

**dr Małgorzata Pietrowska-Borek**

**AUTOREFERAT**

**Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu**

**Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii**

**Katedra Biochemii i Biotechnologii**

**Poznań 2015**

**1. Imię i nazwisko**

**Małgorzata Pietrowska-Borek**

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe**

**2002, stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, specjalność – biochemia**, Wydział Biologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Tytuł rozprawy "Enzymy metabolizujące nukleozydo-5'-tetrafosforan ( $p_4N$ ) u roślin i zwierząt – ligaza kumarylo-CoA z *Arabidopsis thaliana* i hydrolaza  $p_4N$  z *Homo sapiens*" wykonana w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu; promotor: prof. dr hab. Andrzej Guranowski.

**1997, stopień naukowy magistra w zakresie biologii eksperymentalnej**, Wydział Biologii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Praca magisterska pt. "Izolacja i wstępne oczyszczanie CP24 z liści goździka ogrodowego (*Dianthus caryophyllus* L.)" wykonana w Zakładzie Fizjologii Roślin Wydziału Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem prof. dra hab. Grzegorza Jackowskiego.

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych**

**07/2014 - obecnie** - adiunkt, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

**12/2002 - 06/2014** - adiunkt, Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu)

**01/2002 - 11/2002** - zatrudnienie w ramach realizacji umowy o dzieło "Oczyszczanie i scharakteryzowanie hydrolazy  $p_4A$  z łożyska ludzkiego", Katedra Biochemii i Biotechnologii, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

**01/1998 - 12/2001** - Studium Doktoranckie, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Wydział Rolniczy Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

**10/1997 - 12/1997** - zatrudnienie jako wykonawca projektu KBN – P04A06215 "Badania enzymów katalizujących przemiany rzadkich nukleotydów:  $p_4A$ ,  $Ap_3A$  i  $Ap_4A$ "; 1997-2001, kierownik projektu - prof. dr hab. Andrzej Guranowski

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.)**

**A) Tytuł osiągnięcia naukowego**

**Przemiany nietypowych nukleotydów  
u organizmów pro- i eukariotycznych  
oraz ich funkcja sygnalna u *Arabidopsis thaliana***

**B) Publikacje wchodzące w zakres osiągnięcia naukowego**

1. Guranowski A., Wojdyła A., **Pietrowska-Borek M.**, Bieganski P., Khurs E.N., Cliff M.J., Blackburn G.M., Błaziak D., Stec W.J. (2008). Fhit proteins can also recognize substrates other than dinucleoside polyphosphates. *FEBS Lett.* 582: 3152-3158.

IF<sub>2008</sub> 3,260; punkty MNiSW 30

2. Guranowski A., Starzyńska E., **Pietrowska-Borek M.**, Rejman D., Blackburn G.M. (2009). Novel diadenosine polyphosphate analogs with oxymethylene bridges replacing oxygen in the polyphosphate chain. Potential substrates and/or inhibitors of Ap<sub>4</sub>A hydrolases. *FEBS J.* 276: 1546-1553.

IF<sub>2009</sub> 3,042; punkty MNiSW 30

3. **Pietrowska-Borek M.**, Nuc K., Zielezińska M., Guranowski A. (2011). Diadenosine polyphosphates (Ap<sub>3</sub>A and Ap<sub>4</sub>A) behave as alarmones triggering the synthesis of enzymes of the phenylpropanoid pathway in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Open Bio* 1: 1-6.

4. **Pietrowska-Borek M.**, Nuc K. (2013). Both cyclic-AMP and cyclic-GMP can act as regulators of the phenylpropanoid pathway in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 70: 142-149.

IF<sub>2013</sub> 2,352; punkty MNiSW 35

5. **Pietrowska-Borek M.**, Chadzinikolau T., Borek S. (2014). Cyclic nucleotides and nucleotide cyclases in plants under stress. W: Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes: Volume 1. Ahmad P., Wani M.R., Azooz M.M., Tran L.-S.P. (Red.), Rozdział 6, *Springer Science+Business Media New York*, 119-151.

6. **Pietrowska-Borek M.**, Nuc K., Guranowski A. (2015). Exogenous adenosine 5'-phosphoramidate behaves as a signal molecule in plants; it augments metabolism of phenylpropanoids and salicylic acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 94: 144-152.

IF<sub>2014</sub> 2,756; punkty MNiSW 35



**C) Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

Osiągnięcie naukowe stanowi pięć powiązanych tematycznie oryginalnych publikacji naukowych opublikowanych w latach 2008-2015 w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports i jednego rozdziału o charakterze przeglądowym w książce opublikowanej przez *Springer Science+Business Media New York*. Sumaryczny impact factor (zgodny z rokiem opublikowania) tych pozycji wynosi 11,410 a sumaryczna liczba punktów MNiSW to 130.

Moje zainteresowania metabolizmem nietypowych nukleotydów i szlakiem fenylopropanoidowym u roślin sięgają pracy doktorskiej, którą realizowałam w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu (obecnie Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu) pod kierunkiem prof. dra hab. Andrzeja Guranowskiego. W pracy zatytułowanej "Enzymy metabolizujące nukleozydo-5'-tetrafosforan ( $p_4N$ ) u roślin i zwierząt – ligaza kumarylo-CoA z *Arabidopsis thaliana* i hydrolaza  $p_4N$  z *Homo sapiens*" dowiodłam, że kluczowy enzym szlaku fenylopropanoidowego jakim jest ligaza kumarylo-CoA (4CL) z *A. thaliana* może syntetyzować także nietypowe nukleotydy takie jak  $p_4A$  i  $Ap_4A$  (Pietrowska-Borek i wsp., 2003). Innym aspektem pracy było oczyszczanie i charakterystyka hydrolazy  $p_4N$  pochodząca z łożyska ludzkiego. Różne aspekty metabolizmu  $p_4A$  zostały opublikowane w pracy zatytułowanej "O adenozy-no-5'-tetrafosforanie" (Guranowski i Pietrowska-Borek, 2002).

Nukleotydy są istotnymi składnikami komórek organizmów żywych i pełnią kluczowe funkcje w wielu procesach. Zalicza się do nich m.in. nukleotydy będące prekursorami DNA i RNA, czy też uniwersalny nośnik energii jakim jest ATP. Inną grupą są nukleotydy cykliczne takie jak cykliczny AMP (cAMP) i cykliczny GMP (cGMP), o dość dobrze udokumentowanej już funkcji sygnałnej zarówno w organizmach zwierzęcych jak i roślinnych (prace przeglądowe: Newton i Smith, 2004; **Pietrowska-Borek i wsp., 2014a; pozycja 5 osiągnięcia naukowego**). Inną grupą są takie nietypowe nukleotydy jak mono- i dinukleozydopolifosforany. Mononukleozydopolifosforany ( $p_nN$ ) w swojej budowie oprócz nukleozydu mają łańcuch fosforanowy. Przykładem może być tutaj adenozy-no-5'-tetrafosforan ( $p_4A$ ) i adenozy-no-5'-pentafosforan ( $p_5A$ ). Dinukleozydopolifosforany ( $Np_nN'$ ) natomiast składają się z dwóch nukleozydów połączonych łańcuchem oligofosforanowym. Najpowszechniej badanymi są nukleotydy adeninowe: diadenozynotrifosforan ( $Ap_3A$ )



i diadenozynotetrafosforan ( $\text{Ap}_4\text{A}$ ). Pierwsze doniesienia o istnieniu mono- i dinukleozydopolifosforanów pochodzą z lat 50-tych ubiegłego stulecia. Okazało się, że podczas chemicznej syntezy adenozynomonofosforanurydyny ( $\text{ApU}$ ) powstawały również diadenozynodifosforan ( $\text{Ap}_2\text{A}$ ) i diurydynodifosforan ( $\text{Up}_2\text{U}$ ) (Christe i wsp., 1953). W tym samym czasie wykazano, że handlowe preparaty ATP z mięśni wołu są zanieczyszczone  $\text{p}_4\text{A}$  (Mirian, 1953; 1954). Pierwszym dinukleozydopolifosforanem odkrytym w materiale biologicznym był diguanozynotetrafosforan ( $\text{Gp}_4\text{G}$ ), który został zidentyfikowany w zarodkach krewetek (Finamore i Warner, 1963). Natomiast  $\text{Ap}_4\text{A}$  został wykryty w komórkach ssaczych (Rapaport i Zamecnick, 1976). Inne  $\text{Np}_n\text{N}'$  zostały zidentyfikowane w bakteriach, drożdżach i komórkach zwierzęcych, w tym ludzkich. Natomiast występowanie  $\text{p}_n\text{N}$  wykazano w mitochondriach wątroby szczura (Held i Klingenberg, 1965) i w drożdżach (Jakubowski, 1986). Jak do tej pory nie ma jednak w literaturze danych na temat zawartości czy kumulacji nietypowych nukleotydów u roślin.

### **Przemiany nietypowych nukleotydów**

Poziom nietypowych nukleotydów w komórkach jest wynikiem aktywności zarówno enzymów syntetyzujących jak i je degradujących. Do tych pierwszych należą niektóre ligazy i transferazy (praca przeglądowa: Fraga i Fontes, 2011). Wśród roślinnych ligaz są syntetazy fenyloalanylo i serylo-tRNA z łubinu żółtego (Jakubowski, 1983) oraz ligaza kumarylokoenzymu A z *A. thaliana* (Pietrowska-Borek i wsp., 2003). Enzymy degradujące te nukleotydy można podzielić na niespecyficzne i specyficzne. Do enzymów specyficznych rozkładających dinukleozydopolifosforany należą m.in. *asymetryczna* hydrolaza  $\text{Np}_4\text{N}'$  (EC 3.6.1.17), *symetryczna* hydrolaza  $\text{Ap}_4\text{A}$  (EC 3.6.1.41) i hydrolaza dinukleozydotrifosforanu ( $\text{Np}_3\text{N}'$ ; EC 3.6.1.29) (praca przeglądowa: Guranowski, 2000). Białkiem o aktywności hydrolazy  $\text{Np}_3\text{N}$  okazało się być białko Fhit (z ang. *Fragile histidine triad*; Barnes i wsp., 1996). Białka Fhit należą do super rodziny białek HIT (z ang. *Histidine Triad*). W rodzinie tej, oprócz wymienionej już grupy białek Fhit, wyróżnić również można białka Hint (wykazujące aktywność hydrolazy adenozyno-5'-monofosforamidu) i białka GalT (mające aktywność specyficznej transferazy nukleozydomonofosforanu; praca przeglądowa: Brenner, 2002). Ludzkiemu białku Fhit przypisuje się istotną funkcję inhibitora guzów nowotworowych (Siprashvili i wsp., 1997).

Bazując na pracy opisującej mechanizm działania białek Fhit, w której autorzy wykazali możliwość hydrolizowania wiązań P-N w adenozynofosfoimidazolu (Huang i wsp., 2004) przeprowadziliśmy badania, które miały na celu sprawdzenie, czy inne nietypowe

nukleotydy mogą być substratami dla Fhit ludzkiego i z *A. thaliana*. Przetestowaliśmy naturalnie występujące nietypowe nukleotydy, pochodne AMP, sulfoadenylan ( $\text{SO}_4\text{-pA}$ ; kluczowy metabolit na szlaku asymilacji siarczanu) i adenozy-5'-fosforamid ( $\text{NH}_2\text{-pA}$ ; mało poznany naturalny metabolit; Frankhauser i wsp., 1981a). Wykonane przez nas analizy dowiodły, że białka Fhit (ludzkie i z *A. thaliana*) wykazują aktywność przypisywaną adenylosulfatazie i nukleozydofosforamidazie uwalniającym adenozy-5'-monofosforan (AMP) z, odpowiednio,  $\text{SO}_4\text{-pA}$  i z  $\text{NH}_2\text{-pA}$ . Badane białka Fhit katalizowały również hydrolizę wiązań P-F i uwalniały AMP z syntetycznego nukleotydu adenozy-5'-O-fluoromonofosforanu ( $\text{F-pA}$ ; **Guranowski i wsp., 2008; pozycja 1 osiągnięcia naukowego**). Do tej pory wiadomo było, że  $\text{NH}_2\text{-pA}$  może być syntetyzowany przez adenylylotransferazę adenylylo siarczano:amoniak (EC 2.7.7.51) w zielonych algach (Frankhauser i wsp., 1981b). Ostatnio wykazano, że  $\text{NH}_2\text{-pA}$  może być syntetyzowany również przez białka Fhit i jest to jeszcze jedna z cech tych białek (Wojdyła-Mamoń and Guranowski, 2014; 2015).

Aby zrozumieć biologiczną funkcję jaką mogą pełnić dinukleozydopolifosforany stosuje się w badaniach różne analogi tych nukleotydów. Wiele analogów  $\text{Ap}_3\text{A}$  i  $\text{Ap}_4\text{A}$  może być syntetyzowanych zarówno chemicznie jak i enzymatycznie (Guranowski, 2003). Analogi takie pozwalają poznać mechanizmy enzymatycznego rozkładu dinukleozydopolifosforanów. Dlatego też w celu poznania mechanizmu działania *asymetrycznych* hydrolaz  $\text{Ap}_4\text{A}$ , (z człowieka i łubinu wąskolistnego) oraz hydrolaz *symetrycznie* degradujących  $\text{Ap}_4\text{A}$  (z *Escherichia coli*) przeprowadziliśmy badania z wykorzystaniem oksymetylenowych pochodnych  $\text{Ap}_4\text{A}$ . U tych analogów niektóre atomy tlenu w łańcuchu polifosforanowym zastąpiono grupami oksymetylenowymi. Przetestowaliśmy sześć chemicznie zsyntetyzowanych związków:  $\text{ApCH}_2\text{OpOCH}_2\text{pA}$  (1),  $\text{ApOCH}_2\text{pCH}_2\text{OpA}$  (2),  $\text{ApOpCH}_2\text{OpOpA}$  (3),  $\text{ApCH}_2\text{OpOpOCH}_2\text{pA}$  (4),  $\text{ApOCH}_2\text{pOpCH}_2\text{OpA}$  (5) i  $\text{ApOpOCH}_2\text{pCH}_2\text{OpOpA}$  (6). Badania dowiodły, że żaden z sześciu analogów nie był dobrym substratem ani inhibitorem dla bakteryjnej *symetrycznej* hydrolazy  $\text{Ap}_4\text{A}$ . Natomiast *asymetryczne* hydrolazy  $\text{Ap}_4\text{A}$  rozkładały tylko analogi (3) i (5). Analog (3) był degradowany do AMP (pA) i  $\beta,\gamma$ -metylenooksy-ATP ( $\text{pOCH}_2\text{pOpA}$ ), a analog (5) do dwóch cząsteczek  $\alpha,\beta$ -oksymetyleno-ADP ( $\text{pCH}_2\text{OpA}$ ). Wyniki tych badań wskazują, że rozpoznawanie wyżej wymienionych analogów  $\text{Ap}_4\text{A}$  jako substratów przez *symetryczne* i *asymetryczne* hydrolazy jest ograniczone (**Guranowski i wsp., 2009; pozycja 2 osiągnięcia naukowego**).



### **Funkcje nietypowych nukleotydów**

Oprócz enzymatycznych przemian nietypowych nukleotydów moje zainteresowania naukowe dotyczące tych związków skupiają się również na badaniu funkcji pełnionych przez nie w organizmach. Bardzo interesującą funkcją jaką mogą pełnić nietypowe nukleotydy jest ich potencjalna funkcja *alarmonów* (Bochner i wsp., 1984). Alarmony są to wewnątrzkomórkowe cząsteczki sygnałowe, których wytwarzanie następuje w wyniku niekorzystnych czynników środowiskowych. Regulują one ekspresję genów na poziomie transkrypcji. Taką rolę pełnią nukleotydy (p)ppGpp i ppGpp u bakterii (praca przeglądowa: Hauryliuk i wsp., 2015). Wyniki dotychczasowych badań nad rolą nietypowych nukleotydów dotyczą mikroorganizmów i zwierząt, w tym człowieka. Stwierdzono, że dinukleozydopolifosforany mogą nagromadzać się w komórkach w warunkach stresu. W komórkach *Saccharomyces cerevisiae* i *E.coli* podwyższona temperatura i jony kadmu powodowały wzrost ich zawartości (Lee i wsp., 1983a; Baltzinger i wsp., 1986; Coste i wsp., 1987). U cyjanobakterii takie same efekty wywołują szok termiczny i metale ciężkie (Palfi i wsp., 1991). U *Salmonelli* wzmożoną syntezę dinukleozydopolifosforanów powodował etanol (Lee i wsp., 1983). Wiadomo, że  $N_pN'$  mogą pełnić funkcję neurotransmiterów i oddziałują na układ krwionośny poprzez receptory purynergiczne. Dowiedziono również, że  $Ap_4A$  uczestniczy w inicjacji replikacji DNA. Natomiast wzrost stosunku  $Ap_3A$  do  $Ap_4A$  w ludzkich komórkach HL60 może indukować apoptozę (praca przeglądowa: McLennan, 2000). Dowiedziono, że dinukleozydopolifosforany odgrywają sygnałną rolę w komórkach zwierzęcych. Wykazano, że  $Ap_4A$  pełni funkcję wtórnego przekaźnika sygnału w regulacji ekspresji genów w komórkach tucznych szczura (Carmi-Levy i wsp., 2008). Ponadto  $Ap_3A$  i  $Ap_4A$  indukowały aktywację ścieżki sygnałowej prowadzącej do wzrostu proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń (Bobbert i wsp., 2008). Jak do tej pory nie było w literaturze żadnej wzmianki o funkcji nietypowych nukleotydów u roślin. Natomiast moje badania wskazują, że nietypowe nukleotydy w komórkach roślinnych pełnić mogą funkcję *alarmonów* (Pietrowska-Borek i wsp., 2011; 2015; pozycja 3 i 6 osiągnięcia naukowego; Pietrowska-Borek i wsp. 2014b).

Powszechnie wiadomo, że różnego rodzaju abiotyczne i biotyczne czynniki stresowe np. uszkodzenia mechaniczne, promieniowanie UV, niska temperatura, metale ciężkie np. kadm czy też infekcje patogenami wzmagają u roślin aktywność szlaku fenylopropanoidowego (Dixon i Paiva, 1995). Z prac opisujących udział szlaku fenylopropanoidowego w odpowiedzi na czynniki stresowe u roślin wiadomo, że geny amoniakolizy fenyloalaniny (*PAL1*, *PAL2* i *PAL4*) są zaangażowane w proces lignifikacji. Wykazano wzrost ich ekspresji w odpowiedzi na stresy abiotyczne i biotyczne (Oh i wsp.,



2003; Raes i wsp., 2003; Moura i wsp., 2010). Przykładowo infekcja *Peronospora parasitica* powodowała u *A. thaliana* indukcję ekspresji genów *PAL* (Ehtling i wsp., 1999). Ponadto stwierdzono, że *PAL1* i *PAL2* są zaangażowane w syntezę flawonoidów u *A. thaliana* w stresie abiotycznym jakim jest niska temperatura (Olsen i wsp., 2008). Również badania nad udziałem ligazy kumarylo-CoA (4CL) w odpowiedzi roślin na promieniowanie UV wskazują na indukcję ekspresji *At4CL1*, *At4CL2* i *At4CL3*. Także inokulacja *Peronospora parasitica* u *A. thaliana* przyczyniała się do wzrostu poziomu mRNA *At4CL1* i *At4CL2* (Ehtling i wsp., 1999). Z kolei wzrost poziomu mRNA syntazy chalkonowej (*CHS*) zaobserwowano w wyniku działania niskiej temperatury i światła u *A. thaliana* (Leyva i wsp., 1995). Innym czynnikiem indukującym ekspresję genu *CHS* była infekcja patogenami np. *Colletotrichum lindemuthianum* u *Phaseolus vulgaris* (Bell i wsp., 1984) czy *Ceratocystis polonica* u *Picea abies* (Nagy i wsp., 2004). Również kadm i UV-B przyczyniały się do indukcji ekspresji *CHS* u *A. thaliana*, *Physcomitrella patens* i *Astragalus membranaceus* (Bieza i Lois, 2001; Herbertte i wsp., 2006; Wolf i wsp., 2010; Xu i wsp., 2011). Zaobserwowano, że poziom transkryptu reduktazy cynamylo-CoA (*CCR2*), enzymu zaangażowanego w syntezę lignin, wzrastał w liściach *A. thaliana* poddanych działaniu patogena bakteryjnego (Lauvergeat i wsp., 2001). Badacze ci zasugerowali udział *AtCCR1* w normalnej lignifikacji a *AtCCR2* w lignifikacji indukowanej patogenami. W ostatnich kilku latach pojawiły się bardzo rozproszone dane literaturowe na temat wpływu czynników stresowych również na enzymy metabolizujące nietypowe nukleotydy. Badania nad zmianami proteomicznymi zachodzącymi w owocach pomarańczy traktowanych podwyższoną temperaturą wskazują na silny wzrost poziomu bis(5'-aednozylo) trifosfatazy, enzymu rozkładającego  $Ap_3A$  (Perotti i wsp., 2011). Wyniki te mogą sugerować wzmożoną syntezę  $Ap_3A$  podczas stresu oksydacyjnego wywołanego podwyższoną temperaturą. Enzymami zaangażowanymi w metabolizm dinukleozydopolifosforanów są hydrolazy Nudix (NUDX). Wzrost poziomu transkryptu i białka *AtNUDT7* zaobserwowano w wyniku stresu biotycznego wywołanego przez *Pseudomonas syringae avrRpt2* u *A. thaliana* (Jambunathan i wsp., 2010). Ponadto enzymy z grupy Nudix są zaangażowane w różne procesy, np. biosyntezę kwasu salicylowego, który bierze udział w odpowiedzi na stresy abiotyczne i biotyczne (praca przeglądowa: Kraszewska, 2008). Stwierdzono również, że białka klasy NUDT wiążą RNA i są zaangażowane w regulację ekspresji genów zarówno w komórkach zwierzęcych jak i roślinnych (Xu i wsp., 2006; Gunawardana i wsp., 2008; Song i wsp., 2013). U *A. thaliana* zaobserwowano szybką indukcję białka *AtNUDT7* przez ozon i infekcję patogenami (Muthuramalingam i wsp.,

2015). Również wyniki uzyskane przez Tanaka i wsp. (2015) wskazują na udział NUDX w odpowiedzi na stres abiotyczny u jęczmienia.

**Łącząc fakty świadczące o indukcji syntezy fenylopropanoidów w odpowiedzi na różnego rodzaju stresy, kumulację dinukleozydopolifosforanów w warunkach stresowych i możliwość syntezy nietypowych nukleotydów przez kluczowy enzym ze szlaku fenylopropanoidowego jakim jest ligaza kumarylo-CoA postawiłam sobie pytanie: czy takie nukleotydy jak  $Ap_3A$ ,  $Ap_4A$  i  $NH_2-pA$  działają jako *alarmony* i czy, podane zewnętrznje, mogą intensyfikować działanie szlaku fenylopropanoidowego u roślin.**

Badania w tym zakresie realizuję na roślinach, które jak do tej pory nie były obiektem zainteresowań naukowców zajmujących się poznawaniem funkcji nietypowych nukleotydów. Jednym z obiektów moich badań są siewki *A. thaliana*. Pierwsze badania nad efektami wywołanymi przez dinukleozydopolifosforany przeprowadziłam na siedmiodniowych siewkach *A. thaliana* kultywowanych *in vitro* na pożywce płynnej. Przeprowadzone przeze mnie wstępne badania wykazały, że  $Ap_3A$  po 3 godzinach od dodania do pożywki zwiększał aktywność PAL prawie 10-krotnie. Wyniki te zachęciły mnie do kontynuowania badań nad indukcją szlaku fenylopropanoidowego u roślin przez nietypowe nukleotydy. W dalszych badaniach po dodaniu  $Ap_3A$  lub  $Ap_4A$  do pożywki stwierdziłam, że już po 10 minutach dochodziło do wzrostu aktywności dwóch enzymów szlaku fenylopropanoidowego - amoniakolizazy fenyloalaniny (PAL) i ligazy kumarylo-CoA (4CL). Spośród przetestowanych stężeń w zakresie od 0,008  $\mu M$  do 25  $\mu M$ , stężeniem optymalnym nukleotydów okazało się 5  $\mu M$ . Analiza ekspresji genów *PAL* wskazała na bardzo silną indukcję (około 70-krotną) ekspresji genu *PAL2* zarówno przez  $Ap_3A$  jak i  $Ap_4A$ . Również aktywność PAL była znacząco wyższa u siewek *A. thaliana* traktowanych  $Ap_3A$  (około 8-9 razy). Ponadto wykazałam, że ekspresja genów i aktywność 4CL była wyższa w siewkach traktowanych dinukleozydopolifosforanami (Pietrowska-Borek i wsp., 2011; pozycja 3 osiągnięcia naukowego). Wyniki te mogą świadczyć o podwójnej roli jaką może pełnić 4CL w odpowiedzi na czynniki stresowe. Po pierwsze, enzym ten syntetyzuje dinukleozydopolifosforany, czyli związki, które mogą pełnić funkcję *alarmonów* (Pietrowska-Borek i wsp., 2003), i po drugie, przyczynia się do zintensyfikowania syntezy metabolitów minimalizujących efekty stresu w komórkach roślinnych (Ehtling i wsp., 1999). Zważywszy na fakt, iż grupą metabolitów wtórnych, powstających na szlaku syntezy fenylopropanoidów



i biorących udział w odpowiedzi roślin na czynniki stresowe są flawonoidy, analizowałam także zmiany w poziomie ekspresji genu i aktywności syntazy chalkonowej (CHS). Jest to enzym katalizujący syntezę chalkonu, który jest prekursorem flawonoidów. Jednakże spośród zbadanych enzymów syntaza ta była najslabiej stymulowana przez  $Ap_3A$  (**Pietrowska-Borek i wsp., 2011; pozycja 3 osiągnięcia naukowego**). Obserwacje te są pierwszymi opisanymi w literaturze danymi silnie wskazującymi na sygnałną rolę dinukleozydopolifosforanów u roślin. Indukcyjne oddziaływanie  $Ap_3A$  na ekspresję genów szlaku fenylopropanoidowego potwierdzono też w innym układzie doświadczalnym jakim są zawiesiny komórkowe *Vitis vinifera* (Pietrowska-Borek i wsp., 2014b). Wyniki uzyskane z badań wykonanych na *A. thaliana* zostały w znaczący sposób wyróżnione przez jednego z edytorów czasopism należących do FEBS (Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych). Na jego prośbę nasza publikacja (**Pietrowska-Borek i wsp., 2011, pozycja 3 osiągnięcia naukowego**) ukazała się jako pierwszy artykuł w pierwszym numerze *FEBS Open Bio*. Jest to nowo powstałe w 2011 roku czasopismo wydawane przez FEBS. Czasopismo to w chwili obecnej nie ma jeszcze punktów MNiSW, a współczynnik IF po raz pierwszy uzyskało w roku 2015 i wynosi on 1,515. Jednakże w roku 2013 zostało ono zakwalifikowane do kwartyłu 2 (Q2) w Subject Area: Biochemistry, Genetics and Molecular Biology według SJR - SCImago Journal and Country Rank (<http://www.scimagojr.com>). Czasopismo *FEBS Open Bio* zaliczane jest również do grupy "mega-journal", obok takich jak *PLOS ONE* czy czasopism z grupy BMC (Binfield, 2014).

Nowo odkryta funkcja sygnałna nietypowych nukleotydów w komórkach roślinnych i indukowanie przez te cząsteczki szlaku fenylopropanoidowego stały się przyczynkiem do badań mających na celu sprawdzenie roli cAMP i cGMP (nukleotydów o dobrze już udokumentowanej funkcji sygnałnej) w regulacji syntezy fenylopropanoidów u *A. thaliana*. Przedmiotem badań były zmiany w ekspresji genów, aktywności enzymów PAL, 4CL i CHS, oraz kumulacji jednej z grup produktów tego szlaku jakimi są antocyjany. Doświadczenia wykazały, że dodany do pożywek 8-Br-cAMP lub 8-Br-cGMP (analogi nukleotydów cyklicznych odporne na rozkład przez fosfodiesterazy i mogące przenikać przez błony komórkowe) indukuje silnie, bo około 40-krotnie, ekspresję genu *PAL2* w siewkach *A. thaliana*. Stwierdziliśmy również wzrost poziomu ekspresji genów *4CL* i *CHS*. Nagromadzenie transkryptu genu *4CL1*, indukowane analogiem cAMP, było około 14-krotnie wyższe niż w siewkach kontrolnych. Natomiast 5-krotny wzrost ekspresji w odpowiedzi na traktowanie cAMP odnotowaliśmy dla genu *CHS*. Pomimo wzrostu aktywności PAL, 4CL i CHS nie zaobserwowaliśmy kumulacji antocyjanów (**Pietrowska-Borek i Nuc, 2013;**

**pozycja 4 osiągnięcia naukowego**). Badania dotyczące wpływu nukleotydów nietypowych i cyklicznych na szlak fenylopropanoidowy były m.in. przedmiotem projektu własnego, finansowanego przez MNiSW o numerze N N303 068634, realizowanego w latach 2008-2011, którego byłam kierownikiem. Podsumowanie danych literaturowych na temat metabolizmu i funkcji nukleotydów cyklicznych w komórkach roślinnych, również w warunkach stresowych, przedstawione zostało w rozdziale pt. "Cyclic nucleotides and nucleotide cyclases in plants under stress" w książce "Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes" wydanej przez *Springer Science+Business Media New York* (**Pietrowska-Borek i wsp., 2014a; pozycja 5 osiągnięcia naukowego**). Praca ta napisana została w odpowiedzi na zaproszenie edytora.

U roślin stwierdzono ostatnio występowanie enzymów syntetyzujących i degradujących inny nietypowy nukleotyd adenozylo-5'-monofosforamid ( $\text{NH}_2\text{-pA}$ ; Guranowski i wsp., 2011; Wojdyła-Mamoń i Guranowski, 2014; 2015). W związku z tym postanowiłam sprawdzić czy i ten, bogaty w energię i naturalnie występujący nukleotyd może modyfikować intensywność szlaku fenylopropanoidowego u *A. thaliana*. Przeanalizowałam działanie  $\text{NH}_2\text{-pA}$  i jego syntetycznego analogu F-pA na ekspresję genów kodujących PAL, 4CL, CHS, 4-hydroksylazę kwasu cynamonowego (C4H), reduktazę cynamylo-CoA (CCR) i syntazę isochoryzmianową (ICS). CCR jest enzymem biorącym udział w biosyntezie lignin, natomiast ICS to enzym uczestniczący w szlaku syntezy innej molekuly sygnałnej jakim jest kwas salicylowy. Przeprowadzone przeze mnie eksperymenty na siewkach *A. thaliana* wykazały indukcyjne działanie wspomnianych związków zarówno na ekspresję badanych genów jak i kumulację wybranych metabolitów wtórnych (takich jak antocyjany i ligniny) oraz kwasu salicylowego. Spośród analizowanych genów najsilniejszą indukcję ekspresji, ok. 4-krotną, odnotowaliśmy dla genu *CCR2*. Miało to również odzwierciedlenie we wzroście poziomu lignin w siewkach traktowanych  $\text{NH}_2\text{-pA}$ . Podobne efekty wywołał F-pA. Innym istotnym efektem wywołanym przez  $\text{NH}_2\text{-pA}$  i F-pA był wzrost ekspresji genów *ICS* i bardzo szybki, około dwukrotny wzrost poziomu wolnego kwasu salicylowego (już po 10 minutach traktowania siewek  $\text{NH}_2\text{-pA}$  i po 1 godzinie F-pA). W związku z tym, że kwas salicylowy jest jedną z molekuł sygnałnych zaangażowanych w odpowiedź roślin na stres biotyczny, indukcja jego syntezy przez  $\text{NH}_2\text{-pA}$  i F-pA sugerować może współdziałanie obu cząsteczek w reakcjach obronnych roślin (**Pietrowska-Borek i wsp., 2015; pozycja 6 osiągnięcia naukowego**).

**Podsumowując, moje badania przyczyniły się do poszerzenia raczej skromnej wiedzy na temat przemian nietypowych nukleotydów w komórkach bakterii, grzybów,**



roślin i zwierząt. Skupiając się natomiast na funkcji, jaką te związki mogą pełnić u roślin, to najistotniejszym osiągnięciem moich badań jest wykazanie, że nietypowe nukleotydy, takie jak  $\text{Ap}_3\text{A}$ ,  $\text{Ap}_4\text{A}$  i  $\text{NH}_2\text{-pA}$  mogą pełnić funkcję sygnałową u roślin. Molekuły te zwiększają ekspresję genów i aktywność enzymów szlaku fenylopropanoidowego i w ten sposób mogą nasilać kumulację metabolitów wtórnych pełniących rolę ochronną u roślin w stresie biotycznym i abiotycznym. Podobne efekty wywoływane są też przez egzogenne aplikowane nukleotydy cykliczne, czyli molekuły których funkcja sygnałowa jest już dobrze udokumentowana. W planach mam kontynuację badań na tym polu i realizowanie ich na poziomie transkryptomiki i proteomiki.

### Literatura

- Baltzinger M., Ebel J.P., Remy P. (1986). Accumulation of dinucleoside polyphosphates in *Saccharomyces cerevisiae* under stress conditions. High levels are associated with cell death. *Biochimie* 68: 1231-1236.
- Barnes L.D., Garrison P.N., Siprashvili Z., Guranowski A., Robinson A.K., Ingram S.W., Croce C.M., Ohta M., Huebner, K. (1996). Fhit, a putative tumor suppressor in humans, is a dinucleoside 5',5'''- $\text{P}^1\text{P}^3$ -triphosphate hydrolase. *Biochemistry* 35, 11529-11535.
- Bell J.N., Dixon R.A., Bailey J.A., Rowell P.M., Lamb C.J. (1984). Differential induction of chalcone synthase mRNA activity at the onset of phytoalexin accumulation in compatible and incompatible plant-pathogen interactions. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 81:3384-3388.
- Bieze K., Lois R. (2001). An *A. thaliana* mutant tolerant to lethal ultraviolet-B levels shows constitutively elevated accumulation of flavonoids and other phenolics. *Plant Physiol.* 126: 1105-1115.
- Binfield P. (2014). Novel Scholarly Journal Concepts. W: Bartling S., Friesike S., (red.) *Opening Science*: 155-163, Springer New York.
- Robert P., Schlüter H., Schultheiss H.P., Reusch H.P. (2008). Diadenosine polyphosphates  $\text{Ap}_3\text{A}$  and  $\text{Ap}_4\text{A}$ , but not  $\text{Ap}_5\text{A}$  or  $\text{Ap}_6\text{A}$ , induce proliferation of vascular smooth muscle cells. *Biochem. Pharmacol.* 75: 1966-1973.
- Bochner B.R., Lee P.C., Wilson S.W., Cutler C.W., Ames B.N. (1984).  $\text{Ap}_4\text{A}$  and related nucleotides are synthesized as consequence of oxidation stress. *Cell* 37: 225-232.
- Brenner, C. (2002). Hint, Fhit, and GalT: function, structure, evolution, and mechanism of three branches of the histidine triad superfamily of nucleotide hydrolases and transferases. *Biochemistry* 41: 9003-9014.
- Carmi-Levy I., Yannay-Cohen N., Kay G., Razin E., Nechushtan H. (2008). Diadenosine tetraphosphate hydrolase is part of the transcriptional regulation network in immunologically activated mast cells. *Mol. Cell. Biol.* 28: 5777-5784.
- Christie S.M.H., Elmore D.T., Kenner G.W., Todd A.R., Weymouth F.J. (1953). Nucleotides. Part XXII. Syntheses of  $\text{P}^1\text{P}^2$ -diadenosine-5' and  $\text{P}^1\text{P}^2$ -diuridine-5'-pyrophosphates. *J. Chem. Soc.* 3: 2947-2953.
- Coste H., Brevet A., Plateau P., Blanquet S. (1987). Non-adenylylated bis(5'-nucleosidyl) tetraphosphates occur in *Saccharomyces cerevisiae* and in *Escherichia coli* and accumulate upon temperature shift or exposure to cadmium. *J. Biol. Chem.* 262: 12096-12103.
- Dixon A., Bailey J.A., Rowell P.M., Lamb C.J. (1984). Differential induction of chalcone synthase mRNA activity at the onset of phytoalexin accumulation in compatible and incompatible plant-pathogen interactions. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 81: 3384-3388.
- Dixon R.A., Paiva N.L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Ehlting J., Büttner D., Wang Q., Douglas C.J., Somssich I.E., Kombrink E. (1999). Three 4-coumarate:coenzyme A ligases in *A. thaliana* represent two evolutionarily divergent classes in angiosperms. *Plant J.* 19: 9-20.
- Finamore F.J., Warner A.H. (1963). The occurrence of  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^4$ -diguanosine 5'-tetraphosphate in brine shrimp eggs. *J. Biol. Chem.* 238: 344-348.
- Fraga H, Fontes R. (2011). Enzymatic synthesis of mono and dinucleoside polyphosphates. *Biochim. Biophys. Acta* 1810: 1195-1204.
- Frankhauser H., Berkovitz G.A., Schiff J.A., (1981a). A nucleotide with the properties of adenosine 5'-phosphoramidate from *Chlorella* cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 101: 524-532.
- Frankhauser H., Schiff J.A., Garber L.J. (1981b). Purification and properties of adenylyl sulfate: ammonia adenylyltransferase from *Chlorella* catalyzing the formation of adenosine 5'-phosphoramidate from adenosine 5'-phosphosulfate and ammonia. *Biochem. J.* 195: 545-560.
- Gunawardana D., Cheng H.C., Gayler K.R. (2008). Identification of functional domains in *A. thaliana* mRNA decapping enzyme (AtDcp2). *Nucleic Acids Res.* 36: 203-216.



- Guranowski A. (2000). Specific and nonspecific enzymes involved in the catabolism of mononucleoside and dinucleoside polyphosphates. *Pharmacol. Ther.* 87: 117-139.
- Guranowski A. (2003). Analogs of diadenosine tetraphosphate (Ap<sub>4</sub>A). *Acta Biochim. Polon.* 50: 947-972.
- Guranowski A., Pietrowska-Borek M. (2002). O adenozy-5'-tetrafosforanie. *Biotechnologia* 3(58): 91-106.
- Guranowski A., Starzyńska E., Pietrowska-Borek M., Rejman D., Blackburn G.M. (2009). Novel diadenosine polyphosphate analogs with oxymethylene bridges replacing oxygen in the polyphosphate chain. Potential substrates and/or inhibitors of Ap<sub>4</sub>A hydrolases. *FEBS J.* 276: 1546-1553 (pozycja 2 osiągnięcia naukowego).**
- Guranowski A., Wojdyla A., Pietrowska-Borek M., Bieganski P., Khurs E.N., Cliff M.J., Blackburn G.M., Błaziak D., Stec W.J. (2008). Fhit proteins can also recognize substrates other than dinucleoside polyphosphates. *FEBS Lett.* 582: 3152-3158 (pozycja 1 osiągnięcia naukowego).**
- Guranowski A., Wojdyla A.M., Rydzik A.M., Stępiński J., Jemielity J. (2011). Plant nucleoside 5'-phosphoramidate hydrolase; simple purification from yellow lupin (*Lupinus luteus*) seeds and properties of homogeneous enzyme. *Acta Biochim. Pol.* 58: 131-136.
- Haurlyuk V., Atkinson G.C., Murakami K.S., Tenson T., Gerdes K. (2015). Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. *Nature Rev. Microbiol.* 13: 298-309.
- Heldt H.W., Klingenberg M. (1965). Endogenous nucleotides of mitochondria participating in phosphate transfer reactions as studied with <sup>32</sup>P labelled orthophosphate and ultramicroscale ion exchange chromatography. *Biochem. Z.* 343: 433-451.
- Herbette S., Taconnat L., Hugouvieux V., Piette L., Magniette M.-L.M., Cuine S., Auroy P., Richaud P., Forestier C., Bourguignon J., Renou J.-P., Vavasseur A., Leonhardt N. (2006). Genome-wide transcriptome profiling of the early cadmium response of *A. thaliana* roots and shoots. *Biochimie* 88: 1751-1765.
- Huang K., Arabshahi A., Wei Y., Frey P.A. (2004). The mechanism of action of the fragile histidine triad, Fhit: isolation of a covalent adenylyl enzyme and chemical rescue of H96G-Fhit. *Biochemistry* 43: 7637-7642.
- Jakubowski H. (1983). Synthesis of diadenosine 5', 5'''-P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-tetraphosphate and related compounds by plant (*Lupinus luteus*) seryl-tRNA and phenylalanyl-tRNA synthetases. *Acta Biochim. Pol.* 30: 51-69.
- Jakubowski H. (1986). Sporulation of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is accompanied by synthesis of adenosine 5'-tetraphosphate and adenosine 5'-pentaphosphate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83: 2378-2382.
- Jambunathan N., Penaganti A., Tang Y., Mahalingam R. (2010). Modulation of redox homeo-stasis under suboptimal conditions by *A. thaliana* nudix hydrolase 7. *BMC Plant Biol.* 10: 173.
- Kraszewska E. (2008). The plant Nudix hydrolase family. *Acta Biochim. Pol.* 55: 663-671.
- Lauvergeat V., Lacomme C., Lacombe E., Lasserre E., Roby D., Grima-Pettenati J. (2001). Two cinnamoyl-CoA reductase (CCR) genes from *A. thaliana* are differentially expressed during development and in response to infection with pathogenic bacteria. *Phytochemistry* 57: 1187-1195.
- Lee P.C., Bochner B.R., Ames B.N. (1983a) AppppA, heat-shock stress, and cell oxidation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80: 7496-7500.
- Lee P.C., Barry R., Ames B.N. (1983b). Diadenosine 5', 5'''-P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>- tetraphosphate and related adenylylated nucleotides in *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* 258: 6827-6834.
- Leyva A., Jarillo J.A., Salinas J., Martinez-Zapater J.M. (1995). Low temperature induces the accumulation of *phenylalanine ammonia-lyase* and *chalcone synthase* mRNAs of *A. thaliana* in a light-dependent manner. *Plant Physiol.* 108: 39-46.
- McLennan A.G. (2000). Dinucleoside polyphosphates — friend or foe? *Pharmacol. Ther.* 87: 73-89.
- Mirian D.H. (1953). A new adenine nucleotide. *Biochim. Biophys. Acta* 12: 492.
- Mirian D.H. (1954). A new adenine nucleotide. *Biochim. Biophys. Acta* 13: 278-281.
- Moura J.C.M.S., Bonine C.A.V., Viana J.O.F., Dornelas M.C., Mazzafera P. (2010). Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. *J. Integr. Plant Biol.* 52: 360-376.
- Muthuramalingam M., Zeng X., Iyer N.J., Klein P., Mahalingam R. (2015). A GCC-box motif in the promoter of nudix hydrolase 7 (AtNUDT7) gene plays a role in ozone response of *A. thaliana* ecotypes. *Genomics* 105: 31-38.
- Nagy N.E.O., Fossdal C.G., Krokene P., Krekling T., Lönneborg A., Solheim H. (2004). Induced responses to pathogen infection in Norway spruce phloem: changes in polyphenolic parenchyma cells, chalcone synthase transcript levels and peroxidase activity. *Tree Physiol.* 24: 505-515.
- Newton R.P., Smith C.J. (2004). Cyclic nucleotides. *Phytochemistry* 65: 2423-2437.
- Oh S., Park S., Han K.-H. (2003). Transcriptional regulation of secondary growth in *A. thaliana*. *J. Exp. Bot.* 54: 2709-2722.
- Olsen M.K., Lea U.S., Slimestad R., Verheul M., Lillo C. (2008). Differential expression of four *A. thaliana* PAL genes; *PAL1* and *PAL2* have functional specialization in abiotic environmental-triggered flavonoid synthesis. *J. Plant Physiol.* 165: 1491-1499.
- Palfi Z., Suranyi G., Borbely G. (1991). Alterations in the accumulation of adenylylated nucleotides in heavy-metal-ion-stressed and heat-stressed *Synechococcus* sp. Strain PCC 6301, cyanobacterium, in light and dark. *Biochem. J.* 276: 487-491.



- Perotti V.E., Del Vecchio H.A., Sansevich A., Meier G., Bello F., Cocco M., Garrán S.M., Anderson C., Vázquez D., Podestá F.E. (2011). Proteomic, metabolomic, and biochemical analysis of heat treated Valencia oranges during storage. *Postharv. Biol. Technol.* 62: 97-114.
- Pietrowska-Borek M., Chadzinikolau T., Borek S. (2014a). Cyclic nucleotides and nucleotide cyclases in plants under stress. W: Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes: Volume 1. Ahmad P., Wani, M.R.; Azooz, M.M., Tran L.-S.P. (Red.), Rozdział 6; Springer Science+Business Media New York, 119-151 (pozycja 5 osiągnięcia naukowego).**
- Pietrowska-Borek M., Czekala L., Belchi-Navarro S., Pedreño M.A., Guranowski A. (2014b). Diadenosine triphosphate is a novel factor which in combination with cyclodextrins synergistically enhances the biosynthesis of trans-resveratrol in *Vitis vinifera* cv. Monastrell suspension cultured cells. *Plant Physiol. Biochem.* 84: 271-276.**
- Pietrowska-Borek M., Nuc K. (2013). Both cyclic-AMP and cyclic-GMP can act as regulators of the phenylpropanoid pathway in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 70: 142-149 (pozycja 4 osiągnięcia naukowego).**
- Pietrowska-Borek M., Nuc K., Guranowski A. (2015). Exogenous adenosine 5'-phosphoramidate behaves as a signal molecule in plants; it augments metabolism of phenylpropanoids and salicylic acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 94: 144-152 (pozycja 6 osiągnięcia naukowego).**
- Pietrowska-Borek M., Nuc K., Zielezińska M., Guranowski A. (2011). Diadenosine polyphosphates (Ap<sub>3</sub>A and Ap<sub>4</sub>A) behave as alarmones triggering the synthesis of enzymes of the phenylpropanoid pathway in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Open Bio* 1: 1-6 (pozycja 3 osiągnięcia naukowego).**
- Pietrowska-Borek M., Stuible H.P., Kombrink E., Guranowski, A. (2003). 4-Coumarate: coenzyme A ligase has the catalytic capacity to synthesize and reuse various (di)adenosine polyphosphates. *Plant Physiol.* 131: 1401-1410.**
- Raes J., Rohde A., Christensen J.H., Van de Peer Y., Boerjan W. (2003). Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *A. thaliana*. *Plant Physiol.* 133: 1051-1071.
- Rapaport E., Zamecnik P.C. (1976). Presence of diadenosine 5',5''-P<sup>1</sup>, P<sup>4</sup>-tetrphosphate (Ap<sub>4</sub>A) in mamalian cells in levels varying widely with proliferative activity of the tissue: a possible positive "pleiotypic activator". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 73: 3984-3988.
- Siprashvili Z., Sozzi G., Barnes L.D., Mccue P., Robinson A. K., Eryomin V., Sard L., Tagliabue E., Greco A., Fusetti L., Schwartz G., Pierotti M.A., Croce C.M., Huebner K. (1997). Replacement of Fhit in cancer cells suppresses tumorigenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94: 13771-13776.
- Song M.G., Bail S., Kiledjian M. (2013). Multiple Nudix family proteins possess mRNA decapping activity. *RNA* 19: 390-399.
- Tanaka S., Kihara M., Sugimoto M. (2015). Structure and molecular characterization of barley nudix hydrolase genes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 79: 394-401.
- Wojdyła-Mamoń A.M., Guranowski A. (2014). Adenylylsulfate:ammonia adenylyltransferase activity of yellow lupin (*Lupinus luteus*) Fhit protein. *Acta Biochim. Pol.* 61(S1): 202.
- Wojdyła-Mamoń A.M., Guranowski A. (2015). Adenylylsulfate:ammonia adenylyltransferase activity is another inherent property of Fhit proteins. *Bioscience Rep.*, DOI: 10.1042/BSR20150135.
- Wolf L., Rizzini L., Stracke R., Ulm R., Rensing S. (2010). The molecular and physiological response of *Physcomitrella patens* to UV-B radiation. *Plant Physiol.* 153: 1123-1134.
- Xu J., Yang J.Y., Niu Q.W., Chua N.H. (2006). *Arabidopsis* DCP2, DCP1, and VARICOSE form a decapping complex required for postembryonic development. *Plant Cell* 18: 3386-3398.
- Xu R.-Y., Nan P., Yang Y., Pan H., Zhou T., Chen J. (2011). Ultraviolet irradiation induced accumulation of isoflavonoids and transcription of genes of enzymes involved in the calycosin-7-O-β-D-glucoside pathway in *Astragalus membranaceus* Bge. Var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. *Physiol. Plant.* 142: 265-273.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Oprócz 6 prac stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym, jestem współautorem 10 oryginalnych prac naukowych. Dziewięć artykułów opublikowane jest w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports, a jeden jest artykułem polskojęzycznym



w czasopiśmie spoza tej bazy. Dwie publikacje są wynikiem badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej (**Guranowski i Pietrowska-Borek, 2002; Pietrowska-Borek i wsp., 2003**) a pozostałe 8 to wynik różnorodnej współpracy z naukowcami z kraju jak i z zagranicy.

Po uzyskaniu stopnia doktora, od grudnia 2002 roku, podjęłam pracę w Katedrze Fizjologii Roślin, ówczesnej Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu). Kontynuując współpracę z prof. dr. hab. Andrzejem Guranowskim brałam udział w badaniach nad przemianami nietypowych nukleotydów w ramach 5 projektów grantowych jako wykonawca. Jednym z aspektów tych badań były przemiany enzymatyczne metylenowych analogów adenozy-5'-tetrafosforanu ( $p_4A$ ). Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że analogi  $pCH_2pppA$ ,  $pCH_2pppG$  i  $pCH_2pppm^7G$  nie były substratami dla specyficznej nukleozydotetrafosfatazy z nasion łubinu żółtego. Jedynie egzopolifosfataza z drożdży hydrolizowała te związki do odpowiednich nukleozydotrifosforanów. Badane analogi również nie były inhibitorami dla hydrolazy  $p_4N$ . Okazało się jednak, że pochodne te okazały się silnymi inhibitorami *asymetrycznej* (z łubinu) i *symetrycznej* (z *E. coli*) hydrolazy  $Ap_4A$  (**Jemielity i wsp., 2005**). Kontynuując współpracę z fizykami z Zakładu Biofizyki Instytutu Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego i prace nad przemianami analogów nietypowych nukleotydów brałam udział w badaniach nad metylenowymi pochodnymi  $p_4A$ . Przetestowaliśmy 6 związków jako potencjalnych substratów i/lub inhibitorów hydrolaz mono- i dinukleozydotetrafosforanów. Związki te miały w różnych miejscach łańcucha oligofosforanowego grupę/y metylenową/e:  $pppCH_2pA$  (1),  $ppCH_2ppA$  (2),  $pCH_2pppA$  (3),  $pCH_2ppCH_2pA$  (4),  $ppCH_2pCH_2pA$  (5), lub chlorometylenową  $pCCl_2pCCl_2ppA$  (6). Badania wykazały, że związek (1) był substratem dla hydrolazy  $p_4N$  z łubinu i łożyska ludzkiego oraz dla egzopolifosfatazy z drożdży, żaden z analogów nie był inhibitorem dla tych enzymów. Wszystkie analogi natomiast okazały się silnymi inhibitorami dla *asymetrycznej* hydrolazy dinukleozydotetrafosforanu z łożyska człowieka i z nasion łubinu wąskolistnego. Dla dwóch spośród nich, (2) i (3), wartości  $K_i$  były rzędu nM (**Guranowski i wsp., 2006**).

Realizując pracę doktorską w zespole prof. Andrzeja Guranowskiego zajmującego się również oczyszczaniem enzymów zaangażowanych w przemiany nukleotydów, uczestniczyłam w badaniach nad nukleozydazą guanozynowo-inozynową z nasion łubinu żółtego. W wyniku tych badań uzyskaliśmy homogeny preparat enzymu. Funkcjonuje on jako monomer o masie cząsteczkowej 80 kDa. Charakterystyka kinetyczna reakcji hydrolizy guanozyny wykazała optimum pH w zakresie od 4,7 do 5,5. Guanozyna była hydrolizowana 12% szybciej niż inozyna. Aktywność nukleozydazy była stymulowana 6-krotnie przez 2 mM



CaCl<sub>2</sub> lub Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a MnCl<sub>2</sub> lub ZnCl<sub>2</sub> były inhibitorami tej reakcji. Badania nad aktywnością nukleozydazy guanozyny-inozyny podczas kiełkowania nasion łubinu wykazały, że enzym ten jest najbardziej wydajny w 3 i 4 dniu kiełkowania **(Szuwart i wsp., 2006)**.

Kolejnym aspektem moich badań, oscylującym również wokół szlaku fenylopropanoidowego, jest jego udział w reakcji roślin na niekorzystne warunki środowiskowe. Uczestniczyłam w badaniach nad oddziaływaniem zanieczyszczeń miejskich na biosyntezę fenylopropanoidów u berberysu (*Berberis thunbergii*) - krzewu dość popularnego w nasadzeniach miejskich. Przedmiotem badań był m.in. pomiar aktywności ligazy kumarylo-CoA (4CL), kluczowego enzymu szlaku fenylopropanoidowego i kumulacja flawonoidów a wśród nich flawonoli i antocyjanów w liściach berberysu rosnącego na terenach zanieczyszczonych tj. przylegających do szlaków komunikacyjnych i z terenów mieszkalnych, czyli mniej narażonych na zanieczyszczenia. Dodatkowym aspektem tych badań były zmiany aktywności 4CL i kumulacji flawonoidów w czasie sezonu wegetacyjnego, od maja do września. Wyniki tych badań wskazują, że zanieczyszczenia miejskie jakimi mogą być metale ciężkie czy też skażenie powietrza np. tlenkami siarki i azotu, najsilniej stymulowały aktywność 4CL i kumulację antocyjanów w liściach pobranych w ostatnim badanym terminie tj. we wrześniu **(Pietrowska-Borek i wsp., 2010)**.

Inne badania, w których brałam udział dotyczyły reakcji siewek jęczmienia na deficyt wody i promieniowania UV-B działających osobno lub jednocześnie. Mój udział polegał na badaniu zmian aktywności szlaku fenylopropanoidowego w odpowiedzi na te czynniki. Przeprowadzone analizy wykazały, że wzrost aktywności 4CL w wyniku działania UV-B był pozytywnie skorelowany z akumulacją antocyjanów i flawonoli w liściach jęczmienia. Jednakże deficyt wody i UV-B działające jednocześnie znosiły wzrost aktywności 4CL oraz kumulację antocyjanów i flawonoli wywołaną tylko UV-B. Pomimo wzrostu aktywności 4CL w korzeniach siewek jęczmienia nie zaobserwowano zmian w poziomie badanych flawonoidów **(Bandurska i wsp., 2012)**.

Ponadto, uczestniczyłam w badaniach nad reagowaniem na jednoczesne działanie promieniowania UV-B i stresu allelochemicznego wywołanego przez kwas ferulowy dwóch genotypów ogórka - wrażliwego oraz tolerancyjnego na chłód i patogena. Uzupełniającym elementem była ocena wpływu powyższych czynników stresowych na porażenie nekrotroficznym grzybem *Botrytis cinerea*. Badania, w których brałam udział dotyczyły oznaczeń aktywności ligazy kumarylo-CoA, syntazy chalkonowej i nagromadzenia flawonoli **(Józwiak-Żurek i wsp., 2014)**.

W ramach współpracy z Zakładem Fizjologii Roślin Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu brałam udział w badaniach dotyczących procesów starzenia w liściach jęczmienia. W badaniach tych wykonałam oznaczania poziomu poliamin wykorzystując metodę HPLC (Sobieszczuk-Nowicka i wsp., 2015).

#### Literatura

- Bandurska H., **Pietrowska-Borek M.**, Cieślak M. (2012). Response of barley seedlings to water deficit and enhanced UV-B irradiation acting alone and in combination. *Acta Physiol. Plant.* 34: 161-171.
- Guranowski A., **Pietrowska-Borek M.** (2002). O adenozy-5'-tetrafosforanie. *Biotechnologia* 3(58): 91-106.
- Guranowski A., Starzyńska E., **Pietrowska-Borek M.**, Jemielity J., Kowalska J., Darzynkiewicz E., Thompson M.J., Blackburn G.M. (2006). Methylene analogues of adenosine 5'-tetraphosphate. Their chemical synthesis and recognition by human and plant mononucleoside tetraphosphatases and dinucleoside tetraphosphatases. *FEBS J.* 273: 829-838.
- Jemielity J., **Pietrowska-Borek M.**, Starzyńska E., Kowalska J., Stolarski R., Guranowski A., Darzynkiewicz E. (2005). Synthesis and enzymatic characterization of methylene analogs of adenosine 5'-tetraphosphate (p<sub>4</sub>A). *Nucleos. Nucleot. Nucl. Acids* 24: 589-593.
- Józwiak-Żurek A., **Pietrowska-Borek M.**, Kozłowska M. (2014). Effects of allelochemical stress on response of cucumber to UV-B radiation and *Botrytis cinerea* infection. *Allelop. J.* 33: 163-173.
- Pietrowska-Borek M.**, Chadzinikolau T., Kozłowska M. (2010). Effect of urban pollution on 4-coumarate:CoA ligase and flavonoid accumulation in *Berberis thunbergii*. *Dendrobiology* 64: 79-86.
- Pietrowska-Borek M.**, Stuijle H-P., Kombrink E., Guranowski A. (2003). 4-Coumarate:coenzyme A ligase has the catalytic capacity to synthesize and reutilize various (di)adenosine polyphosphates. *Plant Physiol.* 131: 1401-1410.
- Sobieszczuk-Nowicka E., Żmieńko A., Samelak-Czajka A., Łuczak M., **Pietrowska-Borek M.**, Iorio R., Del Duca S., Figlerowicz M., Legocka J. (2015). Dark-induced senescence of barley leaves involves activation of plastid transglutaminases. *Amino Acids* 47: 825-838.
- Szuwart M., Starzyńska E., **Pietrowska-Borek M.**, Guranowski A. (2006). Calcium-stimulated guanosine-inosine nucleosidase from yellow lupin (*Lupinus luteus*). *Phytochemistry* 67: 1476-1485.

#### Kierowanie krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach

Uczestniczyłam w realizacji 10 projektów badawczych z czego jednego byłam kierownikiem. Wymienione poniżej publikacje są pracami powstałymi w wyniku realizacji danego projektu, i wchodzą w zakres osiągnięcia naukowego.

1. **Kierownik projektu** własnego nr N N303 068634 finansowanego przez MNiSW pt. "Udział nukleotydów sygnałowych: cAMP, cGMP, Ap<sub>3</sub>A i Ap<sub>4</sub>A w indukcji szlaku fenylopropanoidowego pod wpływem bodźca kadmowego". Czas realizacji 2008-2011.

**Pietrowska-Borek M.**, Nuc K., Zielezińska M., Guranowski A. (2011). Diadenosine polyphosphates (Ap<sub>3</sub>A and Ap<sub>4</sub>A) behave as alarmones triggering the synthesis of enzymes of the phenylpropanoid pathway in *A. thaliana*. *FEBS Open Bio* 1: 1-6 (**pozycja 3 osiągnięcia naukowego**).

**Pietrowska-Borek M.**, Nuc K. (2013). Both cyclic-AMP and cyclic-GMP can act as regulators of the phenylpropanoid pathway in *A. thaliana* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 70: 142-149 (**pozycja 4 osiągnięcia naukowego**).

2. **Główny wykonawca projektu** nr DEC-2012/05/B/NZ1/00025 finansowanego przez NCN pt. "Adenozy-5'-fosforamid (NH<sub>2</sub>-pA) jako nowa cząsteczka sygnałowa; Badanie enzymatycznej syntezy tego nukleotydu i analiza efektów wywoływanych przez egzogeny NH<sub>2</sub>-pA w roślinach wyższych". Czas realizacji 2013-2016.



- Pietrowska-Borek M.**, Nuc K., Guranowski A. (2015). Exogenous adenosine 5'-phosphoramidate behaves as a signal molecule in plants; it augments metabolism of phenylpropanoids and salicylic acid in *A. thaliana* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 94: 144-152 (**pozycja 6 osiągnięcia naukowego**).
3. Projekt nr P04A06215 finansowanego przez KBN pt. "Badania enzymów katalizujących przemiany rzadkich nukleotydów: p<sub>4</sub>A, Ap<sub>3</sub>A i Ap<sub>4</sub>A". Czas realizacji 1997-2001.
  4. Projekt finansowanego przez KBN nr PZB/KBN-059/T09/04 pt. "Kwasy nukleinowe jako potencjalne terapeutyki. Adenozylofosforylowane i adenozyltiofosforylowane poliole jako potencjalne inhibitory enzymów związanych z przemianami nukleotydów i nukleozydów". Czas realizacji 2002-2005.
  5. Projekt nr KBN 3 P04A 007 25 finansowanego przez KBN pt. "Katabolizm (detoksykacja) tiolaktonu homocysteiny w tkankach roślin". Czas realizacji 2003-2006.
  6. Projekt nr PBZ-MNiSW-07/I/2007 finansowanego przez MNiSW pt. "Nowe analogii nukleotydów, hipofosforanowe, fosforamidowe i oksymetylenowe, jako potencjalne inhibitory i substraty enzymów metabolizujących nukleotydy". Czas realizacji 2007-2011.  
Guranowski A., Wojdyla A., **Pietrowska-Borek M.**, Bieganowski P., Khurs E.N., Cliff M.J., Blackburn G.M., Błaziak D., Stec W.J. (2008). Fhit proteins can also recognize substrates other than dinucleoside polyphosphates. *FEBS Letters* 582: 3152-3158 (**pozycja 1 osiągnięcia naukowego**).  
Guranowski A., Starzyńska E., **Pietrowska-Borek M.**, Rejman D., Blackburn G.M. (2009). Novel diadenosine polyphosphate analogs with oxymethylene bridges replacing oxygen in the polyphosphate chain. Potential substrates and/or inhibitors of Ap<sub>4</sub>A hydrolases. *FEBS J.* 276: 1546-1553 (**pozycja 2 osiągnięcia naukowego**).
  7. Projekt nr P06A 004 29 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji (późniejsze nazwy ministerstwa to Ministerstwo Edukacji i Nauki oraz Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego) pt. "Białkowe nasiona łubinu źródłem oleju. Metaboliczne i środowiskowe uwarunkowania zawartości tłuszczów zapasowych w trzech gatunkach łubinu *Lupinus luteus* L., *Lupinus albus* L. i *Lupinus mutabilis* Sweet". Czas realizacji 2005-2008.
  8. Projekt nr N N 303 418236 finansowanego przez MNiSW pt. "Poliaminy - roślinne regulatory zaangażowane w mechanizmy kontrolujące przebieg procesu starzenia". Czas realizacji 2009-2012.
  9. Projekt WND-POIG. 010301-00-101/108 POLAPGEN-BD finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka pt. "Narzędzia biotechnologiczne służące do otrzymywania zbóż o zwiększonej odporności na suszę". Czas realizacji 2007-2013.

10. Projekt nr N N310 003540 finansowanego przez NCN pt. "Regulacja przez sacharozę i azotan akumulacji i degradacji zapasowego tłuszczu w białkowych nasionach łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.), białego (*Lupinus albus* L.) i andyjskiego (*Lupinus mutabilis* Sweet)". Czas realizacji 2011-2014.

### **Międzynarodowe i krajowe konferencje naukowe**

Jestem współautorem łącznie 25 komunikatów konferencyjnych przedstawionych jako prezentacje ustne lub w formie plakatów na konferencjach międzynarodowych i krajowych.

#### **Prezentacje ustne podczas krajowych i międzynarodowych konferencji naukowych**

1. **Pietrowska M.\***, Szalata M., Guranowski A. (1998). Hydrolaza adenozy-5'-czterofosforanu z łożyska ludzkiego. XXXIV Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Białystok, Materiały Zjazdowe: 79.
2. **Pietrowska-Borek M.\***, Stuible H.-P., Kombrink E., Guranowski A. (2001). Ligaza kumarylo-koenzymu A z *A. thaliana* może syntetyzować adenozy-5'-tetrafosforan i niektóre dinukleozydopolifosforany. XXXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Toruń, Materiały Zjazdowe: 78.
3. Guranowski A.\*, **Pietrowska-Borek M.**, Stuible H.-P., Kombrink E. (2002). 4-Coumarate:coenzyme A ligase from *A. thaliana*, a key enzyme of general phenylpropanoid metabolism, catalyzes the synthesis of adenosine polyphosphates and diadenosine polyphosphates. 7<sup>th</sup> Symposium on Adenosine and Adenine Nucleotides. Gold Coast, Australia, *Drug Dev Res* 56: 568.
4. Kozłowska M.\*, **Pietrowska-Borek M.**, Jóźwiak A. (2007). Induced phenylpropanoid metabolism under irradiation/allelochemical stresses. 7<sup>th</sup> International Conference Eco-Physiological Aspects of Plant Responses to Stress Factors, Kraków, *Acta Physiol. Plant.* 29 (Suppl 1): S22.
5. Guranowski A.\*, Nuc K., Czekala Ł., Zielezińska M., **Pietrowska-Borek M.** (2012). Dinucleoside polyphosphates and some other uncommon nucleotides function as alarmones in plants. 47<sup>th</sup> Congress of the Polish Biochemical Society; Polish-German Biochemical Societies Joint Meeting, Poznań, *Acta Biochim. Pol.* 59 (Suppl 3): 157.
6. Chadzinikolau T., **Pietrowska-Borek M.**, Kozłowska M.\* (2013). Mechanizmy tolerancji roślin aglomeracji miejskich na zanieczyszczenia metalami ciężkimi. Konferencja Naukowa „Biologia i ekologia roślin drzewiastych”, Kórnik-Poznań, Materiały konferencyjne: 118.

---

\* współautor wygłaszający komunikat



7. Niedziela J.\*, Bandurska H., **Pietrowska-Borek M.**, Chadzinikolau T., Nuc K. (2014). Drought-induced free proline synthesis and ABA accumulation in leaves and roots of spring barley genotypes of different origin. III National Conference Genetics and Genomics in Improving Plants – from Model Plant to New Variety, Poznań, Materiały Zjazdowe: 111.
8. Pedreño M.A.\*, **Pietrowska-Borek M.**, Czekala Ł., Belchí-Navarro S., Almagro L., Guranowski A. (2015). Diadenosine triphosphate is a novel factor which synergistically with cyclodextrins enhances the biosynthesis of *trans*-resveratrol in suspension cultured cells of *Vitis vinifera* cv. Monastrell. Conference COST Action FA1006 "Challenges and prospects in PNP metabolic engineering and production, Sorrento, Włochy, Book of Abstracts O20: 103-104.
9. Borek S.\*, Pukacka S., Stawiński S., Nuc K., **Pietrowska-Borek M.**, Ratajczak L. (2015). Regulacja akumulacji zapasowego tłuszczu w rozwijających się nasionach łubinu (*Lupinus* spp.). V Warsztaty Naukowe Instytutu Biologii Eksperymentalnej Uniwersytetu im. A. Mickiewicza, Poznań, W.I.4: 15.

#### Staż w zagranicznym ośrodku naukowym

Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Murcia, Hiszpania

Nawiązana przeze mnie współpraca z grupą hiszpańskich naukowców pod kierunkiem Prof. Marii Angeles Pedreño z Uniwersytetu w Murcji zaowocowała podpisaniem umowy między Uniwersytetem w Murcji i Uniwersytetem Przyrodniczym w Poznaniu (lipiec 2013). Na mocy tej umowy udostępniony został kalus *Vitis vinifera* cv Monastrell, na którym we współpracy z Hiszpanami realizowane są badania z zakresu poszukiwania nowych molekuł sygnałnych indukujących metabolizm wtórny. Ponadto, dzięki złożonej przez mnie aplikacji w ramach COST ACTION FA1006 "*Plant Metabolic Engineering for High Value Products (PlantEngine)*" uzyskałam finansowanie 3-miesięcznego pobytu (STSM - Short Term Scientific Mission) na Uniwersytecie w Murcji dla doktoranta Katedry Fizjologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Mój pobyt na Uniwersytecie w Murcji miał miejsce w marcu 2013 roku. Owocem tej współpracy, jak do tej pory, są:

- komunikat zaprezentowany na XIII Congresso Luso-Espanhol de Fisiologia Vegetal, Lizbona, Portugalia [Czekala Ł., Belchí-Navarro S., **Pietrowska-Borek M.**, Abellán Rubio M., Kozłowska M., Pedreño M.A. (2013). Dinucleoside triphosphate (Ap<sub>3</sub>A),

---

\* współautor wygłaszający komunikat

- alone or in combination with cyclodextrins, induces biosynthesis of trans-resveratrol in suspension cultured cells of *Vitis vinifera* cv. Monastrell. Book of Abstracts S3/P5: 176],
- oryginalna publikacja naukowa [**Pietrowska-Borek M.**, Czekala Ł., Belchí-Navarro S., Pedreño M.A., Guranowski A. (2014). Diadenosine triphosphate is a novel factor which in combination with cyclodextrins synergistically enhances the biosynthesis of *trans*-resveratrol in *Vitis vinifera* cv. Monastrell suspension cultured cells. *Plant Physiol. Biochem.* 84: 271-276],
  - ustna prezentacja wyników na Conference COST Action FA1006 "Challenges and prospects in PNP metabolic engineering and production", Sorrento, Włochy [Pedreño M.A., **Pietrowska-Borek M.**, Czekala Ł., Belchí-Navarro S., Almagro L., Guranowski A. (2015). Diadenosine triphosphate is a novel factor which synergistically with cyclodextrins enhances the biosynthesis of trans-resveratrol in suspension cultured cells of *Vitis vinifera* cv. Monastrell. Book of Abstracts O20: 103-104].

### **Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze promotora pomocniczego**

Jestem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim dotyczącym akumulacji wolnej proliny i aktywność syntetazy pyroline-5-karboksylanu w warunkach suszy u dwóch odmian jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare*) i linii homozygotycznych otrzymanych z ich krzyżowania.

### **Osiągnięcia dydaktyczne**

Jestem współautorem 2 skryptów i materiałów do ćwiczeń:

1. Bandurska H., Floryszak-Wieczorek J., Gniazdowska-Skoczek H., Kozłowska M., Kubiś J., Politycka B., Rybus-Zajac M., Stroiński A., Morkunas I. (zadania 4.5, 8.4), **Pietrowska-Borek M.** (zadania 4.2.1, 8.3). (2006). Ćwiczenia z fizjologii roślin dla kierunków: Ogrodnictwo, Biologia, Biotechnologia. Wyd. Akademii Rolniczej w Poznaniu; ISBN 83-7160-425-4.
2. Chadzinikolaou T., **Pietrowska-Borek M.** (2009). Ćwiczenia z ekofizjologii roślin dla kierunków: Architektura krajobrazu, Leśnictwo, Ochrona Środowiska. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu; ISBN 978-83-7160-555-0.
3. Bandurska H., **Pietrowska-Borek M.** Materiały do ćwiczeń z "Biologii odporności" dla kierunku Ogrodnictwo na Wydziale Ogrodnictwo i Architektura Krajobrazu UP w Poznaniu, studia II stopnia.



Kierowałam siedmioma pracami magisterskimi, dwoma inżynierskimi i jedną licencjacką. Tematyką tych prac była reakcja roślin na niekorzystne czynniki środowiskowe takie jak kadm, promieniowanie UV-B czy też zanieczyszczenia miejskie. Badania realizowane w ramach tych prac dotyczyły w szczególności szlaku fenylopropanoidowego oraz nukleotydów nietypowych i cyklicznych.

### **Nagrody za działalność naukową**

W latach 2009, 2010 i 2011 otrzymałam nagrody Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami.

### **Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism**

1. *Journal of Plant Studies* ISSN 1927-0461 (Print), ISSN 1927-047X (Online)  
<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jps>  
Wydawnictwo: Canadian Center of Science and Education  
Funkcja: Członek Rady Redakcyjnej, od 18.04.2013
2. *International Journal of Biology*, ISSN 1916-9671 (Print), ISSN 1916-968X (Online)  
<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/ijb>  
Wydawnictwo: Canadian Center of Science and Education  
Funkcja: Członek Rady Redakcyjnej, od 17.05.2013
3. *Journal of Agricultural Science* ISSN 1916-9752 (Print) ISSN 1916-9760 (Online)  
<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jas>  
Wydawnictwo: Canadian Center of Science and Education  
Funkcja: Członek Rady Redakcyjnej, od 09.12.2013
4. *Journal of Agriculture and Ecology Research International* (ISSN: 2394-1073)  
<http://www.sciencedomain.org/journal-home.php?id=37>  
Wydawnictwo: SCIENTEDOMAIN International  
Funkcja: Członek Rady Redakcyjnej, Edytor Akademicki – redaktor z uprawnieniami do decydowania o przyjmowaniu prac do druku, od 25.04.2014
5. *Journal of Global Agriculture and Ecology*  
<http://www.ikpress.org/journal/43>  
Wydawnictwo: International Knowledge Press

Funkcja: Członek Rady Redakcyjnej, Edytor Akademicki – redaktor z uprawnieniami do decydowania o przyjmowaniu prac do druku, od 15.10.2014

Jak do tej pory podjęłam 13 ostatecznych decyzji edytorskich w:

- *Journal of Agriculture and Ecology Research International*
- *Journal of Global Agriculture and Ecology*

Niezależnie od decyzji podejmowanych jako Edytor Akademicki, wykonałam łącznie 28 recenzji oryginalnych publikacji naukowych w następujących czasopismach o zasięgu międzynarodowym:

- *Acta Physiologiae Plantarum*
- *Plant Physiology and Biochemistry*
- *Journal of Plant Physiology*
- *Journal of Plant Studies*
- *Dendrobiology*
- *International Journal of Biology*
- *Journal of Agricultural Science*
- *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*

**Dane bibliometryczne (dane z dnia 07.07.2015):**

Sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: **31,754**

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS): **83**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): **6**

Łączna liczba punktów MNiSW: **387**

  
Małgorzata Pietrowska-Borek

Poznań, dnia 7 lipca 2015