

**RAPORT ROCZNY/KOŃCOWY<sup>1)</sup>****z realizacji projektu badawczego**

własnego	habilitacyjnego	promotorskiego	1)
----------	-----------------	----------------	----

## 1. DANE OGÓLNE

**1. Nazwa i adres jednostki naukowej\*/**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
02-787 Warszawa; Nowoursynowska 166  
Wydział Rolnictwa i Biologii; Katedra Biochemii  
02-776 Warszawa; Nowoursynowska 159/37

**2. Kierownik jednostki**

Prof. dr hab. Jan Niemiec (Prorektor ds. Nauki)

**3. Telefon, faks, mejl, www**

Tel. 22 593-25-60

Faks 22 593-25-62

Mejl: [rol\\_kbio@delta.sggw.waw.pl](mailto:rol_kbio@delta.sggw.waw.pl)

Str. internet.: <http://agrobiol.sggw.waw.pl/katedry/kbio/>

**4. NIP, REGON**

NIP: 525-000-74-25

REGON: P-000 001784

\*/ Szkoły wyższe podają informacje określone w pkt. 1 w odniesieniu do całej szkoły oraz jednostki podstawowej (zgodnie ze statutem szkoły) będącej miejscem realizacji projektu

## 2. INFORMACJE O PROJEKCIE

Numer projektu badawczego:	N301 096 32/3498
Numer umowy:	3498/P01/2007/32
Tytuł projektu:	Biosynteza izoenzymów aminotransferazy asparaginianowej u pszenicy zwyczajnej ( <i>Triticum aestivum</i> L.)
Kierownik projektu:	<b>Śp. Profesor Andrzej Paszkowski</b>
Termin rozpoczęcia realizacji projektu:	13 kwietnia 2007 r.
Termin zakończenia realizacji projektu:	12 lipca 2009 r.
Słowa kluczowe:	Aminotransferaza asparaginianowa, EST, izoenzymy, lokalizacja chromosomalna, linie delecyjne, spektrometria mas, <i>Triticum aestivum</i> , właściwości biochemiczne

### 3. Syntetyczny opis uzyskanych wyników

(Tylko w raporcie końcowym – na odrębnej stronie, maks. 1 strona formatu A4)

**Numer projektu badawczego:** N301 096 32/3498

**Tytuł projektu:** Biosynteza izoenzymów aminotransferazy asparaginianowej u pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.)

**Nazwa jednostki naukowej:** Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Rolnictwa i Biologii, Katedra Biochemii

Projekt dotyczył sposobu biosyntezy alloenzymów aminotransferazy asparaginianowej (EC 2.6.1.1; AAT) z siewek pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) oraz ich niektórych właściwości molekularnych i kinetycznych. Za pomocą metody Southern stwierdzono, że geny kodujące cytoplazmatyczne, chloroplastowe i mitochondrialne alloenzymy AAT u pszenicy występują tylko w 3 loci. Z wykorzystaniem analizy porównawczej zymogramów AAT z ekstraktów z linii delecyjnych pszenicy zawężono lokalizację chromosomalną 3 genów cytoplazmatycznych AAT: 3AL ( $0,42 \div 0,61$ ), 3BL ( $0,38 \div 0,41$ ), 3DL ( $0,23 \div 0,81$ ) oraz 1 chloroplastowego: 6AS ( $0,35 \div 0,65$ ). Wykonanie analizy porównawczej zymogramów i ilościowego PCR z zastosowaniem linii aneuploidalnych pszenicy umożliwiło pozytywne zweryfikowanie wcześniej wysuniętej hipotezy wg której udział diploidalnego genomu A przewyższa blisko 3-krotnie udział z osobna diploidalnych genomów B i D w syntezie podjednostek tworzących cytoplazmatyczne alloenzymy AAT. Opracowano 5-cio etapową procedurę oczyszczania 3 chloroplastowych i 3 cytoplazmatycznych alloenzymów AAT. Wyznaczona masa cząsteczkowa AAT w warunkach natywnych na kolumnie z żelu Sephadex G-150 wyniosła  $72,4 \pm 3,6$  kDa, natomiast masy cząsteczkowe chloroplastowych i cytoplazmatycznych alloenzymów AAT oznaczone metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym z SDS wyniosły odpowiednio: 45,3 kDa i 43,7 kDa. Dla 6-ciu oczyszczonych alloenzymów AAT wyznaczono wartości stałej  $K_m$  wobec 4 substratów,  $V_{max}$  w obydwu kierunkach,  $k_{cat}$  i  $k_{cat}/K_m$ . Porównanie kojarzonych z centrum aktywnym enzymu fragmentów sekwencji aminokwasowych alloenzymów chloroplastowych i cytoplazmatycznych z pszenicy z 8 analogicznymi sekwencjami aminokwasowymi z 4 wybranych roślin umożliwiło przedstawienie hipotez na temat przyczyn obserwowanych różnic w wydajności katalitycznej między alloenzymami z obydwu badanych pasm.

#### 4. Sprawozdanie merytoryczne

(Odrębny załącznik do raportu końcowego; w przypadku projektu promotorskiego – rozprawa doktorska)

Do raportu końcowego z realizacji projektu grantu promotorskiego zostają dołączone dwie kopie recenzji pracy doktorskiej.

#### 5. Wykonane zadania badawcze według harmonogramu

Lp.	Nazwa zadania badawczego	Termin zakończenia		Koszty	
		plan	wykonanie	planowane	poniesione (zł)
1	2	3		4	
1.	Opracowanie metod oczyszczania izoenzymów AAT z liści siewek pszenicy.	12.08.2007 r.		<b>7 000</b>	
		12.08.2007 r.		6 550	
2.	Sekwencjonowanie 6-ciu homodimerycznych alloenzymów metodą spektrometrii mas z zastosowaniem techniki LC/MS/MS. Wyznaczenie niektórych parametrów kinetycznych ( $K_m$ , $k_{cat}$ ) oczyszczonych izoenzymów AAT. Oznaczenie ich mas cząsteczkowych w warunkach natywnych i denaturujących.	12.10.2007 r.		<b>12 500</b>	
		12.10.2007 r.		12 080	
3.	Weryfikacja sekwencji kodujących izoenzymy AAT w oparciu o metodę RT-PCR.	12.02.2008 r.		<b>11 500</b>	
		12.02.2008 r.		12 310	
4.	Lokalizacja chromosomalna genów AAT za pomocą analizy porównawczej zymogramów.	12.04.2008 r.		<b>2 600</b>	
		12.04.2008 r.		1 930	
5.	Lokalizacja chromosomalna genów aminotransferazy asparaginianowej za pomocą metody Southerna.	12.11.2008 r.		<b>6 900</b>	
		12.11.2008 r.		8 640	
6.	RT-PCR z analizą przyrostu ilości produktu w czasie rzeczywistym.	12.03.2009 r.		<b>6 500</b>	
		12.03.2009 r.		5 730	
7.	Opracowanie wyników i uzyskanie recenzji pracy doktorskiej.	12.07.2009 r.		<b>3 000</b>	
		12.07.2009 r.		1 810	
RAZEM				<b>50 000</b>	
				49 050	

#### 6. Wykaz prac przyjętych do druku lub opublikowanych

Lp.	Tytuł publikacji	Autorzy	Wydawnictwo - nazwa, tom, rok, strona	Data złożenia		Koszt wydania (zł)
				do druku	rok wydania	
1	2	3	4	5	6	
1.	Biosynthesis of aspartate aminotransferase allozymes from common wheat ( <i>Triticum aestivum</i> )	Marcin Maciąga, Michał Szkop, Marysia Kendziorek, Śp. Andrzej Paszkowski	–	Gotowa do wysłania		–

9. Ocena realizacji projektu przez jednostkę naukową, w której realizowany jest projekt.

Czy projekt ~~jest realizowany~~/został wykonany<sup>1)</sup> zgodnie z harmonogramem i kosztorysem umowy?

**TAK/ NIE**

W zasadzie projekt został wykonany zgodnie z kosztorysem harmonogramu. Nie wykorzystano wszystkich pieniędzy ponieważ, m.in. zaplanowane w punkcie 7 harmonogramu wydatki na drobne materiały biurowe (tusz do drukarki, papier, itp.) potrzebne do napisania pracy oraz przygotowania do złożenia publikacji ostatecznie pochodziły z innego źródła. Ponadto, nie wykorzystano pieniędzy przeznaczonych na pokrycie kosztów związanych z udziałem w zjeździe Polskiego Towarzystwa Biochemicznego ani innej konferencji naukowej.

## 10. ZESTAWIENIE KOSZTÓW PLANOWANYCH I PONIESIONYCH (zł)<sup>2)</sup>

	Specyfikacja kosztów	2007		2008		2009		Razem	
		Plan.	Ponies.	Plan.	Ponies.	Plan.	Ponies.	Plan.	Ponies.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	Koszty bezpośr.	<b>28 000</b>	22883.20	<b>13 667</b>	13453.45	<b>0</b>	4380.30	<b>41 667</b>	40716.95
	1) Wynagrodz. z pochodn.	<b>5 000</b>	5000.00	<b>5 667</b>	2833.00	<b>0</b>	2834.00	<b>10 667</b>	10667.00
	2) Inne koszty	<b>23 000</b>	17883.20	<b>8 000</b>	10620.45	<b>0</b>	1546.30	<b>31 000</b>	30049.95
2.	Koszty pośr.	<b>5 600</b>	4576.60	<b>2 733</b>	2690.75	<b>0</b>	1065.65	<b>8 333</b>	8333.00
3.	Koszty gólem (1+2)	<b>33 600</b>	27459.80	<b>16 400</b>	16144.20	<b>0</b>	5445.95	<b>50 000</b>	49049.95

Dokumentacja potwierdzająca rozliczenie projektu badawczego własnego/promotorskiego/habilitacyjnego<sup>1)</sup> znajduje się do wglądu:  
 Marcin Maciąga; SGGW; Wydział Rolnictwa i Biologii; Katedra Biochemii;  
 ul. Nowoursynowska 159/37; 02-776 Warszawa; 22 593 25 73; [d-artagnan@wp.pl](mailto:d-artagnan@wp.pl)

Osoba odpowiedzialna za przygotowanie raportu:  
 Marcin Maciąga; SGGW; Wydział Rolnictwa i Biologii; Katedra Biochemii;  
 ul. Nowoursynowska 159/37; 02-776 Warszawa; 022 593 25 73; [d-artagnan@wp.pl](mailto:d-artagnan@wp.pl)

Raport sporządzono w dniu: 11/9/2009 r.

Pieczęć jednostki

Kierownik jednostki  
(Rektor/Dyrektor)

Główny  
księgowy/Kwestor

Kierownik projektu

Śp. Profesor  
Andrzej Paszkowski

Data

podpis i pieczęć

podpis i pieczęć

podpis

UWAGA

<sup>1)</sup> Niepotrzebne skreślić

<sup>2)</sup> Zestawienie kosztów planowanych i poniesionych podpisane przez właściwe osoby należy przedstawić na odrębnej stronie