

III Konferencja Naukowa ENZYMOS
Enzymy w nauce i przemyśle

Abstrakty

III Konferencja Naukowa ENZYMOS
Enzymy w nauce i przemyśle

Abstrakty

Redakcja:
Magdalena Staszczak
Anna Jarosz-Wilkołazka
Kamil Maciąg

Lublin 2017

III Konferencja Naukowa ENZYMOS
Enzymy w nauce i przemyśle
Lublin, 18 listopada 2017 r.
Abstrakty

Redakcja:

Magdalena Staszczak

Anna Jarosz-Wilkołazka

Kamil Maciąg

Skład i łamanie:

Monika Maciąg

Projekt okładki:

Marcin Szklarczyk

© Copyright by Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ISBN 978-83-65272-63-8

Wydawca:

Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ul. Głowackiego 35/348

20-060 Lublin

www.fundacja-tygiel.pl

Komitet Naukowy:

- *Prof. dr hab. Jan Fiedurek*
- *Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Giannopoulos*
- *Prof. dr hab. Wiesław Gruszecki*
- *Prof. dr hab. Wanda Małek*
- *Prof. dr hab. Jerzy Rogalski*
- *Prof. dr hab. Zofia Stępniewska*
- *Prof. dr hab. Janusz Szczodrak*
- *Prof. dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska*
- *Prof. dr hab. Zdzisław Targoński*
- *Prof. dr hab. Marek Tchórzewski*
- *Prof. dr hab. Kazimierz Trębacz*
- *Dr hab. n. farm. Anna Belcarz*
- *Dr hab. Małgorzata Cytryńska, prof. UMCS*
- *Dr hab. Katarzyna Domańska-Blicharz, prof. nadzw.*
- *Dr hab. Krzysztof Grzywnowicz, prof. UMCS*
- *Dr hab. Anna Jarosz-Wilkołazka, prof. UMCS*
- *Dr hab. Magdalena Jaszek*
- *Dr hab. Jose Valverde Piedra, prof. UP*
- *Dr hab. Magdalena Staszczak*
- *Dr hab. Adam Waśko*
- *Dr Monika Jach*
- *Dr Anna Matuszewska*

Komitet Organizacyjny:

- *Beata A. Nowak*
- *Kamil Maciąg*
- *Monika Maciąg*
- *Karolina Lewczuk*
- *Sandra Czarniecka*
- *Agnieszka Pytka*
- *Marcin Szklarczyk*
- *Magdalena Staszczak*
- *Anna Jarosz-Wilkołazka*
- *Dawid Stefaniuk*

Organizator:



Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej



Fundacja na rzecz promocji nauki
i rozwoju TYGIEL

Patronaty Honorowe:

**PATRONAT
HONOROWY**



PREZYDENT MIASTA LUBLIN
KRZYSZTOF ŻUK



ŚLAWOMIR SOSNOWSKI
MARSZAŁEK
WOJEWÓDZTWA LUBELSKIEGO



UMCS

UNIwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie



**Polskie
Towarzystwo
Biochemiczne**

Patronaty Medialne:



www.lab.media.pl

DWUMIESIĘCZNIK



laboratoria.xtech.pl

Innowacja
w kontakcie



Biotechnologia.pl

Składamy serdeczne podziękowania Polskiemu Towarzystwu Biochemicznemu oraz prof. dr. hab. Sławomirowi Pikule – Redaktorowi Naczelnemu kwartalnika Postępy Biochemii za umożliwienie wydania numeru tego czasopisma dedykowanego tematyce Konferencji Naukowej ENZYMOS.

Spis treści:

Wystąpienia Gości Honorowych

<i>Fosforylacja fotosyntetycznego kompleksu antenowego LHCII: Regulacja przez reorganizację (Phosphorylation of the photosynthetic antenna complex LHCII: Regulation via reorganization)</i>	13
<i>Rybosom – allosteryczna nano-maszyna dekodująca informację genetyczną (Ribosome – an allosteric nano-machine decoding genetic information)</i>	15

Prezentacje ustne

<i>Dekoloryzacja barwników przemysłowych z wykorzystaniem grzybowych wielomiedziowych oksydaz (Industrial dyes decolorization using fungal multicopper oxidases)</i>	19
<i>Enzymatyczne markery owadów roślinożernych jako przejaw adaptacji w warunkach stresu (Enzymatic markers of herbivore insects as a symptom of adaptation under stress conditions)</i>	21
<i>Identyfikacja molekularna N-metylotransferazy karnozynowej kręgowców (EC 2.1.1.22) (Molecular identification of vertebrate carnosine N-methyltransferase (EC 2.1.1.22))</i>	23
<i>Indukowana stresem oksydacyjnym agregacja GAPDH – znaczenie koenzymu NAD(H) oraz naturalnych przeciwutleniaczy (Oxidative stress induced GAPDH aggregation – the role of NAD(H) coenzyme and natural antioxidants)</i>	25
<i>Kinetyczny rozdział estrów (E)-4-fenylbut-3-en-2-olu w wyniku hydrolizy z zastosowaniem preparatu Lecitase® Ultra (Kinetic resolution of (E)-4-phenylbut-3-en-2-yl esters through Lecitase® Ultra-catalyzed hydrolysis)</i>	27
<i>Ocena przeżywalności bakterii z rodzaju Pseudomonas w zainokulowanym pofermencie z biogazowni (Evaluation of the survival of Pseudomonas in the inoculated digestate from the biogas plant)</i>	29
<i>Określenie funkcjonalności preparatów enzymatycznych do produkcji wyrobów mięsnych poddanych obróbce cieplnej (Determination of the functionality of enzyme preparations for the production of heat-treated meat products)</i>	31
<i>Rola peroksydaz w badaniach zmienności genetycznej traw ze szczególnym uwzględnieniem hodowlanych odmian życicy wielokwiatowej (Lolium multiflorum Lam.) (Peroxidases in grasses with a particular focus on Italian ryegrass (Lolium multiflorum Lam.) cultivars)</i>	33
<i>Znaczenie biologiczne enzymów występujących w grzybach jadalnych (Biological significance of edible mushrooms enzymes)</i>	35

Postery naukowe

<i>Actinobacteria – wydajni producenci substancji biologicznie czynnych (Actinobacteria – efficient producers of biologically active substances)</i>	39
<i>Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w komórce podczas procesu starzenia (The activity of antioxidant enzymes in the cell during the aging process)</i>	41

<i>Aktywność hydrolityczna depolimerazy faga 7b wobec polisacharydów produkowanych przez szczepy Rhizobium leguminosarum bv. trifolii Rt24.2 oraz Rt2472 (Hydrolytic activity of 7b phage depolymerase against polysaccharides produced by Rhizobium leguminosarum bv. trifolii Rt24.2 and Rt2472)</i>	43
<i>Biokataliza – „lek” na zanieczyszczenia związkami biologicznie aktywnymi (Biocatalysis – “a cure” for pollution by biologically active compounds)</i>	45
<i>Drożdźowe białko Asf1 posiada aktywność modulującą względem kinazy białkowej CK2 (Yeast protein Asf1 possesses modulating activity towards protein kinase CK2)</i>	47
<i>Enzymatyczna biokonwersja laktozy mleka koziego i jego permeatu (Enzymatic bioconversion of goat's milk lactose and it's permeate)</i>	49
<i>Inhibitory enzymów o potencjalnym zastosowaniu medycznym (Inhibitors of enzymes with potential medical applications)</i>	51
<i>Ocena cytostaticznych właściwości oksytiaminy względem komórek raka piersi i raka szyjki macicy (Estimation of oxythiamine anticancer properties against cervical and breast cancer cells)</i>	53
<i>Ocena zmian aktywności immobilizowanej alfa-amylazy na podłożu PANI z wykorzystaniem wybranych czynników sieciujących w procesach hydrolitycznych (Evaluation of alfa-amylase activity changes on PANI surface using selected cross-linker in hydrolytic processes)</i>	55
<i>Optymalizacja składu i warunków spieniania bioszklę na aktywność immobilizowanej pullulanazy (Optimization of the composition and foaming conditions of the bioglass for best activity of immobilized pullulanase)</i>	57
<i>Poferment – jego wpływ na aktywność biochemiczną gleby (The influence of digestate on the biochemical activity of soil)</i>	59
<i>Potencjał przeciwutleniający jogurtu z mleka o zwiększonej zawartości białek serwatkowych i poddanego enzymatycznej hydrolizie laktozy (Antioxidant activity of yoghurt from milk with increased whey protein content and subjected to enzymatic hydrolysis of lactose)</i>	61
<i>Próba zastosowania bioszkieł do immobilizacji enzymów na przykładzie α-amylazy (An attempt to use bioglass as support to enzymes immobilisation on the example of α-amylase)</i>	63
<i>Rola glikozylacji białek w regulacji odpowiedzi komórki na składniki odżywcze (The role of glycosylation of proteins in cells regulation responses to nutrients)</i>	65
<i>Rola glukozylotransferazy PssA w adaptacji bakterii Rhizobium leguminosarum bv. trifolii do warunków stresowych wywołanych obecnością jonów miedzi (Role of PssA glucosyltransferase in adaptation of Rhizobium leguminosarum bv. trifolii to copper stress)</i>	67
<i>Wrażliwość polisacharydów produkowanych przez szczep dziki Rhizobium leguminosarum bv. trifolii Rt24.2 oraz mutantu Rt2472rosR na depolimerazę faga 9a (Sensitivity of polysaccharides produced by the wild-type Rhizobium leguminosarum bv. trifolii strain Rt24.2 and the mutant Rt2472rosR on phage 9a depolymerase)</i>	69
<i>Zastosowanie polianiliny do immobilizacji alfa-amylazy w procesie hydrolizy skrobi (Application of polyaniline for alpha-amylase immobilization in starch hydrolysis)</i>	71
Indeks Autorów	73

Wystąpienia
Gości Honorowych

Fosforylacja fotosyntetycznego kompleksu antenowego LHCII: Regulacja przez reorganizację

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki, Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Życie na naszej planecie zasilane jest energią promieniowania słonecznego zaś fotosynteza jest praktycznie jedynym procesem umożliwiającym wiązanie energii światła w formy, które mogą być wykorzystywane bezpośrednio w reakcjach biochemicznych. Efektywne pochłanianie światła w aparacie fotosyntetycznym roślin możliwe jest, w dużej mierze, dzięki aktywności fotosyntetycznych kompleksów barwnikowo-białkowych pełniących funkcje anten pochłaniających kwanty promieniowania słonecznego oraz przekazujących energię wzbudzenia elektronowego do centrów reakcji. Aktywność kompleksów antenowych jest szczególnie ważna w warunkach niskiego poziomu oświetlenia, jednakże może okazać się szkodliwa gdy oświetlenie przewyższa poziom przekraczający możliwości operacyjne reakcji fotochemicznych. Okazuje się, że fotosyntetyczne kompleksy antenowe, w tym największy kompleks roślinny LHCII, mogą również pełnić funkcje ochronne przed foto-toksycznymi efektami promieniowania słonecznego, gasząc nadmiar energii wzbudzenia. Ostatnie badania naszej grupy pokazują, iż jednym z mechanizmów regulujących przełączanie pomiędzy funkcją antenową i fotoprotekcyjną LHCII może być reorganizacja przestrzenna białka kontrolowana/indukowana poprzez fosforylację kompleksu. Koncepcja ta przedstawiona zostanie i poddana pod dyskusję podczas wystąpienia.

Phosphorylation of the photosynthetic antenna complex LHCII: Regulation via reorganization

Life on our planet is fueled by sunlight and photosynthesis is practically the sole process responsible for conversion of energy of electromagnetic radiation to the forms which can be directly used to drive biochemical reactions. Efficient and fluent operation of photosynthesis is, to a large extent, possible owing to activity of pigment-protein complexes playing antenna function, i.e. responsible for harvesting light quanta and transfer of electronic excitations towards the reaction centers. The largest photosynthetic antenna complex of plants, called LHCII, is most abundant membrane protein in our biosphere and comprises virtually half of chlorophyll molecules on Earth. LHCII acts as an antenna complex under low light but, interestingly, under strong light conditions the complex can switch to a state in which it is able to quench excessive, potentially harmful excitations. Some recent findings from our group show that mechanistically such a switch can be associated with the complex reorganization which is directly controlled and induced by light-dependent phosphorylation. This concept will be presented and discussed during a talk.

Rybosom – allosteryczna nano-maszyna dekodująca informację genetyczną

Prof. dr hab. Marek Tchórzewski, Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Rybosom, to nano-maszyna uczestnicząca w syntezie białek, działająca jako „maszyna Browna”, która wykorzystuje termiczne fluktuacje do realizacji podstawowych zadań biochemicznych, ale głównym źródłem energii napędzającym ten system jest hydroliza GTP, katalizowana przez translacyjne GTPazy (trGTPazy), które nadają jednokierunkową trajektorię procesowi translacji. Główną platformą na rybosomie odpowiedzialną za interakcje z translacyjnymi GTPazami jest rejon znajdujący się na dużej podjednostce rybosomalnej, nazywany centrum GTPazowym. Zasadniczym elementem tego centrum jest struktura zwana „kciukiem”, odpowiedzialna za rekrutację trGTPaz i stymulację hydrolizy GTP zależnej od trGTPaz. Struktura „kciuka” to oligomeryczny kompleks zbudowany z białek rybosomalnych, których ilość zależy od pozycji taksonomicznej organizmu. W komórkach prokariotycznych kompleks ten może posiadać trzy konfiguracje strukturalne: pentamer, heptamer i nonamer. Podobną różnorodność stwierdzono w rybosomach archae/eukariota, gdzie obserwowano heptamer w archae i pentamer u eukarionta. Struktura „kciuka” pozostaje jednym z niewielu elementów rybosomalnych o nieznannej strukturze, oraz funkcja tego elementu także nie jest w pełni poznana. Przedstawione badania skupiają się na określeniu funkcji „kciuka” rybosomalnego, a przede wszystkim roli architektury tego elementu w funkcjonowaniu rybosomu eukariotycznego.

Ribosome – an allosteric nano-machine decoding genetic information

The ribosome, classified as a nano-machine, is involved in protein synthesis, and functions as a Brownian machine, that harnesses thermal fluctuations into directed motion, however the main source of energy is gained from GTP hydrolysis catalyzed by translational GTPases (trGTPases) which confer unidirectional trajectory for the translational apparatus. The landing platform for trGTPases is located on the large ribosomal subunit, and it is called GTPase-associated-center (GAC). The prominent structure recognized in the GAC is called 'stalk', responsible for recruitment of trGTPases and stimulation of factor-dependent GTP hydrolysis. The stalk occurs as an oligomeric complex with protein composition dependent on the taxonomic position of the organism. In prokaryotes, this complex has three structural configurations; pentamer found in mesophiles, heptamer in thermophiles, nonamer in cyanobacteria. A similar diversity was found in archaeal/eukaryotic ribosomes, where heptamer was observed in archaea, and pentamer in eukaryotes. The stalk remains one of the few ribosomal elements with unknown structure and with only general understanding of its function. The presented research is focused on deciphering the function of the ribosomal stalk, especially keeping an eye toward structural architecture, assembly and function of this oligomeric complex in eukaryotic ribosome.

Prezentacije ustne

Dekoloryzacja barwników przemysłowych z wykorzystaniem grzybowych wielomiedziowych oksydaz

Aleksandra Góralczyk, aleksandra.goralczyk@biol.uni.lodz.pl, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.biol.uni.lodz.pl

Anna Jasińska, anna.jasinska@biol.uni.lodz.pl, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.biol.uni.lodz.pl

Jerzy Długoński, jerzy.dlugonski@biol.uni.lodz.pl, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.biol.uni.lodz.pl

Z uwagi na wykorzystywanie barwników syntetycznych w wielu gałęziach przemysłu, coraz większa ich ilość trafia do środowiska naturalnego, działając toksycznie lub mutagennie na organizmy. W ostatnim czasie do ich eliminacji wybiera się przyjazne dla środowiska metody biologiczne wykorzystujące potencjał metaboliczny drobnoustrojów.

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności wielomiedziowych oksydaz (ang. *Multicopper Oxidases*, MCOs) mikroskopowego grzyba strzępkowego *Myrothecium* sp. IM 6443, w procesach dekoloryzacji barwników przemysłowych. Proteiny wyizolowano z płynu pochodowlanego stosując dwuetapowe wytrącanie siarczanem amonu. Następnie roztwór poddano częściowemu oczyszczaniu, a preparat zawierający wielomiedziowe oksydazy (o aktywności 1 U/ml wyznaczonej wobec ABTS) zastosowano do dekoloryzacji barwników przemysłowych (50 mg/l). W wybranych odstępach czasu oznaczano spektrofotometrycznie zmianę absorbancji przy odpowiedniej dla danego barwnika długości fali. Uzyskane wyniki wykazały, że zewnątrzkomórkowe enzymy badanego szczepu zdolne są do odbarwiania wybranych związków. Największy stopień dekoloryzacji zaobserwowano w stosunku do Indigo Carmine. Ponadto wprowadzenie do układu ABTS jako mediatora reakcji przyspieszyło proces eliminacji barwnika.

Zewnątrzkomórkowe białka syntetyzowane przez *Myrothecium* sp. IM 6443 zdolne są do dekoloryzacji barwników przemysłowych, a dodatek mediatorów zwiększa efektywność tych procesów.

Industrial dyes decolorization using fungal multicopper oxidases

Due to the usage of the synthetic dyes in many industries, more and more of them are released into the environment acting toxically or mutagenically on organisms. Recently, environmentally friendly biological methods using the metabolic potential of microorganisms have been selected for their elimination.

The aim of this study was to evaluate the use of multicopper oxidases (MCOs) from the microscopic filamentous fungus *Myrothecium* sp. IM 6443 in the processes of industrial dyes decolorization. Proteins were isolated from a culture using two-step ammonium sulphate precipitation. Next, the solution was partially purified and a mixture containing multicopper oxidases (with 1 U/ml activity toward ABTS) was applied to decolorize industrial dyes (50 mg/l). At selected time intervals the changes in the absorbance were measured spectrophotometrically using an appropriate wavelength for each dye. The results obtained in this study indicate that extracellular proteins of the IM 6443 strain are able to decolorize selected compounds. The highest level of decolorization was observed for Indigo Carmine. Furthermore, the addition of ABTS as a reaction mediator accelerated the process of dyes elimination.

Extracellular proteins synthesized by *Myrothecium* sp. IM 6443 are able to decolorize industrial dyes and the addition of mediators increases the efficiency of these processes.

Enzymatyczne markery owadów roślinożernych jako przejaw adaptacji w warunkach stresu

Jan Dampc, *dampcjan@gmail.com*, Katedra Zoologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *www.ur.edu.pl*

Agnieszka Mołoń, *agnieszkamaslowska@o2.pl*, Katedra Zoologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *www.ur.edu.pl*

Roman Durak, *rdurak@univ.rzeszow.pl*, Katedra Zoologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *www.ur.edu.pl*

Zjawisko stresu oksydacyjnego dotyczy wszystkich organizmów tlenowych, również owadów roślinożernych i powodowane jest nagłym wzrostem reaktywnych form tlenu (ROS) w komórce. Rośliny, w odpowiedzi na żerowanie owadów, wykształciły mechanizmy obronne, polegające na biosyntezie wtórnych metabolitów. Obecność związków produkowanych przez rośliny jest z kolei powodem do generowania reaktywnych form tlenu w tkankach roślinożercy i może prowadzić do niekorzystnych zmian rozwojowych, a także uszkadzać cząsteczki białek, lipidów i DNA. W celu ochrony przed wzrastającym poziomem ROS, owady wytworzyły antyoksydacyjne mechanizmy obronne, do których zaliczamy głównie enzymy antyoksydacyjne (katalaza (CAT), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD)), detoksykacyjne (transferaza S-glutationowa (GST), β -glukozydaza) oraz oksydoredukcyjne (peroksydaza (POD), oksydaza polifenolowa (PPO)). Dzięki sprawnemu systemowi enzymatycznemu możliwe jest zachowanie w organizmie owada właściwej homeostazy oraz zabezpieczenie i obrona komórek przed uszkodzeniami. System enzymatyczny umożliwia także szybką adaptację owadów w warunkach stresu środowiskowego, powodowanego przez takie czynniki jak temperatura, susza czy zmiana rośliny żywicielskiej.

Enzymatic markers of herbivore insects as a symptom of adaptation under stress conditions

Oxidative stress applies to all aerobes, including herbivorous insects, and is caused by a sudden increase in reactive oxygen species (ROS) production in cells. In response to insect feeding, plants have developed defensive mechanisms such as biosynthesis of secondary metabolites. The presence of compounds produced by plants induces generation of reactive oxygen species in herbivorous tissues and may lead to harmful developmental changes and damage to DNA, protein and lipid molecules. In order to protect cells against increased ROS levels, insects have developed certain defence mechanisms, including antioxidant enzymes (catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD)), detoxification enzymes (glutathione S-transferase (GST), β glucosidase) and oxidative enzymes (peroxidase (POD) and polyphenolic oxidase (PPO)). The efficient enzymatic system enables insects to maintain proper homeostasis in their bodies and protects their cells from damage. It also allows for rapid adaptation under environmental stress caused by factors such as temperature, drought or host plant change.

Identyfikacja molekularna N-metylotransferazy karnozynowej kręgowców (EC 2.1.1.22)

Jakub Drożak, jdrozak@biol.uw.edu.pl, Zakład Regulacji Metabolizmu, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, www.biol.uw.edu.pl

Karnozyna (β -alanylo-L-histydyna) i jej metylowa pochodna anseryna (β -alanylo-N π -metylo-L-histydyna) to dipeptydy obecne w mięśniach szkieletowych (0,5-45 mM) oraz mózgu (0,5-1,5 mM) kręgowców. Celem badań była identyfikacja molekularna N-metylotransferazy karnozynowej – enzymu warunkującego biosyntezę anseryny. Enzym oczyszczono metodami chromatograficznymi 600- oraz 2600-krotnie, odpowiednio z homogenatów mięśni kury oraz szczura. Analiza produktów trawienia uzyskanych preparatów enzymu techniką nanoUPLC-MS/MS pozwoliła wytypować białko HNMT-like kury oraz UPF0586 szczura jako potencjalne N-metylotransferazy karnozynowe. W celu potwierdzenia poprawności identyfikacji, wytworzono w komórkach COS-7, a następnie oczyszczono do homogenności, rekombinowane formy HNMT-like oraz UPF0586. Aktywność N-metylotransferazy karnozynowej potwierdzono dla obu rekombinowanych białek wykonując radiochemiczne pomiary ich aktywności oraz analizując (techniką HPLC-MS/MS) tożsamość molekularną produktów katalizowanych przez nie reakcji. Wykonano także charakterystykę biochemiczną obu rekombinowanych enzymów ustalając m.in. swoistość substratową oraz parametry kinetyczne reakcji (k_{cat}, K_M). Podsumowując, wykazano, że aktywność N-metylotransferazy karnozynowej jest warunkowana przez dwa odmienne enzymy: białko HNMT-like swoiste dla gadów i ptaków oraz białko UPF0586 (obecnie CARNMT1) typowe dla ssaków.

Finansowanie badań z grantów: Iuventus Plus (0081/P01/2010/70) oraz NCN (2013/11/B/NZ1/00078).

Molecular identification of vertebrate carnosine N-methyltransferase (EC 2.1.1.22)

Carnosine (β -alanyl-L-histidine) and anserine (methylcarnosine, β -alanyl-N π -methyl-L-histidine) are dipeptides present in muscle (0.5-45 mM) and brain tissue (0.5-1.5 mM) of most vertebrate species. The aim of this work was to disclose the molecular identity of carnosine N-methyltransferase, an enzyme that catalyzes the formation of anserine. The enzyme was purified 600- and 2500-fold from chicken and rat skeletal muscles, respectively, employing several chromatographic methods accompanied by radiochemical measurements of its activity. Tryptic fragments of proteins present in the most purified enzyme preparations were analyzed by nanoUPLC-MS/MS, and methyltransferases designated HNMT-like and UPF0586 were selected as candidates for chicken and rat methyltransferase, respectively. The identity of carnosine N-methyltransferase with chicken HNMT-like and rat UPF0586 proteins was confirmed by expression, purification and analysis of properties of recombinant forms of these enzymes. In particular, HPLC-MS/MS analyses confirmed that anserine is the methylated product of their activities. Kinetic parameters (k_{cat} , K_M) of the reactions and substrate specificity of these enzymes were also determined. In summary, the major achievement of this work was to show that two different enzymes catalyze the formation of anserine in vertebrates, i.e. reptilian/avian HNMT-like protein and mammalian UPF0586 enzyme.

Funded by grants: Iuventus Plus (0081/P01/2010/70) and NCN (2013/11/B/NZ1/00078).

Indukowana stresem oksydacyjnym agregacja GAPDH – znaczenie koenzymu NAD(H) oraz naturalnych przeciwutleniaczy

Joanna Strumillo, *joanna.strumillo@biol.uni.lodz.pl, Zakład Radiobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.uni.lodz.pl*

Maciej Baran, *mco13@wp.pl, Zakład Radiobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.uni.lodz.pl*

Aleksandra Rodacka, *aleksandra.rodacka@biol.uni.lodz.pl, Zakład Radiobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.uni.lodz.pl*

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH) jest oksydo-reduktazą zaangażowaną w metabolizm glukozy. Enzym ten oddziałuje z wieloma białkami, a także DNA i RNA przez co posiada szereg funkcji niezwiązanych z glikolizą. Na szczególną uwagę zasługują interakcje GAPDH z białkami inherentnie nieuporządkowanymi (ang. IDPs), których agregaty są cechą charakterystyczną nieuleczalnych chorób neurodegeneracyjnych. Liczne badania wskazują, iż oksydacyjnie zmieniona, zagregowana GAPDH przyspiesza agregację m.in. amyloidu beta, huntingtyny oraz alfa-synukleiny i może nasilać ich neurotoksyczność.

Celem niniejszej pracy było określenie stopnia agregacji GAPDH w warunkach stresu oksydacyjnego generowanego radiacyjnie oraz określenie roli NAD(H), resweratrolu i melatoniny w tym procesie. Agregację białka badano metodami fluorescencyjnymi i spektrofotometrycznymi.

Uzyskane wyniki wykazały antyagregacyjny efekt resweratrolu i melatoniny w badanych warunkach. GAPDH w formie holoenzymu agregowała w mniejszym stopniu w porównaniu z enzymem w formie apo. NADH nasilał radiacyjną inaktywację enzymu, ale chronił go w większym stopniu przed agregacją niż NAD⁺. Zjawisko to było najprawdopodobniej związane z oddziaływaniem NADH z cysteiną centrum aktywnego enzymu odgrywającą kluczową rolę w jego agregacji. Potwierdzenie tego założenia wymaga dalszych badań.

Badania współfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (2012/05/B/NZ1/00701).

Oxidative stress induced GAPDH aggregation – the role of NAD(H) coenzyme and natural antioxidants

Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) is an oxidoreductase involved in glucose metabolism. This enzyme interacts with multiple proteins and also DNA and RNA and thus it has several unrelated to glycolysis functions. Special attention is paid to the interactions of GAPDH with the intrinsically disordered proteins (IDPs) which aggregates are a hallmark of incurable, neurodegenerative disorders. Several studies signify that oxidatively modified, aggregated GAPDH accelerates aggregation of amyloid beta, alfa-synuclein and huntingtin, and may increase their neurotoxicity.

The aim of this study was to determine the degree of GAPDH aggregation triggered by radiation induced oxidative stress and to define the role of NAD(H), melatonin and resveratrol in this process. Protein aggregation was evaluated by means of fluorescence and spectrophotometric methods.

The obtained results revealed anti-aggregation properties of resveratrol and melatonin in studied system. GAPDH in the form of holoenzyme was less prone to aggregation compared to its apo form. NADH augmented radiation induced GAPDH inactivation but protected it from aggregation in a higher degree than NAD⁺. Most likely such an effect was due to the interaction of NADH with the enzyme active site cysteine; a key residue involved in its aggregation. This hypothesis needs further experimental verification.

This work was in part financially supported by the National Science Center (Poland) (2012/05/B/NZ1/00701).

Kinetyczny rozdział estrów (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu w wyniku hydrolizy z zastosowaniem preparatu Lecitase® Ultra

Aleksandra Leśniarek, *aleksandra.jurabio@gmail.com, Katedra Chemii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, www.upwr.edu.pl*

Witold Gładkowski, *glado@op.pl, Katedra Chemii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, www.upwr.edu.pl*

Lecitase® Ultra to preparat przemysłowo stosowany do hydrolizy fosfolipidów podczas rafinacji olejów roślinnych w procesie tzw. odśluzowywania. Ze względu na swoją aktywność hydrolityczną znalazł on zastosowanie w syntezie asymetrycznej do otrzymywania m.in. enancjomerycznie wzbogaconych estrów kwasu migdałowego oraz estrów metylowych N-acetyloaminokwasów, nie był natomiast dotychczas stosowany do rozdziału racemicznych estrów alkoholi allilowych.

Celem badań było przetestowanie preparatu Lecitase® Ultra jako biokatalizatora kinetycznego rozdziału racemicznych estrów (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu oraz określenie wpływu temperatury reakcji na czystość optyczną otrzymanych produktów.

W toku badań wykazano, że preparat Lecitase® Ultra katalizuje hydrolizę estrów allilowych (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu zgodnie z regułą Kazlauskasa, w wyniku czego uzyskuje się (+)-(R)-alkohol i nieprzereagowany (-)-(S)-propionian lub (-)-(S)-octan. Najlepsze wyniki uzyskano w przypadku hydrolizy racemicznego propionianu w temperaturze 20-30 °C otrzymując enancjomerycznie wzbogacone (R)-alkohole z nadmiarami enancjomerycznymi 94-97 %. W przypadku nieprzereagowanego estru wyższą czystość optyczną (ee=34-42 %) obserwowano dla (S)-octanu. Wzrost temperatury do 40° C skutkował mniejszą enancjoselektywnością procesu.

Uzyskane wyniki wskazują, że Lecitase® Ultra może być alternatywnym biokatalizatorem w stosunku do dotychczas stosowanych lipaz w procesach kinetycznego rozdziału racemicznych estrów alkoholi allilowych.

Kinetic resolution of (E)-4-phenylbut-3-en-2-yl esters through Lecitase® Ultra-catalyzed hydrolysis

Lecitase® Ultra is an preparation used industrially to the hydrolysis of phospholipids during the refining of vegetable oils in the degumming process. Due to its hydrolytic activity, it has been used in asymmetric synthesis to the production of enantiomerically enriched mandelates and N-acetyl- α -amino acid methyl esters but its application to the resolution of racemic allyl esters has not been reported so far.

The purpose of the study was to test Lecitase® Ultra preparation for the kinetic resolution of racemic esters of (E)-4-phenylbut-3-en-2-ol and to estimate the influence the temperature of reaction on the optical purity of the products.

During the studies it was shown that Lecitase® Ultra catalyzes the enantioselective hydrolysis of (E)-4-phenylbut-3-en-2-ol esters according to the Kazlauskas' rule to (+)-(R)-alcohols leaving the unreacted (-)-(S)-propionate or (-)-(S)-acetate. Best results were obtained during hydrolysis of propionate at 20-30 °C to obtain enantiomerically enriched (R)-alcohols with enantiomeric excesses 94-97%. In the case of unreacted ester the highest optical purity (ee = 34-42%) was observed for (S)-acetate. Increase of temperature to 40 °C resulted in the lower enantioselectivity of the process.

The results indicate that Lecitase® Ultra can be a biocatalyst alternative to lipases used previously for the kinetic resolution of racemic allyl esters.

Ocena przeżywalności bakterii z rodzaju *Pseudomonas* w zainokulowanym pofermencie z biogazowni

Donata Kosicka-Dziechciarek, donatadz@up.poznan.pl, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, www.skylark.up.poznan.pl

Agnieszka Wolna-Maruwka, amaruwka@up.poznan.pl, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, www.skylark.up.poznan.pl

Alicja Niewiadomska, alicja.niewiadomska@up.poznan.pl, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, www.skylark.up.poznan.pl

Zyta Waraczewska, zyta.waraczewska@wp.pl, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, www.skylark.up.poznan.pl

Aleksandra Grzyb, o.grzyb26@gmail.com, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, www.skylark.up.poznan.pl

Celem niniejszej pracy było opracowanie optymalnej metody wprowadzenia bakterii z rodzaju *Pseudomonas* do pulpy pofermentacyjnej z biogazowni, skutkującej najefektywniejszym rozwojem i przeżyciem tych bakterii w nowym środowisku, tak aby były aktywne w stosunku do pewnych patogenów roślinnych.

W tym celu z ustabilizowanym fizycznie i chemicznie produktem z biogazowni stworzono pięć wariantów doświadczenia: 1. Kontrola – sam poferment niejałowy, 2. Poferment niejałowy zaszczepiony bakteriami PS, 3. Poferment jałowy zaszczepiony PS, 4. Poferment niejałowy zaszczepiony bakteriami PS hodowanymi na podłożu zmodyfikowanym z PVP, 4. Poferment jałowy zaszczepiony bakteriami hodowanymi na podłożu zmodyfikowanym z PVP – każdy w dziesięciu powtórzeniach.

Po 1., 7., 14., 30. i 60. dniu oceniano przeżywalność wprowadzonego szczepu przez oznaczenie aktywności dehydrogenaz oraz liczebności bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Otrzymane wyniki wskazały na małą przeżywalność wprowadzonych bakterii do pulpy i wymusiły do poszukiwania takiego inokulum i takiego nośnika, w którym wprowadzane bakterie mogłyby prze-

żyć. Stąd dokonano modyfikacji podłoża do hodowli drobnoustrojów wprowadzając dodatkowo zeolit oraz zwiększono zawartość komórek w wprowadzonym inoculum do pulpy pofermentacyjnej. Modyfikacja przez zwielokrotnienie objętości inoculum przyczyniła się do istotnego zwiększenia przeżycia wprowadzonych bakterii.

Badania nad opracowaniem innowacyjnego nawozu mineralno-organicznego z pofermentu. PARP. POIR 02.03-30-0002/16.

Evaluation of the survival of *Pseudomonas* in the inoculated digestate from the biogas plant

The aim of this study was to develop an optimal method of entering bacteria of the *Pseudomonas* genus into digestion pulp from a biogas plant so as to achieve the most effective development and survival rate of these bacteria in a new environment as well as their optimal activity against some plant pathogens. In order to achieve the aim of the study an experiment was conducted on a physically and chemically stabilised product from a biogas plant. The following five variants were used in the experiment: 1. the control variant – unsterile digestate only, 2. unsterile digestate inoculated with PS bacteria, 3. sterile digestate inoculated with PS bacteria, 4. unsterile digestate inoculated with PS bacteria cultured on a PVP-modified medium, 5. sterile digestate inoculated with PS bacteria cultured on a PVP-modified medium. There were ten replicates of each variant. After 1, 7, 14, 30 and 60 days the survival rate of the strain was assessed by measurement of the dehydrogenase activity and count of *Pseudomonas* bacteria. The results showed that there was low survival rate of the bacteria entered into the pulp. It was necessary to search for the inoculum and carrier which would guarantee survival of the bacteria. Therefore, the substrate used for the culturing of microorganisms was modified by adding zeolite and increasing the content of cells in the inoculum entered into the pulp. The multiplication of the volume of the inoculum significantly increased the survival rate of the bacteria entered into the pulp.

Investigation on the development of innovative mineral-organic fertilizer from digestate. PARP. POIR 02.03-30-0002/16

Określenie funkcjonalności preparatów enzymatycznych do produkcji wyrobów mięsnych poddanych obróbce cieplnej

Jerzy Stangierski, *jerzy.stangierski@up.poznan.pl*, Katedra Zarządzania Jakością, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, *www.skylark.up.poznan.pl*

Krzysztof Kawecki, Katedra Zarządzania Jakością, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, *www.skylark.up.poznan.pl*

Zmieniające się oczekiwania rynku stanowią główną przyczynę poszukiwania przez naukowców, producentów dodatków do żywności, jak i producentów żywności nowych koncepcji i kierunków rozwoju przetwórstwa żywności. Działania te dotyczą także przemysłu mięsnego, gdzie szuka się sposobów na optymalizację jakościową procesów technologicznych oraz wyrobów finalnych.

Przedmiotem badań była produkcja szynek całościowych, nastrzykiwanych z dodatkiem różnych preparatów enzymatycznych na bazie transglutaminazy. Elementem kluczowym, który założono na początku w celu badań było określenie wpływu preparatu enzymatycznego na przebieg procesu produkcyjnego. W czasie testów analizowano wpływ dodatku preparatów na jakość produktu w poszczególnych etapach wytwarzania: od nastrzyku po obróbkę cieplną obserwując zmiany zachodzące w solance (lepkość), teksturze farszu (tężenie farszu w czasie) i wyrobu gotowego (przekrój, barwa, ubytki).

Wykazano, że preparaty enzymatyczne z inhibitorem wykazują dużo niższą aktywność w niskich temperaturach w odniesieniu do preparatów bez inhibitora. Pozwala to wydłużyć prowadzenie procesów produkcyjnych i umożliwia pełniejsze wykorzystanie właściwości funkcjonalnych białek, na przykład podczas procesu masowania. W efekcie końcowym, dzięki opóźnionej aktywacji enzymu, proces „sieciovania” białek odbywa się głównie podczas obróbki cieplnej. Pozytywnie wpływa to na jakość wyrobu finalnego, charakteryzującego się między innymi lepszym wyglądem plastrów, teksturą i uzyskami końcowymi, co w szczególności zauważono w szynkach całościowych.

Determination of the functionality of enzyme preparations for the production of heat-treated meat products

The changing expectations of the market are the main reason for scientists, food additive manufacturers, as well as food producers, for new concepts and directions for the development of food production. These activities also concern the meat industry, where we seek ways of optimizing the quality of technological processes and final products.

The subject of the research was production of whole muscles hams, injected with various enzyme preparations based on transglutaminase. The key element that was established at the beginning of the study was to determine the effect of the enzyme preparation on the production flow. During the tests, the impact of the preparation addition on the quality of the product was analyzed in the various stages of production: from injections to heat treatment, observing changes in brine (viscosity), texture of stuffing (stiffening) and finished product (cross-section, color, losses).

It has been shown that enzyme preparations with an inhibitor exhibit much lower activity at low temperatures with respect to non-inhibitor formulations. This allows producers to prolong the production process and make possible full use of the protein's functional properties (eg. during the tumbling). As a result, due to delayed activation of the enzyme, the "protein crosslinking" process takes place mainly during heat treatment. It positively influences the quality of the final product, which is characterized among others by better appearance of slices, textures and yields, which in particular have been noted for whole muscles hams.

Rola peroksydaz w badaniach zmienności genetycznej traw ze szczególnym uwzględnieniem hodowlanych odmian życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum* Lam.)

Maria Krzakowa, krzakowa@amu.edu.pl, Zakład Genetyki, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, www.amu.edu.pl

Zbigniew Celka, zcelka@amu.edu.pl, Zakład Taksonomii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, www.amu.edu.pl

Peroksydazy (E.C.1.11.1.7) występują we wszystkich roślinach włączając mszaki, trawy i drzewa leśne. Ponieważ metoda wykrywania peroksydaz jest stosunkowo prosta w porównaniu do innych układów enzymatycznych, a sam enzym uważany jest za bardzo stabilny, przeto stał się standardowym markerem w badaniach genetycznych. Analizom poddaje się ekstrakt uzyskany ze świeżych liści, którym nasącza się skrawki bibuły (Whatmann) i umieszcza w 11 % żelu skrobiowym opartym na buforze litowo-borowym pH 8.1. W populacjach dzikich traw, peroksydazowe allozymy odgrywają ważną rolę jako wskaźniki różnic międzygatunkowych i zmienności wewnątrz-gatunkowej. W odmianach traw hodowlanych są rzadko stosowane.

W naszych badaniach użyliśmy surowy ekstrakt z liści siewek, wyhodowanych w jednakowych warunkach szklarniowych, z nasion 27 odmian życicy wielokwiatowej (*L. multiflorum*) otrzymanych z krajów europejskich (Francji, Niemiec, Danii, Hiszpanii, Danii i Holandii) oraz 16 odmian z Polski. Wyniki przedstawiono w postaci dendrogramów.

Peroxidases in grasses with a particular focus on Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) cultivars

Peroxidases (E.C.1.11.1.7) are ubiquitous in different plants including mosses, grasses and forest trees. They have become standard isozyme markers due to their easy detection when compared with other enzyme systems. For analysis, peroxidases are extracted from fresh plant material. Crude extracts are soaked by paper wicks and exposed to electrophoresis in 11 % starch gel (Sigma) based on lithium-boric buffer system pH 8.1. Gels were specifically stained using 3-amino-9ethyl-carbasole.

In the populations of wild grasses peroxidase allozymes play an important role as taxonomic markers and as indicators of intra-specific variability. In cultivars, they are not frequently used. We have decided to introduce peroxidase to our investigations on genetic differentiation of Italian ryegrass (*L. multiflorum*) in 27 cultivars derived from different European countries (France, Germany, Denmark, Spain, Holland) and 16 from Poland. Genetic similarities and differences were illustrated by dendrograms based on alleles frequency.

Znaczenie biologiczne enzymów występujących w grzybach jadalnych

Konrad Dobosz, uran16@o2.pl, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, www.cm-uj.krakow.pl

Jan Lazur, janlazur@gmail.com, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, www.cm-uj.krakow.pl

Bożena Muszyńska, muchon@poczta.fm, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, www.cm-uj.krakow.pl

Grzyby, w tym jadalne, według istniejących hipotez, dzięki procesom biochemicznym i enzymom, które zawierają w strzępkach, przyczyniły się do rozwoju ewolucji żywych organizmów na Ziemi. Celem pracy było przedstawienie roli enzymów występujących w grzybach jadalnych, które mają znaczenie w procesach związanych z bioremediacją środowiska. Obecność ksenobiotyków w środowisku jest poważnym problemem ze względu na ich szkodliwy wpływ na organizmy żywe, a ich usunięcie uznaje się za istotne dla ochrony zdrowia. Grzyby wykazują tę zdolność dzięki enzymom, występującym w strzępkach. Organizmy te dekontaminują zanieczyszczenia na drodze biodegradacji, biosorpcji i biokonwersji. Ich duża skuteczność jest również spowodowana szybkim wzrostem, produkcją dużej ilości biomasy i powszechnym występowaniem strzępek w środowisku. Grzyby za pomocą enzymów mają wysoki potencjał do usuwania zanieczyszczeń takich jak wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, oraz do oczyszczania gleb skażonych metalami ciężkimi dzięki zdolności do ich akumulacji. Głównymi enzymami biorącymi udział w rozkładzie ksenobiotyków są: peroksydaza ligniny, peroksydaza manganowa, enzymy produkujące nadtlenek wodoru. Innym enzymem jest lakaza, która może rozkładać difenole, aryloaminy, aminofenole. Grzyby zawierają szereg enzymów, dzięki którym mogą być wykorzystane do usuwania ze środowiska ksenobiotyków bez ponoszenia dużych nakładów finansowych.

Biological significance of edible mushrooms enzymes

Introduction: Fungi including edible mushrooms, due to the biochemical processes and enzymes contained in the hyphae, have contributed to the evolution of living organisms on Earth.

Aim of the study: The aim of the study was to present the role of enzymes in edible mushrooms, which are important in processes connected with bioremediation of the environment.

Content: The presence of xenobiotics in the environment is a serious problem because of their detrimental effects on living organisms and their removal is considered to be important for the protection of health. Mushrooms owe this ability due to presence of the enzymes in the hyphae. These organisms decontaminate pollution by biodegradation, biosorption and bioconversion. Their high efficiency is also caused by rapid growth, large biomass production and the widespread occurrence of hyphae in the environment. Mushrooms by means of enzymes have a high potential for the removal of pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons and for the treatment of soils contaminated with heavy metals by their ability to accumulation. The major enzymes involved in the xenobiotics biodegradation are: lignin peroxidase, manganese peroxidase, hydrogen peroxide enzymes. Another enzyme is laccase, which can decompose diphenols, arylamines, aminophenols.

Conclusions: Mushrooms contain a number of enzymes that can be used to remove xenobiotics from the environment without significant financial expenditure.

Postery naukowe

Actinobacteria

– wydajni producenci substancji biologicznie czynnych

Magdalena Czemińska, [magdalena.czemienska@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:magdalenaczemierska@poczta.umcs.lublin.pl), Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Aleksandra Szcześ, aszczes@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Anna Jarosz-Wilkolazka, anna.wilkolazka@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Actinobacteria to zróżnicowana klasa mikroorganizmów, obejmująca wiele szczepów bakteryjnych o ogromnym potencjale aplikacyjnym. Zaliczane do tej grupy bakterie, charakteryzują się unikatowymi zdolnościami adaptacyjnymi do skrajnych warunków środowiskowych. Występują powszechnie w glebie, wodach słodkich i słonych, kompoście, ściekach oraz korzeniach roślin. Niektóre gatunki mogą również bytować w jaskiniach oraz lodowcach Antarktydy i Arktyki. Substancje syntetyzowane przez *Actinobacteria* obejmują enzymy, antybiotyki, barwniki, związki przeciwwirusowe, fungicydy oraz insektycydy. Wiele szczepów *Actinobacteria* wytwarza antybiotyki o różnej strukturze chemicznej i szerokim spektrum działania. Rodzaje takie jak *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora* i *Saccharopolyspora* dostarczają antybiotyków z grupy aminoglikozydów, β -laktamów, tetracyklin oraz makrolidów. Dzięki syntezie enzymów takich jak celulazy, chitynazy i ksylanazy możliwy jest rozkład materii organicznej m.in. przez rodzaj *Micromonospora*, występujący powszechnie w osadach dennych. Bakterie z rodzaju *Frankia* są producentami enzymu nitrogeazy, zdolnymi do tworzenia brodawek u roślin motylkowatych. Symbioza pozwala na dostarczenie roślinie łatwiej przyswajalnych form azotu i sprawia, że bakterie stają się istotnym elementem w obiegu tego pierwiastka w przyrodzie. Natomiast zdolność do wytwarzania różnorodnych, biologicznie aktywnych substancji potwierdza ogromne znaczenie *Actinobacteria* w środowisku naturalnym.

Actinobacteria

– efficient producers of biologically active substances

Actinobacteria is a diverse class of microorganisms, which includes many bacterial strains with great application potential. This group of bacteria is known for its unique adaptability to extreme environmental conditions. They are commonly found in soil, fresh and salt water, compost, sewage and plant roots. Some species may also be found in Antarctic and Arctic glaciers and caves. Substances synthesized by *Actinobacteria* include enzymes, antibiotics, dyes, antiviral compounds, fungicides and insecticides. Many strains of *Actinobacteria* produce antibiotics with diverse chemical structure and broad activity spectrum. Species such as *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora*, and *Saccharopolyspora* provide aminoglycosides, β -lactams, tetracyclines and macrolides. The synthesis of enzymes such as cellulases, chitinases, and xylanases by *Micromonospora* allows to dispose the organic matter, which can be found in bottom sediments. *Frankia* are the producers of nitrogenase and are able to form nodules in Leguminosae. Symbiosis allows to deliver assimilable nitrogen to the plant and makes the bacteria a crucial factor in the circulation of this element in nature. The ability to produce a variety of biologically active substances confirms the importance of *Actinobacteria* in natural environment.

Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w komórce podczas procesu starzenia

Karolina Stępień, *karolina.stepien89@interia.pl*, Katedra Biochemii i Biologii Komórki, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski www.ur.edu.pl

Mateusz Mołoń, *mateuszmolon@univ.rzeszow.pl*; Katedra Biochemii i Biologii Komórki, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl

Starzenie się jest procesem wieloczynnikowym, którego skutkiem jest zmniejszenie zdolności organizmu do odpowiedzi na stres środowiskowy. W wyniku tego procesu dochodzi do nagromadzenia się wewnątrzkomórkowych uszkodzeń, upośledzenia funkcji tkanek i narządów, a w konsekwencji do śmierci organizmu. Jak do tej pory powstało wiele hipotez i teorii, które miały wyjaśnić mechanizmy prowadzące do starzenia się komórek. Od wielu lat szeroko dyskutowana jest tzw. wolnorodnikowa teoria starzenia, która zakłada destrukcyjny wpływ na organizm reaktywnych form tlenu (RFT). RFT, np. anionorodnik ponadtlenkowy, prowadzą do utleniania makrocząsteczek komórki, co w konsekwencji zaburza ich funkcję. Mechanizmem obronnym w przeciwdziałaniu wolnorodnikowym uszkodzeniom są związki mające zdolność zmiatania wolnych rodników, bądź ich przemiany w formy nieaktywne. Pierwszą linię obrony w komórce stanowią enzymy antyoksydacyjne: dysmutazy ponadtlenkowe, katalaza, czy peroksydaza glutationowa. Dysmutazy ponadtlenkowe katalizują reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do reaktywnego nadtlenku wodoru, który następnie jest rozkładany przez katalazę. Z kolei peroksydaza glutationowa ma zdolność redukcji zarówno nadtlenku wodoru jak i nadtlenków organicznych. Celem niniejszej pracy było wykazanie zmian aktywności antyoksydacyjnej, które towarzyszą starzeniu się wybranych organizmów.

The activity of antioxidant enzymes in the cell during the aging process

Aging is a multifactorial process that reduces the ability of the body to respond to environmental stress. As a result of this process, intracellular damage is accumulated, the function of tissues and organs is impaired, which ultimately leads to organism death. So far, many hypotheses and theories have been created to explain the mechanisms leading to cell aging. For many years now, the so-called free radical theory of ageing, which assumes a destructive effect on the organism of reactive oxygen forms (ROS) has been widely discussed. ROS, eg superoxide anion, leads to the oxidation of cellular macromolecules, which in turn disrupts their function. The mechanism for defending against free radical damage consists of compounds that have the ability to sweep free radicals, or to transform them into their inactive forms. The cell's first line of defence are antioxidant enzymes: superoxide dismutases, catalase and glutathione peroxidase. The superseroxide dismutases catalyse the dismutation reaction of superoxide to a reactive hydrogen peroxide, which is then decomposed by catalase. In turn, glutathione peroxidase has the ability to reduce both hydrogen peroxide and organic peroxides. The aim of this paper is to show the changes in antioxidant activity that accompany the ageing process of selected organisms.

Aktywność hydrolityczna depolimerazy faga 7b wobec polisacharydów produkowanych przez szczepy *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* Rt24.2 oraz Rt2472

Paulina Lipa, paulina.lipa56@gmail.com, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Marta Koziel, marta.koziel@outlook.com, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Magdalena Kopycińska, makopycinska@gmail.com, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Teresa Urbanik-Sypniewska, teresa.urbanik-sypniewska@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Monika Janczarek, mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl; Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Monika Marek-Kozaczuk, marek.kozaczuk@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Rizobiofagi to wirusy DNA, dla których gospodarzem są bakterie należące do rodziny *Rhizobiaceae*. Duża zjadliwość tych wirusów względem bakterii wynika z obecności adhezyn, odpowiedzialnych za rozpoznawanie receptorów (najczęściej polisacharydów powierzchniowych) oraz wytwarzania enzymów zaangażowanych w degradację składników ściany komórkowej. Jednym z takich enzymów jest depolimeraza odpowiedzialna za hydrolizę komponentów białkowych oraz węglowodanowych (takich jak: egzopolisacharydy (EPS) i lipopolisacharydy (LPS)). Wyniki rozdzielania elektroforetycznego SDS-PAGE wykazały również zmiany w profilu LPS szczepów Rt24.2 i Rt2472 po działaniu faga 7b w porównaniu do hodowli kontrolnych. Różnice dotyczyły zmian ilościowych i jakościowych frakcji LPS reprezentujących lipid A oraz część rdzeniową. Kinetyka wzrostu liczby grup redukujących w EPS poddanych działaniu lizatu faga 7b, chromatografia cienkowarstwowa i analiza profili LPS wskazują, że w strukturze obu polimerów bakterii *R. leguminosarum* bv. *trifolii* występuje różna ilość miejsc wrażliwych na działanie depolimerazy faga 7b, co może być związane z odmienną strukturą przestrzenną tych makrocząsteczek.

Hydrolytic activity of 7b phage depolymerase against polysaccharides produced by *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii* Rt24.2 and Rt2472

Rizobiophages are DNA viruses, which are hosted by bacteria belonging to the *Rhizobiaceae* family. The extraordinary virulence of these viruses against the bacteria is due to the presence of adhesins involved in recognizing of host cell receptors (most often surface polysaccharides) and production of enzymes involved in degradation of cell envelope components. One of these enzymes are depolymerases responsible for the hydrolysis of protein and carbohydrate components (such as exopolysaccharides (EPS) and lipopolysaccharides (LPS)). The aim of this study was to determine the hydrolytic activity of the phage 7b depolymerase using EPS of the wild-type *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii* strain Rt24.2 and the mutant Rt2472 containing a *rosR* mutation, which resulted in a 3-fold decrease of EPS production in relation to Rt24.2. Determination of the numbers of reducing groups in EPS of the tested strains treated with phage 7b showed their significant increase during the time of the experiment. Comparative thin-layer chromatography revealed differences in hydrolysis of these EPS. SDS-PAGE analysis also showed changes in LPS profiles of Rt24.2 and Rt2472 strains after treatment with the 7b phage lysate in comparison to control cultures. The differences concerned quantitative and qualitative changes in LPS fractions representing lipid A and the core. The kinetics of an increase of reducing groups in EPS treated with the 7b phage lysate, thin-layer chromatography and LPS profile analysis indicate that different numbers of sites sensitive to action of the 7b phage depolymerase occur in both these polymers of the *R. leguminosarum* *bv. trifolii* strains, that might be associated with distinct structures of these macromolecules.

Biokataliza – „lek” na zanieczyszczenia związkami biologicznie aktywnymi

Kamila Wlizło, *kamila.wlizlo@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, *www.umcs.pl*

Jolanta Polak, *jpolak@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, *www.umcs.pl*

Anna Jarosz-Wilkołazka, *anna.wilkołazka@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, *www.umcs.pl*

Wysoka konsumpcja oraz produkcja farmaceutyków i innych biologicznie aktywnych związków, a także nieprawidłowy sposób ich składowania mają negatywny wpływ na środowisko naturalne. Związki te obecne są nie tylko w ściekach, ale także w wodach powierzchniowych, gruntowych a nawet w wodzie pitnej. Zanieczyszczenia te mają znaczący wpływ na organizmy żywe już na poziomie mikroorganizmów, przyczyniając się do wzrostu ich lekooporności, a w konsekwencji na ograniczenie możliwości terapeutycznych w chorobach wywołanych przez bakterie. Związki te mogą prowadzić również do zaburzeń równowagi hormonalnej związanej głównie z procesami rozrodczymi zarówno zwierząt, jak i ludzi. Ze względu na wysoką emisję oraz różnorodność budowy tych zanieczyszczeń, znane obecnie metody fizykochemiczne stosowane w oczyszczalniach nie zapewniają całkowitego ich rozkładu w ściekach, dlatego też konieczne jest opracowanie nowych procesów o większej wydajności w degradacji tych związków. Rozwiązaniem może okazać się stosowanie procesu biokatalizy opartego na działaniu enzymów o niskiej specyficzności substratowej. Intensywne badania prowadzone w tej dziedzinie, dały obiecujące rezultaty degradacji szerokiej grupy zanieczyszczeń w łagodnych i przyjaznych środowisku warunkach reakcji, z jednoczesnym utworzeniem niskotoksycznych metabolitów.

Praca współfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki (2015/17/N/NZ9/03647).

Biocatalysis – "a cure" for pollution by biologically active compounds

High consumption and the production of pharmaceuticals and other biologically active compounds, as well as improper storage, have a negative impact on the environment. These compounds are present not only in wastewaters but also in surface water, ground water and even in drinking water. These pollutants have a significant effect on living organisms already at the level of microorganisms, causing the increase of their drug resistance, and consequently the reduction of therapeutic potential in diseases caused by bacteria. These compounds may also lead to hormonal imbalances primarily related to reproductive processes, both animals and humans. Due to the high emission and the diversity of chemical structure of these pollutants, currently known physicochemical methods used in treatment plants do not ensure their complete decomposition in wastewaters, therefore it is necessary to develop new processes with higher efficiency in the degradation of these compounds. The solution may be to use a biocatalysis process based on the enzyme characterised by low substrate specificity. Intensive research in the field has showed promising results for the degradation of a wide range of pollutants in mild and environmentally-friendly reaction conditions, and creating low-toxic metabolites.

This work was partially supported by National Science Centre (2015/17/N/NZ9/03647).

Drożdżowe białko Asf1 posiada aktywność modulującą względem kinazy białkowej CK2

Monika Elżbieta Jach, monijach@kul.lublin.pl, Katedra Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, www.kul.pl

Andrea Baier, baier@kul.lublin.pl, Katedra Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, www.kul.pl

Ryszard Szyszka, szyszkar@kul.lublin.pl; Katedra Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, www.kul.pl

Kinaza białkowa CK2 jest plejotropowym, konstytutywnie aktywnym enzymem występującym we wszystkich organizmach eukariotycznych. Odgrywa istotną rolę w przeżyciu komórek i chroni białka regulatorowe przed degradacją za pośrednictwem kaspazy w trakcie procesu apoptozy. CK2 jest serynowo/treoninowa kinazą białkową występująca jako heterotetrameryczny kompleks $\alpha_2\beta_2$, składający się z dwu podjednostek katalitycznych CK2 α i/lub CK2 α' oraz dwu niekatalitycznych, podjednostek regulatorowych CK2 β lub jako monomer wolnych podjednostek. Podjednostka regulatorowa CK2 β zawiera charakterystyczny kwaśny odcinek, który wykazuje cechy autoinhibitorowe i funkcje regulatorowe. Sekwencja polikwasowa w drożdżowym białku Asf1 jest podobna do tego kwaśnego klastra w CK2 β . Zaobserwowaliśmy, iż nadekspresja Asf1 w komórkach drożdży wpływa na wzrost tych komórek. Eksperymenty prowadzone zarówno *in vitro* jak i *in vivo* wskazują, że białko Asf1 hamuje kinazę białkową CK2 α' . Z drugiej strony, Asf1 wykazuje efekt stymulacji wobec CK2 α . To sugeruje, że każda z podjednostek katalitycznych CK2 może być regulowana w inny sposób. Usunięcie aminokwasowego lub karboksylowego końca z białka Asf1 ujawniło, że ten kwaśny odcinek w pobliżu C-końca białka Asf1 jest odpowiedzialny za aktywację lub hamowanie aktywności enzymu CK2.

Yeast protein Asf1 possesses modulating activity towards protein kinase CK2

Protein kinase CK2 is the most known pleiotropic protein enzyme, which is constitutively active in all eukaryotic organisms. CK2 plays an important role in cell survival and protects regulatory proteins from caspase mediated degradation during apoptosis. CK2 is serine/treonine protein kinase existing as a heterotetrameric complex $\alpha_2\beta_2$ consisting of two catalytic CK2 α and/or CK2 α' subunits, and two non-catalytic, regulatory CK2 β subunits or as monomeric form of free subunits. The regulatory CK2 β subunit contains a characteristic acidic stretch which shows autoinhibitory features and regulatory functions. The poly-acidic sequence in yeast protein Asf1 is similar to this acidic cluster in CK2 β . We observed that overexpression of Asf1 in yeast cells influences cell growth. Experiments provided *in vitro* and *in vivo* indicate that Asf1 protein inhibits protein kinase CK2 α' . On the other hand, Asf1 shows effect of stimulation towards CK2 α . This suggests that each CK2 catalytic subunit might be regulated in a different way. Deletion of the amino or carboxyl end of Asf1 protein reveals that the acidic cluster close to the C-terminus of Asf1 protein is responsible for activation or inhibition of CK2 activity.

Enzymatyczna biokonwersja laktozy mleka koziego i jego permeatu

Łukasz K. Kaczyński, lukasz.kaczynski@up.poznan.pl, Katedra Jakości Produktów Mleczarskich, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, www.up.poznan.pl/kjpm

Dorota Cais-Sokolińska, cais@up.poznan.pl; Katedra Jakości Produktów Mleczarskich, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, www.up.poznan.pl/kjpm

Mleko kozie i jego permeat po MF/UF stanowiąc mogą bazę do produkcji fermentowanych innowacyjnych produktów mleczarskich. Reakcja hydrolizy i transgalaktozylacji laktozy przy użyciu enzymu β -galaktozydazy, przyczynia się do powstawania GOS o właściwościach prozdrowotnych.

Celem badań była analiza kinetyki hydrolizy laktozy i tworzenie się GOS w mieszaninie mleka koziego i jego permeatu (60:40, v/v), który może stanowić surowiec do produkcji mleka fermentowanego.

Odtłuszczone mleko kozie, poddano mikrofiltracji przy użyciu ceramicznych membran o \varnothing 0,14 μm ISOFLUX™ Tami Industries. Permeat zagęszczono UF. Aby wywołać reakcję, zastosowano preparat β -galaktozydazy K. lactis o nazwie GODO-YNL2. Dodano go do mleka i jego mieszaniny w ilości 0,1 % (w/v). Hydrolizę i transgalaktozylację laktozy mleka prowadzono w 37, 40, 43 °C przez 6h. Próbki następnie pasteryzowano w temperaturze 92 °C przez 15 minut. W 1h reakcji, test przeprowadzono co 20 minut, a następnie co 1h.

Wykazano, że w mieszaninie mleka koziego i jego permeatu w wyniku enzymatycznej hydrolizy i transgalaktozylacji laktozy powstają GOS w ilości stanowiącej prawie 7 % ogólnej zawartości. Jest to około 10% więcej GOS niż w mleku. Najwięcej GOS powstaje w 37 °C po 20 min reakcji. Po 6 h reakcji w różnych temperaturach udział GOS w ogólnej ilości cukrów w mieszaninie mleka i permeatu wyniósł tylko 1,4%, a stopień hydrolizy laktozy był większy niż 92,3%. Obecność GOS w mieszaninie przyspiesza fermentację mlekowo-alkoholową.

Enzymatic bioconversion of goat's milk lactose and its permeate

Goat milk and its permeate after MF/UF may be the basis for the production of fermented innovative dairy products. The hydrolysis and transgalactylation of lactose by the enzyme β -galactosidase contributes to the development of healthy GOS.

The aim of the study was to analyze the kinetics of lactose hydrolysis and the formation of (GOS) in a mixture of goat's milk and its permeate (60:40, v/v) which can be a raw material for the production of fermented milk.

Skimmed milk was subjected to microfiltration with ceramic membranes of \emptyset 0.14 μm ISOFLUX™ Tami Industries. Permeate was concentrated UF. The reactions were catalyzed by β -galactosidase from *K. lactis* named GODO-YNL2. The enzyme preparation was added to reaction mediums at concentration 0.1% (w/v). Hydrolysis and transgalactosylation of the milk lactose was carried in 37, 40, 43 °C for 6 h. The samples were then pasteurized at 92 °C for 15 min. In the first hour of the reaction, the assay was carried out every 20 min, every 1h thereafter.

It has been shown that in a mixture of goat's milk and its permeate resulting from enzymatic hydrolysis and transgalactylation of lactose, GOS is produced in an amount of almost 7% of the total content. This is about 10% more GOS than in milk. Most GOS is formed at 37 °C after 20 min reaction. After 6 h of reaction at different temperatures, the GOS share of total sugars in the milk and permeate mixture was only 1.4% and the lactose hydrolysis was greater than 92.3%. The presence of GOS in the mixture accelerates the milk-alcohol fermentation.

Inhibitory enzymów o potencjalnym zastosowaniu medycznym

Katarzyna Szaląpata, katarzyna.szalapata@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Monika Osieńska-Jaroszuk, monika.osinska-jaroszuk@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Anna Jarosz-Wilkolazka, anna.wilkolazka@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Już w czasach starożytnych pierwsi medycy skupiali się na poszukiwaniu jak najbardziej dopasowanych i skutecznych terapii dla leczonych przez nich pacjentów. Obecnie dzięki bardzo intensywnemu rozwojowi diagnostyki i technik projektowania nowych leków *in silico* możemy tworzyć nowoczesne terapie dla wielu chorób na poziomie molekularnym. Wśród leków, które co roku pojawiają się na rynku farmaceutycznym na szczególną uwagę zasługują te, które są inhibitorami enzymów proteolitycznych. Dzięki zahamowaniu aktywności enzymatycznej wybranych biokatalizatorów poprzez zastosowanie odwracalnych lub nieodwracalnych inhibitorów możliwe jest zmniejszenie żywotności patogennych mikroorganizmów, ograniczenie namnażania wirionów lub wstrzymanie powstawania szkodliwych metabolitów w ludzkim organizmie. Ponadto sukcesy w leczeniu takich chorób jak zakażenie HIV, wirusem zapalenia wątroby typu C czy grypy z zastosowaniem inhibitorów proteaz z całą pewnością zachęcają naukowców do poszukiwania nowych cząsteczek, które mogłyby być stosowane w nowych terapiach. Niniejsza praca stanowiła przegląd wybranych informacji dotyczących inhibitorów enzymów proteolitycznych, które są zarejestrowanymi lekami wprowadzonymi już na rynek medyczny oraz substancji o obiecującym potencjale leczniczym.

Praca współfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu badawczego 2014/15/N/NZ7/04092.

Inhibitors of enzymes with potential medical applications

From the earliest times, the first doctors focused on finding the most suitable and effective treatments for their patients. Today, thanks to the very intensive development of diagnostics and new in silico drug design techniques, we can create modern therapies for many diseases at the molecular level. Among the drugs that appear every year on the pharmaceutical market, inhibitors of proteolytic enzymes are the ones which deserve for special attention. Thanks to the inhibition of enzymatic activity of selected biocatalysts by the use of reversible or irreversible inhibitors, it is possible to reduce the viability of pathogenic microorganisms, to limit the multiplication of virions or to stop the formation of harmful metabolites in the human body. In addition, success in the treatment of diseases such as HIV, Hepatitis C virus or influenza infections based on protease inhibitors certainly encourages researchers to look for new molecules that could be used in new therapies. This paper provides an overview of selected information about proteolytic enzyme inhibitors, which are already registered drugs introduced to the medical market and those which can be promising therapeutic substances.

This work was partially supported by National Science Centre (2014/15/N/NZ7/04092).

Ocena cytostatycznych właściwości oksytiaminy względem komórek raka piersi i raka szyjki macicy

Magdalena Siemieniuk, *m.siemieniuk@uwb.edu.pl*, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

Urszula Czyżewska, *urszula.czyzewska@uwb.edu.pl*, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

Marek Bartoszewicz, *mbartosz@uwb.edu.pl*, Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

Adam Tylicki, *atyl@uwb.edu.pl*, Zakład Cytobiochemii, Instytut Biologii, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Uniwersytet w Białymstoku, www.uwb.edu.pl

Ufosforylowana oksytiamina (OT) może kompetycyjnie inhibować enzymy zależne od difosforanu tiaminy, zakłócając podstawowe szlaki metaboliczne komórek. Dlatego postanowiono ocenić jej cytostatyczny potencjał oraz perspektywę wykorzystania w terapii antynowotworowej.

W badaniach wykorzystano linie komórek nowotworowych raka szyjki macicy – HeLa-C oraz raka piersi – MDA-MB-231 i MCF7. Komórki hodowano w warunkach kontrolnych (pożywka MEM 199 z solami Earl'a, 10 % FBS, 50 U/ml penicyliny, 50 mg/ml streptomycyny) i eksperymentalnych (pożywka z OT w zakresie stężeń 1,5-400 µg/ml) w 37°C i 5 % CO₂ do czasu osiągnięcia 90 % konfluencji kultur kontrolnych. Cytotoksyczność OT określono na podstawie testu MTT. Ponadto zbadano związek pomiędzy tempem przyrostu liczby komórek i aktywnością dehydrogenazy jabłczanowej (MDH) oraz dehydrogenazy mleczanowej (LDH) jako wyznaczników tempa przemian tlenowych i beztlenowych.

Spośród badanych linii bardziej wrażliwe na OT były komórki HeLa-C (GI50 = 35 µg/ml) i MCF7 (GI50 = 41 µg/ml) w porównaniu z MDA-MB-231 (GI50 = 210 µg/ml). Najbardziej wrażliwe na OT komórki HeLa-C, jako jedyne odpowiedziały ograniczeniem aktywności zarówno LDH jak i MDH. W analizowanych liniach komórek OT nie wpłynęła na ekspresję genów żadnego z badanych enzymów.

Podsumowując, OT wykazuje właściwości cytostatyczne wobec komórek raka szyjki macicy i raka piersi. Można zatem rozważać jej wykorzystanie jako środka wspomagającego terapię tych nowotworów.

Estimation of oxythiamine anticancer properties against cervical and breast cancer cells

Oxythiamine (OT) diphosphate can be incorporated into the active centers of thiamine-dependent enzymes, leading to their inactivation and reduction of the efficiency of basic metabolic pathways. Therefore we considered OT as a potential anti-cancer agent.

In this study the cervical cancer: HeLa-C and breast cancer: MDA-MB-231 and MCF7 lines were examined. All cells (control and treated with OT in the concentration range 1,5-400 µg/ml) were maintained in MEM with Earle's salts supplemented with 10 % FBS, 50 U/ml penicillin and 50 mg/ml streptomycin at 37°C and 5 % CO₂ up to 90 % of confluency. OT cytotoxicity was determined using MTT assay. Moreover relation between cancer cells growth and lactate dehydrogenase (LDH) and malate dehydrogenase (MDH) activities were examined. Real-Time PCR experiments were carried out to assess the OT impact on the expression of genes encoding analyzed enzymes. MDA-MB-231 cell line was the most resistant to OT (GI₅₀ = 210 µg/ml) in comparison to HeLa-C (GI₅₀ = 35 µg/ml) and MCF7 (GI₅₀ = 41 µg/ml) cell lines. The most sensitive HeLa-C was the only cell line which responded to OT by decrease of both LDH and MDH activities. Gene expression of analyzed enzymes remains unchanged in all cases.

In conclusion, OT exhibits cytostatic effects in cervical and breast cancer cells. Therefore, it could be considered as a potential antitumor supporting agent.

Ocena zmian aktywności immobilizowanej alfa-amylazy na podłożu PANI z wykorzystaniem wybranych czynników sieciujących w procesach hydrolitycznych

Małgorzata Golonka, *m.golonka@ur.krakow.pl*, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, *www.urk.edu.pl*

Mateusz Tataruch, *nctataru@cyfronet.pl*, Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN, *www.ik-pan.krakow.pl*

Małgorzata Rugierro-Mikołajczyk, *nbruggie@cyf-kr.edu.pl*, Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN, *www.ik-pan.krakow.pl*

Zainteresowanie immobilizacją enzymów na nośnikach wynika z korzyści jakie niesie ze sobą ten proces. Pozwala to na wydłużenie działania biokatalizatora, zwiększenie odporności na zmiany pH i temperatury umożliwiając prowadzenie reakcji biokatalizy w różnych warunkach. Główną zaletą jest natomiast możliwość łatwego oddzielenia złoża oraz ponowne jego wykorzystanie.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu zmiany czynnika sieciującego w immobilizacji alfa-amylazy na przebieg hydrolizy skrobi. W pracy użyto podłoża polianilinowego, na którym za pomocą trzech substancji wiążących (AG, Kwas L-askorbinowy, DVS) unieruchomiono enzym. Następnie przygotowane złoże wykorzystano w reaktorze zbiornikowym. Na każdym podłożu prowadzono reakcję hydrolizy skrobi (1,5 %). Przy zastosowaniu metody spektrofotometrycznej z użyciem DNS oznaczono przyrost stężenia produktu w czasie. Za koniec reakcji uznano stan ustalenia się stężenia produktu. Wykazano, że zmiana czynnika sieciującego ma wpływ na aktywność enzymu i szybkość reakcji. Przeprowadzona kontrolnie próba hydrolizy na tym samym podłożu po tygodniu wykazała, że enzym unieruchomiony przy użyciu kwasu L-askorbinowego najszybciej tracił swoją aktywność.

Evaluation of alfa-amylase activity changes on PANI surface using selected cross-linker in hydrolytic processes

The interests in immobilizing enzymes on carriers is the result of the benefits of this process. This allows enzyme elongation to increase resistance to pH and temperature changes, enabling carrying out the biocatalytic reactions under different conditions. The main advantage is the ability to easily separating the deposit and reuse it. The aim of this work was investigation the effect of crosslinking agents changes in alpha-amylase immobilization on hydrolysis of starch. Aniline substrate was used to immobilize the enzyme with three linkers (GA, L-ascorbic acid, DVS). The prepared bed was then used in a tank reactor. On each medium, hydrolysis of starch (1.5 %) was performed. Using the spectrophotometric method with DNS, the product concentration was increased over time. At the end of the reaction, the concentration of the product was determined. It has been shown that the change of the crosslinking agent affects the activity of the enzyme and the rate of reaction. A controlled hydrolysis test on the same medium after one week showed that the enzyme immobilized with L-ascorbic acid lost its activity.

Optymalizacja składu i warunków spieniania bioszklą na aktywność immobilizowanej pullulanazy

Michał Pancierz, *m.pancierz@ur.krakow.pl*, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, *www.urk.edu.pl*

Anna Ptaszek, *anna.ptaszek@urk.edu.pl*, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, *www.urk.edu.pl*

Małgorzata Smoliło, *ncsmolil@cyf-kr.edu.pl*; Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk, Kraków, *www.ik-pan.krakow.pl*

Bioszkló to mieszanka wapnia, magnezu, krzemu i wypełniaczy poddawana spienianiu, a następnie utrwalana przez wypalanie w wysokiej temperaturze. Zastosowanie spieniania przed utrwaleniem nadaje spiekom silnie porowatą strukturę o rozwiniętej powierzchni, co w połączeniu z wysoką biokompatybilnością uzyskiwanego materiału, czyni go bardzo dobrym nośnikiem do immobilizacji enzymów. Zmiana proporcji składników wykorzystywanych do produkcji bioszklą lub dodanie kolejnego pozwala na modyfikację właściwości uzyskiwanego spieku. Dzięki zastosowaniu wypełniaczy zmieniać można wielkość porów, a zmiana ilości poszczególnych składników skutkuje modyfikacją powierzchni materiału, zwiększając bądź zmniejszając jego zdolność do wiązania białek. Kolejnym ważnym czynnikiem jest sam proces spieniania, w którym istotną rolę odgrywa temperatura oraz czas i szybkość ogrzewania materiału. Niewielkie zmiany w składzie mieszanki oraz warunkach spieniania wpływały znacznie na aktywność immobilizowanego enzymu. Podjęto się zbadania wpływu zmian składu i warunków spieniania na aktywność unieruchomionej na bioszkle pullulanazy oraz optymalizację warunków wytwarzania nośnika dla uzyskania najwyższej aktywności enzymu.

Optimization of the composition and foaming conditions of the bioglass for best activity of immobilized pullulanase

Bioglass is a mixture of calcium, magnesium, silica and fillers that is foamed and then fired in high temperature. The use of foaming before firing gives to the bioglass highly porous structure and strong developed surface, which combined with high biocompatibility of the obtained material makes it a very good support for enzymes immobilisation. Changing the proportion of components used for the production of a bioglass or adding another, allows the modification of the properties of the resulting support. By using fillers, the pore size can be changed and the changes in the amount of individual components results in a modification of the materials surface by increasing or decreasing its ability to protein binding. Another important factor is the foaming process itself, where the temperature, time and heating of the material play an important role. Minimal changes in the mixture composition and foaming conditions affects significantly the activity of the immobilized enzyme. Investigation has been made to check the effects of changes in composition and foaming conditions on activity of immobilized pullulanase and to optimize the conditions of support production to obtain the highest enzyme activity.

Poferment

– jego wpływ na aktywność biochemiczną gleby

Zyta Waraczewska, zyta.waraczewska@wp.pl, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, skylark.up.poznan.pl

Alicja Niewiadomska, alicja.niewiadomska@onet.eu, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, skylark.up.poznan.pl

Agnieszka Wolna-Maruwka, amaruwka@up.poznan.pl; Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, skylark.up.poznan.pl

Donata Kosicka-Dziechciarek, dkosicka@gmail.com, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, skylark.up.poznan.pl

Wojciech Czekala, wojciech.czekala@up.poznan.pl; Zakład Inżynierii Systemów Energetycznych, Instytut Inżynierii Biosystemów, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, skylark.up.poznan.pl

W ostatnich latach odnotowano rozwój odnawialnych źródeł energii w polskim sektorze energetycznym spowodowany wdrożeniem założeń krajowej polityki proekologicznej. Alternatywą dla takich koncepcji jest budowa rolniczych biogazowni wykorzystujących lokalne zasoby biomasy odpadowej. Jednym z wymagań prowadzenia biogazowni jest prawidłowa gospodarka pofermentu, czyli produktu ubocznego powstającego w procesie spalania. Jedną z wielu możliwości zagospodarowania odpadu jest jego aplikacja na pole, pod rośliny uprawne. Jednakże regulacje prawne określają dość rygorystyczne warunki wykorzystania pofermentu jako nawozu w rolnictwie. Wstępne dane literaturowe donoszą, iż pulpa fermentacyjna z biogazowni jest doskonałym środkiem poprawiającym właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne gleby. W celu racjonalnego wykorzystania pulpy w sektorze rolniczym i jednoznacznego wskazania jej jako wartościowego nawozu dogłębowego, mogącego zastąpić dotychczas stosowane, konieczne są badania jej działania na stan gleby.

Za dobre wskaźniki jakości środowiska glebowego ze względu na wysoką czułość i szybkie reagowanie uważa się aktywność enzymatyczną i stan populacji mikroorganizmów.

Monitoring pedosfery z wykorzystaniem metod opartych na testach enzymatycznych (dehydrogenazy, fosfomonoesterazy (kwaśnej i zasadowej), katalazy, ureazy, amylazy) pozwala na kompleksową ocenę zmian jakie zachodzą w środowisku glebowym pod wpływem zastosowanych nawozów.

Badania finansowane: PARP. POIR 02.03-30-0002/16.

The influence of digestate on the biochemical activity of soil

In recent years the implementation of the assumptions of the national environment-friendly policy has resulted in the development of renewable sources of energy in the Polish power-supplying sector. The construction of agricultural biogas plants using local waste biomass resources can be an alternative to these concepts. Biogas plants are required to handle the digestate properly, which is a by-product of combustion. It can be applied to soil in fields to fertilise crops. There are strict legal regulations concerning the use of digestate as a fertiliser. According to initial data supplied in publications, the digestion pulp from biogas plants considerably improves the physical, chemical and biological properties of soil. It is necessary to conduct research on the influence of pulp on soil so as to use it rationally in agriculture and to clearly indicate that it can be used as a valuable fertiliser.

High enzymatic activity and large populations of microorganisms are thought to be good indicators of the soil environment quality due to its high sensitivity and quick reaction.

The monitoring of the pedosphere with enzymatic tests (dehydrogenases, phosphomonoesterases (acid and alkaline), catalases, ureases, amylases) enables complex assessment of changes in the soil environment caused by fertilisers.

Research funded with: PARP. POIR 02.03-30-0002/16.

Potencjał przeciwutleniający jogurtu z mleka o zwiększonej zawartości białek serwatkowych i poddanego enzymatycznej hydrolizie laktozy

Paulina Bierzuńska, *paulina.bierzunska@up.poznan.pl*, Katedra Jakości Produktów Mleczarskich, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, *www.up.poznan.pl/kjpm*

Dorota Cais-Sokolińska, *cais@up.poznan.pl*, Katedra Jakości Produktów Mleczarskich, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu *www.up.poznan.pl/kjpm*

Koncentraty białek serwatkowych poprawiają nie tylko właściwości strukturotwórcze produktów mleczarskich, ale przede wszystkim zwiększają ich potencjał antyoksydacyjny. Ważnym aspektem jest również otrzymanie mleka fermentowanego o obniżonej zawartości laktozy poprzez jej enzymatyczną hydrolizę, dedykowanego osobom z nietolerancją laktozy i jednocześnie o zaprojektowanych właściwościach prozdrowotnych wynikających z wprowadzenia koncentratu białek serwatkowych.

Materiałem do badań było komercyjne mleko pasteryzowane o zawartości suchej masy beztłuszczowej 9,07 %, tłuszczu 1,50 % oraz różnej zawartości laktozy: typowej dla mleka (4,70 %) oraz obniżonej (<0,10 %). W doświadczeniu wytworzono cztery próbki jogurtu probiotycznego w oparciu o mleko: 1. o typowej zawartości laktozy 2. o typowej zawartości laktozy i zwiększonej do 16 % suchej substancji poprzez dodatek koncentratu białek serwatkowych (WPC80). Pozostałe dwie próbki zostały wytworzone analogicznie z mleka o obniżonej zawartości laktozy. Fermentację prowadzono w 37°C do uzyskania pH 4,45 używając termofilnych bakterii *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*.

Celem pracy była ocena wpływu reakcji hydrolizy laktozy na potencjał przeciwutleniający jogurtu o zwiększonej zawartości białek serwatkowych w oparciu o oznaczenie zawartości wolnych rodników (DPPH) i zdolności redukcji jonów żelaza (FRAP).

W doświadczeniu nie wykazano wpływu enzymatycznej hydrolizy laktozy na potencjał przeciwutleniający. Wykazano jednak, że zwiększenie udziału białek serwatkowych w jogurtach zwiększa potencjał antyoksydacyjny nawet o 24%.

Antioxidant activity of yoghurt from milk with increased whey protein content and subjected to enzymatic hydrolysis of lactose

Whey protein concentrates improve not only the structural properties of dairy products but, above all, their antioxidant potential. An important aspect is also to obtain a fermented milk with a reduced lactose content, by enzymatic hydrolysis, of dedicated people with lactose intolerance and at the same time designed for health-promoting properties resulting from the introduction of whey protein concentrate.

Commercial pasteurized milk with a dry matter content of 9.07%, fat of 1.50% and different content of lactose: typical for milk (4.70%) and lower (<0.10 %) were the test materials. In the experiment, four milk probiotic yoghurt samples were made: 1. with a typical lactose content of 2. with a typical lactose content and increased to 16% dry matter by the addition of whey protein concentrate (WPC80). The other two samples were made analogously from lactose-reduced milk. Fermentation was carried out at 37°C to pH 4.45 using thermophilic bacteria *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*.

The aim of the study was to evaluate the effect of lactose hydrolysis on the antioxidant potential of yogurt with increased whey protein content based on free radical scavenging (DPPH) and iron (FRAP) reduction potential.

In the experiment there was no effect on the enzymatic hydrolysis of lactose potential antioxidant. However, it has been shown that increasing the proportion of whey proteins in yogurt increases the antioxidant potential by up to 24%.

Próba zastosowania bioszkieł do immobilizacji enzymów na przykładzie α -amylazy

Anna Ptaszek, anna.ptaszek@urk.edu.pl; Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, www.urk.edu.pl

Michał Pancerz, m.pancerz@ur.krakow.pl; Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, www.urk.edu.pl

Dorota Rutkowska-Żbik, nczbik@cyf-kr.edu.pl; Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk, Kraków, www.ik-pan.krakow.pl

Immobilizacja enzymów jest często stosowanym zabiegiem mającym na celu ograniczenie rozprzestrzeniania się białka w medium, jego ochronę oraz możliwość łatwego odzyskania i ponownego wykorzystywania. Odpowiedni nośnik dla enzymów powinien spełniać kilka warunków: przede wszystkim nie może powodować dezaktywacji enzymu, musi mieć odpowiednio rozwiniętą powierzchnię, do osadzenia enzymu i być odpornym na warunki, w których będzie stosowany. Wciąż poszukuje się materiału, który jak najlepiej spełniać będzie oczekiwania stawiane idealnym nośnikom enzymów. Bioszkoło to interesujący ze względu na potencjalne zastosowanie materiał, uzyskiwany przez spienianie i wypalanie w wysokiej temperaturze mieszanki krzemu, wapnia i magnezu. Skład chemiczny tego tworzywa jest bardzo zbliżony do budowy tkanki kostnej, czemu zawdzięcza on wysoką biokompatybilność. Niewątpliwą zaletą tego tworzywa jest również porowata struktura o silnie rozwiniętej powierzchni, oraz możliwość nadania mu dowolnego kształtu przed utrwaleniem. Opisywane cechy bioszkieł wskazują, że jest to materiał idealnie spełniający wymagania stawiane materiałom do immobilizacji enzymów. W pracy podjęto próbę określenia przydatności spieków szklanych jako materiałów nośnikowych dla enzymów, na przykładzie α -amylazy. Wyniki wskazują, że enzym bardzo dobrze osadza się na nośniku zachowując wysoką aktywność, a uzyskiwane złoża charakteryzują się znacznie niższymi oporami przepływu niż powszechnie stosowane kolumny z wypełnieniem.

An attempt to use bioglass as support to enzymes immobilisation on the example of α -amylase

Immobilization of enzymes is a frequently used procedure to limit the spread of protein in the medium, its protection, and the ability to easily recover and reuse. A suitable support for enzymes should meet several conditions: first of all, it must not deactivate enzyme, it must have a well-developed surface to deposit the enzyme and it should be resistant to the environment in which will be used. The material that will best meet the expectations of the ideal enzyme support is still being looking for. Bioglass potentially can be used in many ways what makes it very interesting material. It is obtained by foaming in and firing a mixture of silicon, calcium and magnesium. The chemical composition of this material is very similar to that of bone tissue, so it is highly biocompatible. An undoubted advantage of this material is also a porous structure with a highly developed surface, and the ability to give it any shape before firing. The described bioglass features indicate that this material is ideally suited to the requirements for support to immobilization of enzymes. This work attempts to determine the usefulness of bioglass as a support for enzymes on the example of α -amylase. The results indicate that the enzyme is very easily depositable on the support and maintains high activity. Obtained beds have significantly lower flow resistances than the commonly used packed beds.

Rola glikozylacji białek w regulacji odpowiedzi komórki na składniki odżywcze

Paulina Machała, paulina.machala.wp.pl@wp.pl, Sekcja Biologii Molekularnej Studenckiego Koła Naukowego Biologów UŁ, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.kolobiolmolek.uni.lodz.pl

Paweł Józwiak, pawel.jozwiak@biol.uni.lodz.p; Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.uni.lodz.pl

Oleksandra Liudvytska, ludwicka@mail.ru, Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, www.uni.lodz.pl

Metabolizm komórek nowotworowych charakteryzuje się zwiększonym zapotrzebowaniem na glukozę w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Wewnątrzkomórkowo, niewielka część pobranej glukozy (2-5 %) ulega konwersji do UDP-N-acetyloglukozaminy, która stanowi substrat dla O-GlcNAc transferazy (OGT). Enzym ten odpowiada za przyłączenie wiązaniem O-glikozydowym pojedynczych reszt N-acetylo-glukozaminy (O-GlcNAc) do białek. Znane są trzy funkcjonalne izoformy enzymu OGT, jednak większość badań skupia uwagę na roli jądrowo-cytoplazmatycznej izoformy tego enzymu (ncOGT). W związku z tym, celem badań było określenie ekspresji mitochondrialnej izoformy OGT (mOGT) w rakach endometrium w odniesieniu do izoformy ncOGT. Analizę ekspresji mRNA przeprowadzono z wykorzystaniem techniki real-time PCR. Wyniki wykazały istotnie niższą ekspresję ncOGT i mOGT w rakach endometrium w porównaniu z tkanką prawidłową błony śluzowej trzonu macicy. Ponadto, ekspresja mOGT była pięciokrotnie niższa od ekspresji ncOGT. Uzyskane wyniki sugerują, że zaburzenia ekspresji OGT mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju nowotworów endometrium.

The role of glycosylation of proteins in cells regulation responses to nutrients

Cancer cells have increased rate of glucose uptake than normal cells. Within a cell, small fraction of glucose is converted to uridine diphosphate N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) which is substrate for O-GlcNAc transferase (OGT). This enzyme is responsible for the attachment of O-GlcNAc moieties to cellular polypeptides. Up to now, three functional isoforms of the OGT enzyme have been identified, however studies concerning the role of O-GlcNAc enzymes have been concentrated on the longest (~110 kDa) nucleo-cytoplasmatic isoform of OGT (ncOGT). Thus, the aim of the study was to determine the expression of mitochondrial OGT isoform (mOGT) in comparison with ncOGT in endometrial neoplasm. The expression of mOGT and ncOGT genes was performed by Real-time PCR method. Our results indicated significantly lower level of both mRNA isoform in endometrial cancer compared to normal tissue. In addition, the expression of mOGT was five times lower than ncOGT. The results suggest that both OGT isoform may play significant role in development of endometrial cancer.

Rola glukozylotransferazy PssA w adaptacji bakterii *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* do warunków stresowych wywołanych obecnością jonów miedzi

Magdalena Kopycińska, makopycinska@gmail.com, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Paulina Lipa, paulina.lipa56@gmail.com, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Marta Koziel, marta.koziel@outlook.com, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Małgorzata Gęca, malgorzata.geca@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Monika Janczarek, mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Rhizobium leguminosarum jest Gram-ujemną, symbiotyczną bakterią glebową zdolną do produkcji zewnątrzkomórkowego polisacharydu (EPS), który odgrywa kluczową rolę w ochronie tych bakterii przed niekorzystnymi czynnikami środowiska. Białko PssA o funkcji glukozylo-IP-transferazy jest enzymem uczestniczącym w pierwszym etapie syntezy tego polimeru. Białko to ma masę cząsteczkową 29,32 kDa i jest odpowiedzialne za przenoszenie glukozylo-1-fosforanu z UDP-glukozy na nośnik izoprenylofosforanowy zakotwiczony w błonie wewnętrznej bakterii. Mutacja w genie pssA, który koduje ten enzym, prowadzi do całkowitego zahamowania syntezy EPS. Przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu różnych stężeń jonów miedzi (CuSO_4) na wzrost, przeżywalność, produkcję EPS oraz tworzenie biofilmu przez szczep dziki *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Rt24.2, mutanta w genie pssA (Rt5819) oraz szczep Rt24.2(pBA1) zawierający dodatkowe kopie tego genu na plazmidzie pBBR1-MCS. Zaobserwowano, że obecność jonów miedzi (1 mM) w środowisku pozytywnie wpływa na tworzenie biofilmu przez wszystkie badane szczepy bakteryjne oraz powoduje wzrost produkcji EPS przez Rt24.2 i Rt24.2(pBA1). Natomiast

szczep Rt5819 nieprodukujący EPS charakteryzował się najniższym wzrostem oraz przeżywalnością spośród testowanych szczepów. Uzyskane wyniki potwierdzają istotną rolę białka PssA i EPS w adaptacji *R. leguminosarum* do stresu wywołanego obecnością jon Cu^{2+} .

Role of PssA glucosyltransferase in adaptation of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* to copper stress

Rhizobium leguminosarum is a Gram-negative, symbiotic soil bacterium capable of producing exopolysaccharide (EPS), which plays a key role in protection against unfavorable environmental conditions. PssA protein with a function of glucosyl-IP-transferase is an enzyme involved in the first step of EPS synthesis. This protein has the molecular weight of 29.32 kDa and is responsible for transferring glucose-1-phosphate from UDP-glucose to the lipid carrier located in bacterial inner membrane. Mutation in the pssA gene, which encodes this enzyme, totally abolishes production of EPS.

The aim of this work was to determine the influence of different concentrations of copper ions on the growth, survival, EPS production and biofilm formation by the wild-type strain *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Rt24.2, the pssA mutant (Rt5819) and Rt24.2(pBA1) strain, which possesses additional pssA copies on the pBBR1-MCS plasmid. The obtained data indicated a positive influence of copper ions (1 mM) on biofilm formation by all tested bacterial strains and EPS production by Rt24.2 and Rt24.2(pBA1) strains. However, the non-producing EPS strain Rt5819 was characterized by the lowest growth rate and survival from the studied strains. The obtained results confirm an important role of PssA and EPS in adaptation of *R. leguminosarum* to the stress caused by the presence of Cu^{2+} ions.

Wrażliwość polisacharydów produkowanych przez szczep dziki *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* Rt24.2 oraz mutantu Rt2472rosR na depolimerazę faga 9a

Monika Janczarek, mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Marta Kozieł, marta.koziel@outlook.com; Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Paulina Lipa, paulina.lipa56@gmail.com, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Magdalena Kopycińska, makopycinska@gmail.com; Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Teresa Urbanik-Sypniewska, teresa.urbanik-sypniewska@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Małgorzata Gęca, malgorzata.geca@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Monika Marek-Kozaczuk, marek.kozaczuk@poczta.umcs.lublin.pl, Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, www.umcs.pl

Celem badań było scharakteryzowanie zdolności faga 9a, którego naturalnym gospodarzem jest szczep *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* Rt8.7, do infekowania innych szczepów tego biowaru. W badaniach wykorzystano szczep dziki Rt24.2 i mutantu Rt2472rosR. Mutacja w genie *rosR* skutkuje 3-krotnym obniżeniem ilości produkowanego EPS w porównaniu do szczepu dzikiego. Największy przyrost ilości grup redukujących zaobserwowano po 72 godz. inkubacji szczepu dzikiego z lizatem fagowym. Metodą chromatografii cienkowarstwowej analizowano produkty EPS po trawieniu fagiem 9a. Zróżnicowany układ prążków świadczył o różnej ilości wiązań rozpoznawanych przez enzymy fagowe, przy czym większą ich dostępność zaobserwowano w szczepie Rt24.2. Analiza profili elektroforetycznych lipopolisacharydu (LPS) szczepów po inkubacji w obecności faga 9a wykazała

brak prążków odpowiadających lipidowi A i łańcuchowi O-swoistemu, co sugerowało, że LPS może pełnić rolę receptora dla tego faga. Aktywność faga 9a spowodowała uwolnienie wysokocząsteczkowej frakcji LPS nieobecnej w próbie kontrolnej lizatu. Szczep dziki Rt24.2 wykazywał większą wrażliwość na depolimerazę faga 9a niż mutant Rt2472.

Sensitivity of polysaccharides produced by the wild-type *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain Rt24.2 and the mutant Rt2472rosR on phage 9a depolymerase

The objective of this study was characterization of the ability of phage 9a, whose natural host is *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain Rt8.7, to infect other strains of this biovar. In this work, the wild-type Rt24.2 and the mutant Rt2472rosR strains were used. The mutation in the *rosR* gene resulted in a 3-fold decrease of EPS production in comparison to that of Rt24.2. The highest increase in the number of reducing groups was observed after 72-h treatment of the wild-type EPS with the phage lysate. EPS products after incubation with the phage 9a were analyzed using thin-layer chromatography. Distinct patterns obtained showed that different numbers of bonds were recognized by phage enzymes, and their higher accessibility was observed for Rt24.2. The analysis of lipopolysaccharide (LPS) profiles of these strains after incubation with 9a phage indicated a lack of bars corresponding to lipid A and O-chain, suggesting that LPS might be a receptor for this phage. The activity of phage 9a resulted in release of a high-molecular-weight fraction of LPS, which was absent in the control lysate. The wild-type strain Rt24.2 showed higher sensitivity to the 9a depolymerase than the mutant Rt2472.

Zastosowanie polianiliny do immobilizacji alfa-amylazy w procesie hydrolizy skrobi

Paweł Ptaszek, *p.ptaszek@ur.krakow.pl*, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, *www.urk.edu.pl*

Małgorzata GOLONKA, *m.golonka@ur.krakow.pl*, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, *www.urk.edu.pl*

Kacper Kaczmarczyk, *kacper.kaczmarczyk@ur.krakow.pl*, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, *www.urk.edu.pl*

Polisacharydy należą do grupy związków organicznych pochodzenia roślinnego. Ze względu na swoją budowę i występowanie są wykorzystywane w przemyśle spożywczym, biotechnologicznym, farmaceutycznym. Skrobia oraz produkty jej hydrolizy odgrywają znaczącą rolę w przemyśle spożywczym. W wyniku transformacji skrobi, na drodze hydrolizy enzymatycznej, można uzyskać pożądane produkty. Do najczęściej stosowanych enzymów zalicza się alfa-amylazę, która hydrolizuje wiązania alfa-1,4-glikozydowe dając w efekcie glukozę i maltozę. Obecnie trendem staje się unieruchamianie enzymów na podłożach. Do głównych zalet tych zabiegów należą: ułatwienie oddzielenia produktów końcowych od reagentów, zmniejszenie wrażliwości na zmiany pH i temperatury oraz możliwość wielokrotnego wykorzystania enzymu.

Celem niniejszej pracy była próba immobilizacji termostabilnej alfa-amylazy [Termamyl] na podłożu polimerowym, który stanowiła polianilina. Otrzymano polimer, który wykorzystano do immobilizowania enzymu – uzyskano 90 % wydajność osadzenia. Następnie przeprowadzono reakcje hydrolizy z unieruchomionym biokatalizatorem dla skrobi różnego pochodzenia botanicznego o stężeniach w zakresie od 0,5 do 1,25 %. Reakcje prowadzono w warunkach okresowych w różnych temperaturach. W trakcie prowadzenia reakcji pobierano próbki i oceniano postęp reakcji poprzez zmianę stężenia glukozy w produkcie oznaczaną ilościowo metodą z kwasem dinitrosalicylowym.

Application of polyaniline for alpha-amylase immobilization in starch hydrolysis

Polysaccharides belong to the group of organic compounds of plant origin and are used in the food, biotechnology and pharmaceutical industries. Starch and products of hydrolysis are important in the food industry. As a result of starch transformation on the enzyme hydrolysis, the desired products can be obtained.

The most commonly used enzymes include alpha-amylase, which hydrolyzes alpha-1,4-glycosidic bonds, resulting in glucose and maltose products. The current trend is the immobilization of enzymes on the surface. The main advantages of these treatments are: facilitating the separation of end products from the reagents, reducing the sensitivity to pH and temperature changes, and the possibility of reuse the enzyme. The aim of the study was immobilization of the thermostable alpha-amylase [Termamyl] on the synthesized polymeric surface – polyaniline. A polymer was obtained and enzyme using a linker agent was immobilized. The amount of bounded enzyme was determined to yield over 90 %. Subsequently, hydrolysis reactions with immobilized biocatalysts for starches of various botanical origin were carried out for the concentrations from 0.5 to 1.25 % was prepared. The reaction under periodic conditions at different temperatures was carried out. In the reaction trajectories, samples were taken, and the progress of the reaction was assessed. The increase in glucose concentration in the product quantitatively by the dinitrosalicylic acid method was determined.

Indeks Autorów

Baier A.	47	Leśniarek A.	27
Baran M.	25	Lipa P.	43, 67, 69
Bartoszewicz M.	53	Liudvytska O.	65
Bierzuńska P.	61	Machała P.	65
Cais-Sokolińska D.	49, 61	Marek-Kozaczuk M.	43, 69
Celka Z.	33	Mołoń A.	21
Czekała W.	59	Mołoń M.	41
Czemierska M.	39	Muszyńska B.	35
Czyżewska U.	53	Niewiadomska A.	29, 59
Dampc J.	21	Osińska-Jaroszuk M.	51
Długoński J.	19	Pancerz M.	57, 63
Dobosz K.	35	Polak J.	45
Drożak J.	23	Ptaszek A.	57, 63
Durak R.	21	Ptaszek P.	71
Gęca M.	67, 69	Rodacka A.	25
Gładkowski W.	27	Rugierro-Mikołajczyk M.	55
Golonka M.	55, 71	Rutkowska-Żbik D.	63
Góralczyk A.	19	Siemieniuk M.	53
Gruszecki W. I.	13	Smoliło M.	57
Grzyb A.	29	Stangierski J.	31
Jach M. E.	47	Stępień K.	41
Janczarek M.	43, 67, 69	Strumiłło J.	25
Jarosz-Wilkołazka A.	39, 45, 51	Szałapata K.	51
Jasińska A.	19	Szcześ A.	39
Jóźwiak P.	65	Szyszka R.	47
Kaczmarczyk K.	71	Tataruch M.	55
Kaczyński Ł. K.	49	Tchórzewski M.	15
Kawecki K.	31	Tylicki A.	53
Kopycińska M.	43, 67	Urbanik-Sypniewska T.	43, 69
Kosicka-Dziechciarek D.	29, 59	Waraczewska Z.	29, 59
Kozieł M.	43, 67, 69	Wlizło K.	45
Krzakowa M.	33	Wolna-Maruwka A.	29, 59
Lazur J.	35		