z przepisów prawa, jego ducha i litery, dla planowanego przedsięwzięcia nie powinna być wydana zgoda na realizację w postaci decyzji o środowiskowych uwarunkowaniach, co w konsekwencji oznacza, że przeprowadzona degradacja środowiska w postaci likwidacji drzewostanu w rejonie planowanego przekopu jest nielegalna.

Słowa kluczowe: ocena oddziaływania na środowisko, Przekop Mierzei Wiślanej, system ocen oddziaływania na środowisko, Natura 2000, zarządzanie środowiskiem, Regionalna Dyrekcja Ochrony Środowiska, decyzja o środowiskowych uwarunkowaniach, planowane przedsięwzięcie.

Zastosowanie nowo wyizolowanych bakteriofagów w celu monitorowania wzrostu i zwalczania biofilmu bakteryjnego

Gracja Topka¹, Sylwia Bloch¹, Bożena Nejman-Faleńczyk¹, Agata Jurczak-Kurek³, Aleksandra Dydecka¹, Agnieszka Necel¹, Grzegorz Węgrzyn¹, Alicja Węgrzyn²

¹ Department of Molecular Biology, University of Gdańsk, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Poland.

² Institute of Biochemistry and Biophysics of Polish Academy of Sciences, Kładki 24, 80-822 Gdańsk, Poland.

³ Department of Molecular Evolution, University of Gdańsk, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Poland.

gracja.topka@phdstud.ug.edu.pl

Biofilm bakteryjny w najprostszym tłumaczeniu definiowany jest jako wysoce zorganizowane skupisko bakterii otoczone białkowo-polisacharydową substancją – macierzą, która stanowi ok. 85% tej struktury. Biofilmy mogą stanowić poważne zagrożenie m.in. dla zdrowia człowieka, ponieważ w tej fazie bakterie stają się nie tylko niedostępne dla środków przeciwbakteryjnych i układu odpornościowego organizmu, ale również stanowią rezerwuuar bakterii dla przewlekłych infekcji w całym organizmie. Komórki mikroorganizmów stanowiące część biofilmu, są blisko 1000 razy bardziej odporne na działanie substancji toksycznych (środki dezynfekujące, antybiotyki, surfaktanty) niż te pozostające w zawiesinie. Atakowanie dojrzałych biofilmów za pomocą konwencjonalnych antybiotyków jest więc niewystarczające i wymaga znacznie większych dawek leków niż zwykle. Niewydolność penetracji może być związana z różnymi czynnikami, w tym z osłoną pozakomórkową, rozwojem oporności wielolekowej bakterii w biofilmie oraz trybem skupienia komórek. Biofilm może powstawać m.in. w rurach kanalizacyjnych, kranach, naczyniach, maszynach przemysłowych, protezach, soczewkach, zębach czy ranach. Zasadniczo biofilm może się pojawić na dowolnej powierzchni, która ma kontakt z bakteriami i dostateczną ilość wody.

W związku z wzrastającą antybiotykoodpornością wśród bakterii oraz zdolnością wytwarzania przez dużą część tych drobnoustrojów trudnego do zwalczania biofilmu, postanowiliśmy sprawdzić, czy nowo wyizolowane przez nasz zespół bakteriofagii są w stanie zwalczyć biofilm bakteryjny. W tym celu wykonaliśmy szereg doświadczeń na biofilmach bakteryjnych m.in.: pomiar gęstości optycznej biofilmu bakteryjnego, ocenę aktywności metabolicznej komórek biofilmów za pomocą resazuryny, analizę gęstości optycznej biofilmu bakteryjnego (analiza densytometryczna) czy ocenę biomasy biofilmu za pomocą barwienia fioletem krystalicznym (CV). Do badań wykorzystaliśmy dwa bakteriofagi: vB-EcoS-95 oraz vB_Efae-271.

Z badań wynika, że:

1. vB-EcoS-95 jest nowym fagiem infekującym komórki *E. coli*, który może zostać zastosowany w celu kontrolowania tworzenia się biofilmów bakteryjnych wytwarzanych przez bakterie *E. coli*.

2. Bakteriofag vB_Efae-271 jest nowym fagiem infekującym kliniczne szczepy *E. faecalis*, odporne na działanie niektórych antybiotyków, który może zostać zastosowany w celu kontrolowania tworzenia się biofilmów bakteryjnych, bądź ich zwalczania.

Otrzymane wyniki wskazują, że oba bakteriofagi zdolne są do hamowania wzrostu bądź zwalczania biofilmu bakteryjnego. Daje to szereg możliwości wykorzystania właściwości badanych fagów w lecznictwie (fagoterapia) oraz przemyśle biotechnologicznym.

Słowa kluczowe: bakteriofagii, biofilm bakteryjny, fagoterapia, antybiotykooporność, *E. faecalis*.

Optimalizacja metody oznaczania metabolitów amin katecholowych w ślinie ludzkiej

Małgorzata Waclawik, Paulina Dąbrowska, Bartosz Wielgomas

Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Toksykologii, al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

gosia.waclawik@gmail.com

Aminy katecholowe są substancjami odgrywającymi bardzo istotną rolę w przekaznictwie nerwowym w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Efekt, jaki wywołują ma między innymi przygotować organizm do intensywnego wysiłku, służyć regulacji hormonalnej czy kontroli motorycznej.

Celem opisywanych badań była optymalizacja i walidacja metody oznaczania HVA i MHPG w ślinie ludzkiej za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas.

W ramach opisywanych badań zoptymalizowano zarówno proces derywatywacji, rozdziału chromatograficznego, jak i detekcję oznaczanych substancji w ślinie ludzkiej.

Za najbardziej wydajną uznano derywatyzację przeprowadzaną z użyciem MSTFA i pirydyny, trwającą 30 minut w temperaturze 80°C. Najbardziej dogodną temperaturą dozownika okazało się być 250°C. Objętość próbek, jaką nastrzykiwano na układ chromatograficzny, ustalono na 2 µl. Ustalono że najbardziej optymalnym trybem nastrzyku próbki jest ten bez podziału strumienia gazu nośnego. Celem uzyskania jak najbardziej precyzyjnej i selektywnej detekcji oznaczanych analitów dla każdej substancji i wzorca wewnętrznego ustalono pary jonów, które powstają po rozpadzie danego związku, a dla których w ustalonym czasie retencji detektor rejestruje emitowany przez nie sygnał.

Walidacja metody, przeprowadzana zgodnie z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków obejmowała ocenę precyzji, dokładności, trwałości, efektu przeniesienia analitu oraz wpływu wykorzystywanej matrycy dla HVA i MHPG.

Precyzja walidowanej metody spełnia wymagania postawione w dokumencie Europejskiej Agencji Leków, zarówno w obrębie jednej serii (powtarzalność), jak i na przestrzeni kilku dni (odtwarzalność). Obliczona dokładność wyników (szczególnie dla HVA) sygnalizuje potrzebę dopracowania opisywanej metody. Ślina, która była matrycą biologiczną używaną podczas doświadczeń, nie wywiera znaczącego wpływu na wyniki. Nie wykazano występowania efektu przeniesienia analitu. Spośród oznaczanych metabolitów MHPG charakteryzuje się stabilnością wyników w czasie, co pozwala wnioskować o jego trwałości. Niestety, nie można stwierdzić tego samego o wynikach uzyskiwanych dla HVA.

Doświadczenia pozwoliły na wyciągnięcie wielu wniosków dotyczących oznaczenia HVA i MHPG w ślinie ludzkiej za pomocą GC/MS, co umożliwiło zoptymalizowanie wielu etapów tego procesu. Metoda, choć w pewnym zakresie dopracowana, nadal posiada słabe punkty, których ulepszenie wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

Słowa kluczowe: ślina ludzka, HVA, MHPG, chromatografia gazowa, spektrometria mas.

Terapia obniżenia wydajności syntezy substratu z zastosowaniem biochaniny A w mysim modelu mukopolisacharydozy typu I

Magdalena Węsierska, Marcelina Malinowska, Joanna Jakóbkiewicz-Banecka

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biologii i Genetyki Medycznej, Pracownia Genomiki i Genetyki Człowieka, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

magdalena.wesierska@phdstud.ug.edu.pl

Mukopolisacharydoza typu I to wrodzona wada metabolizmu, której przyczyną są mutacje w genie *IDUA*, kodującym α -L-iduronidazę. Deficyt tej lizosomalnej hydrolazy prowadzi do zaburzeń katabolizmu glikozoaminoglikanów (GAG), co skutkuje niewydolnością metaboliczną komórek. U chorych dochodzi do stopniowego uszkodzenia tkanek i dysfunkcji układów, w tym ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Stosowane obecnie strategie terapeutyczne oparte są przede wszystkim na dostarczaniu aktywnego enzymu lizosomalnego do komórek w postaci enzymatycznej terapii zastępczej (ETZ) lub transplantacji szpiku kostnego. Wykorzystanie niskocząsteczkowych związków zdolnych do hamowania procesu syntezy GAG w komórkach osób chorych przy jednoczesnym przekraczaniu bariery krew-mózg to założenie odmiennego podejścia terapeutycznego jakim jest metoda oparta na obniżaniu syntezy substratu (ang. SRT - substrate reduction therapy). Do takich związków należy m.in. biochanina A, która skutecznie obniża wydajność syntezy GAG w mysich fibroblastach MPS I. Ulega ona konwersji do genisteiny, flawonoidu który znalazł zastosowanie w terapii MPS III, przy czym w warunkach *in vitro* wykazuje znacząco niższy efekt antyproliferacyjny i nie wywołuje efektu cytotoksycznego.

Myszom MPS I oraz typu dzikiego (WT), obojga płci, podawano biochaninę A w dawkach 5 i 15 mg/kg masy ciała/dzień. W 16 tygodniu terapii wykonano test otwartego pola, a następnie zwierzęta poddano eutanazji, aby w pobranych organach oznaczyć poziom spichrzania GAG.

W teście otwartego pola samce MPS I rzadziej eksplorują potencjalnie stresogenne centrum areny w porównaniu do samców WT. Obniżona jest również ich aktywność lokomotoryczna. Parametry te nie ulegają normalizacji po terapii biochaniną A. Hiperaktywne samice MPS I, u których zaburzona jest odpowiedź na stres, częściej i dłużej, niż samice zdrowe, eksplorują centrum areny. Po okresie adaptacji do nowego środowiska (15-30 min), myszy te pokonują także dłuższy dystans i stają się bardziej ruchliwe. Samice MPS I, jak i WT, które otrzymywały biochaninę A, niezależnie od dawki, silniej przejawiają naturalną dla gryzoni chęć utrzymania kontaktu ze ścianami areny, tzw. tigmotaksję, niż samice z grup kontrolnych. Zwierzęta MPS I, obojga płci, spichrzają w mózgu, wątrobie i śledzionie znacząco więcej GAG niż myszy zdrowe. Zaobserwowano wzrost poziomu GAG w mózgu myszy WT, które otrzymywały biochaninę A w dawce 5 mg/kg m. c./dzień. Zastosowanie flawonoidu w dawce 15 mg/kg m. c./dzień skutkowało zmniejszeniem ilości makrocząsteczek akumulowanych w mózgu chorych samców. Doprowadziło także do znaczącego obniżenia ilości GAG w wątrobie myszy zarówno chorych, jak i zdrowych, obojga płci. Co więcej, poziom ten jest kilkukrotnie niższy od poziomu fizjologicznego obecnego u zwierząt WT w grupie kontrolnej. Terapia biochaniną A w dawce 5 mg/kg m. c./dzień pozwala istotnie zmniejszyć ilość substratu w śledzionie myszy chorych obojga płci. Co ciekawe, zwiększenie dawki wywołuje niższy efekt terapeutyczny.

Długoterminowa terapia biochaniną A w dawce 15 mg/kg masy ciała/dzień pozwala znacząco obniżyć ilość GAG spichrzanych w wątrobie zwierząt, nie wywołując przy tym efektów ubocznych. Jednakże, biorąc pod uwagę złożony metabolizm związku oraz możliwość wytrącania w płynie otrzewnowym, aby potwierdzić bezpieczeństwo zastosowania biochaniny A jako czynnika aktywnego w SRT, niezbędne są szczegółowe analizy farmakokinetyczne.

Słowa kluczowe: MPS I, glikozoaminoglikany, terapia SRT, biochanina A

Interakcje przestrzenne ssaków ziemnowodnych

Zuzanna Wikar

*Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ekologii i Zoologii Kręgowców, ul. Wita Stwosza 59,
80-308 Gdańsk*

zuzanna.wikar@gmail.com

Bobry są jednymi z nielicznych gatunków zdolnych do znacznego przekształcania ekosystemów, zarówno pod względem geomorfologicznym, jak i hydrologicznym. Ich wpływ obejmuje szerokie spektrum organizmów – od roślin, poprzez bezkręgowce, niższe gromady kręgowców, aż po inne ssaki, w tym ziemnowodne. Same konstrukcje bobrowe mogą stanowić atrakcyjne kryjówki dla innych zwierząt. Bobry, wydry, norki amerykańskie i piżmaki często współwystępują razem, a wysokie zagęszczenia populacji bobrów wpływają pozytywnie na zagęszczenia pozostałych gatunków. Znane są jednak antagonistyczne interakcje pomiędzy wymienionymi ssakami. Norki amerykańskie wywierają silną presję drapieżniczą na piżmaki, a także na rodzime karczowniki ziemnowodne. Szczątki tych ostatnich znajdowane były także jako dodatek w pokarmie wydr.

Celem badań jest ustalenie wpływu obecności bobrów na rozmieszczenie, aktywność oraz zewnątrz- i wewnątrzgatunkowe interakcje wydr, norek amerykańskich, piżmaków oraz karczowników ziemnowodnych.

Badania prowadzone są od grudnia 2018 r. w rezerwacie przyrody „Jezioro Drużno”, na którego terenie stwierdzono występowanie wszystkich badanych gatunków ssaków ziemnowodnych. Rezerwat ten stanowi optymalne siedlisko dla bobrów i jest miejscem jednego z największych w Polsce zagęszczeń tego ssaka.

Na terenie rezerwatu rozwieszono 6 fotopułapek ustawionych w trybie nagrywania filmów. 3 z nich umieszczone są przy żeremiach bobrowych, 3 pozostałe w wybranych arbitralnie punktach kontrolnych oddalonych o 100 m od najbliższych stanowisk bobrów. Prowadzone są także tropienia, podczas których wszystkie przejawy aktywności w postaci odchodów, tropów oraz śladów żerowania są zapisywane przy pomocy odbiornika GPS. Odchody ssaków ziemnowodnych są zbierane w celu późniejszej analizy składu pokarmu. Jako narzędzia pomocnicze w badaniu aktywności wykorzystane zostaną także pływające platformy z gliną, które także będą umieszczane przy żeremiach oraz w punktach kontrolnych.

Wstępne wyniki badań wskazują na wyższą aktywność badanych ssaków w pobliżu żeremi, niż w większej odległości od nich.

Słowa kluczowe: zależności, gatunki zwornikowe, komensalizm, konkurencja, drapieżnictwo.

Fotokatalityczne oczyszczanie wody z wykorzystaniem półprzewodników bizmutowych (BiOX, X=Cl, Br, I oraz Bi₂O₂CO₃)

Patrycja Wilczewska, Agnieszka Fiszka Borzyszkowska, Aleksandra Bielicka-Gieldoń, Ewa Maria Siedlecka

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Technologii Środowiska, Zakład Procesów Zaawansowanego Utleniania, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

patrycja.wilczewska@phdstud.ug.edu.pl

Usuwanie zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych jest możliwa dzięki zastosowaniu fotokatalizy heterogenicznej będącej metodą zaawansowanego utleniania (AOP – advanced oxidation process). Procesy fotokatalityczne umożliwiają generowanie *in situ* silnych utleniających indywiduów chemicznych, np. rodników hydroksylowych. Rodniki hydroksylowe wchodzą w sposób nieselektywny w reakcje rodnikowe z niemalże wszystkimi związkami organicznymi, utleniając je do prostych związków takich jak niskocząsteczkowe kwasy organiczne. Dodatkowo fotogenerowane elektrony z wysoką skutecznością redukują toksyczne jony metali ciężkich.

Półprzewodniki bizmutowe, do których należą halogenki bizmutylu (BiOX) i węglan bizmutylu (Bi₂O₂CO₃) to nowa klasa fotokatalizatorów charakteryzujących się wysoką aktywnością

w zakresie promieniowania UV, UV-vis i Vis. Posiadają strukturę krystaliczną składającą się z warstw [Bi₂O₂]²⁺ oraz jonów X⁻ (X=Cl, Br, I) lub CO₃²⁻. Są one nietoksycznymi, stabilnymi chemicznie i odpornymi na korozję półprzewodnikami. W zakresie promieniowania ultrafioletowego najwyższą aktywność fotokatalityczną wykazują BiOCl i Bi₂O₂CO₃. W całym spektrum promieniowania najskuteczniejszym półprzewodnikiem jest BiOBr, a w zakresie widzialnym BiOI.

W przedstawionych badaniach aktywność zsyntezowanych fotokatalizatorów określono poprzez fotoutlenianie Rodaminy B jako modelowego barwnika oraz fotoredukcję jonów chromu (VI), który pełnił rolę modelowego metalu ciężkiego. Dodatkowo zbadano stopień degradacji mikrozanieczyszczenia aktywnego biologicznie i opornego na konwencjonalne metody oczyszczania ścieków 5- fluorouracylu, będącego lekiem przeciwnowotworowym. Stopień degradacji mikrozanieczyszczeń pod wpływem promieniowania z zakresu UV-Vis oznaczono w oparciu o szybkość ich usuwania metodą spektroskopową (Rodamina B, jony chromu (VI) oraz chromatograficzną (5-fluorouracyl). Przeprowadzono również szczegółową charakterystykę optyczną i morfologiczną półprzewodników bizmutowych.

Fotokatalityczne oczyszczanie wody wykazuje wysoki potencjał aplikacyjny, lecz wymaga dalszej optymalizacji, tak aby możliwe było wprowadzenie dodatkowego (fotokatalitycznego) etapu oczyszczania ścieków z groźnych substancji organicznych i nieorganicznych.

Badania zostały sfinansowane w ramach programu Rozwoju Doktorantów i Młodych Doktorów BMN 538-8620-B301-18 oraz 538-8620-B328-18.

Słowa kluczowe: fotokataliza, halogenki bizmutylu, węglan bizmutylu, zaawansowane metody utleniania, AOPs.

Wpływ poziomu ekspresji systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego EcoRI na efektywność restrykcji inwazyjnego DNA

Karolina Wilkowska, Krzysztof Parniawski, Marian Sęktas

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

karolina.wilkowska@phdstud.ug.edu.pl

Systemy restrykcyjno-modyfikacyjne (R-M) należą do najbardziej rozpowszechnionych bakteryjnych mechanizmów obronnych przed wniknięciem inwazyjnego DNA, takim jak np. wirusowy, ale też wszelkiego rodzaju materiał genetyczny przenoszący się poprzez drogi horyzontalnego transferu genów. Na systemy R-M składają się dwa białka, rozpoznające i oddziaływujące z przypisaną dla danego systemu sekwencją specyficzną. Pierwszym z nich jest endonukleaza restrykcyjna, która przecina nić DNA w obrębie tej sekwencji, a drugim – metylotransferaza DNA, która poprzez wprowadzenie w niej modyfikacji, czyni ją niepodatną na cięcie przez endonukleazę. Prawidłowe funkcjonowanie systemu R-M zapewnione jest wtedy, kiedy metylotransferaza w pełni chroni chromosomalny DNA, a endonukleaza restrykcyjna degradowuje każdy DNA pochodzenia inwazyjnego. Poziom produkcji obu białek determinuje efektywność restrykcji tego rodzaju DNA.

Celem naszej pracy było zbadanie, jak poziom produkcji endonukleazy i metylotransferazy systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego EcoRI, pochodzącego z *Escherichia coli*, wpływa na efektywność restrykcji inwazyjnego DNA, którym był bakteriofag λ . Relacja ta była badana w warunkach niskiego, jak i wysokiego poziomu produkcji obu białek, co było obrazowane poprzez technikę immunodetekcji western blotting. Okazało się zaskakującym, że wysoki poziom produkcji białek systemu R-M zapewnia znacznie niższą efektywność restrykcji, w przeciwieństwie do przypadku niskiego poziomu produkcji, gdzie restrykcja inwazyjnego DNA była bardzo wydajna. Kolejnym etapem projektu było wykazanie przyczyn, które warunkują różnicę w poziomie produkcji białek systemu R-M EcoRI pomiędzy oboma badanymi plazmidami, oceniając poziom ekspresji poszczególnych genów systemu R-M, jak i siłę jego promotorów. Dodatkowo został zbadany wpływ toksyczności endonukleazy restrykcyjnej, której wysoki poziom przyczyniał się do autorestrykcji i indukcji odpowiedzi komórkowej SOS, co objawiało się zaburzeniem morfologii komórek, tworzących filamenty. Jednak, zapewnienie dodatkowego źródła ochronnej metylacji niwelowało ten efekt, co wykazało jak ważna jest równowaga pomiędzy oboma enzymami, by te funkcjonowały właściwie.

Wyniki naszych badań wskazują, że równowaga pomiędzy metylacją a restrykcją jest podatna na choćby najmniejsze zmiany w stężeniu metylotransferazy DNA i endonukleazy restrykcyjnej. Wysoki poziom produkcji metylotransferazy zapewnia pełną protekcję chromosomu gospodarza, ale zarazem ogranicza efektywność działania endonukleazy DNA wnikającej do komórki. Celem niniejszych badań było pogłębienie wiedzy na temat biologii systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych, ich funkcjonowania i utrzymywania się w komórkach gospodarza, ale też tematu relacji pomiędzy bakteriami a ich infekującymi wirusami.

Słowa kluczowe: autorestrykcja DNA, genetyka bakterii.

Wpływ niklu na aktywność enzymów antyoksydacyjnych i powstawanie reaktywnych form tlenu w siewkach ogórka

Aleksandra Witusińska, Patrycja Kopa, Ewa Gajewska

*Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki,
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

aleksandra.witusinska@biol.uni.lodz.pl

Nikiel (Ni) jest mikroelementem w niewielkich dawkach korzystnie wpływającym na wzrost roślin, jednak jego wysokie stężenia mogą wywoływać efekty toksyczne. Uważa się, że jednym z najważniejszych czynników leżących u podstaw fitotoksyczności Ni jest wywoływany przez niego stres oksydacyjny. Jest to stan braku równowagi pomiędzy wytwarzaniem a neutralizacją reaktywnych form tlenu (RFT) przez system antyoksydacyjny komórki. Nadmiar RFT w komórce może prowadzić do oksydacyjnych uszkodzeń ważnych dla roślin makrocząsteczek takich jak białka czy lipidy. Oprócz przeciwutleniaczy niskocząsteczkowych, takich jak: kwas askorbinowy, tokoferol lub β -karoten układ antyoksydacyjny współtworzą wyspecjalizowane enzymy antyoksydacyjne. Do najważniejszych z nich należą: dysmutaza nadadtlenkowa (SOD) biorąca udział w usuwaniu anionorodnika nadadtlenkowego oraz katalaza (CAT) i peroksydaza askorbinianowa (APX) rozkładające nadtlenek wodoru.

Celem pracy było zbadanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych i poziomu RFT w liściach siewek ogórka traktowanych Ni, w odniesieniu do wpływu tego metalu na wzrost i jego akumulację w tkankach tych organów.

Materiał do badań stanowiły siewki ogórka odm. Cezar uprawiane metodą hydroponiczną na pożywce Hoaglanda zawierającej 0 (kontrola) lub 10 μ M Ni. Po 14 dniach w próbkach z liścia I i II oznaczano aktywność CAT, APX oraz SOD. Dodatkowo mierzono biomasę liści, oznaczano zawartość Ni i wykonywano histochemiczną detekcję anionorodnika nadadtlenkowego i nadttlenku wodoru w tych organach.

Ekspozycja siewek ogórka na 10 μ M Ni wywołała spadek biomasy I i II liścia, odpowiednio o 46% i 71% w porównaniu do kontroli. Dodatek Ni do pożywki spowodował 148-krotny wzrost zawartości tego pierwiastka w liściu I oraz 51-krotny w liściu II. W liściu I siewek ogórka traktowanych Ni odnotowano 30% wzrost aktywności APX oraz 35% spadek aktywności CAT. W liściu II aktywność tych enzymów nie zmieniła się istotnie. Aktywność SOD nie uległa zmianie po traktowaniu metalem. Potraktowanie siewek ogórka Ni spowodowało zwiększoną produkcję anionorodnika nadadtlenkowego oraz nadttlenku wodoru w liściach tych roślin, przy czym większa ich akumulacja wystąpiła w liściu I.

Wyniki wskazują, że Ni powoduje zaburzenie równowagi pro- i antyoksydacyjnej w siewkach ogórka, o czym świadczą zmiany w aktywności enzymów antyoksydacyjnych i wzrost poziomu RFT. Zmiany te były obserwowane w większym stopniu w liściu I, charakteryzującym się jednocześnie większą akumulacją Ni, jednak silniejsze zahamowanie wzrostu stwierdzono w liściu II. Wzrost aktywności APX w liściu I wskazuje na zaangażowanie tego enzymu w regulację stężenia nadttlenku wodoru w warunkach stresu wywołanego toksycznym działaniem Ni.

Słowa kluczowe: nikiel, enzymy antyoksydacyjne, reaktywne formy tlenu.

Zwilżalność wieloskładnikowych filmów Langmuira-Blodgett na politereftalanie etylenu

Klaudia Woźniak, Małgorzata Jurak, Agnieszka Ewa Wiącek, Agata Ładniak

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3 20-031 Lublin

klaudia.wozniak@poczta.umcs.lublin.pl

Z punktu widzenia inżynierii tkankowej materiały stosowane przy produkcji implantów powinny cechować się biokompatybilnością, nietoksycznością, biodegradowalnością, a przede wszystkim odpowiednią wartością swobodnej energii powierzchniowej (SEP). SEP równa jest pracy potrzebnej do utworzenia nowej powierzchni jednostkowej podczas rozdziału dwóch znajdujących się w równowadze faz, w odwracalnym procesie izotermicznym. Jedną z najbardziej znanych pośrednich metod służących do jej wyznaczenia opiera się na pomiarach kątów zwilżania odpowiednio dobranych cieczy testowych na powierzchni danego ciała stałego [1]. W celu uzyskania pożądaných właściwości (między innymi SEP) potencjalnego materiału tkanko zastępczego prowadzi się modyfikację jego powierzchni. Jedną z metod jest osadzanie filmów Langmuira-Blodgett substancji aktywnych biologicznie.

Celem przedstawionych badań było modyfikowanie powierzchni politereftalanu etylenu (PET) aktywowanego niskotemperaturową plazmą powietrzną oraz bezpośrednio po działaniu plazmy osadzanie warstw substancji biologicznie aktywnych, a także zbadanie zwilżalności nowych powierzchni. 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocholina (DPPC) została wybrana ze względu na fakt, iż jest to główny budulec błony komórkowej i może ułatwić adaptację implantu po wprowadzeniu go do organizmu ludzkiego. Z kolei cyklosporyna A (CsA) to polipeptyd o właściwościach immunosupresyjnych, podawana w celu zmniejszenia ryzyka odrzucenia przeszczepu. Chitozan (Ch) należący do grupy polisacharydów posiada właściwości antybakteryjne oraz antygrzybicze, jest biokompatybilny i biodegradowalny [2,3]. Cienkie filmy wybranych substancji czynnych biologicznie uzyskano stosując metodę zanurzeniową (*dip-coating*) do osadzenia filmu Ch oraz metodę Langmuira-Blodgett do przeniesienia monowarstw DPPC i CsA. Następnie zmierzono kąty zwilżania, przy użyciu wody, formamidu i diiodometanu jako cieczy wzorcowych, oraz obliczono SEP na podstawie wybranych modeli teoretycznych oddziaływań międzyfazowych.

Uzyskane zależności wydają się być obiecujące w opracowaniu odpowiedniej procedury modyfikacji materiałów stosowanych do produkcji implantów oraz wzrostu ich biokompatybilności.

Słowa kluczowe: zwilżalność, swobodna energia powierzchniowa, DPPC, cyklosporyna A, chitozan.

[1] M. Żenkiewicz „Adhezja i modyfikowanie warstwy wierzchniej tworzyw wielkocząsteczkowych”, WNT, Warszawa 2000.

[2] A. Czogalla, Cell. Mol. Biol. Lett. 2009, 14, 139-152.

[3] M. Jurak, A.E. Wiącek, K. Przykaza, A. Ładniak, K. Woźniak, J. Therm. Anal. Calorim. 2019, 136, 1-9.

Rola fosfataz PHLPP w procesie nowotworzenia

Agnieszka Zaczek, Aleksandra Szustka, Anna Krześlak

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Instytut Biochemii, Katedra Cytobiochemii,
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

agnieszka.zaczek@biol.uni.lodz.pl

PHLPP (ang. *-PH domain leucine rich-repeats protein phosphatase*) należy do rodziny fosfataz i odgrywa istotną rolę w defosforylacji kinazy AKT, PCK, S6, RAF oraz Mst-1. Wyróżnia się dwie izoformy kinazy PHLPP, tj. PHLPP1 oraz PHLPP2. Izoforma PHLPP1 posiada dwa warianty transkrypcyjne PHLPP1 α oraz PHLPP1 β . PHLPP defosforyluje białka wpływając na ich aktywność, przez co odgrywa istotną rolę w regulacji przekazywania sygnału w komórce oraz wzroście i proliferacji komórek. Zaburzenia w aktywności izoform PHLPP mogą sprzyjać rozwojowi i progresji nowotworów piersi, jelita grubego, gruczołu krokowego czy płuc. Badania sugerują, że izoformy PHLPP mogą odgrywać rolę supresorów w komórkach nowotworowych. Często w nowotworach obserwuje się utratę lub zmniejszoną ekspresję tych izoform, co ma istotny wpływ na zwiększoną proliferację oraz potencjał inwazyjny komórek nowotworowych. Wykazano, że zmniejszona ekspresja PHLPP wpływa na wzrost stopnia złośliwości nowotworu wśród pacjentów przez co może wiązać się z gorszymi rokowaniami. Istotny związek izoform PHLPP z progresją nowotworów skłania do poszukiwań funkcji tych izoform oraz mechanizmów regulujących ich ekspresję. Poznanie tych mechanizmów pozwoli w przyszłości na opracowanie skuteczniejszych metod terapeutycznych.

Słowa kluczowe: izoformy PHLPP, supresory nowotworowe, progresja nowotworowa.

Jeżyna wcinanolistna *Rubus laciniatus* jako gatunek inwazyjny w Beskidzie Śląskim

Magdalena Zarzycka, Wojciech Zarzycki

Uniwersytet Śląski, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Ekologii, ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice

mjk.zarzycka@gmail.com

Jeżyna wcinanolistna *Rubus laciniatus* jest gatunkiem ozdobnym o pochodzeniu antropogenicznym. Mimo iż nie jest uznawany za inwazyjny, to na obszarze Polski wnika zarówno do siedlisk o charakterze antropogenicznym i półnaturalnym, jak i naturalnych.

Na obszarze Beskidu Śląskiego *Rubus laciniatus* jest sporadycznie uprawiane, zaobserwowano ucieczkę tego gatunku poza obszary ogrodów. Obecnie gatunek ten stwierdzono na 4 stanowiskach: Między Horzelicą a Starym Groniem, Wisła-Głębcze, Dolina Brennicy oraz przy niebiesko znakowanym szlaku na Baranią Górę. Na szczególną uwagę zasługuje ostatnie z tych stanowisk, ponieważ jest ono zlokalizowane w obrębie rezerwatu przyrody „Barania Góra”, z dala od ludzkich domostw.

Wyniki badań sugerują, że *Rubus laciniatus* jest gatunkiem, który może rozprzestrzeniać się spontanicznie na obszarze Beskidu Śląskiego; prawdopodobnie jest on rozsiewany przez ptaki. Ze względu na to, iż obecnie na znacznym obszarze drzewostany tego pasma są przebudowywane, to zbiorowiska porębowe z udziałem jeżyn stanowią tam bardzo częsty element krajobrazu. Najprawdopodobniej gatunek ten będzie więc się nadal rozprzestrzeniał, konkurując z rodzimymi gatunkami z rodzaju *Rubus*, istnieje także ryzyko hybrydyzacji.

Słowa kluczowe: *Rubus laciniatus*, gatunki inwazyjne, Karpaty Zachodnie.

Zjawisko renaturalizacji szaty roślinnej grodzisk na terenie województwa śląskiego

Magdalena Zarzycka, Wojciech Zarzycki, Zbigniew Wilczek

*Uniwersytet Śląski, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Ekologii, ul. Jagiellońska 28,
40-032 Katowice*

mjk.zarzycka@gmail.com

Na obszarze województwa śląskiego do dziś zachowało się ok. 100 grodzisk. Stanowią one pozostałości po osadach obronnych różnego typu, wieku i proveniencji, od neolitycznych osad pierścieniowych w Beskidzie Śląskim, poprzez liczne obiekty pierścieniowe związane z kulturą łużycką, wczesnośredniowieczne grody słowiańskie aż po późnośredniowieczne gródki stożkowate. Obecnie ich pozostałości są w większości przypadków łatwe do rozpoznania w terenie, jednakże rzadko wyróżniają się od otoczenia pod względem krajobrazu. Co więcej, na wielu grodziskach o obecnie leśnym charakterze, występują gatunki starych lasów, co pozornie nie powinno mieć miejsca na siedliskach antropogenicznych. W praktyce jednak gatunki te zdają się tam być częstsze niż gatunki o charakterze synantropijnym, czy takie, które mogą być uznane za relikty dawnych upraw. Do głównych celów podjętych badaniach należały:

- wskazanie grodzisk na terenie województwa śląskiego, które uległy procesowi renaturalizacji i w jakim stopniu zaszedł ten proces;
- określenie czynników warunkujących omawiany proces w przypadku badanych obiektów.

W trakcie badań zidentyfikowano 55 typów roślinności, w tym 31 w randze zespołu, o charakterze zarówno synantropijnym, półnaturalnym, jak i naturalnym. Na uwagę zasługują zwłaszcza fitocenozy leśne reprezentujące zespoły *Aceri-Tilietum*, *Dentario-Fagetum* i *Tilio-Carpinetum*. Spośród 608 zidentyfikowanych dotychczas gatunków roślin naczyniowych 92 określa się jako gatunki starych lasów, z kolei zaledwie 21 taksonów uznaje się za relikty dawnych upraw.

Słowa kluczowe: *archeologia, flora obiektów historycznych, sukcesja, relikty dawnych upraw.*

Zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym (DAD) do oznaczania jonów siarczkowych w próbkach ludzkiego moczu za pomocą chemosensorów

**Wiktoria Zgagacz¹, Robert Zakrzewski¹, Arkadiusz Nowicki¹,
Katarzyna Urbaniak²**

¹Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii, Katedra Chemii Środowiska, Pomorska 163,
91-403 Łódź

²Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej, Tamka 12,
91-403 Łódź

wiktoria.zgagacz@vp.pl

Wysokosprawna chromatografia cieczowa od dawna jest jedną z najczęściej wykorzystywanych technik analitycznych. Ze względu na jej liczne zalety, do których można zaliczyć możliwość rozdzielania poszczególnych składników próbki z zastosowaniem odpowiedniego układu faz. Dzięki temu techniki chromatograficzne pozwalają na oznaczanie wielu analitów w bardzo złożonych matrycach. Ponadto chromatografia cieczowa charakteryzują się bardzo dobrą czułością oraz precyzją oznaczeń. Natomiast zastosowanie chromatografu z detektorem diodowym (DAD) oraz odpowiednich reakcji derywatyzacji umożliwia oznaczanie wielu związków chemicznych, których cząsteczki nie posiadają chromoforu.

Celem pracy było opracowanie nowych, czułych i precyzyjnych metod detekcji oraz ilościowego oznaczania jonów siarczkowych w próbkach ludzkiego moczu z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej i odpowiednich specyficznych odczynników derywatyzujących, którymi były sole piryliowe, takie jak: wodorosiarczan(VI) 2,4,6-trifenylopirylu (metoda 1) oraz chloran(VII) N,N-dimetylo-2,4,6-trifenylopirylu (metoda 2). W odpowiednich warunkach sole piryliowe ulegają szybkiej reakcji z jonem siarczkowym, tworząc barwne, trwałe pochodne. Dużą zaletą użytych odczynników derywatyzujących jest fakt, że nie ulegają one reakcjom z żadnymi innymi anionami nieorganicznymi oraz organicznymi [1]. Kolejną ważną zaletą opracowanych metod jest wysoka czułość oznaczeń (10^{-9} nmol). Zarówno wodorosiarczan(VI) 2,4,6-trifenylopirylu (metoda 1) jak i chloran(VII) N,N-dimetylo-2,4,6-trifenylopirylu (metoda 2) reagują z siarczkami w środowisku zasadowym w wyniku czego powstaje związek pośredni. Kolejnym etapem reakcji derywatyzacji jest zakwaszenie mieszaniny reakcyjnej, co prowadzi do aromatyzacji związku pośredniego i utworzenia barwnej, trwałej pochodnej tiopiryliowej. Otrzymane pochodne separowano od nadmiaru odczynnika derywatyzującego i innych składników próbki w odwróconym układzie faz z elucją izokratyczną oraz oznaczano z wykorzystaniem detekcji DAD przy długościach fali 371 nm oraz 580 nm, odpowiednio dla metody 1 oraz metody 2. Dla obu metod wyznaczono zakres liniowości, granicę wykrywalności oraz oznaczalności, precyzję i dokładność.

Słowa kluczowe: jony siarczkowe, sole piryliowe, próbki ludzkiego moczu, technika HPLC/DAD.

Badania zostały sfinansowane z dotacji służącej rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich w roku 2018 (projekt nr B1811100001857.02).

[1] D.Jimenez, R.Martinez-Mañez, F.Sancenon, J.Ros-Lis, A.Benito, J. Am. Chem. Soc. 2005, 77, 2405-2412.

Przyczyny dysjunktywnego zasięgu gatunku *Juniperus phoenicea* L.

Monika Zielinska

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Wydział Nauk Przyrodniczych/Instytut Biologii Środowiska, Pracownia Taksonomii i Geografii Roślin/Zakład Ogród Botaniczny, Al. Ossolińskich 12, 85-093 Bydgoszcz

monika.zielinska.biologia@gmail.com

Juniperus phoenicea s.l. jest gatunkiem o szerokim zasięgu obejmującym obszary należące do strefy roślinności śródziemnomorskiej. Celem pracy było usystematyzowanie wiedzy na temat powstania i fragmentacji populacji *Juniperus phoenicea*. W oligocenie nastąpiło rozszerzenie suchych i jałowych obszarów, które zostały zasiedlone przez mało wymagające gatunki, w tym jałowce. *Juniperus phoenicea* powstał prawdopodobnie około 30-35mln lat temu na obszarze Europy. Badania genetyczne sugerują złożony scenariusz kolonizacji tego gatunku na zachód przez basen Morza Śródziemnego (Sanchez-Gomez i in.2018). Roślinność charakterystyczna dla obszaru śródziemnomorskiego pojawiła się po raz pierwszy w górnym miocenie. Rozwój tej roślinności wiązał się z ruchem płyt kontynentalnych i zniknięciem Morza Tetydy. Region śródziemnomorski stanowi obszar plejstocentrycznych ostoi flor trzeciorzędowych. Centrum występowania jałowca fenickiego przypada na zachodnią część obszaru śródziemnomorskiego. *Juniperus phoenicea* charakteryzuje się wysoką zmiennością spowodowaną między innymi długim okresem izolacji poszczególnych części zasięgu w okresie plejstocenu wywołanym zlodowaceniami oraz powstałymi w tym czasie barierami geograficznymi. Długotrwała izolacja oraz zmiany geologiczne i klimatyczne doprowadziły do powstania dysjunkcji pomiędzy populacjami tego gatunku. Fragmentacja zasięgu *Juniperus phoenicea* została potwierdzona wielokrotnie przez analizy genetyczne i biometryczne.

Na podstawie dotychczasowych badań stwierdzono, że *Juniperus phoenicea* s.l. łączy dwa oddzielne gatunki: *J. phoenicea* s.s. oraz *J. turbinata* Guss. Niezbędne jednak jest prowadzenie dalszych badań, które pozwolą na dokładne poznanie zmienności i kierunków migracji w ramach zasięgu tego gatunku.

Słowa kluczowe: *Juniperus phoenicea*, zasięg dysjunktywny, izolacja.

Autofagia w oporności wielolekowej komórek nowotworowych

**Wioletta Zielińska, Aleksandra Opacka, Klaudia Mikołajczyk, Marta Hałas-
Wiśniewska, Magdalena Izdebska, Alina Grzanka**

*Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,
Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

wzielinska94@hotmail.com

Autofagia jest procesem katabolicznym mającym na celu degradację zbędnych lub uszkodzonych białek i organelli z wytworzeniem energii. W przypadku komórek nowotworowych autofagia może pełnić zarówno rolę supresora procesu, jak i przyczyniać się do progresji nowotworu. Doniesienia literaturowe wskazują także, że autofagia może być podłożem oporności wielolekowej komórek nowotworowych.

Oporność na cytostatyki jest najpoważniejszym problemem onkologii. Szacuje się, że około 90% niepowodzeń chemioterapii jest powiązanych właśnie z tym zjawiskiem. Oporność na dany cytostatyk może być zarówno naturalną cechą danego nowotworu, jak i zostać przez niego nabyta w trakcie długotrwałego leczenia. Jako mechanizmy oporności na cytostatyki można wyróżnić kilka czynników, takich jak zmniejszony wychwyt leku, zwiększony efflux lub zmiany w metabolizmie. Z kolei oporność wielolekowa (MDR) oznacza niewrażliwość komórek na kilka cytostatyków o różnej strukturze i mechanizmie działania. Ponieważ MDR jest odpowiedzialny za niepowodzenia chemioterapii, jego zahamowanie miałoby ogromne znaczenie dla pacjentów onkologicznych. Najnowsze doniesienia literaturowe wskazują na proces autofagii jako podstawę MDR, ale związek między tymi zjawiskami wciąż nie jest w pełni zrozumiały. Możliwe także, że podobnie jak w przypadku inicjacji i progresji nowotworu również w przypadku MDR, rola autofagii jest niejednoznaczna.

W procesie autofagii ważną rolę odgrywa jedno z głównych białek cytoszkieletu – F-aktyna. Bierze ona udział we wszystkich etapach formowania struktur niezbędnych do zajścia procesu. Z kolei stan puli aktyny w komórce regulowany przez białka wiążące aktynę (ABP) jest bardzo dynamiczny. Manipulacja genami ABP jest jedną z potencjalnych metod hamowania autofagii, a więc i zjawiska MDR.

Słowa kluczowe: autofagia, oporność wielolekowa, kancerogeneza, cytoszkielet.

Zrozumieć niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową – czy to możliwe?

Anna Maria Zoń

*Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Nauk o Zdrowiu, Klinika Chorób Serca,
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław*

anna.zon@student.umed.wroc.pl

Na niewydolność serca (NS) choruje około jednego miliona Polaków. Stanowi ona ponadto główną przyczynę hospitalizacji pacjentów po 65 roku życia. W ramach niniejszego zespołu chorobowego wyróżnia się niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową lewej komory (HFpEF) oraz niewydolność serca z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory (HFrEF). Dla pacjentów o różnym obrazie klinicznym wspólne są: objawy podmiotowe i/lub przedmiotowe NS, podwyższone stężenie peptydów natriuretycznych oraz nieprawidłowości budowy i funkcji serca leżące u podłoża NS.

Prawie połowa pacjentów z NS ma zachowaną frakcję wyrzutową, definiowaną jako $EF \geq 50\%$. Parametr ten uzyskiwany jest w badaniu echokardiograficznym. Pacjenci z niniejszym podtypem NS częściej charakteryzują się następującym obrazem klinicznym: zawansowany wiek, płeć żeńska, liczna oraz różnorodna współchorobowość zarówno kardiologiczna (nadciśnienie tętnicze, migotanie przedsionków, choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie płucne), jak i pozakardiologiczna (przewlekła choroba nerek, otyłość, cukrzyca, przewlekła obturacyjna choroba płuc, niedokrwistość, niedobór żelaza). Głównym, choć różnie nasilonym objawem podmiotowym HFpEF jest nietolerancja wysiłku fizycznego manifestująca się dusznością i/lub zmęczeniem [1]. Obecnie podkreśla się, że kluczowe znaczenie w obniżeniu tolerancji wysiłku fizycznego mają mechanizmy obwodowe (układ mięśni szkieletowych). Podejmowano wiele prób poprawy rokowania u pacjentów z HFpEF, jednak wynik żadnego badania klinicznego nie zmienił historii naturalnej tego zespołu chorobowego [2].

Podsumowując wskazać należy, że aktualnie bardzo duża liczba Polaków znajduje się w grupie wysokiego ryzyka zapadnięcia na NS. Ta poważna i często występująca choroba przewlekła powoduje znaczne koszty zdrowotne, społeczne oraz ekonomiczne. Dodatkowo pacjenci z HFpEF stanowią niejednorodną grupę pod względem klinicznym. W tym kontekście niezmiernie istotne jest poszukiwanie chorób współtowarzyszących. Mając na uwadze powyższe, konieczne wydaje się przeprowadzanie dalszych badań celem lepszego poznania HFpEF.

Słowa kluczowe: niewydolność serca, niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową, epidemiologia, czynniki ryzyka, patofizjologia.

Literatura:

- [1] Ponikowski P, Voors AA, Anker SD et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology. Eur Heart J. 2016; 37(27): 2129–2200.
- [2] Senni M, Paulus WJ, Gavazzi A et al. New strategies for heart failure with preserved ejection fraction: the importance of targeted therapies for heart failure phenotypes. Eur Heart J. 2014 Oct 21;35(40):2797-815.

Wpływ elicytacji ogórka preparatami Regalis® i Bion® na stężenie kwasu salicylowego oraz aktywność enzymów związanych z metabolizmem fenoli i detoksykacją

Malgorzata Żyźniewska, Marzena Wielanek, Maria Skłodowska

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Banacha
12/16, 90-237 Łódź*

malgorzata.zyzniewska@biol.uni.lodz.pl

Użyte w badaniach Regalis® i Bion® są komercyjnymi preparatami stosowanymi w uprawie roślin. Bion®, którego związkiem czynnym jest syntetyczny analog kwasu salicylowego, benzotiadiazol, jest uznanym preparatem stosowanym w ochronie roślin przed chorobami infekcyjnymi. Podobnie jak endogenne kwas salicylowy (SA), może on prowadzić do ustanowienia SAR. Proheksadion wapnia jest substancją czynną komercyjnego preparatu Regalis®, który z uwagi na hamowanie syntezy giberelin, zaliczany jest do regulatorów wzrostu roślin. Ostatnio prowadzone badania wykazały, że związek ten hamuje aktywność 3-hydroksylazy flawonowej, co prowadzi do zmian w metabolizmie związków fenolowych, w tym do indukcji alternatywnego szlaku biosyntezy flawonoidów i syntezy luteoforolu, prekursora luteoliflawanu; ostatecznym efektem jest zmiana w profilu flawonoidów i ich pochodnych, co może mieć znaczenie w elicytacji efektywnej obrony przed infekcjami. Celem badań było określenie wpływu elicytacji preparatami Regalis® i Bion® na całkowite stężenie SA (cSA), formy wolnej (kSA) i glukozydowej (SAG), aktywność transferazy glutationowej (GST), oksydazy polifenolowej (PPO) oraz amoniakolizazy L-fenylalaniny (PAL) w trzecim pięttrze liściowym w 7 i 14 dniu po traktowaniu roślin *Cucumis sativus* L. 'Cesar'.

Otrzymane wyniki wykazały, że:

1. Elicytacja roślin preparatem Bion® spowodowała istotny wzrost stężenia cSA, SAG i kSA w stosunku do grupy kontrolnej i traktowanej Regalis®.
2. Obydwa zastosowane do elicytacji preparaty indukowały wzrost aktywności GST. Jednak tylko w przypadku preparatu Bion® aktywność enzymu była podwyższona w obydwu badanych czasach.
3. Zastosowanie do elicytacji Regalis® spowodowało istotny wzrost aktywności PAL w pierwszej fazie eksperymentu (7 dzień), podczas gdy zastosowanie Bion® w późnej fazie eksperymentu (14 dzień).
4. Obydwa preparaty indukowały aktywność PPO. Aktywność enzymu po elicytacji Regalis® była niższa niż w grupie traktowanej Bion®.

Słowa kluczowe: proheksadion wapnia, benzotiadiazol, elicytacja, metabolizm fenoli, *Cucumis sativus*.