

II Konferencja Naukowa
Enzymos
„Enzymy w nauce
i przemyśle”

Abstrakty

Lublin 2016

II Konferencja Naukowa Enzymos „Enzymy w nauce i przemyśle”

Abstrakty

Redakcja:
Beata Zdunek

Lublin 2016

**II Konferencja Naukowa Enzymos
„Enzymy w nauce i przemyśle”
Lublin, 5-6 listopada 2016 r.**

Abstrakty

Redakcja:
Beata Zdunek

Skład i łamanie:
Ilona Żuchowska

Projekt okładki:
Marcin Szklarczyk

© Copyright by Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju
TYGIEL

ISBN 978-83-65272-46-1

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. Anna Jarosz-Wilkolazka
- prof. dr hab. Jan Fiedurek
- dr hab. Marta Fiołka
- dr Maciej Masłyk
- dr Marcin Grąz
- dr Grzegorz Janusz

Komitet organizacyjny:

- Beata Zdunek
- Monika Maciąg
- Kamil Maciąg
- Krzysztof Bałękowski
- Marcin Szklarczyk
- Justyna Sprawka

Organizatorzy:



Patronaty honorowe:

**PATRONAT
HONOROWY**



PREZYDENT MIASTA LUBLIN
KRZYSZTOF ŻUK

**Prezydent
Miasta Lublin
Krzysztof Żuk**



SŁAWOMIR SOSNOWSKI
MARSZAŁEK
WOJEWÓDZTWA LUBELSKIEGO

**Marszałek
Województwa
Lubelskiego
Sławomir
Sosnowski**

Patronaty medialne:

uczelnie.net

 **Biotechnologia.pl**

Spis treści

Wystąpienia Ustne

Czy enzymy mogą pomóc w pracy analityka śladów krwawych?	13
Kiełki czosnku źródłem związków lecniczych i dietetycznych.....	15
Nitrogenaza jako enzym katalizujący biochemiczne wiązanie azotu	17
Udział antyoksydantów w stresie oksydacyjnym w zapaleniu stawów	19
Zastosowanie enzymów paszowych w żywieniu zwierząt	21
Zastosowanie probiotyków w żywieniu zwierząt.....	23

Postery Naukowe

Biotransformacje kaskadowe dehydroepiandrosteronu (DHEA) w kulturach nowych szczepów entomopatogennych z rodzaju <i>Beauveria</i>	27
Enzymatyczny rozkład kwasu szczawowego w hodowlach <i>Abortiporus biennis</i>	30
Kinaza białkowa Rio1 – enzym bez znanego substratu komórkowego	33
Mikrobiologiczna synteza ftalidów o aktywności fungistatycznej	36
Polimeraza DNA Taq w fuzji z białkiem wiążącym DNA jako użyteczne narzędzie w biotechnologii molekularnej	39
Rola enzymów w kształtowaniu cech jakościowych mięsa i przetworów mięsnych	42

Wpływ czynników środowiskowych na ekspresję genów pss biorących udział w syntezie egzopolisacharydu <i>Rhizobium</i> <i>leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i>	45
Wykorzystanie transglutaminazy w przemyśle	48
Indeks autorów	50

**WYSTĄPIENIA
USTNE**

Czy enzymy mogą pomóc w pracy analityka śladów krwawych?

Kacper Choromański, *k.choromanski@wpia.uw.edu.pl;*
Centrum Nauk Sądowych Uniwersytetu Warszawskiego;
Katedra Kryminalistyki Wydziału Prawa i Administracji

Praca analityka śladów krwawych polega na analizie kształtu, wielkości, lokalizacji i wzajemnego rozmieszczenia śladów krwawych w celu stwierdzenia jaki jest mechanizm ich powstania, co przekłada się na możliwość dokonania rekonstrukcji zdarzenia na podstawie wysnutych wniosków. Jest to proces skomplikowany, trudny i wymagający szczególnej uwagi. Badane są zarówno przedmioty jak i samo miejsce zdarzenia. Niektóre ślady wyglądają bardzo specyficznie i trudno je pomylić z innymi, jednak inne są bardzo zbliżone wyglądem do siebie, dlatego trzeba zastosować wobec nich dodatkowe testy. Celem pracy jest pokazanie jednego ze sposobów, gdzie w celu odróżnienia kategorii śladów krwawych wykorzystane zostają enzymy. Umożliwia to wykonanie poprawnej rekonstrukcji zdarzenia a co za tym idzie daje możliwość weryfikacji wersji podejrzanych. Metody badawcze przedstawione w opracowaniu będą polegały na analizie porównawczej wyników pracy analityka w przykładowej sprawie karnej przy stosowaniu testów enzymowych oraz bez nich. Wyniki tego opracowania są bardzo istotne dla zrozumienia możliwości i ograniczeń stosowania analizy śladów krwawych (AŚK) w praktyce śledczej. Zostanie wskazane, że stosowanie testów opartych na enzymach może mieć w niektórych przypadkach kluczowe znaczenia dla rekonstrukcji zdarzenia. Dodatkowo zostaną wskazane możliwości rozwoju tej dzie-

dziny poprzez m. in. miniaturyzację testów oraz zwiększenie częstotliwości ich użycia przez organy ścigania.

Do Enzymes help in work of a bloodstain pattern analyst?

Work of a bloodstain pattern analyst is focused on the analysis of shape, size, location and distribution of bloodstains in order to come up with a hypothesis on the mechanism of creation of such stain, that would be useful for reconstruction of the event based on previous observations. Such process is complicated and it requires special attention. Examination can be done on the specific object or on the crime scene. Some patterns are unique and it is hard to mistake them with others, but there are stains that are very similar to other types so there is need to do further tests on them. Main objective of this work is to show one of the methods, where enzymes were used to distinguish one pattern from another. This allows to do proper reconstruction of the event and presents the possibility to do verification of statements. Scientific method that will be used is comparative analysis of the results of work of the bloodstain pattern analyst on a simulated crime case where the enzymes test were and were not used. Results that will be shown are important for understanding of the ability and limitations of doing bloodstain pattern analysis (BPA) in the investigative practice. It will be shown that using test based on enzymes in some cases can be crucial for the purpose of the reconstruction of the event. It will also be pointed what are the possibilities of improving this field by miniaturizing test and increasing the frequency of using those test by law enforcement agencies.

Kielki czosnku źródłem związków lecniczych i dietetycznych

Konrad Dobosz, *uran16@o2.pl, Katedra Botaniki
Farmaceutycznej, Uniwersytetu Jagiellońskiego
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków*

Katarzyna Kała, *kat3kala@gmail.com, Katedra Botaniki
Farmaceutycznej, Uniwersytetu Jagiellońskiego
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków*

Bożena Muszyńska, *muchon@poczta.fm, Katedra Botaniki
Farmaceutycznej, Uniwersytetu Jagiellońskiego
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9,
30-688 Kraków*

Czosnek pospolity jest znany człowiekowi od ponad 10 000 lat i jest jedną z najstarszych roślin uprawnych. O ile skład cebul czosnku jest szeroko badany to brakuje informacji na temat analizy zawartości związków biologicznie aktywnych w kielkach czosnku. Dlatego celem aktualnej pracy była analiza związków biologicznie aktywnych takich jak związki indolowe i fenolowe oraz oznaczenie właściwości biologicznych ekstraktów otrzymanych z kielków czosnku. Ocenie poddano także wpływ światła na kiełkowanie i zawartość badanych związków fizjologicznie aktywnych. Przeprowadzone badania mają wykazać znaczenie prozdrowotne oraz dietetyczne tego nieobjętego jeszcze analizami surowca. W badaniach wykazano pozytywny wpływ światła na akumulację związków indolowych i fenolowych w kielkach czosnku podczas ich tworzenia się. W nasionach wykazana została niska zawartość związków indolowych, natomiast najwyższa w kielkach i wyższa niż w dojrzałych cebulach wskazuje na najwyższą syntezę i akumulację na tym

etapie rozwoju rośliny. Kiełki czosnku na podstawie przeprowadzonej analizy okazują się bardzo efektywnym źródłem związków indolowych, co może stanowić o ich dużym potencjale leczniczym i dietetycznym.

Garlic sprouts as a source of medicinal and dietary compounds

Garlic, known for humans for more than 10,000 years, is one of the oldest cultivated plants. Garlic is currently one of the most widely used plant products, and its products are purchased by consumers for various reasons: culinary, or therapeutic. Hence, the purpose of the current study was to analyze biologically active compounds such as indolic and phenolic compounds, and determination of biological activities of garlic sprouts extracts. The conducted studies demonstrate the importance of pro-health of this raw material not yet subjected by any analyses. In conclusion, the study demonstrated a clear positive effect of light on the accumulation of indolic and phenolic compounds in garlic sprouts during their growth. The highest amounts of indole compounds were detected in sprouts. It was higher in comparison to mature bulbs, which indicates the greater synthesis and accumulation of indole compounds at this stage of plant growth. The obtained results indicate garlic sprouts as a rich source of indolic and phenolic compounds characterized by anti-inflammatory and antioxidative activity, which may prove their high therapeutic and dietary potential

Nitrogenaza jako enzym katalizujący biochemiczne wiązanie azotu

Beata Zdunek, beatkaz_92@o2.pl

Azot jest jednym z podstawowych pierwiastków niezbędnych do budowy aminokwasów. Bierze on udział w większości reakcji biochemicznych przebiegających w żywych organizmach. Jego niedobór może doprowadzić do wielu dysfunkcji. Do najpowszechniejszych objawów niedoboru azotu, poza zahamowaniem wzrostu części nadziemnych i podziemnych rośliny zalicza się również opadanie liści u roślin.

Rośliny mogą pobierać przez korzenie różne formy azotu, lecz mogą również pozyskiwać go dzięki symbiozie z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny. Bakteriami umożliwiającymi pobieranie azotu z gleby są bakterie brodawkowe, zwane również bakteriami azotowymi.

Mikrosymbioty, czyli bakterie brodawkowe zdolne do wiązania N_2 posiadają funkcjonalny kompleks enzymatyczny nitrogenazy redukującej N_2 do NH_3 . Nitrogenaza składa się z dwóch współpracujących ze sobą enzymów, zwanych: metaloproteinami. Enzym ten zawiera centrum żelazowo-siarkowe oraz molibden.

Nitrogenase enzyme that catalyzes the biochemical nitrogen fixation

Nitrogen is one of the basic elements needed to build amino acids. It is involved in most biochemical reactions in living organisms. Its deficiency may lead to many dysfunction. The most common symptoms of nitrogen deficiency, growth

retardation beyond the aerial parts and underground plants also include leaf drop in plants.

Plants can take up by the roots of various forms of nitrogen. They can also obtain it through symbiosis with bacteria binding atmospheric nitrogen. Bacteria allowing downloading of nitrogen from the soil are nodules, also called bacteria nitrogen.

The nodules capable of binding to the N_2 are complex, the enzyme nitrogenase reducing N_2 to NH_3 . Nitrogenase consists of two cooperating enzymes called: metaloproteinami. This enzyme contains iron-sulfur cluster and molybdenum.

Udział antyoksydantów w stresie oksydacyjnym w zapaleniu stawów

***Lukasz B. Pilarz**, lukas129@poczta.onet.pl, Katedra
i Oddział Kliniczny Otorynolaryngologii i Onkologii
Laryngologicznej w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach*

Wstęp i cel pracy: Podstawa wszystkich chorób zwyrodnieniowych stawów jest powstanie przewlekłego procesu zapalnego. Z kolei temu ostatniemu towarzyszy powstawanie reaktywnych form tlenu. Najważniejsze rodniki tlenowe powstające podczas procesu zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej są anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik hydroksylowy i nadtlenek wodoru. Ten pierwszy generuje za sobą kolejne reaktywne formy tlenu podczas procesu zapalnego i przyczynia się do rozwoju stresu oksydacyjnego. Reaktywne formy tlenu (RFT) biorą udział w wielu procesach zachodzących w organizmie. Dotyczy to takich procesów jak na przykład inaktywacja wirusów, aktywacja komórki, regulacja wzrostu komórki i inne. Celem pracy jest przedstawienie wpływu i udziału antyoksydantów nieenzymatycznych i enzymatycznych na wykładniki stanu zapalnego w stawie.

Materiał: Badaniami objęto 123 pacjentów w wieku od 2 do 18 lat, z mizs oraz ReA. Grupę kontrolną stanowiło 25 zdrowych dzieci w wieku od 2 do 18 lat, u których krew pobierano przed planowanymi niewielkimi, kosmetycznymi zabiegami w ramach chirurgii jednego dnia.

Wyniki i wnioski: Wartość wybranych parametrów oksydacyjnych zmienia się w surowicy krwi u dzieci z zapaleniami stawów w stosunku do dzieci zdrowych. Stężenia nadtlenków

lipidowych uzależnione są od typu zapalenia stawów. Nie stwierdzono istotnych różnic w zależności od nasilenia aktywności procesu chorobowego w mizs.

Distribution of antioxidants in oxidative stress in arthritis

Background: The base of all degenerative joint diseases is the formation of a chronic inflammatory process. In turn, the latter accompanied by the formation of reactive oxygen species. Top oxygen radicals formed during the imbalance oxidation-reduction are superoxide anion, hydroxyl radical and hydrogen peroxide. The former generates for each additional reactive oxygen species during the inflammatory process and contributes to the development of oxidative stress. Reactive oxygen species (ROS) are involved in many processes in the body. This applies to processes such as, for example, inactivation of viruses, activation of cells, cell growth regulation and other aim of this study is to present the influence and participation of non-enzymatic and enzymatic antioxidants on markers of inflammation in the joint.

Material: The study included 123 patients aged 2 to 18 years with JIA and ReA. The control group consisted of 25 healthy children aged 2 to 18 years, in whom the blood was collected before the planned minor, cosmetic treatments within the framework of one-day surgery.

Results and conclusions: The value of the selected parameters of oxidative changes in the blood serum of children with inflammatory arthritis compared to healthy children. Lipid peroxide levels depend on the type of arthritis. No significant differences depending on the severity of disease activity in JIA.

Zastosowanie enzymów paszowych w żywieniu zwierząt

Daniel Radzikowski, *daniel18-1994@wp.pl*, Wydział
Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny
w Siedlcach

Współczesne możliwości analityczne pozwoliły na wykrycie w paszach różnych związków upośledzających trawienie, a przez to również wykorzystanie składników pokarmowych. W dotychczas używanych tabelach wartości pasz podane są podstawowe składniki, a wśród nich włókno surowe i związki bezazotowe wyciągowe. Wszystkie enzymy mają charakter białkowy. Z tego powodu szereg czynników środowiskowych może wpływać na ich aktywność. Do najważniejszych należą temperatura i silne związki chemiczne. Wiele spośród stosowanych obecnie enzymów nie jest wrażliwych na temperatury występujące w czasie granulowania. Przekroczenie temperatury 70-90°C powoduje dezaktywację dodawanych enzymów. Dlatego w procesach, w których stosuje się wyższe temperatury, dodawanie enzymów powinno mieć miejsce w końcowej fazie produkcji – po częściowym schłodzeniu. Ponieważ enzymy zmniejszają swoją aktywność w czasie przechowywania, stosuje się specjalne nośniki stabilizujące. Przy ich zastosowaniu, pasze z dodatkiem enzymów mogą być przechowywane nawet 6-9 miesięcy. Jednak ze względu na negatywny wpływ niektórych składników mineralnych na aktywność enzymów, nie zaleca się przechowywania dłuższego niż dwa miesiące. Stosując dodatek enzymów należy pamiętać o ich możliwym wpływie na środowisko przewodu pokarmowego i enzymy wytwarzane przez samo zwierzę.

The use of enzymes in animal nutrition

Modern analytical capabilities allowed the detection of various compounds in the feed debilitating etching, and hence the use of nutrients. In the previously used tables of feed you are given basic ingredients, including crude fiber and compounds bezazotowe exhaust. All enzymes are protein. For this reason, a number of environmental factors can influence their activity. The most important are temperature and strong chemicals. Many of the current enzyme is not sensitive to the temperatures experienced during granulation. Exceeding the temperature of 70-90°C results in the inactivation of enzymes added. Therefore, in processes in which the higher the temperature, the addition of enzyme should take place at the final stage of manufacture – after a partial cooling. Since enzymes reduce their activity during storage, special stabilizing carriers. With their application, with the addition of feed enzymes they can be kept even 6-9 months. However, due to the negative impact of some minerals enzyme activity is not recommended to store more than two months. With the addition of enzymes should be aware of their possible effect on the environment of the gastrointestinal tract and enzymes produced by the animal itself.

Zastosowanie probiotyków w żywieniu zwierząt

Daniel Radzikowski, *daniel18-1994@wp.pl*, Wydział
Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny
w Siedlcach

Probiotyki obecne na rynku są czystymi kulturami bakterii jednego lub większej liczby szczepów bakterii, które naturalnie występują w jelitach. Szczepy te zostały wyselekcjonowane ze względu na ich korzystny wpływ na układ trawienny gospodarza. Należy jednak podkreślić, że tylko wybrane, ściśle określone szczepy z danego gatunku mają właściwości prozdrowotne potwierdzone badaniami klinicznymi. Bakterie stosowane do produkcji preparatów probiotycznych powinny być izolowane od przedstawicieli tego gatunku, u którego mają być zastosowane, gdyż prawdopodobnie część korzystnych dla zdrowia efektów jest gatunkowo specyficzna. Dzięki temu uzyskuje się materiał biologiczny maksymalnie dostosowany do warunków panujących w przewodzie pokarmowym danego gatunku zwierząt. Obecnie wiąże się duże nadzieje z probiotykami i prebiotykami, które mogą być alternatywnym rozwiązaniem w stosunku do antybiotyków. Wynikające z ich stosowania subtelne manipulacje w składzie mikroflory przewodu pokarmowego w celu utrzymania zdrowia jelit, poprzez różnorodność, stabilność metabolitów i modyfikację układu odpornościowego korzystnie wpływają na zdrowie zwierząt.

The application of probiotics in animal nutrition

Probiotics on the market are pure cultures of bacteria of one or more strains of bacteria that occur naturally in the gut. These strains have been selected for their beneficial effects on the digestive system of the host. It should be noted, however, that only selected, well-defined strains of a given species have health benefits proven in clinical trials. The bacteria used in the production of probiotic preparations should be isolated from the representatives of the genre, in which they are to be used, probably because some beneficial health effects are species specific. This results in a maximum of biological material adapted to the conditions prevailing in the gastrointestinal tract of the animal species. Currently, Great hopes of probiotics and prebiotics, which can be an alternative solution as compared to antibiotics. From use subtle manipulation of the composition of the gut microflora in order to maintain the health of the intestine, through the diversity, stability, and modification metabolites the immune system have a positive effect on animal health.

**POSTERY
NAUKOWE**

Biotransformacje kaskadowe dehydroepiandrosteronu (DHEA) w kulturach nowych szczepów entomopatogennych z rodzaju *Beauveria*

*Ewa Kozłowska, e.a.kozłowska@gmail.com; Katedra
Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,
www.up.wroc.pl*

*Natalia Hoc, natalia.hoc@gmail.com; SKN "OrgChem"
Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy
we Wrocławiu, www.up.wroc.pl*

*Monika Dymarska, monika.dymarska@gmail.com,
Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,
www.up.wroc.pl*

*Edyta Kostrzewa-Susłow, edyta.kostrzewa-
suslow@up.wroc.pl, Katedra Chemii, Uniwersytet
Przyrodniczy we Wrocławiu, www.up.wroc.pl*

*Tomasz Janeczko, janeczko13@interia.pl, Katedra
Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,
www.up.wroc.pl*

Biokonwersja związków steroidowych jest skutecznym sposobem otrzymywania hydroksylowych pochodnych w nieaktywowanych pozycjach. Funkcjonalizacja steroidów przez ich hydroksylację prowadzi do powstania nowych pochodnych o większej polarności i aktywności biologicznej. Dehydroepiandrosteron (DHEA) jest ważnym hormonem, który w organizmie człowieka jest przekształcany do androgenów i estrogenów. DHEA i jego pochodne wpływają na wiele receptorów i szlaków metabolicznych, przez co mogą być wykorzystywane

w leczeniu wielu schorzeń: osteoporozy, astmy, choroby Crohna i Alzheimera.

Zbadano zdolność do konwersji DHEA przez pięć szczepów. W badaniach użyto nowe entomopatogenne szczepy *Beauveria bassiana* (3 szczepy) i *B. caledonica* (2 szczepy) wyizolowane z niezidentyfikowanych owadów znalezionych w sztolniach Dolnego Śląska. W kulturze szczepu *B. caledonica* DHEA uległ nieselektywnej hydroksylacji przy węglu C-7, potem był utleniany do 7-oxo-DHEA, a następnie hydroksylowany w pozycji 11 α . Dodatkowo, w kulturze szczepu *B. caledonica* KCh J3.4 następowała redukcja podwójnego wiązania i utlenienie grupy hydroksylowej w pozycji C-3 do 11 α -hydroksyandrostan-3,7,17-trionu. *B. bassiana* KCh J1.5 niesektywnie wprowadzał grupę hydroksylową w pozycję C-7. *B. bassiana* KCh T transformował DHEA do hydroksylaktonów. W badanych kulturach zaobserwowaliśmy wynik działania kaskady enzymów CYP450: 7-hydroksylazy, oksygenazy oraz mono-oksygenazy typu Baeyera-Villigera.

Cascade biotransformation of dehydroepiandrosterone (DHEA) by new entomopathogenic *Beauveria* cultures

Bioconversion of steroid compounds is essential tool for obtaining hydroxyl groups of inactivated carbons. Steroid functionalization by hydroxylation leads to new derivatives with higher polarity and usually higher biological activity. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is important steroid hormone circulating in the human blood which can be converted to androgens and estrogens. DHEA and its derivatives can influence various

receptors and enzymatic pathways and can be used in the treatment of many diseases such as: osteoporosis, asthma, Crohn's and Alzheimer's disease.

The ability to conversion of DHEA by five strains was tested. In this study we used new enthomopathogenic strains of *Beauveria bassiana* (3 strains) and *B. caledonica* (2 strains) isolated from unknown arthropods found in adits in the area of Janowice Wielkie, Lower Silesia, Poland. DHEA in *B. caledonica* culture was unselectively hydroxylated in C-7 position. Then, the products were oxidized to 7-oxo-DHEA and in the next step hydroxylated in 11 α position. Additionally, one strain (*B. caledonica* KCh J3.4) reduced double bound and oxidized C-3 hydroxyl group giving 11 α -hydroxy-androstan-3,7,17-trione. *B. bassiana* KCh J1.5 unselectively led to 7-Hydroxy-DHEA. *B. bassiana* KChT leads to hydroxylactones, as found in literature. In the tested cultures we observed effect of CYP450 enzymes cascade: 7-hydrolase, oxygenase and Baeyer-Villiger monooxygenases.

Enzymatyczny rozkład kwasu szczawowego w hodowlach *Abortiporus biennis*

Marcin Graż, *graz@umcs.lublin.pl; Zakład Biochemii,
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie*

Anna Jarosz-Wilkolazka, *Zakład Biochemii, Uniwersytet
Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie*

Bożena Pawlikowska-Pawłęga, *Wydziałowa Pracownia
Mikroskopii Elektronowej, Zakład Anatomii
Porównawczej i Antropologii*

Abortiporus biennis jest przedstawicielem grzybów wywołujących białą zgniliznę drewna. Grzyby te uważane są za najbardziej efektywne w przyrodzie organizmy, zdolne do całkowitego rozkładu drewna. Rozkład głównych komponentów ściany komórkowej roślin ma charakter enzymatyczny, jednak ważna rola w tym procesie przypisywana jest również związkom niskocząsteczkowym. Wśród nich jest kwas szczawowy, związek organiczny powszechnie stwierdzany w hodowlach grzybowych. Stężenie kwasu szczawowego w środowisku grzyba jest aktywnie regulowane przez enzymy, wytwarzane przez rosnącą grzybnię. Istniejące w przyrodzie enzymatyczne drogi rozkładu kwasu szczawowego obejmują zasadniczo trzy aktywności katalityczne przypisywane poszczególnym królestwom organizmów:

- 1). typowy dla grzybów szlak dekarboksylacji z udziałem dekarboksylazy kwasu szczawowego lub
- 2). dekarboksylazy szczawianyloCoA stwierdzanej w komórkach bakteryjnych oraz
- 3). typowe dla roślin utlenianie cząsteczki szczawianu do CO₂ i H₂O₂ przez oksydazę kwasu szczawowego.

W wyniku naszych dotychczasowych badań wykazaliśmy, że grzyb *A. biennis* jest zdolny do degradacji kwasu szczawowego w nietypowy dla grzybów podstawkowych sposób, poprzez jego utlenianie. Katalizująca ten proces oksydaza kwasu szczawowego jest indukowanym enzymem wewnątrzkomórkowym, zlokalizowanym w cytoplazmie oraz w strukturach błonowych komórki.

Praca finansowana ze środków Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu 2014/13/B/NZ9/02106.

Enzymatic degradation of oxalic acid in *Abortiporus biennis* cultures

Abortiporus biennis is the representative of fungi causing white rot of wood. These ecological group of microorganism is considered to be the most effective decomposers of lignocellulose. Wood decay is an enzymatic process, however, an important role in this process is attributed to low-molecular-weight compounds. Among organic acids, the most important and widely distributed in fungal cultures is oxalic acid. The concentration of oxalic acid in the environment of the fungus is actively regulated by the enzymes produced by the growing mycelium. In nature three enzymatic activities for the decomposition of oxalic acid have been classified and attributed to particular groups of organisms: 1). decarboxylation reaction, typical for fungi, catalysed by oxalate decarboxylase 2). typical for bacteria oxalyl-CoA decarboxylase, and 3). widespread in plants oxidation of oxalate to CO₂ and H₂O₂ by oxalate oxidase.

Our results have revealed that *Abortiporus biennis* is able to degrade oxalic acid in a different, unusual for basidiomycetes

fungi way, by its oxidation. Oxalate oxidase catalysing this reaction is inducible and intracellular enzyme, localised in the cytoplasm and in membrane structures of fungal cells.

This work was financed by National Science Centre, Poland (2014/13/B/NZ9/02106).

Kinaza białkowa Rio1 – enzym bez znanego substratu komórkowego

***Konrad Kubiński**, kubin@kul.pl, Katedra Biologii
Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II*

***Maciej Masłyk**, maciekm@kul.pl, Katedra Biologii
Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II*

***Barbara Grzeszczyk**, basiagrzeszczyk@wp.pl, Katedra
Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski
Jana Pawła II*

***Olga Marciniak**, marciniak.olga.5.11@gmail.com,
Katedra Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet
Lubelski Jana Pawła II*

Enzym Rio1 należy do rodziny nietypowych kinaz białkowych. Jego przynależność do tej rodziny, liczącej około 40 białek, warunkowana jest brakiem pętli aktywacyjnej i regionu rozpoznawania substratu, które to elementy są charakterystyczne dla eukariotycznych kinaz białkowych. Obecność kinazy Rio1 potwierdzono w komórkach wielu organizmów od Archeowców do człowieka, a jej struktura cechuje się wysokim stopniem podobieństwa między organizmami. Rio1 jest enzymem niezbędnym dla prawidłowego funkcjonowania komórki. Kinaza ta jest kluczowym czynnikiem w procesie syntezy mniejszej podjednostki rybosomu 40S, jak również warunkuje postępowanie cyklu komórkowego i utrzymanie prawidłowej struktury chromosomów. Jej podniesiony poziom w komórkach rakowych wskazuje na udział Rio1 w procesie nowotworzenia.

Pomimo zaangażowania kinazy Rio1 w kluczowych dla życia komórki procesach, do tej pory nie jest znane ani jedno białko ulegające *in vivo* fosforylacji katalizowanej przez Rio1. Ponadto niewiele jest wiadomo na temat cząsteczek zdolnych do hamowania aktywności Rio1 (tzw. inhibitorów). Najlepiej zbadanym inhibitorem Rio1 jest antybiotyk tojokamycyna, który hamuje aktywność kinazy poprzez promowanie jej oligomeryzacji.

Celem niniejszej pracy jest przegląd wyników badań nad kinazą Rio1, ze szczególnym uwzględnieniem roli aktywności kinazowej Rio1 w komórce, regulacji Rio1 na drodze fosforylacji, inhibitorów enzymu, oraz białkowych partnerów Rio1.

Protein kinase Rio1 – the enzyme without known physiological substrate

The enzyme Rio1 belongs to the family of atypical protein kinases, because it lacks the activation loop, and substrate recognition domain present in canonical eucaryotic protein kinases. The protein kinase Rio1 is widely spread in living organisms, from Archaea to human, and its structure is highly conserved across species. The enzyme is essential for cell life. It is a key factor in the biogenesis of the small ribosome subunit 40S, cell cycle progression, and chromosome maintenance. The elevated level of Rio1 suggests its role in tumorigenesis.

Although, the kinase is engaged in the processes essential for cell life, its physiological protein substrate remains unknown to date.

Moreover, a little is known about inhibitors of Rio1, and toyokamycin is the most potent inhibitor of the kinase, that affects its activity through promoting oligomerization of Rio1.

The aim of the article is the review of the current knowledge on the protein kinase Rio1, with special regard to the role of the enzyme activity in the cell, regulation of Rio1 via phosphorylation, inhibitors of the kinase, and its protein partners.

Mikrobiologiczna synteza ftalidów o aktywności fungistatycznej

Jakub Pannek, *jakub.pannek@upwr.edu.pl; Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, www.up.wroc.pl*

Filip Boratyński, *filip.boratynski@up.wroc.pl; Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, www.up.wroc.pl*

Teresa Olejniczak, *Teresa.olejniczak@up.wroc.pl; Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, www.up.wroc.pl*

Ftalidy są bicyklicznymi laktonami produkowanymi przez rośliny z rodziny *Apiaceae* Lindl.. Niektóre z nich są opisane w literaturze. Ich struktura, metody syntezy i niektóre aktywności biologiczne są opisane przede wszystkim w odniesieniu do ich wykorzystania w Tradycyjnej Medycynie Chińskiej. Istnieje potrzeba badań nad związkiem pomiędzy ich strukturą i aktywnością biologiczną. Zostało udowodnione, że izomery (+) i (-) mogą posiadać różną aktywność biologiczną, zapach oraz smak. W tym celu planujemy syntezę czystych enancjomerów naturalnych laktonów.

Optycznie czyste związki mogą być otrzymywane za pomocą chemicznej syntezy asymetrycznej, jak również szybko rozwijających się, bardziej przyjaznych dla środowiska metod biotechnologicznych, z użyciem mikroorganizmów, izolowanych enzymów lub roślinnych kultur tkankowych. Druga z tych metod posiada wiele zalet, takich jak selektywność względem substratu, regioselektywność, stereospecyficzność oraz łagodne warunki reakcji.

W pracy prezentujemy jeden z naturalnie występujących ftalidów, który został zsyntezowany w formie mieszaniny racemicznej w reakcji Grignarda w obecności chlorku kadmu oraz przetestowany na aktywność przeciwgrzybiczą w stosunku do *Rhodotorula mucilaginosa* oraz *Candida glabrata*. Optycznie wzbogacone izomery tego laktonu zostały otrzymane na drodze przekształceń mikrobiologicznych z diolu.

Microbial synthesis of natural phthalides with antifungal properties

Phthalides are bicyclic lactones produced by plants of the family Apiaceae Lindl.. Some of them are described in the literature. Their structures, synthesis and some of their biological activities are described, mainly with respect to their use in traditional Chinese medicine. There is a need to perform systematic study on relationship between structure and biological activity of these compounds. It has been proven that (+)- and (-)- isomers may have different biological activity, aroma and taste. In this purpose we plan to synthesise pure enantiomers of natural lactones.

Optically active compounds can be obtained by asymmetric chemical synthesis, nowadays quickly developing, more environmentally friendly biotechnological methods, using microorganisms, isolated enzymes or plant tissue cultures. The second method has many advantages, such as substrate specificity, regioselectivity, stereospecificity and mild reaction conditions.

Herein, we present one of the natural phthalides, which was synthesised as a racemic mixture in Grignard reaction in the

presence of cadmium chloride. Antifungal properties of lactone obtained was tested with *Rhodotorula mucilaginosa* and *Candida glabrata*. Enantiomerically enriched phtalides were obtained by microbial transformation of a diol.

Polimeraza DNA Taq w fuzji z białkiem wiążącym DNA jako użyteczne narzędzie w biotechnologii molekularnej

Marta Śpibida, *spibida.marta@gmail.com; Katedra
Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Wydział
Chemiczny, Politechnika Gdańska, www.pg.edu.pl*

Beata Krawczyk, *beakrawc@pg.gda.pl; Katedra
Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Wydział
Chemiczny, Politechnika Gdańska, www.pg.edu.pl*

Marcin Olszewski, *molszewski@pg.gda.pl; Katedra
Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Wydział
Chemiczny, Politechnika Gdańska, www.pg.edu.pl*

Polimerazy DNA to enzym, który odgrywa zasadniczą rolę w procesie replikacji i naprawie DNA. Jednym z podstawowych etapów w polimeryzacyjnym działaniu polimeraz, odpowiedzialnym za ich końcową wydajność, jest etap przyłączania się do matrycowego DNA. W związku z tym, uzasadnione wydaje się modyfikowanie polimeraz już znanych poprzez przyłączanie do nich białek o naturalnej zdolności wiązania DNA. Przykładem takich modyfikacji może być tworzenie fuzyjnych polimeraz z białkami wiążącymi jedno- lub dwuniciowe DNA. W literaturze możemy spotkać nieliczne przykłady takich fuzji.

Celem badań było zbadanie wpływu fuzji polimerazy TaqStoffel z białkami wiążącym ssDNA oraz dsDNA na jej właściwości użyteczne w diagnostyce molekularnej.

Polimeraza DNA połączona została z NeqSSB – niewielkim białkiem o zdolności wiązania wszystkich rodzajów DNA, za pomocą 6-aminokwasowego linkera. Polimeraza wyproduk-

wana została w komórkach *E. coli*, oczyszczona z użyciem chromatografii metalopowinowactwa i doprowadzona do warunków przechowywania. Właściwości otrzymanej polimerazy określono z użyciem reakcji PCR i porównano z odnośnikową polimerazą Taq.

Uzyskana fuzyjna polimeraza DNA wykazuje korzystniejsze cechy pożądane w diagnostyce czy biologii molekularnej tj.: procesywność czy odporność na inhibitory w porównaniu do natywnej polimerazy Taq. Polimeraza fuzyjna może więc znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach diagnostyki molekularnej i inżynierii genetycznej.

Taq DNA polymerase fused with DNA binding protein as an useful tool in molecular biotechnology

DNA polymerase is an enzyme which plays crucial role in replication and DNA repair. One of the most important steps in polymerisation activity of this enzymes, which is responsible for their final efficiency, is initiation step connected with binding to matrix DNA. Therefore, it is reasonable to modify well known DNA polymerases in order to facilitate binding to polymerised DNA strand. Example of such modification may be creation of fusion DNA polymerases with proteins which naturally binds to single and double stranded DNA. However there is only a few examples described in scientific literature.

The aim of our study was determined the influence on particular properties of Taq DNA polymerase essential in molecular diagnostic and genetic engineering.

The polymerase was connected with with NeqSSB – small proteins with ability to bind ds and ssDNA from bacteria *Nanoarcheum equitans* by 6-amino acids linker. Taq DNA polymerase was produced in *E. coli* cell, purified with using metal affinity chromatography and concentrated to a dozen units per microliter. Properties of obtained protein was determined using different PCR sets and compared to wild enzyme.

Obtained fusion polymerase showed increasing of processivity and resistant to inhibitors form blood sample in comparison to unmodified Taq polymerases. The fusion with DNA binding protein proved to favorably influence on properties useful in molecular diagnostic and genetic engineering.

Rola enzymów w kształtowaniu cech jakościowych mięsa i przetworów mięsnych

***Elżbieta Głodek**, eglodek@ur.edu.pl, Katedra Przetwórstwa i Towaroznawstwa Rolniczego, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl*

***Marian Gil**, mgil@ur.edu.pl, Katedra Przetwórstwa i Towaroznawstwa Rolniczego, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl*

***Marek Zin**, kpitr@ur.edu.pl, Katedra Przetwórstwa i Towaroznawstwa Rolniczego, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, www.ur.edu.pl*

Mięso zwierząt rzeźnych bezpośrednio po uboju jest surowcem niepełnowartościowym zarówno do spożycia jak i do przetwórstwa. Surowiec taki charakteryzuje się niską kruchością, soczystością oraz małą przyswajalnością zawartych w nim składników. Proces dojrzewania mięsa przyczynia się do zmian cech sensorycznych, kulinarnych i przetwórczych mięsa.

W procesie dojrzewania mięsa najbardziej odczuwalną sensorycznie zmianą jest poprawa jednego z najbardziej niestałych wyróżników jakości mięsa – kruchości. Istotną rolę w kształtowaniu cech jakościowych mięsa i jego przetworów odgrywają enzymy.

Enzymy stosowane w przetwórstwie mięsa mogą przynosić wymierne korzyści ponieważ zwiększają efektywność procesu technologicznego oraz poprawiają jakość wyrobów mięsnych, w tym cechy sensoryczne mięsa. Istotną rolę w przetwórstwie mięsa odgrywają zarówno enzymy naturalnie występujące

w tkance mięśniowej (endogenne), jak i te dodawane w postaci preparatów enzymatycznych (egzogenne).

W pracy przedstawiono rolę enzymów endogennych występujących w mięsie w kształtowaniu cech jakościowych mięsa. Omówiono również wpływ enzymów egzogennych na poprawę właściwości sensorycznych i technologicznych mięsa i jego przetworów.

The enzymes' role in shaping quality features of meat and its products

Meat of slaughtered animals, which comes from directly after slaughter, is the sub-standard raw material, both to eat and to keep. That raw material is characterized by low fracturability, succulence and small assimilability of components contained in it. The process of meat maturing causes changes in sensory, culinary and food - processing features.

During the maturing process the most perceptible sensory change is improving of one of the most unstable characteristic meat quality – that is fracturability. Enzymes fulfill an essential function in shaping quality features of meat and its products.

Enzymes applied in meat processing can bring notable benefits, for they increase the effectiveness of the technological process and they improve the quality of meat products, including meat sensory features. Significant function in meat processing is acted by both enzymes, which exist in the muscular tissue (that is endogenous) and those, which are added in shape of enzymatic preparations (that is exogenous).

In the following work the role of endogenous enzymes, existing in the meat in shaping its quality features was presented. Also, the influence of exogenous enzymes on improving sensory and technological properties of meat and its products was elaborated.

**Wpływ czynników środowiskowych
na ekspresję genów pss
biorących udział
w syntezie egzopolisacharydu
Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii***

Monika Janczarek, *mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl*;
Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii
i Biotechnologii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej,
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Kamila Rachwał, *rachwal.kamila@gmail.com*; Zakład
Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii
i Biotechnologii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej,
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Magdalena Kopycińska, *makopycinska@gmail.com*,
Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii
i Biotechnologii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej,
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii* jest glebową bakterią, która posiada zdolność nawiązywania symbiozy z koniczyną (*Trifolium* spp.). W tym procesie uczestniczy szereg sygnałów molekularnych zarówno pochodzenia roślinnego, jak i bakteryjnego. Jednym z nich jest egzopolisacharyd (EPS) produkowany przez rizobia. Enzymy uczestniczące w syntezie EPS u *R. leguminosarum* bv. *trifolii* kodowane są przez geny pss położone w regionie chromosomalnym zwanym Pss-I.

Celem pracy było zbadanie wpływu różnych czynników środowiskowych, takich jak: stężenie fosforu i azotu, obecność flawonoidów oraz różnych źródeł węgla na ekspresję genów pss. W badaniach wykorzystano szczep Rt24.2 oraz fuzje

transkrypcyjne zawierające promotory wybranych genów pss (pssO, pssN, pssB, pssW, pssH, pssM mgl, oraz exoR) wklonowane przed bezpromotorowy gen lacZ kodujący β -galaktozydazę.

Wykazano, że stężenie fosforanu oraz amonu miało największy wpływ na ekspresję genów pss, natomiast flawonoidy nie wpływały istotnie na poziom syntezy ich mRNA. Transkrypcja genu pssO i mgl wzrastała wraz ze wzrostem stężenia fosforanu i amonu w podłożu. Niedobór azotu stymulował pozytywnie transkrypcję genów pssN i exoR. Spośród badanych źródeł węgla najwyższy poziom ekspresji genów pss zaobserwowano w obecności glicerolu, a najniższy w obecności bursztynianu. Uzyskane wyniki wskazują, że synteza mRNA dla enzymów uczestniczących w produkcji EPS *R. leguminosarum* bv. *trifolii* jest regulowana przez różne czynniki środowiskowe.

The influence of environmental factors on the expression of pss genes involved in exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*

Rhizobium leguminosarum bv. *trifolii* is a soil bacterium able to establish symbiosis with clover (*Trifolium* spp.). Many plant and bacterial signals are involved in this process. One of them is exopolysaccharide (EPS) produced by rhizobia. Enzymes involved in EPS synthesis in *R. leguminosarum* bv. *trifolii* are encoded by pss genes, which are located in a chromosomal region, called Pss-I.

The aim of this study was investigation of influence of different environmental factors such as phosphate, ammonium, flavonoids and various carbon sources on the pss expression.

In this study, Rt24.2 strain and transcriptional fusions which contained promoters of chosen pss genes (pssO, pssN, pssB, pssW, pssH, pssM, mgl, and exoR) cloned upstream of the promoterless lacZ encoding β -galactosidase, were used.

It was indicated that phosphate and ammonium had the highest influence on the pss expression, and flavonoids did not importantly affect the level of their mRNA synthesis. Transcription of pssO and mgl increased in higher concentrations of phosphate and ammonium. Nitrogen limitation positively affected transcription of pssN and exoR genes. Among the tested carbon sources, the highest levels of the pss expression were observed in the presence of glycerol, and the lowest in the presence of succinate. The results obtained indicated that the synthesis of mRNA for the enzymes participating in EPS production of *R. leguminosarum* bv. *trifolii* is regulated by various environmental factors.

Wykorzystanie transglutaminazy w przemyśle

Iga Cios, *igacios@interia.pl*, Studenckie Koło Naukowe
Biochemików, Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Karolina Łuczak, *cccarla@o2.pl*, Studenckie Koło
Naukowe Biochemików, Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Transglutaminaza (EC 2.3.2.13) to enzym biorący udział w sieciowaniu białek tkanki mięśniowej i stabilizacji makromolekuł dzięki tworzeniu wiązań kowalencyjnych między ich cząsteczkami. Jest to transferaza katalizująca powstawanie wiązań między grupą γ -karboksamidową reszty glutaminy, a pierwszorzędownymi grupami aminowymi substratu. Odpowiada za modyfikacje posttranslacyjne białek, przez co zmienia ich strukturę i zdolność do oddziaływania z innymi molekułami. Czasem spełnia niekatalityczne funkcje np. wpływa na organizację cytoszkieletu, transdukcję sygnałów czy adhezję. Występuje u wielu zwierząt, roślin (np. w soi lub buraku pastewnym), a także mikroorganizmów. Dziś przemysłowo pozyskiwana jest na drodze mikrobiologicznej dzięki szczepom *Streptoverticillum*, *Bacillus Subtilis*, *Physarum* oraz *Streptomyces*. Transglutaminaza jest powszechnie wykorzystywana do ulepszania faktury mięs. Stała się alternatywą dla stosowania fosforanów, które poprawiają wodochłonność mięs. Stosuje się ją także do obniżania immunoreaktywności białek mleka, modyfikacji folii spożywczej, poprawiania właściwości żelujących żelatyny, produkcji konserw czy jogurtów. Pozwala na wykorzystywanie surowców mniej wartościowych oraz ulep-

szania konsystencji mięs i spoistości wędlin. Powstałe wiązania są tak silne, że nie ulegają rozerwaniu podczas mrożenia i obróbki termicznej żywności. Enzym ten nazywany jest „naturalnym klejem” i nie stanowi niebezpieczeństwa dla organizmu człowieka.

The use of transglutaminase in industry

Transglutaminase (EC 2.3.2.13) is an enzyme involved in muscle tissue proteins cross-linking and molecules stabilization thanks to bonding their particles with covalent bond. Is it a transferase that catalyzes bond formation between γ -carboxamid group of glutamin rest and primary amino groups of substrate. It is also responsible for posttranslational protein modifications, that changes their features, structure and ability to influence other proteins. Sometimes it has non-catalytic functions like cytoskeletal organisation, signals transduction or adhesion. It is found in many animals, plants (for example in soya or mangel-wurzel) and also in microorganisms. Nowadays we get it in a microbiological way using different bacteria strains like *Streptovercillum*, *Bacillus Subtilis*, *Physarum* and *Streptomyces*. Transglutaminase is commonly used as a meat texture improver. It became an alternative for phosphates, which increase the water holding capacity of meat. It is also reducing the immunoreactivity of milk proteins, modifying plastic wraps (lowering their solubility), improving gelatin features or used in preserve and yoghurt production. It helps to retreat less valuable meet and boost the consistence of certain meat or ham. This enzyme is called „natural glue” and it isn't dangerous for human organisms. It is degraded during the cooking process and does not change the scent and teaste of food.

Indeks autorów

Boratyński F.....	36
Choromański K.....	13
Cios I.....	48
Dobosz K.....	15
Dymarska M.....	27
Gil M.....	42
Głodek E.....	42
Grąż M.....	30
Grzeszczyk B.....	33
Hoc N.....	27
Janczarek M.....	45
Janeczko T.....	27
Jarosz-Wilkołazka A.....	30
Kała K.....	15
Kopycińska M.....	45
Kostrzewa-Susłow E.....	27
Kozłowska E.....	27
Krawczyk B.....	39
Kubiński K.....	33
Łuczak K.....	48
Marciniak O.....	33
Masłyk M.....	33
Muszyńska B.....	15
Olejniczak T.....	36
Olszewski M.....	39
Pannek J.....	36
Pawlikowska-Pawłęga B.....	30
Pilarz Ł. B.....	19
Rachwał K.....	45
Radzikowski D.....	21, 23
Śpibida M.....	39
Zdunek B.....	17
Zin M.....	42